Isolasi dan Ekstraksi Kelompok Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*)

Atikah Halimah Putri*, Ria Siti Putriyana, Novia Silviani

Teknik Kimia, Politeknik Negeri Bandung, Bandung 40012

INFO ARTIKEL

Diterima 17 Juli 2019
Disetujui 1 Agustus 2019

Key word:

Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata*),
Extraction,
Flavonoids,
Thin layer chromatography

Kata kunci:

Cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*),
Ekstraksi,
Flavonoid,
Kromatografi lapis tipis

ABSTRACT

Cocor bebek contains secondary metabolites which are useful in the field of pharmacology. This experiment aims to isolate flavonoid compounds which are secondary metabolites in cocor bebek. The extraction method uses maceration with methanol solvents, followed by partitions using ethyl acetate solvents. Identification of flavanoid group compounds was analyzed qualitative testing using FTIR and Thin Layer Chromatography (TLC) with the mobile phase of ethyl acetate : n-hexane with a ratio of 8:2, 7:3, 5:5, 3:7, and 2:8. The experimental results obtained from 600 grams of fresh cocor bebek leaves producing 3 gram of flavonoid extract. The qualitative test gave positive results for the TLC method the presence of flavonoids in the leaves of cocor bebek on spot yellow. While the levels of flavonoids in the extract of cocor bebek are obtained 4.20 ppm.

ABSTRAK

Daun Cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) yang mengandung senyawa metabolit sekunder yang bermanfaat dalam bidang farmakologi. Percobaan ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa golongan flavonoid pada tanaman cocor bebek. Metode ekstraksi menggunakan maserasi dengan pelarut metanol yang dilanjutkan dengan partisi menggunakan pelarut etil asetat. Identifikasi senyawa golongan flavanoid dianalisis secara kualitatif menggunakan FTIR dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fasa gerak etil asetat : n-heksan dengan perbandingan 8:2, 7:3, 5:5, 3:7, dan 2:8. Hasil percobaan diperoleh dalam 600 gram daun cocor bebek segar menghasilkan ekstrak flavonoid 3 gram. Uji kualitatif menggunakan metode KLT memberikan hasil positif adanya senyawa golongan flavonoid dalam daun cocor bebek yang ditandai bercak berwarna kuning kehijauan. Sementara kadar flavonoid di dalam ekstrak cocor bebek diperoleh 4,20 ppm.

*e-mail: atikahhp16@gmail.com

*Telp: 08179294177

Pendahuluan

Indonesia merupakan salah satu negara yang terkenal akan keanekaragaman hayati, khususnya tanaman yang dapat digunakan sebagai obat sejak zaman nenek moyang kita. Dari sekitar 30.000 *species* tanaman yang ada di Indonesia, 7.000 *species* merupakan tanaman obat dan 4.500 *species* diantaranya berasal dari pulau Jawa [1]. Di dalam tanaman tersebut terdapat senyawa organik bahan alam sangat penting peranannya dalam bidang farmakologi. Studi bahan alam dalam bidang kimia dapat beraspek luas antara lain suatu penelitian

terhadap struktur dan biosintesis, isolasi dan identifikasi senyawa-senyawa berkhasiat atau berguna. Senyawa bahan alam yang telah banyak dimanfaatkan sebagai obat merupakan senyawa metabolit sekunder. Salah satu senyawa metabolit sekunder yang tersebar merata dalam dunia tumbuh-tumbuhan dan ditemukan pada hampir semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nectar, bunga, buah dan biji adalah senyawa Flavonoid.

Tanaman cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) merupakan tanaman yang mudah

untuk dibudidayakan di Indonesia. Tanaman cocor bebek tidak hanya digunakan sebagai tanaman hias, tetapi juga dapat digunakan sebagai tanaman obat. Kandungan kimia dalam daun cocor bebek antara lain senyawa steroid, alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin [2]. Dalam percobaan ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa bahan alam golongan flavonoid yang terdapat di dalam daun cocor bebek. Untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder flavonoid dari cocor bebek maka dilakukan proses isolasi sehingga dihasilkan senyawa tunggal (murni).

Flavanoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzena (C₆) terikat pada suatu rantai propena (C₃) sehingga membentuk suatu susunan C₆-C₃-C₆. Senyawa flavanoid merupakan suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, dan biru serta sebagai zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Menurut Koosha (2016) flavonoid terdiri dari subkelas utama yaitu flavonol, flavon, flavanon, flavan-3-ol, flavanol [3].

Gambar 1. Struktur Dasar Flavonoid

Isolasi flavonoid akan difokuskan pada ekstrak metanol. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Senyawa flavonoid pada umumnya mudah larut dalam air, terutama bentuk glikosidanya. Senyawa tersebut dapat diekstrak menggunakan pelarut air. Senyawa yang sedikit larut dalam air bersifat semi polar dapat diekstraksi dengan pelarut metanol, aseton, dan etanol ditinjau dari karakteristik kepolaran dari tanaman cocor bebek [2].

Uji kualitatif dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis dan spektrofotometer IR. Sedangkan untuk uji kuantitatif dapat dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis yaitu dengan mengukur nilai absorbansi

karena flavonoid mengandung sistem aromatis yang terkonjugasi dan dapat menunjukkan pita serapan kuat pada daerah UV-Vis [4]. Absorbansi sebagai analisa kuantitatif dilakukan berdasarkan Hukum Lambert-Beer. Menurut Dirjen POM (2014) range nilai absorbansi yang baik yaitu berkisar antara 0,2-0,8 di daerah ultraviolet atau cahaya tampak [5]. Berdasarkan Hukum Lambert-Beer, rumus yang digunakan untuk menghitung banyaknya cahaya yang hamburkan:

$$A = a \times b \times c \dots\dots\dots(i)$$

Dengan:

A = absorbansi (serapan)

a = Absorptifitas molar (M⁻¹cm⁻¹)

b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi (M)

Bahan dan Metode

Tahap Preparasi

Timbang daun cocor bebek kemudian cuci hingga bersih. Daun cocor bebek dipotong kecil-kecil dan dihaluskan.

Tahap Ekstraksi Daun Cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*)

Sebanyak 600 gram daun cocor bebek halus diekstraksi menggunakan 1,5 L pelarut metanol. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi dingin selama 3 x 24 jam.

Pemekatan atau Pengkisan

Proses ini dilakukan dengan pemanasan menggunakan *water bath*. Suhu pemanasan berkisar 70°C agar tidak merusak ekstrak yang dihasilkan. Proses pemekatan dilakukan hingga dipastikan pelarut metanol telah menguap sempurna.

Partisi

Metode yang digunakan adalah partisi cair. Jika suatu cairan ditambahkan ke dalam ekstrak yang telah dilarutkan dalam cairan lain yang tidak dapat bercampur dengan yang pertama, akan terbentuk dua lapisan. Satu komponen dari campuran akan memiliki kelarutan dalam kedua lapisan tersebut (biasanya disebut fasa) dan setelah beberapa waktu dicapai kesetimbangan konsentrasi

dalam kedua lapisan. Waktu yang diperlukan untuk tercapainya kesetimbangan biasanya dipersingkat oleh pencampuran keduanya dalam corong pisah [6].

Pengujian Hasil Ekstraksi Setelah Pemekatan Uji Kualitatif Kromatografi Lapis Tipis

Fase diam berupa pelat silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak berupa kombinasi pelarut etil asetat : *n*-heksan (8:2), (7:3), (5:5), (3:7), dan (2:8). Pelat KLT dimasukkan ke dalam bejana kromatografi yang sebelumnya telah dijenuhkan dengan fase gerak. Pola kromatogram diamati setelah disemprot dengan reagen AlCl₃ dan amati warna penampak bercak (noda).

Uji Kualitatif Menggunakan Spektrofotometer Infra Red (FTIR)

Analisis gugus fungsi suatu sampel dilakukan dengan membandingkan pita absorpsi yang terbentuk pada spektrum infra merah menggunakan tabel korelasi dan menggunakan spektrum senyawa pembanding (yang sudah diketahui).

Uji Kuantitatif Menggunakan Spektrofotometer Visibel Metode AlCl₃

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ Maks) Kuersetin dilakukan melalui *running* larutan kuersetin pada range panjang gelombang UV-Vis 400-450 nm. Standar kuersetin yang digunakan adalah 2; 4; 6; 8; 10; dan 12 ppm. Konsentrasi larutan standar kuersetin dan sampel dipipet 1 mL dan ditambahkan 1 mL AlCl₃ 2% dan 1 mL kalium asetat 120 mM. Sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar dalam wadah tertutup [4].

Berdasarkan pengukuran absorbansi, konsentrasi flavonoid dibaca dalam (μ g/mL) garis kalibrasi, kemudian kandungan flavonoid dalam ekstrak dinyatakan dalam ekuivalen kuersetin (mgQE/g ekstrak).

Hasil dan Pembahasan

Preparasi Sampel

Pada preparasi sampel dimulai dengan penghalusan, penghalusan daun cocor bebek bertujuan untuk memaksimalkan pembebasan senyawa aktif yang terkandung didalamnya karena dinding sel cocor bebek akan rusak

sehingga zat aktif terekstraksi dalam pelarut yang digunakan. Pelarut yang digunakan adalah metanol karena mempunyai sifat *like dissolve like* yaitu suatu zat akan terlarut dengan baik pada pelarut yang memiliki polaritas yang sama.. Dalam metanol terdapat gugus hidroksil pada strukturnya yang membuat metanol mampu menarik semua komponen polar, sedangkan adanya gugus metil membuat metanol mampu menarik semua komponen non-polar yang terkandung dalam daun *K. Pinnata* [7].

Metode Ekstraksi

Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruangan. Maserasi dilakukan menggunakan pelarut metanol selama 3x24 jam. Diperoleh hasil ekstraksi daun cocor bebek sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Daun Cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*)

Hari Ke	Jumlah Penambahan Metanol (mL)	Ekstrak cocor bebek (<i>Kalanchoe pinnata</i>)
1	600	Warna larutan hijau pekat dan tidak terdapat kekeruhan
2	600	Warna larutan hijau
3	490	Warna larutan hijau
4	600	Warna larutan hijau muda
5	500	Warna larutan hijau muda

Maserasi 24 jam pertama menghasilkan ekstrak berwarna hijau pekat yang menandakan bahwa ekstrak cocor bebek masih banyak mengandung air sehingga kemungkinan air ikut terekstraksi bersama zat aktif lainnya. Dilakukan maserasi berikutnya pada rafinat cocor bebek. Ekstrak cocor bebek dalam metanol yang sudah terkumpul pada hari pertama mengalami perubahan warna menjadi kuning kehijauan dan terdapat gumpalan bertekstur seperti karamel berwarna cokelat. Zat ini kemungkinan adalah getah daun yang terakumulasi pada ekstrak setelah didiamkan selama berjam-jam yang kemudian dapat dihilangkan dengan cara disaring. Maserasi dilakukan sampai diperkirakan zat aktif dalam daun cocor bebek sudah terekstraksi semua

yang ditandai dengan warna larutan hijau muda.

Pemekatan Menggunakan Metode Penguapan

Hasil ekstrak metanol yang diperoleh diuapkan pada suhu penguapan $\pm 70^\circ\text{C}$ sehingga suhu tersebut cukup baik untuk penguapan cocor bebek. Suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan senyawa yang terkandung mengalami dekomposisi, sehingga hal tersebut dihindari pada proses ini. Proses pemekatan menghasilkan ekstrak cocor bebek yang lebih kental dan warnanya semakin pekat (hijau kehitaman).

Partisi

Metode partisi yang digunakan adalah ekstraksi cair-cair berdasarkan perbedaan kepolaran larutan. Pelarut yang digunakan adalah etil asetat. Partisi dilakukan sebanyak tiga kali hingga diperoleh ekstrak yang mempunyai warna yang lebih pudar dari warna sebelumnya. Proses ekstraksi ini menghasilkan dua fasa, dimana lapisan atas adalah fraksi etil asetat dan lapisan bawah adalah fraksi air. Fraksi etil asetat inilah yang mengandung senyawa flavonoid yang bersifat polar. Kemudian fraksi etil asetat dilakukan pemekatan hingga menghasilkan ekstrak etil asetat sebanyak 3 gram. Pada proses pemekatan fraksi etil asetat ini, ekstrak berbentuk pasta dengan warna menjadi lebih pekat dari sebelumnya (hijau kehitaman).

Uji Kualitatif Flavonoid Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis

Analisis dengan menggunakan KLT merupakan pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (pelarut).

Gambar 2. Hasil Uji Flavonoid Menggunakan KLT

Hasil percobaan diperoleh bentuk bercak yang dari eluen dengan berbagai perbandingan memberikan hasil uji positif terkandung flavonoid dalam ekstrak cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) yang ditandai dengan warna hijau yang semakin terlihat ketika disemprotkan reagen AlCl_3 . Perbandingan eluen yang digunakan etil asetat:*n*-heksan (8:2), (7:3), (5:5), (3:7), dan (2:8) memberikan hasil pemisahan yang berbeda-beda. Hasil terbaik diperoleh dengan perbandingan eluen etil asetat:*n*-heksan (8:2). Penggunaan reagen AlCl_3 karena struktur kimia AlCl_3 dapat berikatan dengan senyawa flavonoid sehingga terjadi pendaran yang akan memunculkan warna yang khas dari flavonoid yaitu warna hijau terang.

Uji Kualitatif Flavonoid Menggunakan Spektrofotometri Inframerah

Gambar 3. Spektrum Inframerah dari senyawa Isolat

Isolat diuji menggunakan spektrofotometer inframerah untuk mengetahui gugus senyawa golongan kelompok flavonoid. Spektrum yang didapat ditampilkan pada gambar. X dan karakteristik dari posisi puncak dijelaskan pada tabel. X. Karakteristik spektrum IR dari isolat dibandingkan dengan spektrum senyawa Quercetin dari literatur [8].

Berdasarkan analisis spektrum inframerah pada gambar 3, menunjukkan adanya beberapa gugus fungsi. Hasil analisis isolat ini yaitu adanya serapan melebar dengan intensitas lemah pada daerah bilangan gelombang 3368.07 cm^{-1} yang diduga adalah serapan uluran dari gugus O-H pada fenol. Serapan uluran C-H alifatik yang tajam dan lemah muncul pada daerah bilangan gelombang 2928.39 cm^{-1} .

Adanya gugus karbonil ($\text{C}=\text{O}$) sebagai ciri umum senyawa golongan flavonoid diindikasikan oleh adanya serapan pada daerah bilangan gelombang 1711.05 cm^{-1} [9]. Serapan uluran $\text{C}-\text{C}$, $\text{C}=\text{O}$, dan $\text{C}=\text{C}$ aromatik muncul pada daerah bilangan gelombang 1649.99 cm^{-1} , 1509.29 cm^{-1} , 1439.50 cm^{-1} .

Tabel 2. Interpretasi Spektrum Inframerah dari Isolat

Posisi Puncak	Kemungkinan Gugus Fungsi
3368.07	Uluran O-H pada fenol
2928.39	Uluran C-H
1711.05	Uluran $\text{C}=\text{O}$
1649.99	Uluran $\text{C}-\text{C}$ dari cincin aromatik
	Uluran $\text{C}=\text{O}$ aromatic
1509.29	Uluran $\text{C}=\text{C}$ aromatik
1439.50	Pembengkokan O-H pada fenol
1355.59	Uluran C-O pada fenol
1008.06, 1057.35, 1085.49, 1169.95, 1198.35	Pembengkokan C-H pada hidrokarbon aromatic
949.86, 815.10, 777.07	

Vibrasi pembengkokan O-H dari fenol diamati pada 1355.59 cm^{-1} . Kemudian vibrasi ulur C-O dalam senyawa fenol menghasilkan pita kuat di daerah $1260\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$ dan pada isolat ini serapan C-O muncul pada daerah bilangan gelombang 1008.06 cm^{-1} , 1057.35 cm^{-1} , 1085.49 cm^{-1} , 1169.95 cm^{-1} , 1198.35 cm^{-1} [10]. Sementara itu serapan pada bilangan gelombang adanya gugus C-H aromatik menghasilkan pita di daerah $1000\text{--}650\text{ cm}^{-1}$ dan pada isolat ini serapan C-H aromatik muncul pada daerah bilangan gelombang 949.86 cm^{-1} , 815.10 cm^{-1} , 777.07 cm^{-1} [10]. Adanya gugus fungsi OH, CH alifatik, $\text{C}=\text{O}$, $\text{C}=\text{C}$ aromatik dan C-O mengindikasikan isolat ini suatu senyawa flavonoid [11].

Uji Kuantitatif Kadar Flavonoid

Prinsip penetapan kadar flavonoid metode AlCl_3 adalah terjadinya pembentukan kompleks antara AlCl_3 dengan gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari golongan flavon dan flavonol. Senyawa yang digunakan sebagai standar pada penetapan kadar flavonoid ini adalah quersetin, karena quersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus karbonil pada atom C-4 dan juga gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang bertetangga.

Gambar 4. Pembentukan senyawa kompleks quersetin-alumunium klorida

Berikut tabel hasil Absorbansi dari deret larutan standar Kuarsetin dan Kurva kalibrasi dari deret larutan standar:

Tabel 3. Hasil absorbansi dari deret larutan standar kuarsetin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
2	0,049
4	0,1321
6	0,1737
8	0,205
10	0,252
12	0,3289

Dalam percobaan dilakukan pada panjang gelombang maksimum $437,55\text{ nm}$, dan diperoleh persamaan garis $y = 0,0512x + 0,0111$ dengan $R^2 = 0,9773$. Dari kurva tersebut, dilihat bahwa absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi. Hal ini sesuai dengan Hukum Lambert-Beer $A = a \times b \times C$. Absorbansi sampel menunjukkan 0,2257, sehingga kadar flavonoid berdasarkan pengukuran spektrofotometer *visibel* dalam sampel 4,20 ppm.

Gambar 5. Kurva Kalibrasi Larutan Standar Quercetin

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang kami dilakukan, daun cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) segar sebanyak 600 gram menghasilkan ekstrak etil asetat sebanyak 3 gram. Hasil uji positif pada identifikasi flavonoid dalam ekstrak cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) yang dilakukan secara kualitatif dengan FTIR dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan eluen etil asetat: *n*-heksan. Kadar Flavonoid dalam daun cocor bebek 4,20 ppm.

Daftar Pustaka

1. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Departemen Kesehatan, Jakarta: 2000.
2. Saputra, T. R.; Ngatin, A.; Sarungu, Y. T., Penggunaan metode ekstraksi maserasi dan partisi pada tumbuhan cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) dengan kepolaran berbeda. *Fullerene Journal of Chemistry* **2018**, 3, (1), 5-8.
3. Koosha, S.; Alshawsh, M. A.; Looi, C. Y.; Seyedan, A.; Mohamed, Z., An association map on the effect of flavonoids on the signaling pathways in colorectal cancer. *International journal of medical sciences* **2016**, 13, (5), 374.
4. Salmia, S. Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Kulit Batang Kedondong Bangkok (*Spondias dulcis*) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar, 2016.
5. Ditjen POM, *Farmakope Indonesia*. Departemen Kesehatan RI: Jakarta, 1987.
6. Tobo, F., Buku Pegangan Laboratorium

Fitokimia I. Universitas Hasanuddin, Makassar **2001**.

7. Saputra, T. R.; Ngatin, A., Ekstraksi Daun Cocor Bebek Menggunakan Berbagai Pelarut Organik Sebagai Inhibitor Korosi Pada Lingkungan Asam Klorida. *Fullerene Journal of Chemistry* **2019**, 4, (1), 21-27.
8. Sambandam, B.; Thiagarajan, D.; Ayyaswamy, A.; Raman, P.; Kulasekaran, J.; Venkatasamy, H., Extraction and isolation of flavonoid quercetin from the leaves of *Trigonella foenum-graecum* and their anti-oxidant activity. *Int J Pharm Pharm Sci* **2016**, 8, (6), 120-4.
9. Sukadana, I. M., Aktivitas antibakteri senyawa flavonoid Dari kulit akar awar-awar (*Ficus septica* Burm F). *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)* **2010**.
10. Silverstein, R. M.; Webster, F. X.; Kiemle, D. J.; Bryce, D. L., *Spectrometric identification of organic compounds*. John Wiley & sons: 2014.
11. Markham, K. R., *Cara mengidentifikasi Flavonoid*. ITB: Bandung, Indonesia, 1988.