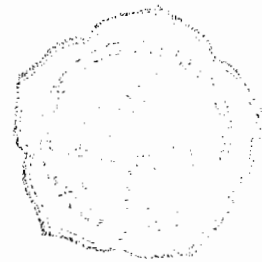


**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVONOIDA VITEKSIN
PADA HERBA SEMANGGI GUNUNG (*Oxalis corniculata* L.)
DENGAN SPEKTROFOTOMETRI UV**

SKRIPSI

**Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S. Farm.)
Program Studi Ilmu Farmasi**



Disusun Oleh :

Christina Endar Budiarti

NIM : 998114096

NIRM : 990051122004120093

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SANATA DHARMA
YOGYAKARTA**

2004

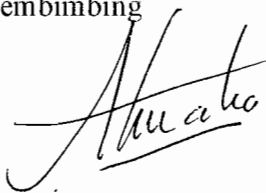
Skripsi

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI FLAVONOIDA VITEKSIN
PADA HERBA SEMANGGI GUNUNG (*Oxalis corniculata* L.)
DENGAN SPEKTROFOTOMETRI ULTRA VIOLET**

Yang diajukan oleh
Christina Endar Budiarti
NIM : 998114096
NIRM : 990051122004120093

Telah disetujui oleh

Pembimbing



Yohanes Dwiatmaka, M.Si.

Tanggal

Pengesahan Skripsi
Berjudul

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI FLAVONOIDA VITEKSIN
PADA HERBA SEMANGGI GUNUNG (*Oxalis corniculata* L.)
DENGAN SPEKTROFOTOMETRI ULTRA VIOLET**

Oleh

Christina Endar Budiarti

NIM : 998114096

NIRM : 990051122004120093

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi

Fakultas Farmasi

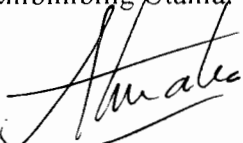
Universitas Sanata Dharma

Pada tanggal : 9 Maret 2004

Mengesahkan
Fakultas Farmasi
Universitas Sanata Dharma

(Drs. A. Yuswanto, S.U., Ph.D., Apt.)

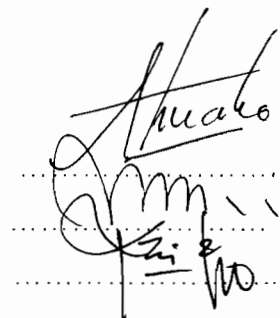
Pembimbing Utama:



Yohanes Dwiatmaka, M.Si.

Panitia Penguji:

1. Yohanes Dwiatmaka, M.Si.
2. Dra. A. Nora Iska H, M.Si., Apt.
3. Ign. Y. Kristio Budiasmoro, M.Si.



Hidup adalah nyanyian.....nyanyikanlah
Hidup adalah permainan..... mainkanlah
Hidup adalah tantangan..... ..hadapilah
Hidup adalah mimpi.....jadikanlah kenyataan
Hidup adalah pengorbanan.....persembahkanlah
Hidup adalah cinta..... ..nikmatilah

Sai Baba

Tanpa Mu, aku bukan siapa - siapa

Kupersembahkan untuk:

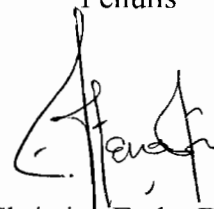
- ❖ **Bapak dan Ibu atas bimbingan, kasih sayang dan perhatian yang tiada tara**
- ❖ **Adikku Steve “kriwil keren” Widhy**
- ❖ **Mas Abenk tercinta**
- ❖ **Almamaterku**

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis ini tidak memuat karya atau bagian karya orang lain, kecuali yang telah disebutkan dalam kutipan dan daftar pustaka, sebagaimana layaknya karya ilmiah.

Yogyakarta, Desember 2003

Penulis



Christina Endar Budiarti

INTISARI

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai ramuan obat dan mengandung flavonoida adalah semanggi gunung (*Oxalis corniculata* L.). Semanggi gunung mengandung flavonoida, salah satunya adalah viteksin. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang pendekatan struktur flavonoida pada herba semanggi gunung yang diharapkan dapat berguna bagi pengembangan obat baru.

Penelitian ini termasuk jenis penelitian non eksperimental yang dilakukan dengan mengisolasi flavonoida dari herba semanggi gunung secara maserasi dengan penyari metanol. Pemisahan kandungan flavonoida dalam ekstrak metanol menggunakan kromatografi lapis tipis dan kromatografi lapis tipis preparatif dengan fase diam selulosa dan fase gerak n-butanol, asam asetat, dan air (BAA 4:1:5 v/v, fase atas).

Dari hasil pemisahan secara kromatografi, diambil bercak dengan Rf 0,69 yang mempunyai intensitas warna yang lebih jelas dan bercak yang lebih besar. Bercak kemudian diperiksa kemurniaannya dengan KLT 2 dimensi yang masing-masing menghasilkan satu bercak menunjukkan bahwa komponen tersebut adalah murni secara kromatografi. Identifikasi struktur flavonoida viteksin secara reaksi warna dan spektrofotometri UV. Dari hasil penelitian diperoleh flavonoida yaitu turunan 5, 7, 4', trihidroksi flavon (epigenin) yang merupakan aglikon dari viteksin.

ABSTRACT

Yellow woodsorel (*Oxalis corniculata* L.) is one of plants which can be used for medicine ingredients and contain of vitexin. Isolation and identification have been done to determine the group of the vitexin which one of the flavonoids compound from yellow woodsorel.

This non experimental research have been done by flavonoids isolation from the herb of yellow woodsorel with maceration method using methanol. Thin layer chromatography and preparative thin layer chromatography with cellulose phase. The mobile phase were buthanol, acetate acid, and water (BAW 4:1:5 v/v, upper phase).

The spot with Rf 0,69 which had color intensity and obvious separation was examined with two dimension thin layer chromatography with mobile phase BAW for the first direction and 15% v/v acetate acid for the second direction to the find purity. There was one spot which showed that the compound was single. According to color reaction and analysis in UV spectroscopy way, there was partial structure 5, 7, 4', trihidroxy flavon (epigenin).

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas segala anugerah dan limpahan kasihnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “ISOLASI DAN IDENTIFIKASI FLAVONOIDA VITEKSIN PADA HERBA SEMANGGI GUNUNG (*Oxalis corniculata* L.) DENGAN SPEKTROFOTOMETRI ULTRA VIOLET” yang merupakan salah satu syarat memperoleh gelar sarjana farmasi (S.Farm) pada Fakultas farmasi USD Yogyakarta.

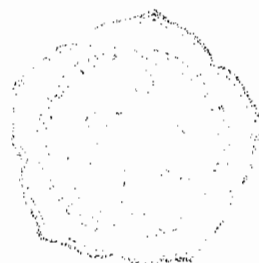
Penulisan skripsi ini terwujud atas bantuan dan kerjasama dari berbagai pihak yang telah berkenan membimbing, membantu dan memberi motivasi. Untuk itu, dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Drs. A. Yuswanto, S.U., Ph.D., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
2. Bapak Yohanes Dwiatmoko, M.Si., selaku dosen pembimbing yang dengan penuh kesabaran dan ketulusan hati memberikan bimbingan, saran dan petunjuk dalam penelitian dan penyusunan skripsi.
3. Dra. A. Nora Iska H. M.Si., Apt. selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan, usulan dan saran yang berarti.
4. Bapak Ign. Y. Kristio Budiasmoro, M.Si., selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan, usulan dan saran yang berarti.
5. Bapak, Ibu, Widhy atas dukungan doa dan kasih sayang yang diberikan, serta Mas Abenk atas pengorbanan dan bantuannya.

6. Mas Wagiran, mas Sigit, dan mas Andre, yang telah memberikan bantuan selama penelitian.
7. Citra, Ririn, Toyo, Vita, Lina, Endah, terimakasih atas persahabatan, keceriaan, dukungan dan bantuannya.
8. Mas Nunk, mas Koko, Aan, Ragil, Joko-Nyit atas bantuan, kebersamaan dan kerjasamanya.
9. Teman-teman kelompok C, terima kasih atas kebersamaan kita selama ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga penelitian ini bermanfaat bagi perkembangan ilmu farmasi dan berguna bagi pembaca sekalian.

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA.....	v
INTISARI.....	vi
<i>ABSTRACT</i>	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang.....	1
1. Permasalahan	2
2. Keaslian penelitian	2
3. Manfaat penelitian	2
B. Tujuan Penelitian	2
BAB II. PENELAAHAN PUSTAKA	
A. Semanggi Gunung.....	3
1. Nama daerah	3

2. Taksonomi.....	3
3. Morfologi tanaman	3
4. Kegunaan	4
5. Kandungan kimia	4
 B. Flavonoida	 5
1. Pengertian dan penyebaran.....	5
2. Isolasi senyawa flavonoida.....	6
3. Penggolongan flavonoida	7
4. Identifikasi flavonoida warna flavonoida.....	7
5. Kegunaan flavonoida.....	8
 C. Penyarian	 12
1. Cairan penyari	12
2. Cara penyarian.....	12
 D. Kromatografi Lapis Tipis.....	 14
 E. Spertrofotometrii Ultra Violet.....	 16
 F. Landasan Teori	 25
 G. Hipotesis.....	 25

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis Penelitian	26
B. Definisi Operasional.....	26
C. Bahan Penelitian	26
D. Alat	27
E. Cara Kerja	28

F. Tata Cara Analisis Hasil	32
BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
A. Determinasi Tanaman	33
B. Pengumpulan dan Pengeringan Bahan	33
C. Ekstraksi Flavonoida	34
D. Pemeriksaan Kandungan Flavonoida secara Kromatografi Lapis Tipis.....	35
E. Pemeriksaan Kemurnian Isolat Flavonoida	38
F. Pemeriksaan Flavonoida dengan Reaksi Warna	38
G. Pemeriksaan Flavonoida secara Spektrofotometri UV.....	40
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. KESIMPULAN	46
B. SARAN	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	49
BIOGRAFI PENULIS	56

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel I. Reaksi warna beberapa golongan flavonoida.....	10
Tabel II. Penafsiran bercak dari segi struktur flavonoida.....	11
Tabel III. Rentangan serapan spektrum UV pada flavonoida	19
Tabel IV. Penafsiran spektrum UV dengan penambahan NaOMe.....	22
Tabel V. Penafsiran spektrum UV dengan penambahan NaOAc.....	23
Tabel VI. Penafsiran spektrum UV dengan penambahan NaOAc/H ₃ BO ₃ ...	23
Tabel VII. Penafsiran spektrum UV dengan penambahan AlCl ₃ /HCl.....	24
Tabel VIII. Data kromatogram dari bercak kromatografi lapis tipis.....	37
Tabel IX. Data Hasil Reaksi Warna	39
Tabel X. Data Hasil Spektroskopi UV	45

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tata cara penomoran flavonoida.....	5
Gambar 2. Kerangka dasar tipe flavonoida.....	10
Gambar 3. Pembagian cincin flavonoida.....	19
Gambar 4. Kromatografi lapis tipis flavonoida herba semanggi gunung pada UV 365 nm.....	37
Gambar 5. Kromatografi lapis tipis 2 dimensi	40
Gambar 6. Struktur epigenin.....	43
Gambar 7. Struktur viteksin.....	44

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat pengesahan determinasi.....	49
Lampiran 2. Foto tanaman semanggi gunung.....	50
Lampiran 3. 1. Foto KLT pada UV 365 nm.....	51
3.2. Foto KLT setelah diuapi amonia pada UV 365 nm.....	51
Lampiran 4.1. Foto KLT Preparatif pada UV 365 nm.....	52
4.2. Foto KLT 2 dimensi pada UV 365 nm.....	52
Lampiran 5.1. Gambar spektrofotometri UV dengan penambahan NaOme....	53
5.2. Gambar spektrofotometri UV dengan penambahan NaOAC/ H3BO3.....	54
5.3. Gambar spektrofotometri UV dengan penambahan AlCl3/ HCl.....	55

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Semanggi gunung (*Oxalis corniculata* L.) merupakan salah satu tanaman yang berkhasiat untuk pengobatan. Tanaman tersebut dapat digunakan sebagai anti inflamasi, diuretik, dan penghentian perdarahan. Disamping itu, tumbukan daun atau buahnya dapat untuk obat kumur pada radang mulut, menghilangkan bau mulut yang tidak sedap dan obat luar pada penyakit cantengan dan herpes zoster (Anonim, 1995; Sudiby, 1998).

Semanggi gunung mengandung flavonoida (viteksin dan isoviteksin), asam oksalat, tanin, steroid/triterpenoid, minyak atsiri, dan saponin (Anonim, 1995; Ham, 1998; Sudiby, 1998). Salah satu kandungan aktif pada tanaman yang dapat digunakan untuk mengobati penyakit adalah flavonoida. Flavonoida merupakan salah satu zat aktif yang terkandung dan terdapat hampir di seluruh bagian tanaman. Flavonoida mempunyai aktivitas estrogenik, diuretik, hypoglikemik, antihipertensi, bakterisida, anti fungal, anti inflamasi, inhibitor pernafasan, antioksidan, dan anti hemoragi (Harborne, 1987; Ham, 1998; Robinson, 1995).

Dugaan adanya keterkaitan antara kegunaan flavonoida dengan aktivitasnya sebagai diuretik dan anti hemoragi, sehingga perlu dilakukan identifikasi flavonoida pada herba semanggi gunung. Salah satu kandungan dalam herba semanggi gunung adalah viteksin. Viteksin merupakan senyawa flavonoida golongan flavon yang mempunyai gugus kromofor sehingga dapat dilakukan pendekatan strukturnya dengan spektrofotometri ultra violet (UV).

1. Permasalahan

Permasalahan yang ada dalam penelitian ini yaitu apakah flavonoida utama dalam herba semanggi gunung yang diteliti merupakan viteksin?

2. Keaslian penelitian

Ham (1998) melaporkan bahwa herba semanggi gunung mengandung viteksin dan isoviteksin. Sejauh penelusuran pustaka oleh peneliti, penelitian yang bertujuan untuk membuktikan adanya viteksin sebagai flavonoida utama dalam herba semanggi gunung, belum dilakukan.

3. Manfaat penelitian

Penelitian yang dilakukan terhadap herba semanggi gunung ini diharapkan dapat:

- a. Memberikan informasi yang diharapkan dapat dijadikan acuan untuk penelitian berikutnya yang berkaitan dengan herba semanggi gunung.
- b. memberikan sumbangan informasi ilmiah tentang senyawa dasar flavonoida viteksin.

B. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan adanya viteksin sebagai flavonoida utama yang terkandung dalam herba semanggi gunung secara KLT, reaksi warna dan spektrofotometri ultra violet.

BAB II

PENELAAHAN PUSTAKA

A. Semanggi Gunung

1. Nama daerah

Anonim (1995), tanaman semanggi gunung mempunyai nama daerah sebagai berikut : semanggi gunung, daun aseman, semanggen, cem-biceman (Jawa), daun asem kecil, lela, semanggi (Sumatra), mala-mala (Maluku), calicing, jakut calicing (Sunda).

2. Taksonomi

Menurut Tjitrosoepomo (1994) tanaman semanggi gunung mempunyai sistematika yaitu *Oxalidaceae* (familia), *Oxalis* (genus), *Oxalis corniculata* L. (spesies).

3. Morfologi tanaman

Semanggi gunung merupakan tanaman yang bercabang banyak, mempunyai akar tunggal yang kuat, tinggi 5 – 35 cm, dan merayap. Tumbuh pada dataran rendah hingga ketinggian 3000 m di atas permukaan laut. Dapat tumbuh dengan subur pada tempat-tempat yang terkena sinar matahari atau agak rindang. Banyak dijumpai di ladang, halaman, dan merupakan gulma yang sering terdapat di kebun teh dan kina (Heyne, 1987).

Semanggi gunung mempunyai daun majemuk menjari beranak daun tiga, anak daun berbentuk jantung terbalik, pangkal runcing atau tumpul, dan ujungnya

berlekuk. Panjang daun sampai 2 cm, lebar 2,5 cm, panjang ibu tangkai daun sampai 10 cm, bagian pangkal melebar bentuk serupa pelepah, dan bewarna kecoklatan (Anonim, 1995).

4. Kegunaan

Tanaman semanggi gunung dapat digunakan sebagai anti inflamasi, radang amandel, radang kerongkongan, diuretik, infeksi saluran kemih, penghentian perdarahan, asma, batuk, anti serangga, penurun panas, obat sakit perut, sariawan, batu empedu, batu ginjal, busung perut, hati membesar, sakit kuning, salesma, juga untuk obat luar pada penyakit cantengan, eksem, herpes zoster, dan mimisan. Seduhan tumbukan daun atau buahnya berguna sebagai obat kumur untuk radang mulut, menghilangkan bau mulut yang tidak sedap, dan sebagai obat tetes untuk menghilangkan rasa gatal pada mata (Anonim, 1978; Anonim 1995; Ham, 1998; Sudibyo, 1998).

5. Kandungan kimia

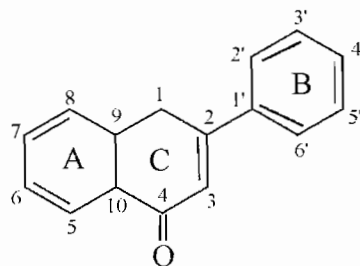
Kandungan kimia yang terdapat dalam herba semanggi gunung adalah flavonoida, viteksin, isoviteksin, asam piruvat, asam lemak, vitamin C, asam oksalat, tanin, steroid/triterpenoid, minyak atsiri, saponin, dan zat samak (Anonim, 1995; Ham, 1998; Sudibyo, 1998).

B. Flavonoida

1. Pengertian dan penyebaran

Flavonoida adalah suatu golongan senyawa alam yang strukturnya terdiri dari dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga atom karbon membentuk kerangka dengan sistem C6-C3-C6, masing-masing C6 merupakan cincin benzen. Untuk memudahkan dalam penomoran, cincin A dan C dengan sistem penomoran angka biasa dan angka beraksen untuk cincin B.

Kerangka dasar flavonoida beserta penomorannya ditunjukkan pada gambar berikut:



Gambar 1. Kerangka dasar flavonoida beserta penomorannya
(Mabry *et al.*, 1970)

Flavonoida tersebar luas dalam dunia tumbuhan tetapi jarang terdapat pada bakteri, jamur/kapang, ganggang dan lumut. Flavonoida terdapat pada semua bagian tumbuhan, termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga, buah, dan biji (Harborne, 1987).

Penyebaran flavonoida terbesar pada golongan tumbuhan Angiospermae. Khalkon, auron, flavanon, dihidrokalkon, dan isoflavon merupakan flavonoida yang jarang atau hanya ditemukan terbatas pada jenis tumbuhan familia tertentu. Dihidroalkon dan flavanon dapat ditemukan pada familia Rosaceae yang terdapat juga pada buah apel, pear, dan jeruk. Khalkon terutama merupakan pigmen daun bunga berwarna kuning yang terdapat pada familia Compositae (Markham, 1988).

Perbedaan lingkungan tempat tumbuh berpengaruh terhadap penyebaran flavonoida, karena pertumbuhan tanaman dipengaruhi oleh tinggi tempat, keadaan tanah, dan cuaca. Senyawa ini dalam jaringan tanaman lazimnya ditemukan sebagai campuran dari berbagai turunannya dan jarang sekali ditemukan sebagai senyawa tunggal (Harborne, 1987).

2. Isolasi senyawa flavonoida

Flavonoida merupakan senyawa polar, maka larut dalam pelarut polar seperti etanol atau metanol. Gula yang terikat pada flavonoida menyebabkan flavonoida lebih mudah larut dalam air, sehingga campuran pelarut di atas dengan air merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida. Sebaliknya aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, flavon, dan flavonol yang termetoksi lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1998).

Kromatografi lapis tipis dan kromatografi lapis tipis preparatif dapat digunakan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi flavonoida. Fase diam yang

digunakan antara lain silika gel, selulosa, pati, karboadsorben, dan poliamid. Selulosa biasanya digunakan untuk memisahkan senyawa flavonoida yang bersifat polar, seperti glikosida flavonoida, flavon, dan flavanon dengan menggunakan fase gerak n-butanol, asam asetat, air (BAA) dengan perbandingan 4:1:5 (Harborne, 1987).

3. Penggolongan flavonoida

Penggolongan flavonoida berdasarkan pada substituen cincin heterosiklik yang mengandung oksigen dan perbedaan distribusi gugus hidroksil pada atom C3 yang menentukan sifat, khasiat, dan golongan flavonoida, yaitu : flavon, flavanon, flavonol, flavanon, isoflavon, auron, dan khalkon (Robinson, 1983). Kerangka struktur golongan flavonoida dapat dilihat pada gambar 2.

4. Identifikasi warna flavonoida

Flavonoida dapat dibedakan berdasarkan reaksi warna dan sifat kelarutannya. Flavonoida merupakan senyawa fenolik yang memberikan reaksi dengan pereaksi untuk fenol, antara lain membentuk warna khas dengan besi (III) klorida, asam sulfat pekat, natrium hidroksida, logam magnesium dan asam klorida (Harborne, 1987; Venkataraman, 1962). Deteksi flavonoida dapat dilakukan dengan mengamati perubahan warna sebelum dan sesudah diuapikan yang dilihat pada sinar UV 365 nm (Markham, 1998).

Penelitian fitokimia diawali dengan pengujian kimia tertentu, seperti larutan natrium klorida, asam sulfat pekat, besi (III) klorida, logam magnesium,

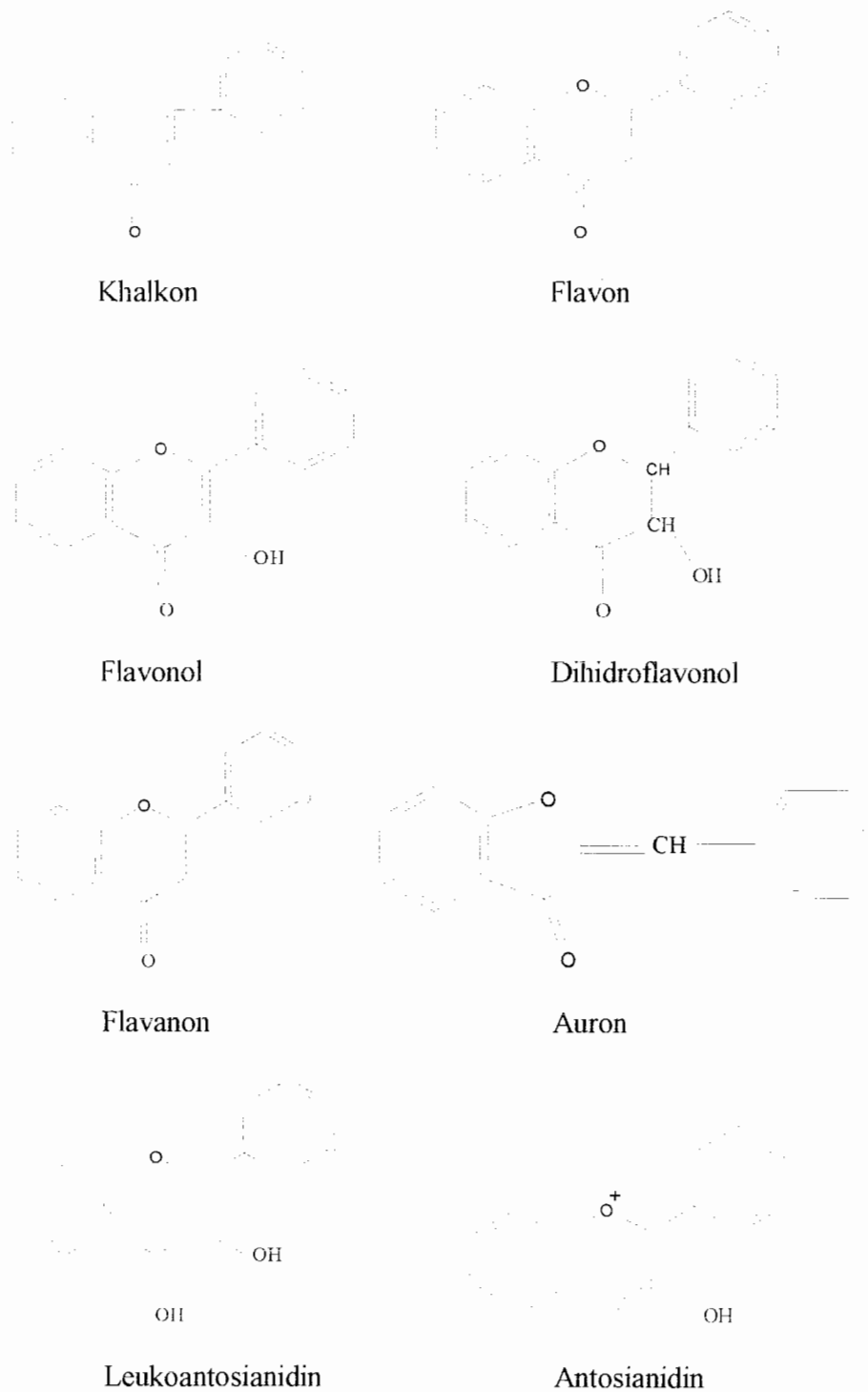
dan asam klorida. Uji warna (tabel 1) selanjutnya didukung oleh analisis spektrofotometri ultra violet (Venkataraman, 1962).

Flavonoida dapat dideteksi dengan amonia jika tidak bercampur dengan pigmen lain. Reaksi ini memberikan warna spesifik untuk masing-masing golongan. Flavon, flavonol, dan xantin memberikan warna kuning kemerahan, antosian berwarna biru, flavanol berwarna orange sampai coklat, khalkon dan auron berwarna merah dan merah lembayung yang timbul pada suasana asam (Harborne, 1987).

5. Kegunaan flavonoida

Tumbuhan yang mengandung flavonoida berguna untuk inhibitor pernafasan, antimikroba, antivirus, mengatur pertumbuhan, menghambat perdarahan dan mengatur fotosintesis. Flavonoida merupakan senyawa pereduksi yang baik, karena menghambat reaksi oksidasi, baik secara enzimatis maupun non enzim. Flavonoida bertindak sebagai penampung yang baik terhadap radikal hidroksi dan superoksida, sehingga melindungi lipid membran dari reaksi yang merusak (Robinson, 1995).

Golongan isoflavon seperti 7,4'- dihidroksi isoflavon dan 5,7,4'- trihidroksi isoflavon merupakan estrogen lemah. Isoflavon rumit seperti rotenon merupakan insektisida alam yang kuat dan mempunyai potensi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (Harborne, 1987).



Gambar 2. Kerangka dasar tipe-tipe flavonoida (Mabry, *et al.*, 1970)

Tabel I. Reaksi warna beberapa golongan flavonoida (Venkataraman, 1962)

Golongan flavonoida	Warna			
	Larutan NaOH	H ₂ SO ₄ pekat	Mg/HCl	Natrium amalgam asam
Khalkon	Jingga sampai merah	Jingga sampai merah	Tak berwarna	Kuning pucat
Dihidro-khalkon	Tak berwarna	Tak berwarna	Tak berwarna	Tak berwarna
Auron	Merah / violet	Merah/ violet	Tak berwarna	Kuning pucat
Flavanon	Kuning/ jingga, dipanaskan merah	Jingga	Merah/ violet atau biru	Merah
Flavon	Kuning	Kuning/jingga berpendar	Kuning/ merah	Merah
Flavonol	Kuning/ jingga	Kuning/jingga berpendar	Merah / violet	Kuning/ merah
Flavanonol	Kuning berubah coklat	Kuning/merah	Merah/ violet	Kuning/coklat
Leukoantosian	Kuning	Merah/violet	Violet	Violet
Antosianin/ antosianidin	Biru/violet	Kuning/jingga	Merah lalu memucat	Kuning/jingga
Isoflavon	Kuning	Kuning	Kuning	Merah muda/violet
Isoflavanon	Kuning	Kuning	Tak berwarna	Merah

Menurut Markham (1988), macam-macam senyawa flavonoida memberikan bercak warna yang khas pada sinar tampak dan UV (tabel II).

Tabel II. Penafsiran bercak dari segi struktur flavonoida (Markham, 1988)

Warna bercak dengan sinar UV		
Sinar uv 365 nm tanpa NH ₃	Sinar uv 365 nm Dengan NH ₃	Jenis flavonoida yang mungkin
Lembayung gelap	Kuning, hijau atau hijau kekuningan	a. Biasanya 5-OH flavon atau flavonol (tersubstitusi pada 3-O dan mempunyai 4'-OH) b. Kadang-kadang 5-OH flavanon dan 4'-OH khalkon tanpa OH pada cincin B
	Perubahan warna sedikit atau tanpa perubahan	c. biasanya flavon atau flavonol tersubstitusi pada 3-3-O mempunyai 5-OH tetapi tanpa 4'-OH bebas d. beberapa 6- atau 8-OH flavon dan flavonol tersulih pada 3-O serta mengandung 5-OH e. Isoflavon, dihidroflavonol, biflavonil dan beberapa flavanon yang mengandung 5-OH f. Khalkon yang mengandung 2'- atau 6'-OH tetapi tidak mengandung 2-atau 4-OH bebas
	Biru muda	Beberapa 5-OH flavanon
Fluoresensi biru muda	Merah atau jingga	Khalkon yang mengandung 2-dan /atau 4-OH bebas
	Fluoresensi hijau-kuning atau hijau-biru	a. Flavon dan flavanon yang tak mengandung OH, misalnya 5-OH glikosida b. Flavonol tanpa 5-OH bebas tetapi tersulih pada 3-OH
	Perubahan warna sedikit atau tanpa perubahan	Isoflavon yang tak mengandung 5-OH bebas
	Fluoresensi murup biru muda	Isoflavon yang tak mengandung 5-OH bebas
Tak nampak	Fluoresensi biru muda	Isoflavon tanpa 5-OH bebas
Kuning redup dan kuning atau fluoresensi jingga	Perubahan warna sedikit atau tanpa perubahan	Flavonol yang mengandung 3-OH bebas dan mempunyai atau tak mempunyai 5-OH bebas (kadang-kadang berasal dari dihydroflavonol)
Fluoresensi kuning	Jingga atau merah	Auron yang mengandung 4'-OH bebas dan beberapa 2-atau 4-OH khalkon
Hijau-kuning, hijau-biru, atau hijau	Perubahan warna sedikit atau tanpa perubahan	a. Auron yang tak mengandung 4'-OH bebas dan flavanon tanpa 5-OH bebas b. Flavonol yang mengandung 3-OH bebas dan ada atau tanpa 5-OH bebas
Merah jingga redup atau merah senduduk	Biru	Antosianidin 3-glikosida
Merah jambu atau fluoresensi kuning	Biru	Sebagian besar antosianidin 3,5-diglikosida

C. Penyarian

1. Cairan penyari

Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor antara lain : murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya mengekstraksi zat berkhasiat yang diinginkan (Anonim, 1986).

Penyarian flavonoida dari tumbuh-tumbuhan didasarkan pada polaritas kandungan yang akan disari dan asal bahan dari mana substansi tersebut berasal. Flavonoida yang berasal dari vakuola sel umumnya bersifat hidrofilik sehingga penyarian dapat dilakukan dengan air atau pelarut-pelarut alkoholis (Harborne, 1987).

2. Cara penyarian

Cara penyarian dibedakan atas maserasi, infudasi, perkolasi, dan penyarian berkesinambungan.

a. Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Ini dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut karena ada perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel, maka larutan yang terpekat akan didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara di dalam dan di luar sel.

Pada penyarian dengan maserasi perlu dilakukan pengadukan untuk meratakan konsentrasi larutan, sehingga tetap terjadi perbedaan konsentrasi antara larutan yang di dalam dan di luar sel. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah dilakukan. Kerugian cara maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Anonim, 1986).

b. Infudasi

Infudasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat aktif yang larut dalam air dalam bahan-bahan nabati. Penyarian dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang. Oleh sebab itu sari yang diperoleh dengan cara ini tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam (Anonim, 1986).

c. Perkolasi

Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang sudah dibasahi. Prinsip dari perkolasi adalah dengan mengalirkan cairan penyari dari atas ke bawah melalui serbuk sehingga cairan penyari akan melarutkan zat aktif. Gerak ke bawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan cairan di atasnya, dikurangi daya kapiler yang cenderung untuk menahan (Anonim, 1986).

d. Soxhletasi

Soxhletasi termasuk penyarian berkesinambungan yang menggabungkan proses yang menghasilkan ekstrak cair dan dilanjutkan dengan proses penguapan. Serbuk diisikan pada tabung yang berlubang dan cairan penyari dipanaskan hingga mendidih. Uap naik ke atas melalui serbuk dan uap penyari tersebut akan mengembun karena didinginkan oleh pendingin balik. Embun turun melalui serbuk sambil melarutkan zat aktif dan kembali ke labu. Cairan akan menguap kembali berulang seperti proses sebelumnya (Anonim, 1986).

D. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan metode pemisahan fisikokimia. Lapisan yang memisah terdiri atas bahan berbutir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisahkan berupa larutan yang ditotolkan membentuk bercak atau pita. Pelat kemudian dimasukkan ke dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang (fase gerak) yang cocok. Pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan). Senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan atau dideteksi.

Fase diam (lapisan penjerap) dibuat dari salah satu penjerap yang khusus digunakan untuk KLT. Penjerap yang umum dipakai ialah silika gel, aluminium oksida, kieselguhr, selulosa, dan lain-lain. Untuk analisis tebal penjerap 0,1 – 0,3 mm.

Fase gerak adalah medium angkut yang terdiri atas satu atau beberapa pelarut. Fase ini bergerak dalam fase diam karena adanya gaya kapiler. Bila diperlukan sistem

pelarut multi-komponen harus berupa campuran sesederhana mungkin terdiri atas maksimum tiga komponen. Pada penggunaan pelarut yang perlu diperhatikan adalah bahwa pelarut harus murni, bila perlu disuling kembali. Campuran pelarut hanya boleh digunakan maksimum dua sampai tiga kali karena komposisi campuran dapat berubah oleh penyerapan atau penguapan, komponen-komponen campuran pelarut mungkin bereaksi satu sama lain (Stahl, 1985).

KLT banyak digunakan dalam analisis flavonoida dengan fase diam berupa silika gel, selulosa, dan poliamid (Sastrohamidjojo, 2001). Selulosa digunakan untuk memisahkan flavonoida yang bersifat polar seperti glikosida flavonoid, flavon atau flavanon. Pelarut yang digunakan campuran n-butanol, asam asetat, air (4:1:5 v/v, fase atas), campuran t-butanol, asam asetat, air (3:1:1 v/v, fase atas), asam asetat 5 % v/v dan asam asetat 15 % v/v (Harborne, 1987).

Jarak pengembangan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakan dengan angka Rf atau hRf. Harga Rf didefinisikan sebagai perbandingan antara jarak senyawa dari titik awal dan jarak tepi muka pelarut dari awal.

$$Rf = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{Jarak garis depan dari titik awal}}$$

Angka Rf berkisar antara 0,00-1,00 dan hanya dapat ditentukan dengan dua desimal. hRf adalah angka Rf dikalikan faktor 100 (h), menghasilkan nilai berkisar antara 0-100 (Stahl, 1985).

Salah satu metode pemisahan yang memerlukan pembiayaan paling murah dan memakai peralatan paling dasar adalah kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP). Selain itu, metode ini dapat memisahkan bahan dalam jumlah gram (Hostettmann, 1995).

Pilihan pelarut ditentukan berdasarkan pemeriksaan pendahuluan memakai KLT analitik. Karena ukuran partikel kira-kira sama, pelarut yang digunakan pada KLT analitik dapat dipakai langsung pada KLTP. Pengembangan pelat KLTP dilakukan dalam bejana kaca yang dijaga tetap jenuh dengan pelarut pengembang, dengan bantuan sehelai kertas saring yang tercelup ke dalam pengembang (Hostettmann, 1995).

Ketebalan penjerap yang paling sering dipakai adalah 0,5-2 mm. Ukuran pelat kromatografi biasanya 20 x 20 atau 20 x 40 cm. Kebanyakan penjerap KLTP mengandung indikator fluoresensi yang membantu menjerap kedudukan pita yang terpisah sepanjang senyawa, yang dipisahkan sinar UV (Hostettmann, 1995).

F. Spektrofotometri Ultra Violet

Spektrofotometri ultra violet adalah interaksi molekul yang mempunyai gugus kromofor dengan radiasi elektromagnetik pada daerah ultra violet yang menyebabkan transisi elektromagnetik dan diperoleh spektra absorpsi elektron, karena transisi elektronik yang terjadi tergantung dari strukturnya dan radiasi elektromagnetik yang diabsorpsi ada hubungan dengan jumlah molekul pengabsorpsi, maka spektra

absorpsi dapat digunakan untuk analisa kualitatif yaitu memberikan informasi mengenai pola oksigenasi atau penentuan hidroksi fenol (Sastromahidjojo, 2001).

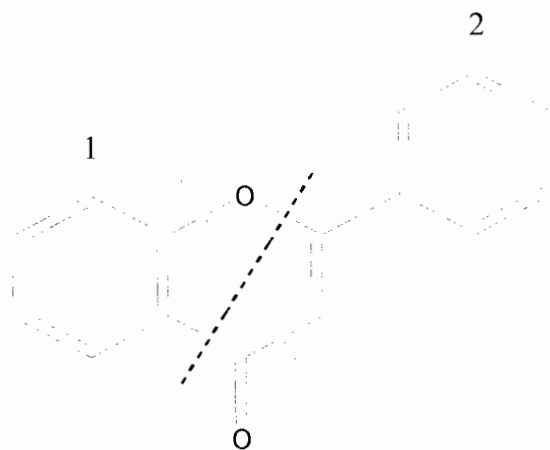
Spektrofotometri ultra violet (UV) merupakan salah satu metode analisis yang digolongkan dalam metode spektrofotometri yang memakai sumber radiasi elektromagnetik UV dekat (190-380 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer. Keuntungan dari serapan UV adalah selektivitasnya (Silverstein, *et al.*, 1981). Spektrofotometri ini cukup sederhana, hanya dibutuhkan kira-kira 0,1 mg bahan yang biasanya dilarutkan dalam metanol (Mursyidi, 1990).

Silverstein, *et al.*, (1986), menyampaikan beberapa istilah yang digunakan dalam spektrofotometri.

1. Gugus kromofor, suatu gugus kovalen tidak jenuh yang bertanggung jawab untuk serapan elektronik pada sinar tampak dan UV (200 - 800 nm).
2. Gugus auksokrom, suatu gugus jenuh dengan elektron bebas bila menempel pada kromofor merubah panjang gelombang dan intensitas dari serapan.
3. Pergeseran batokromik, suatu pergeseran dari serapan ke panjang gelombang yang lebih panjang.
4. Pergeseran hipsokromik, suatu pergeseran dari serapan ke panjang gelombang yang lebih pendek.
5. Efek hiperkromik, suatu peristiwa kenaikan di dalam intensitas serapan.
6. Efek hipokromik, suatu penurunan di dalam intensitas serapan.

Spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk membantu mengidentifikasi jenis flavonoida dan menentukan pola oksigenasi. Pada spektrofotometri UV, cara ini

didasarkan pada pengetahuan senyawa flavonoida memiliki sistem aromatik terkonjugasi. Spektra flavonoida biasanya ditentukan menggunakan larutan dalam pelarut metanol (MeOH) atau etanol (EtOH) walaupun spektrum yang dihasilkan EtOH kurang memuaskan (Markham, 1988).



Gambar 3. Pembagian cincin sinamoil dan benzoil (Mabry, *et al.*, 1970).

Ket : 1 = Komponen penyerap benzoil sebelum garis lurus

2 = Komponen penyerap sinamoil setelah garis putus-putus

Pola spektra flavonoida biasanya memberikan dua puncak pada rentang 240 - 285 nm (pita I) dan 300 - 350 nm (pita II). Pita II merupakan serapan dari cincin A bagian benzoil dan pita I merupakan serapan dari cincin B bagian cinnamoyl. Ciri khas spektrum tersebut memberikan puncak relatif rendah pada pita I untuk dihidroflavon, dihidroflavonol, dan isoflavon, sedangkan khalkon, auron, dan antosianin terdapat pada panjang gelombang yang relatif tinggi untuk pita I (tabel III).

Tabel III. Rentangan serapan spektrum UV pada flavonoida (Markham, 1988).

Pita II (nm)	Pita I (nm)	Jenis flavonoida
250-280	310-350	Flavon
250-280	330-360	Flavonol (3-OH tersubstitusi)
250-280	350-385	Flavonol 3-OH bebas
245-275	310-330 bahu kira-kira 320 puncak	Isoflavon Isoflavon (5-deoksi-6, 7 dioksigenasi)
275-295	300-330 bahu	Flavanon dan dihidroflavonol
230-270 (intensitas rendah)	340-390	Khalkon
230-270 (intensitas rendah)	380-430	Auron
270-280	465-560	Antosianin dan antosianidin

Hasil spektra dari flavonoida juga tergantung pada pola hidroksilasi dan pola substitusi senyawa tersebut.

1. Efek hidroksilasi, penambahan gugus OH dalam cincin A pada flavonol menghasilkan pergeseran batokromik yang nyata pada pita II dan sedikit efek pada pita I.
2. Efek metilasi dan glikosilasi, terjadi pada pola serapan flavon dan flavonol.
3. Efek asetilasi, gugus OH fenolik yang diasetilasi menyebabkan gugus itu hilang.
4. Efek natrium metoksida, penambahan basa menyebabkan efek pergeseran batokromik pada senyawa fenol. Na-metoksida merupakan basa kuat yang dapat mengionisasi gugus OH pada inti. Penambahan Na-metoksida pada flavon dan flavonol dalam metanol menyebabkan pergeseran batokromik pada pita serapan.

Pergeseran 40-65 nm pada pita I tanpa penurunan intensitas menunjukkan adanya gugus 4'-OH bebas. Untuk flavonol, pergeseran batokromik 50-60 nm pada pita I dengan penurunan intensitas disebabkan oleh adanya gugus 3-OH bebas. Flavonol yang mempunyai 5 dan 4'-OH bebas, maka dengan penambahan Na-metoksida spektrumnya akan mengalami dekomposisi.

5. Efek natrium asetat, sebagai basa lemah menyebabkan pengionan pada gugus hidroksil flavonoida yang sifat keasamannya tinggi. Digunakan untuk mendeteksi adanya gugus 7-OH bebas. Flavon dan flavonol dengan gugus 7-OH bebas menunjukkan pergeseran batokromik sebesar 5-20 nm pada pita II, sedangkan pergeseran batokromik sebesar 12-30 nm pada pita I menunjukkan adanya gugus ortodihidroksi pada cincin B. Pergeseran batokromik sebesar 5-10 nm pada pita I menunjukkan adanya gugus ortodihidroksi pada C-6 dan C-7 atau C-7 dan C-8.
6. Efek aluminium klorida, menyebabkan gugus OH pada C-3 dan C-5 flavon dan flavonol akan membentuk kompleks yang stabil, sedangkan kompleks antara $AlCl_3$ dan gugus orto dihidroksi bersifat labil sehingga terdekomposisi dengan penambahan asam. Adanya gugus ortodihidroksi pada cincin B dapat diketahui dengan penambahan asam terhadap spektra $AlCl_3$, menghasilkan pergeseran hipsokromik 30-40 nm pada pita I. Adanya pergeseran batokromik pada pita II dalam $AlCl_3$ dan HCl dibandingkan pita I dalam metanol sebesar 35-55 nm,

menunjukkan adanya 5-OH flavon atau 3-OH flavonol tersubstitusi (Mabry, *et al.*, 1970).

Kedudukan gugus hidroksi fenol bebas pada inti flavonoida dapat ditentukan dengan penambahan pereaksi geser ke dalam cuplikan dan mengamati pergeserannya pada spektrum UV.

Tabel IV. Penafsiran spektrum UV flavonoida dengan penambahan NaOH (Markham, 1988).

Jenis flavonoida	Pergeseran tampak		Petunjuk penafsiran
	Pita I	Pita II	
Flavon Flavonol	Kekuatan menurun terus (artinya penguraian)		3,4'-OH, o-di OH pada cincin A dan pada cincin B: 3-OH yang berdampingan
	Mantap \pm 45-65 nm kekuatan tidak menurun		4' - OH
	Mantap \pm 45-65 nm kekuatan menurun		3-OH, tidak ada 4'-OH bebas
	Pita baru (bandingkan dengan MeOH 320-335 nm)		7-OH
Isoflavon, flavanon dan dihidroflavonol		Tidak ada pergeseran	Tidak ada OH pada cincin A
		Kekuatan menurun dengan berjalannya waktu	O-diOH pada cincin A (penurunan lambat; O-diOH pada cincin B)
		Bergeser dari \pm 280 nm ke \pm 325 nm, kekuatan meningkat ke 330-340 nm	Flavanon dan dihidroflavonol dengan 5,7-OH, 7-OH tanpa 5-OH bebas
Auron Khalkon	+80-95 nm (kekuatan meningkat, + 60-70 (kekuatan naik) pergeseran kecil		4' OH (auron) 6-OH tanpa oksigenasi pada 4' (auron) 6-OH dengan oksigenasi pada 4' (auron)
	+60-100 nm (kekuatan naik/tanpa kenaikan kekuatan) +40-50 nm		4'-OH (auron) 2-OH atau 4'-OH dan tanpa 4-OH 4'-OH (2'-OH atau 4-OH) juga ada
Antosianidin Antosian	Semuanya terurai kecuali 3-deoksiantosian		Nihil

Tabel V. Penafsiran spektrum UV flavonoida dengan penambahan natrium asetat (Markham, 1988).

Jenis flavonoida	Pergeseran yang tampak		Petunjuk Flavonoida
	Pita I	Pita II	
Flavon Flavonol Isoflavon		+5-20 nm (berkurang bila ada oksigenasi pada 6/8)	7-OH
	Intensitas berkurang dengan bertambahnya waktu		-OH di 6,7 atau 7,8 atau 3,4'
Flavanon		+35 nm +60 nm	7-OH (dengan 5-OH) 7-OH (tanpa 5-OH)
Dihidroflavonol	Kekuatan berkurang dengan bertambahnya waktu		-OH di 6,7 atau 7,8
Khalkon Auron	Pergeseran batokrom atau bahu pada panjang gelombang yang lebih panjang		4' dan/atau 4-OH (khalkon) 4' dan/atau 6-OH (auron)

Tabel VI. Penafsiran spektrum flavonoida dengan penambahan natrium asetat dan H_3BO_3 (Markham, 1988).

Jenis flavonoida	Pergeseran Tampak		Petunjuk penafsiran
	Pita I	Pita II	
Flavon, Flavonol, Auron, Khalkon	+12-36 nm (nisbi terhadap spektrum (MeOH), pergeseran lebih kecil		o- di OH pada cincin B o- di OH pada cincin A (6,7 atau 7,8)
Isoflavon, Flavanon, Dihidroflavonol		+10-15 nm (nisbi terhadap spektrum metanol)	o- di OH pada cincin A (6,7 atau 7,8)

Tabel VII. Penafsiran spektrum flavonoida dengan penambahan AlCl₃ dan AlCl₃/HCl (Markham, 1988).

Jenis flavonoida (Pereaksi)	Pergeseran yang tampak		Petunjuk Penafsiran
	Pita I	Pita II	
Flavon dan flavonol (AlCl ₃ dan HCl) (AlCl ₃)	+35 sampai 55 nm +17 sampai 20 nm Tak berubah		5-OH 5-OH dengan oksigenasi pada 6. Mungkin 5-OH dengan gugus prenil pada 6
	+ 50 sampai 60 nm		Mungkin 3-OH (dengan atau tanpa 5-OH)
	Pergeseran AlCl ₃ /HCl tambah 30 - 40 nm		o-di OH pada cincin B
	Pergeseran AlCl ₃ /HCl tambah 20 -25 nm		o-di OH pada cincin A (Tambahan pada pergeseran o- di OH pada cincin B)
Isoflavon, flavanon, dihydroflavonol (AlCl ₃ dan HCl) (AlCl ₃)		+10 -14 nm +20 -26 nm	5-OH (Isoflavon) 5-OH (Flavanon, dihydroflavonol)
		Pergeseran AlCl ₃ /HCl, +11 -30 nm	o-di OH pada cincin A (6,7 dan 7,8)
		Pergeseran AlCl ₃ /HCl, +30 -38 nm	Dihydroflavonol tanpa 5-OH (tambahan pada sembarang pergeseran o-di OH)
Auron, Khalkon (AlCl ₃ dan HCl) (AlCl ₃)	+48 sampai 64 nm +40 nm		2'-OH (Khalkon dengan oksidasi pada 3')
	+60 sampai 70 nm		4-OH (Auron)
	Pergeseran AlCl ₃ /HCl +40-70 nm Tambahan lebih kecil		o-di OH pada cincin B Mungkin o-di OH pada cincin A
Antosianidin, Antosianin (AlCl ₃)	+25 sampai 35 nm (pada pH 2- 4)		o-di OH
	Pergeseran lebih besar		Banyak o-di OH atau o-di OH 3-deoksi (antosianidin)

G. Landasan Teori

Viteksin merupakan flavonoida golongan flavon. Viteksin diisolasi dari *Crataegus oxyacantha* dan ditemukan juga dalam *Spirodela oligorrhiza*.

Viteksin mempunyai gugus kromofor sehingga dapat diidentifikasi dengan spektrofotometri UV. Pada kromatografi kertas memberikan bercak berwarna biru atau ungu dilihat pada lampu UV 365 nm dengan *R_f* 0,73 (Hattori, 1962).

H. Hipotesis

Viteksin yang terdapat dalam herba semanggi gunung dapat diisolasi dan diidentifikasi strukturnya dengan kromatografi lapis tipis, reaksi warna, dan spektrofotometri UV.



BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Dalam penelitian ini tidak dilakukan manipulasi/perlakuan terhadap subjek uji maka penelitian ini termasuk penelitian non eksperimental, penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.

B. Definisi Operasional

1. Isolasi flavonoida herba semanggi gunung adalah proses pengambilan senyawa flavonoida dari herba semanggi gunung dengan metode kromatografi lapis tipis.
2. Identifikasi senyawa flavonoida adalah uji kualitatif untuk mengetahui senyawa flavonoida dalam herba semanggi gunung secara KLT, reaksi warna dan spektrofotometri UV.

C. Bahan Penelitian

1. Bahan tanaman

Bahan yang diuji adalah herba semanggi gunung yang dikumpulkan dari daerah Paingan, Maguwoharjo, Yogyakarta pada bulan Januari 2003.

2. Bahan kimia

Semua bahan kimia yang digunakan berderajat pro analisis (p.a) produksi MERCK, kecuali aqua destilata. Bahan-bahan tersebut adalah metanol, asam

asetat, butanol, natrium hidroksida, asam klorida, dan asam sulfat pekat. Rutin digunakan sebagai bahan pembanding dalam analisis spektra UV.

3. Bahan untuk kromatografi lapis tipis

Bahan untuk isolasi senyawa dengan KLT adalah n-butanol, asam asetat, air, asam asetat 15%, dan selulosa.

4. Pereaksi warna untuk identifikasi flavonoida

Pereaksi warna untuk flavonoida digunakan amonia, asam sulfat, logam magnesium, asam klorida, natrium hidroksida, dan besi (III) klorida.

5. Pereaksi diagnostik spektroskopi

Untuk pereaksi diagnostik digunakan natrium metoksida, natrium asetat, asam borat, aluminium klorida, dan asam klorida.

D. Alat

1. Alat maserasi

Alat- alat yang digunakan untuk maserasi adalah erlenmeyer, kertas saring, corong, dan pengaduk.

2. Alat kromatografi

Alat- alat yang digunakan untuk kromatografi adalah chamber, lempeng kaca , pipa kapiler , lampu UV 254 nm dan 366 nm.

3. Alat spektrofotometri UV

Alat- alat yang digunakan untuk spektrofotometri adalah Spektrofotometer UV (Genesys 6 Split Beam λ 190-1100 nm), kuvet, pipet tetes, dan tissue.

E. Cara Kerja

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman semanggi gunung dilakukan dengan menggunakan pustaka acuan (Backer, 1973).

2. Pengumpulan dan pengeringan bahan

Herba semanggi gunung diambil dan dikumpulkan dari lingkungan Fakultas Farmasi USD Yogyakarta pada bulan Januari 2003. Herba dicuci bersih dengan air mengalir agar kotoran yang menempel hilang, kemudian dijemur di bawah sinar matahari. Bahan sering dibalik agar pemanasannya merata. Pengeringan dihentikan sampai bahan simplisia mudah dipatahkan, kemudian diserbuk dan diayak dengan ayakan tepung.

3. Ekstraksi flavonoida

Sebanyak 40 gram serbuk herba semanggi gunung, dimaserasi menggunakan metanol selama 24 jam sambil kadang-kadang digojog. Dilakukan penyaringan, filtrat ditampung sedangkan residu ditambah metanol dan dimaserasi kembali. Maserasi dihentikan bila filtrat sudah bening dan menguji filtrat di atas kertas saring dengan diuapi amonia. Ekstraksi flavonoida dinyatakan sempurna bila tidak terjadi warna kuning pada kertas saring. Filtrat yang

diperoleh dicampur dalam cawan porselin selanjutnya diupkan. Hasil yang diperoleh adalah ekstrak metanol herba semanggi gunung.

4. Pemeriksaan kandungan flavonoida secara kromatografi lapis tipis

Ekstrak metanol dari herba semanggi gunung ditotolkan dengan pipa kapiler pada pelat kromatografi dengan fase diam selulosa. Pengembangan dalam bejana kromatografi menggunakan fase gerak butanol , asam asetat , air (BAA 4:1:5 v/v) fase atas. Setelah pengembangan, bercak dideteksi dengan lampu UV 254 nm dan UV 366 nm sebelum dan sesudah diuapi amonia.

5. Isolasi flavonoida secara kromatografi lapis tipis preparatif

Ekstrak ditotolkan berupa pita pada pelat kromatografi berukuran 20 x 20 cm dengan fase diam selulosa setebal 0,5 mm. Pengembangan dilakukan pada bejana kromatografi menggunakan fase gerak BAA. Bercak dideteksi dengan lampu UV 254 nm dan diperoleh pita bercak berwarna ungu yang diduga flavonoida, kemudian bercak yang tampak dikerok dan diekstraksi dengan metanol, sehingga diperoleh isolat flavonoida yang akan diperiksa kemurniannya dengan KLT dua arah.

6. Pemeriksaan kemurnian isolat flavonoida

Isolat flavonoida sebelum dilakukan uji identifikasi lebih lanjut harus diketahui kemurniannya menggunakan kromatografi lapis tipis dua arah dengan menotolkan pada salah satu ujung pelat kromatografi berukuran 20 x 20 cm. Dipakai BAA sebagai fase gerak untuk arah pertama dan asam asetat 15% v/v untuk arah kedua.

7. Reaksi warna untuk flavonoida

Larutan isolat flavonoida yang diperoleh diuji menggunakan pereaksi :

- a. NaOH 1 %. Tiga tetes larutan isolat pada *drop plate* ditambah 1 tetes larutan NaOH dan dicatat perubahan warna yang terjadi.
- b. FeCl₃. Tiga tetes larutan isolat pada *drop plate* ditambah 1 tetes larutan FeCl₃ dan dicatat perubahan warna yang terjadi.
- c. AlCl₃. Tiga tetes larutan isolat pada *drop plate* ditambah 1 tetes larutan AlCl₃ dan dicatat perubahan warna yang terjadi.
- d. H₂SO₄ pekat. Tiga tetes larutan isolat pada *drop plate* ditambah 1 tetes larutan H₂SO₄ dan dicatat perubahan warna yang terjadi.
- e. HCl pekat dan serbuk Mg. Tiga tetes larutan isolat pada *drop plate* ditambah 2 tetes HCl pekat dan serbuk Mg, kemudian dicatat perubahan warna yang terjadi.

8. Identifikasi flavonoida dengan spektrofotometri UV

Identifikasi dan penentuan struktur isolat flavonoida dengan metode spektrofotometri UV dengan melarutkan isolat dalam metanol dan berturut-turut dilakukan pemberian pereaksi NaOH, H₃BO₃, AlCl₃ dan NaOAc, dengan tahap-tahap:

a. Tahap I

Larutan isolat flavonoida dalam metanol dimasukkan dalam kuvet sampel. Pada kuvet blangko dimasukkan metanol. Serapan dibaca bersama-sama pada panjang gelombang 200 – 400 nm.

b. Tahap II

Larutan dalam kuvet pada tahap I ditambah 3 tetes pereaksi NaOH 2M dan dibaca serapannya pada panjang gelombang 200 - 400 nm. Lima menit kemudian pembacaan dilakukan kembali untuk mengetahui kemungkinan terjadinya dekomposisi flavonoida.

c. Tahap III

Larutan isolat flavonoida yang baru dalam kuvet sampel ditambah 3 tetes pereaksi $AlCl_3$ dan dibaca serapannya pada panjang gelombang 200 - 400 nm.

d. Tahap IV

Larutan dalam kuvet sampel pada tahap III ditambah 3 tetes pereaksi HCL dan dibaca serapannya pada panjang gelombang 200 - 400 nm.

e. Tahap V

Larutan isolat flavonoida baru dalam kuvet sampel ditambah serbuk NaOAc anhidrat kira-kira 2 mm pada dasar kuvet, dikocok dan dibaca serapannya pada panjang gelombang 200 - 400 nm.

f. Tahap VI

Larutan sampel pada tahap V ditambah serbuk H_3BO_3 dengan jumlah setengah dari jumlah NaOAc yang digunakan, dicampur dan dibaca serapannya pada panjang gelombang 200 - 400 nm.

F. Tata Cara Analisis Hasil

Data yang diperoleh berupa hasil reaksi warna, warna bercak pada kromatogram, dan data dari spektrofotometri UV berdasarkan puncak yang ditampakkan, dianalisis menggunakan pustaka acuan Mabry, *et al.*, (1970), Harborne (1987), dan Markham (1988).

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan untuk menghindari terjadinya kekeliruan terhadap tanaman lain dan memastikan bahwa tanaman yang digunakan untuk penelitian adalah benar semanggi gunung (*Oxalis corniculata* L.).

Determinasi tanaman semanggi gunung dilakukan dengan mencocokkan keadaan tanaman dengan ciri-ciri yang terdapat pada pustaka acuan (Backer, 1973) di Laboratorium Kebun Obat Farmasi USD. Berdasarkan hasil determinasi, dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Oxalis corniculata* L. (lampiran 1).

B. Pengumpulan dan Pengeringan Bahan

Bahan tanaman yang digunakan untuk penelitian berupa herba semanggi gunung yang diambil dan dikumpulkan dari lingkungan Farmasi USD Paingan, Maguwoharjo, Depok, Sleman, DIY.

Herba yang telah terkumpul disortasi untuk menghindari tercampurnya dengan bahan atau tanaman lain yang tidak diperlukan dalam penelitian. Herba kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel. Pengeringan herba semanggi gunung dilakukan di bawah sinar matahari dengan cara ditutupi kain hitam. Pengeringan dimaksudkan untuk mengurangi kadar air sehingga dapat mencegah timbulnya kapang dan bakteri, dan menghentikan reaksi enzimatik

yang dapat menguraikan senyawa aktif dari serbuk. Bahan yang dikeringkan harus sering dibalik agar pemanasannya merata. Setelah kering, bahan dirajang untuk memudahkan proses pembuatan serbuk. Herba kering dihaluskan dengan blender dan disaring dengan ayakan tepung sehingga diperoleh serbuk yang halus. Tujuan pembuatan serbuk adalah memperbesar luas bidang kontak antara bahan dengan cairan penyari sehingga penyarian akan lebih efektif.

C. Ekstraksi Flavonoida

Ekstraksi serbuk herba semanggi gunung dilakukan secara maserasi. Maserasi dimaksudkan untuk menarik atau mengambil senyawa utama yang terkandung dalam herba semanggi gunung dengan penyari yang cocok. Pemilihan metode maserasi karena sederhana, mudah dikerjakan, dan tidak melalui proses pemanasan sehingga tidak terjadi kerusakan zat aktif dalam herba semanggi gunung. Kelemahan maserasi yaitu waktu yang diperlukan untuk mengerjakannya lama. Penelitian ini merupakan uji kualitatif sehingga dengan penyarian secara maserasi sudah cukup untuk mendapatkan ekstrak yang dibutuhkan.

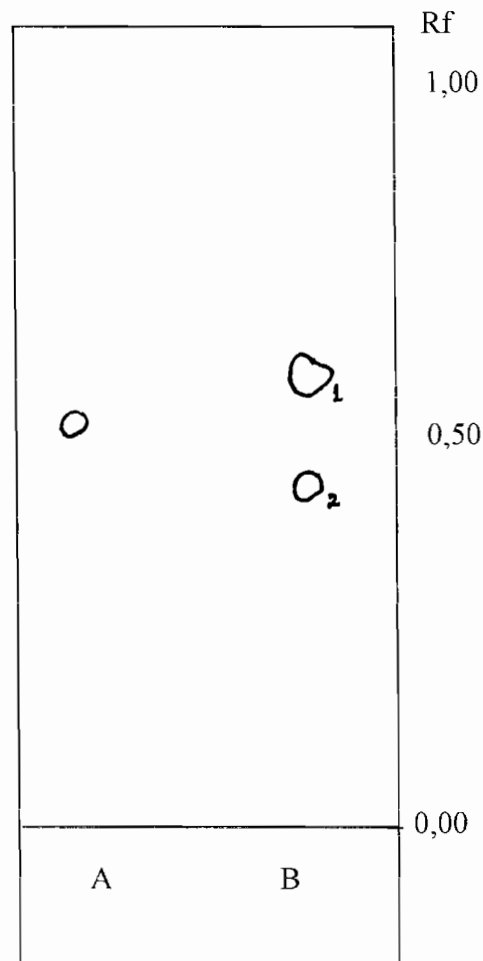
Berdasarkan hasil orientasi cairan penyari yang digunakan adalah metanol, karena menghasilkan bercak KLT yang jelas dibandingkan dengan pelarut yang lain. Maserasi dilakukan dalam Erlenmeyer selama 24 jam sambil kadang-kadang digojog untuk meratakan konsentrasi larutan sehingga tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sebesar-besarnya antara larutan yang di dalam dan di luar sel. Maserasi dihentikan bila filtrat yang diperoleh sudah bening dan menguji filtrat

dengan ditetaskan pada kertas saring kemudian diuapi amonia. Bila tidak terjadi warna kuning pada kertas saring maka ekstraksi flavonoida dinyatakan sempurna. Dari hasil tersebut diperoleh ekstrak etanol yang selanjutnya digunakan untuk uji kualitatif secara KLT dan KLTP.

D. Isolasi dan Identifikasi Flavonoida dengan KLT dan KLTP

Ekstrak metanol dianalisis secara KLT dengan fase diam selulosa dan fase gerak BAA (4:1:5 v/v; fase atas). Untuk deteksi bercak digunakan lampu UV 365 nm sebelum dan sesudah diuapi amonia. Dari hasil kromatografi diperoleh 2 bercak yang terpisah (gambar 4, tabel VIII).

Flavonoida dari ekstrak metanol semanggi gunung diisolasi secara KLTP dengan cara ditotolkan berupa garis pada lempeng kromatografi dengan fase diam selulosa dan fase gerak BAA (4:1:5 v/v, fase atas). Penotolan diulang beberapa kali agar bercak yang diperoleh lebih jelas. Pengembangan dilakukan dengan jarak 10 cm dari totolan awal. Bercak pita dengan harga Rf dan warna yang sama dengan bercak yang dipilih pada pemeriksaan sebelumnya, dikerok kemudian dikumpulkan dan diekstraksi dengan metanol. Hasil isolasi KLTP selanjutnya disebut isolat flavonoida.



Gambar 4. Kromatogram ekstrak metanol semanggi gunung dengan fase diam selulosa dan fase gerak BAA (4:1:5 v/v; fase atas), jarak pengembangan 10 cm, deteksi dengan UV 365 nm.

Keterangan : A. Pemanding (rutin)

Warna : ungu, Rf : 0,51

B. Sampel (ekstrak metanol herba semanggi gunung)

1. Ungu , Rf : 0,69

2. Ungu , Rf : 0,47

Tabel VIII. Data kromatogram dari bercak KLT ekstrak metanol dengan fase diam selulosa dan fase gerak BAW (4:1:5 v/v, fase atas). Deteksi dengan sinar UV 365 nm sebelum dan sesudah diuapi amonia.

Bercak		Rf	Warna Bercak			
			Tanpa pereaksi		Amonia	
			Cahaya tampak	UV 365nm	Cahaya tampak	UV 365 nm
Pembanding (rutin) A		0,54	Tidak berwarna	Ungu	Kuning	Ungu
Sampel B	a	0,69	Tidak berwarna	Ungu	Kuning	Kuning
	b	0,47	Tidak berwarna	Ungu	Kuning	Kuning

Penggunaan rutin sebagai pembanding hanya untuk pemeriksaan awal pada KLT dengan diuapi amonia, memastikan apakah terdapat flavonoida pada isolat semanggi gunung. Adanya kandungan flavonoida ditunjukkan dengan terjadinya warna kuning setelah diuapi amonia.

Bercak sampel (a dan b) dan pembanding (rutin) memiliki penampakan yang sama pada sinar tampak dan UV 365 nm sebelum diuapi amonia. Pada sinar tampak sebelum diuapi amonia tidak ada bercak yang tampak dan pada lampu UV 365 nm berwarna ungu. Setelah diuapi amonia, pada rutin (pembanding) terlihat bercak berwarna kuning pada sinar tampak dan bercak berwarna ungu pada lampu UV 365 nm. Sedangkan pada sampel (a dan b) setelah diuapi amonia, pada cahaya tampak dan UV 365 nm terlihat bercak berwarna kuning. Menurut Markham (1988), berdasarkan deteksi bercak pada kromatogram dapat ditafsirkan bahwa bercak noda tersebut adalah flavonoida golongan flavon dengan 5- OH dan 4'- OH.

Dari bercak yang tampak (pada tabel VIII) dipilih 1 bercak dengan harga Rf 0,69 karena menunjukkan intensitas warna yang lebih jelas dan bercak yang lebih besar.

E. Pemeriksaan Kemurnian Isolat Flavonoida

Pemeriksaan kemurnian isolat flavonoida hasil KLTP dilakukan secara KLT 2 arah dengan dua macam fase gerak. Fase gerak BAW (4:1:5 v/v, fase atas) untuk arah I, dan asam asetat 15 % v/v sebagai fase gerak arah II.

Hasil KLT 2 dimensi memperlihatkan bercak tunggal dengan Rf 0,69 untuk arah I dan Rf 0,75 untuk arah II. Terjadinya bercak tunggal menunjukkan bahwa senyawa tersebut sudah murni secara kromatografi (gambar 5) dan dapat diperiksa secara spektrofotometri UV. Digunakan 2 macam fase gerak karena untuk melihat bahwa pada fase gerak yang berbeda benar-benar hanya ada satu bercak saja tidak terjadi penumpukan bercak.

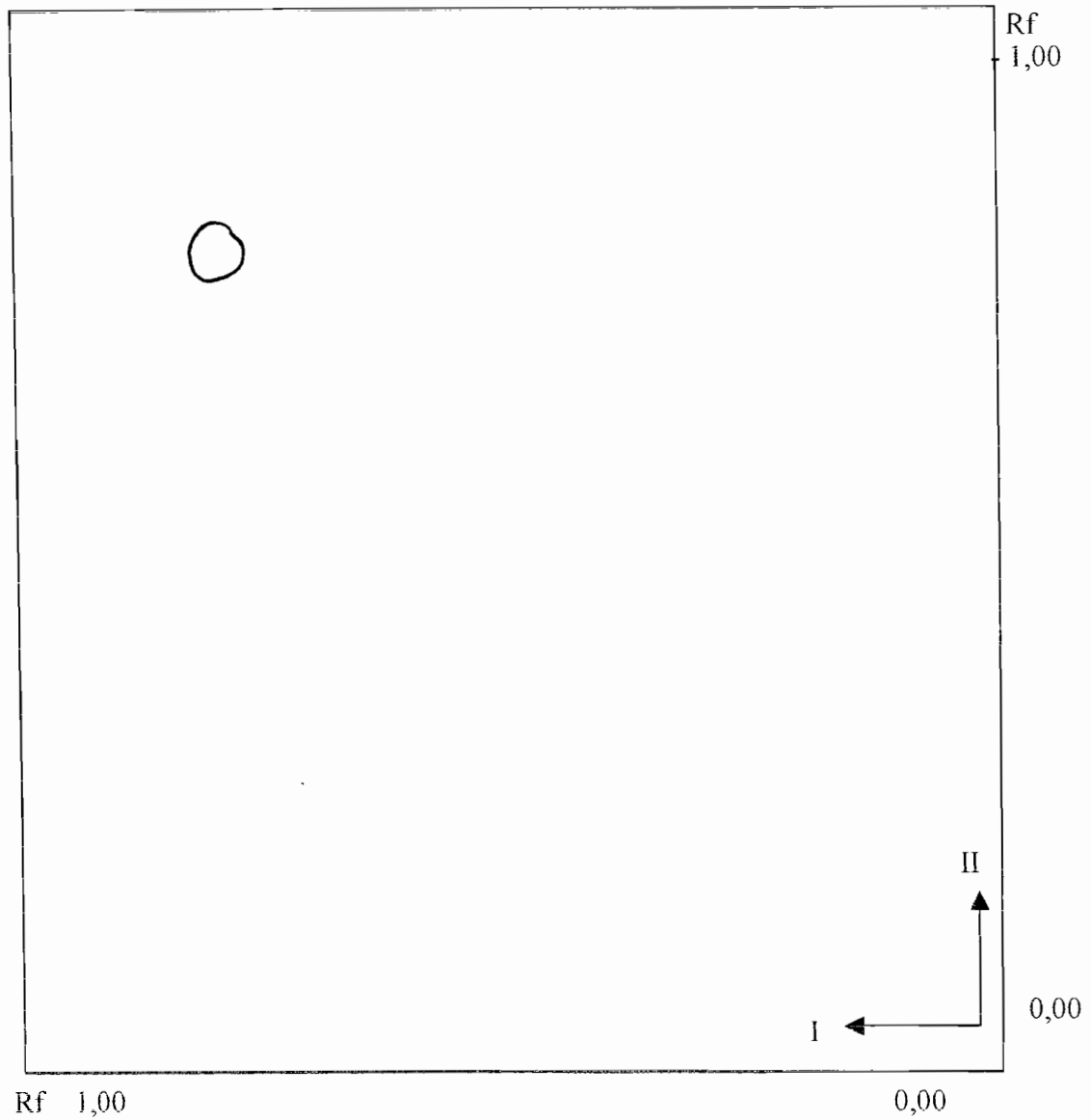
F. Pemeriksaan Flavonoida dengan Reaksi Warna

Untuk memastikan apakah flavonoida yang terkandung dalam herba semanggi gunung adalah golongan flavon, dilakukan reaksi warna menggunakan pereaksi NaOH, H₂SO₄ pekat, dan serbuk Mg- HCl (tabel IX).

Tabel IX. Reaksi warna isolat flavonoida dengan pereaksi warna golongan flavon dibandingkan dengan pustaka Venkataraman (1962).

Pereaksi	Larutan isolat	Pustaka
NaOH	Kuning	Kuning/ jingga
H ₂ SO ₄ pekat	Merah muda	Kuning
Serbuk Mg-HCl	Merah	Merah/ violet

Dari hasil data tersebut dan dibandingkan dengan pustaka Venkataraman (1962) dapat disimpulkan bahwa isolat flavonoida ekstrak metanol herba semanggi gunung mengarah pada golongan flavon.



Gambar 5 . Kromatogram lapis tipis 2 dimensi ekstrak metanol dengan fase diam selulosa dan fase gerak BAA (4:1:5 v/v, fase atas) untuk arah I dan asam asetat 15 % v/v untuk arah II. Jarak pengembangan 10 cm dan dideteksi dengan sinar UV 365 nm. Satu bercak menunjukkan senyawa tersebut adalah murni.

G. Identifikasi Flavonoida secara Spektrofotometri UV

Berdasarkan pemeriksaan secara KLT dan reaksi warna yang kemudian dicocokkan dalam pustaka (Venkantaraman, 1962), flavonoida yang diisolasi dari herba semanggi gunung ini mengarah pada golongan flavon. Untuk menentukan struktur dari flavonoida viteksin, dilakukan analisis secara spektrofotometri UV.

Hasil pemeriksaan spektrofotometri UV dalam pelarut metanol memberikan puncak serapan pada panjang gelombang 331 nm (puncak I) dan 270 nm (puncak II). Spektrum ini menunjukkan flavonoida herba semanggi gunung mengarah pada golongan flavon. Timbulnya 2 puncak dikarenakan pada struktur flavonoida terdapat 2 komponen penyerap yaitu cincin benzoil dan cinnamoil. Pada komponen penyerap cinnamoil merupakan puncak serapan pada pita II dengan panjang gelombang 270 nm, sedangkan komponen penyerap benzoil pada puncak serapan pada pita I dengan panjang gelombang 331 nm. Pita I lebih panjang karena ikatan rangkap terkonjugasi lebih banyak dari pita II. Makin banyak ikatan rangkap terkonjugasi akan memperkecil energi yang diperlukan untuk transisi elektron π ke π^* sehingga akan menyerap radiasi UV pada panjang gelombang yang lebih panjang.

Penambahan pereaksi NaOH dalam metanol, menghasilkan puncak serapan 391 nm (puncak I) dan 276 nm (puncak II). Menurut Mabry, *et al.*, (1970); dan Markham (1988) pergeseran batokromik puncak I sebesar 60 nm tanpa penurunan intensitas menunjukkan adanya gugus 4'-OH. Setelah 5 menit, terjadi

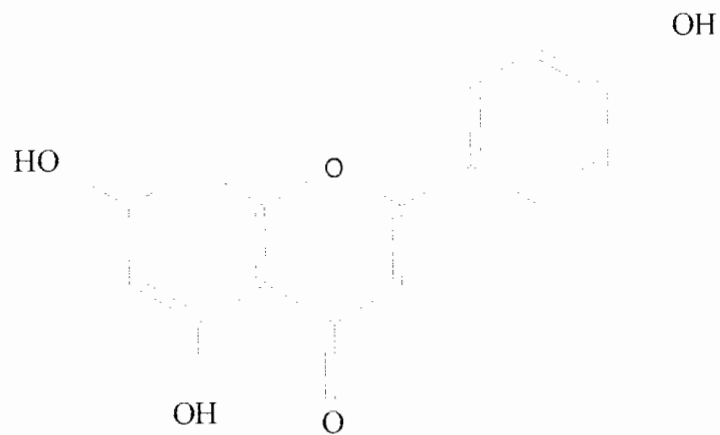
pergeseran batokromik sebesar 3 nm, ini menunjukkan tidak terjadinya dekomposisi dimana gugus 4' OH stabil dengan penambahan NaOH.

Penambahan natrium asetat menghasilkan spektra dengan puncak serapan pada 333 nm (puncak I) dan 274 nm (puncak II). Pergeseran puncak I (dari 331 nm ke 333 nm) dan puncak II sebesar 4 nm (270 nm ke 274 nm) menunjukkan adanya gugus OH di cincin nomor 7. Efek natrium asetat akan mengionisasi gugus yang sifat keasamannya tinggi, digunakan untuk mendeteksi adanya gugus 7-OH bebas. Flavon dan flavonol dengan gugus 7-OH bebas menunjukkan pergeseran batokromik sebesar 5 – 20 nm pada pita II dengan natrium asetat, tetapi pergeseran batokromik bisa berkurang bila terjadi oksigenasi pada C6 atau C8. Penambahan asam borat menghasilkan puncak pada 335 nm (puncak I) dan 270 nm (puncak II). Menurut Mabry, *et al.*, (1970) dan Markham (1988) pergeseran batokromik terhadap spektra MeOH sebesar 4 nm pada puncak I dapat menunjukkan adanya gugus orto dihidroksi di cincin A pada posisi 7 dan 8.

Adanya penambahan AlCl_3 memberikan puncak serapan pada 338 nm (puncak I) dan 273 nm (puncak II), terjadi pergeseran batokromik puncak I sebesar 7 nm (dari 331 nm ke 338 nm) menunjukkan bahwa tidak ada gugus orto dihidroksi pada cincin B. Penambahan HCl ke dalam larutan sampel yang telah ditambah AlCl_3 menghasilkan puncak serapan pada 343 nm (puncak I) dan 279 nm (puncak II). Menurut Mabry, *et al.*, (1970) dan Markham (1988) pergeseran batokromik yang

terjadi pada puncak I sebesar 12 nm nisbi terhadap spektrum MeOH (331 nm ke 343 nm) dapat menunjukkan adanya gugus 5-OH.

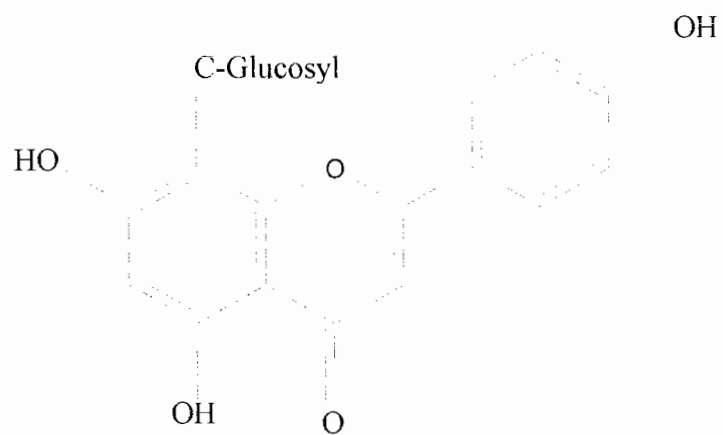
Berdasar analisis pada reaksi warna dan spektrofotometri UV, maka hasil isaolasi dan identifikasi flavonoida herba semanggi gunung adalah turunan 5, 7, 4'-trihidroksi flavon (epigenin).



Gambar 6. 5, 7, 4'- trihidroksi flavon (epigenin)

Pada penelitian ini tidak ditemukan viteksin, tetapi senyawa epigenin yang merupakan aglikon dari viteksin. Untuk penelitian struktur flavonoida secara lengkap, metode spektrofotometri UV kurang memberikan informasi yang jelas. Metode ini hanya dapat memberikan informasi gugus hidroksi dari flavonoida yang diteliti. Pada struktur viteksin, terdapat C-glukosa pada cincin A nomor 8. Tetapi pada penelitian, gugus tersebut tidak dapat terdeteksi. Metode spektrofotometri UV tidak bisa memberikan informasi secara jelas mengenai tipe, macam ikatan C atau O- glikosida

yang mungkin ada pada flavonoida tersebut dan untuk mendeteksi rantai samping hidrokarbon seperti $-CH_3$ yang terikat pada C dan prenil yang terikat pada C (atau O).



Gambar 7. Struktur vitexin

Tabel X .Data hasil analisis spektrofotometri UV

reaksi	Puncak I	Puncak II	Pergeseran		Penafsiran (Markham,1988)
			Puncak I	Puncak II	
MeOH	331nm	270 nm	-	-	Golongan flavon
NaOH	391nm	276 nm	+60 nm	-	Adanya 4'-OH
NaOH 5'	394 nm	277 nm	+63 nm		Tidak terjadi dekomposisi
NaOAC	333 nm	275 nm	-	+5 nm	Menunjukkan adanya 7-OH
NaOAC/H ₃ BO ₃	335 nm	270 nm	+4 nm	-	tidak ada orto dihidriksi pada cincin A.
AlCl ₃	338 nm	273 nm	+7 nm	-	menunjukkan adanya 5-OH
AlCl ₃ /HCl	343 nm	279 nm	12 nm	-	tidak ada orto dihidroksi pada cincin B.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian isolasi dan identifikasi flavonoida dari herba semanggi gunung secara KLT, reaksi warna, dan analisis spektrofotometri UV diperoleh turunan 5, 7, 4', trihidroksi flavon (epigenin) yang merupakan aglikon dari viteksin.

B. SARAN

Agar lebih bermanfaat, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap kandungan kimia yang diduga flavonoida dari golongan lain dalam herba semanggi gunung.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1978, *Tumbuhan Obat*, Proyek Sumber Daya Ekonomi, Lembaga Biologi Nasional, LIPI, Bogor.
- Anonim, 1986, *Sediaan Galenik*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 3-20.
- Anonim, 1995, *Materi Medika Indonesia*, Jilid VI, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 185-190.
- Backer, C.A., 1973, *Atlas of 220 Weeds of Sugar-Cane Fields in Java*, Vol VII, Indonesian Sugar Experiment Station (BP3G), Pasuruan, Indonesia, 371.
- Ham, S.T., 1998, *Medicinal Plant in The South Pacific, Information on 102 Commonly used Medicinal Plants in the South Pacific*, WHO Regional Publications Western Pacific, 135.
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, edisi II, ITB, Bandung, 62-115.
- Hattori, S., 1986, *Glicosides of Flavones and Flavonols*, in Geissman, T.A., (Ed.). *The Chemistry of Flavonoids Compounds*, 323.
- Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Jilid II, cetakan 1, Badan Litbang Kehutanan, Penerbit Yayasan Sarana Wana Jaya, Jakarta, 1070.
- Hostettmann, K., 1995, *Metode Kromatografi Lapis Tipis Preparatif*, Erlangga, Bandung, 9-11.
- Mabry, T. J., Markham, K.R., and Thomas, M.B., 1970, *The Systematic Identification of Flavonoids*, Spinger-Varlag, New York-Heidelberg-Berlin, 7-58.
- Markham, K.R., 1988, *Techniques of Flavonoid Identification*, diterjemahkan oleh Padmawinata, ITB Press, Bandung, 1-60.
- Mursyidi, A., 1990, *Analisis Metabolit Sekunder*, cetakan 1, Pusat Antar Universitas Bioteknologi, UGM Press, Yogyakarta.
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Edisi VII, ITB, Bandung, 191-193.

- Sastrohamidjojo, H., 1985, *Spektroskopi*, Edisi I, Liberty, Yogyakarta, 1-2.
- Silverstein, R.M., Baser, C.G., and Morill, I.G., 1986, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, diterjemahkan oleh Hartomo, A.J., Edisi IV, Erlangga, Jakarta.
- Stahl, E., 1985, *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Iwang Sudiro, ITB, Bandung, 3-19.
- Sudiby, M., 1998, *Alam Sumber Kesehatan*, Balai Pustaka, Jakarta.
- Tjitrosoepomo, G., 1994, *Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan*, UGM Press, Yogyakarta.
- Venkataraman, K., 1962, *Method for Determining the Structure of Flavonoids Compounds*, in Geissman, T.A., (Ed.). *The Chemistry of Flavonoids Compounds*, 72-75.



FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS SANATA DHARMA

49

(KAMPUS III) Paingan Maguwoharjo, Depok, Sleman, Yogyakarta 55281
Alamat Surat : Mrican, Tromol Pos 29, Yogyakarta 55002
Telp. (0274) 883037, 883968 Fax. (0274) 886529 - Telegram : SADHAR YOGYA
E-mail : Farmasi@usd.ac.id

SURAT PENGESAHAN DETERMINASI

Nomor : 262 /L.KTO/far-USD/ 1 / 04

Laboratorium Kebun Obat, Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, menyatakan bahwa telah dilakukan determinasi terhadap satu contoh tanaman, dengan nama :

Oxalis corniculata L.
(Semanggi Gunung)

Determinasi telah dilakukan secara benar sesuai dengan :

Backer, C.A., 1973, Atlas of 220 Weeds of Sugar-Cane
Fields in Java, Vol VII, hal 371, Indonesian Sugar
Experiment Station (BP3G), Pasuruan, Indonesia.

hingga kategori : **jenis (spesies)**

Tanaman tersebut dipakai dalam penelitian :

Isolasi dan Identifikasi Flavonoida pada
Herba Semanggi Gunung (*Oxalis corniculata* L.)

oleh : **Christine Ender Budiarti**

dari : **Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma**

Herbarium disimpan oleh Laboratorium Biologi Umum, Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, dengan nomor katalog :

Demikian surat pengesahan determinasi ini dibuat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 5 Januari 2004

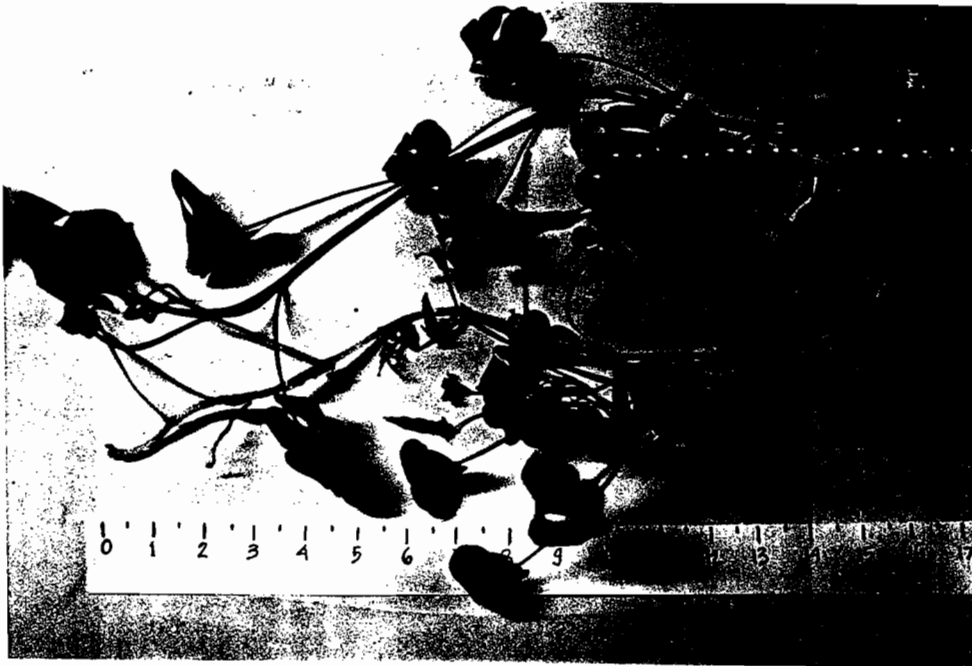
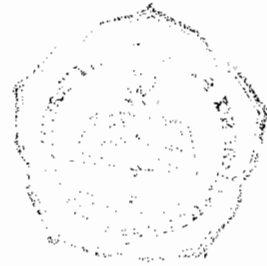
Mengesahkan,
Kepala Laboratorium Kebun Obat

(Erna Tri Wulandari, M.Si., Apt.)

Determinator,

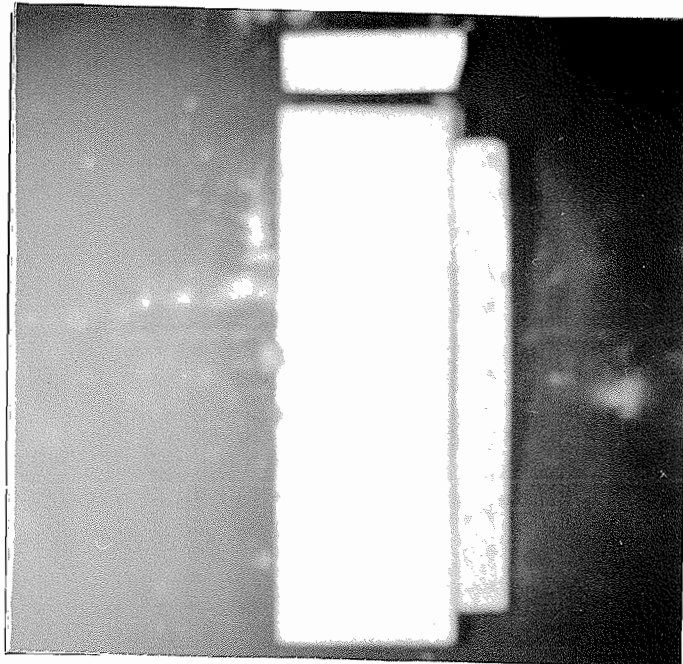
(Ign. Y. Kristio B.M.Si.)

Lampiran 2.

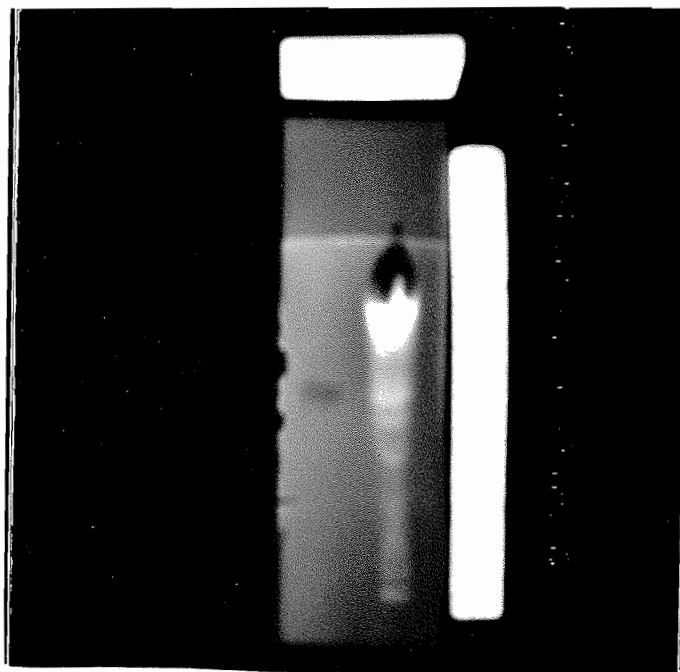


Tanaman semanggi gunung (*Oxalis corniculata* L.)

Lampiran 3.

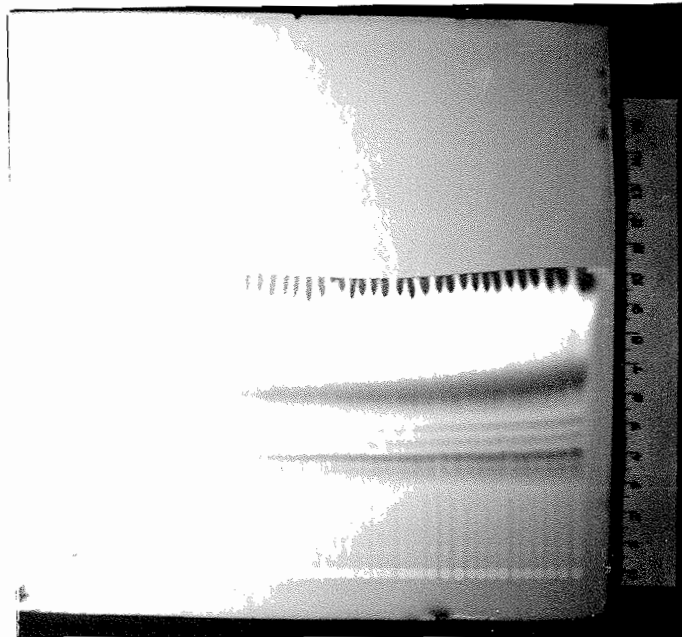


3.1. Foto KLT ekstrak etanol dengan fase diam selulosa dan fase gerak BAA (4:1:5 v/v, fase atas) untuk pemeriksaan pendahuluan senyawa flavonoida dilihat pada UV 365 nm.

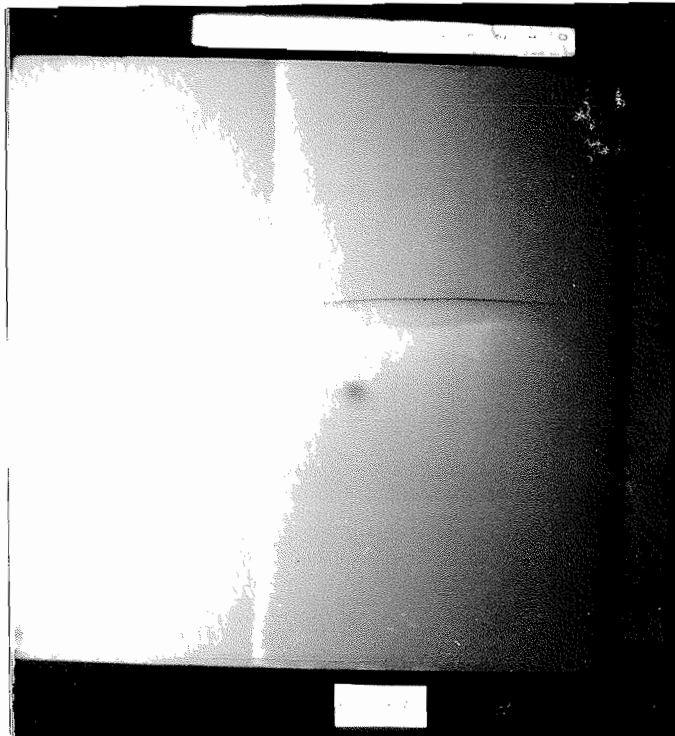


3.2. Foto KLT ekstrak etanol dengan fase diam selulosa dan fase gerak BAA (4:1:5 v/v, fase atas) untuk pemeriksaan pendahuluan senyawa flavonoida dengan diuji amonia dilihat pada UV 365 nm.

Lampiran 4



- 4.1. Foto kromatografi lapis tipis preparatif ekstrak etanol herba semanggi gunung dengan fase diam selulosa dan fase gerak BAA (4:1:5 v/v, fase atas) dilihat pada UV 365 nm

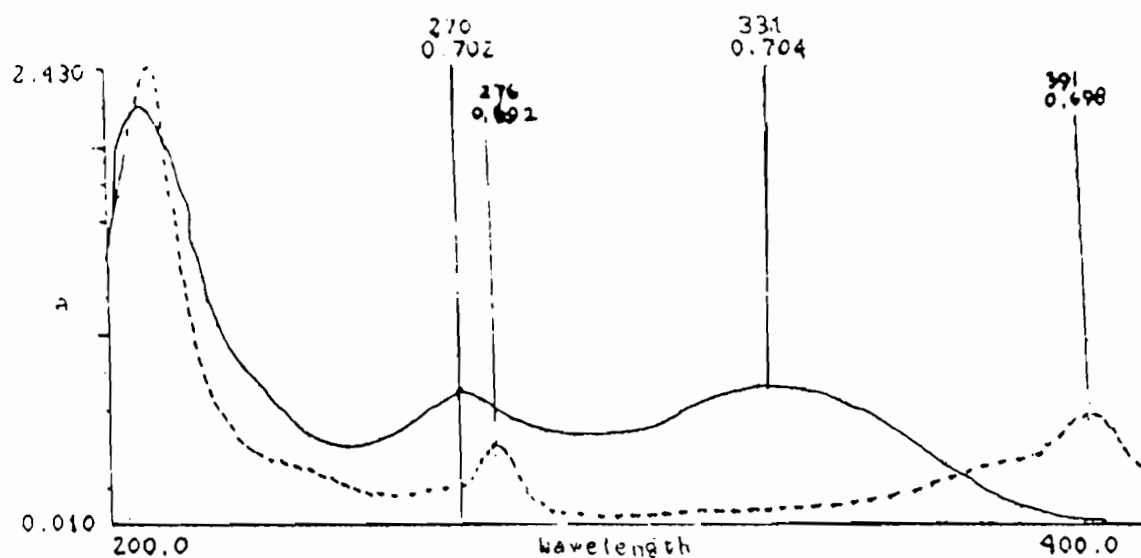


- 4.2. Foto kromatografi dua dimensi ekstrak etanol herba semanggi gunung dengan fase diam selulosa dan fase gerak BAA (4:1:5 v/v, fase atas) dilihat pada UV 365 nm

Lampiran 5.1

TEST SETUP
 GENESYS 6 v1.001 2M8E074001

Scanning	8:54pm 18Sep03
Test Name	SG
Measurement Mode	Absorbance
Start Wavelength	200.0nm
Stop Wavelength	400.0nm
Sample Positioner	Manual 6
Scan Speed	Fast
Interval	1.0nm
Cell Correction	Needs Auto6/3
ID# (0=OFF)	1
Auto Print	Off
Auto Save Data	Off



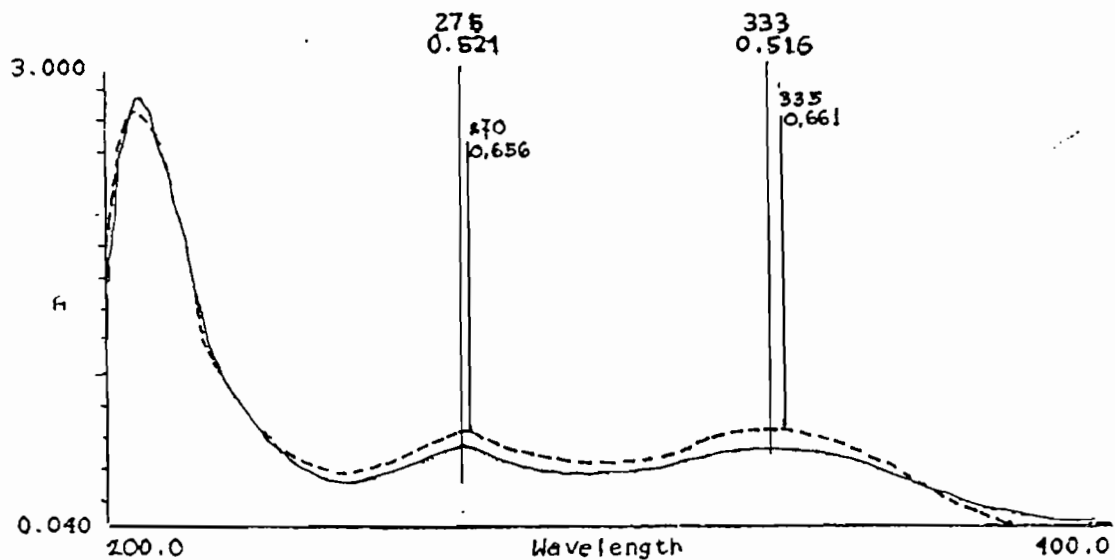
ID#: 2
 Area(Zero)= 35.95
 Factor= 1.000

Ket: NaOH + MeOH
 —————: MeOH

Lampiran B.2

TEST SETUP
GENESYS 6 01.001 2MSE074001

Scanning	9:19pm 18Sep03
Test Name	NaOAc
Measurement Mode	Absorbance
Start Wavelength	200.0nm
Stop Wavelength	400.0nm
Sample Positioner	Manual 6
Scan Speed	Fast
Interval	1.0nm
Cell Correction	Needs Auto6/3
ID# (0=OFF)	1
Auto Print	Off
Auto Save Data	Off

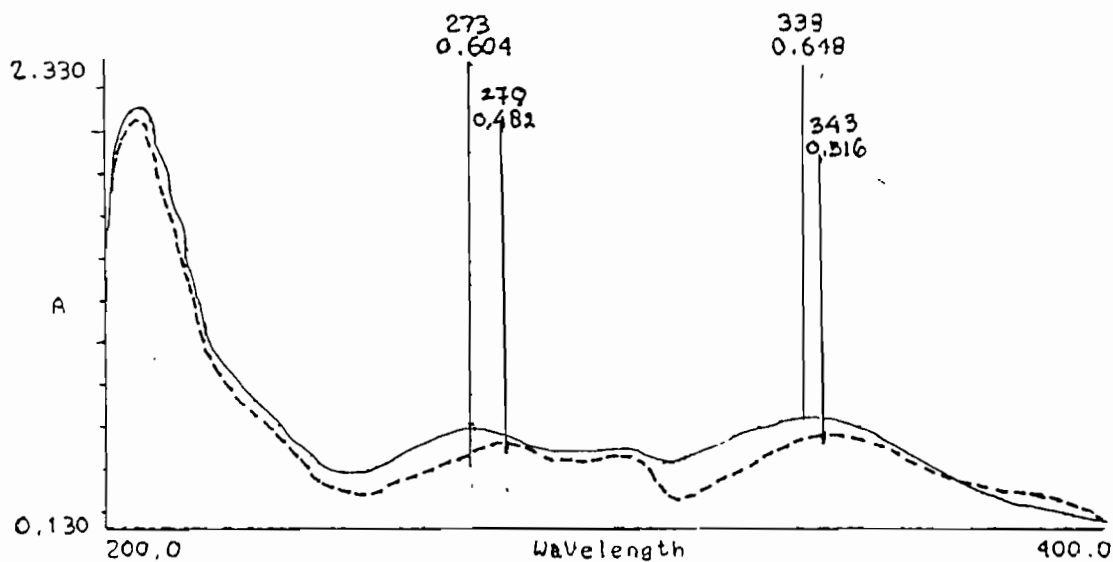


ID#: 1
Area(Zero) = 27.20
Factor = 1.000

Ket -----: NaOAc H₃BO₃
 _____ : NaOAc

TEST SETUP
GENESYS 6 01.001 2H8E074001

Scanning	9:12pm 18Sep03
Test Name	AlCl3
Measurement Mode	Absorbance
Start Wavelength	200.0nm
Stop Wavelength	400.0nm
Sample Positioner	Manual 6
Scan Speed	Fast
Interval	1.0nm
Cell Correction	Needs Auto6/3
ID# (0=OFF)	1
Auto Print	Off
Auto Save Data	Off



ID#: 1
Area(Zero)= 35.57
Factor= 1.000

Ket ----- : AlCl₃ HCl
————— : AlCl₃

BIOGRAFI PENULIS



Penulis dilahirkan di Gunung Kidul pada 14 Februari 1980 sebagai anak pertama dari pasangan Martinus Budiman, S.Pd. dan Maria Magdalena Warjiyem, Amd, Keb. Pada tahun 1992 menyelesaikan Sekolah Dasar di SDN Kelor dan melanjutkan ke SMPN 1 Karangmojo yang lulus pada tahun 1995.

Menyelesaikan pendidikan perawat kesehatan di Bethesda pada tahun 1998 dan pada tahun 1999 lulus dari SMU Perak Yogyakarta. Penulis melanjutkan pendidikan S1 di Fakultas Farmasi Sanata Dharma Yogyakarta dan lulus pada tahun 2004.