

Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Rimpang Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb.)

Isolation and identification of flavonoid compounds from *Curcuma's* rhizome (*Curcuma aeruginosa* Roxb.)

KHOIRINA DWI NUGRAHANINGTYAS*, SABIRIN MATSJEH, TUTIK DWI WAHYUNI

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126

* Korespondensi: Jl. Ir Sutami 36A Surakarta 57126. Telp. & Fax.: +62-271-663375. email: khoirinadwi@yahoo.com

Diterima: 5 Januari 2005. Disetujui: 15 Januari 2005.

Abstract. This research was aimed to isolate and identify the flavonoid compounds from the *Curcuma* rhizome (*Curcuma aeruginosa* Roxb: Zingiberaceae). The extraction was carried out by the Soxhlet method using petroleum ether, chloroform, n-butanol, and methanol as the solvent agent. Those extracts were then qualitatively tested to identify the presence of flavonoids. Flavonoid is then isolated from the extract of petroleum ether by column chromatography. The fraction resulting from chromatographic was analyzed by the thin-layer chromatography (TLC) method. Flavonoid identification was tested by color, spectrophotometer UV-Vis, IR, and GC-MS. The color test result showed that extract of petroleum ether, chloroform, and n-butanol contain flavonoids. The analyzed single fraction from column chromatography showed that f2 contains isoflavone with 2 methoxy and 1 ethyl substitutes, f4 contains isoflavone with 2 methoxy substitutes, then f9 contains isoflavone with 1 hydroxy and 2 methoxy substitutes.

Keywords: isolation, identification, flavonoid, rhizome, *Curcuma aeruginosa* Roxb.

PENDAHULUAN

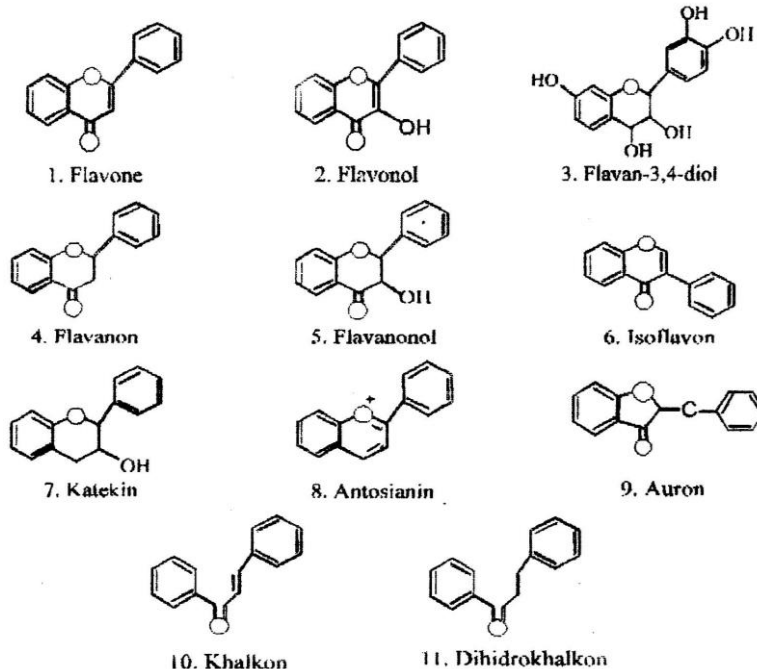
Akhir-akhir ini obat tradisional mulai digemari dan dicari masyarakat modern (kota). Hal ini karena obat tradisional tak ada (sangat kurang) efek sampingnya dibandingkan obat-obatan dari bahan kimia murni, relatif mudah diperoleh dan dapat diramu sendiri. Salah satu kelemahan obat-obatan tradisional adalah belum banyaknya informasi mengenai kandungan kimia dan senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktifitas biologisnya. Depkes RI (1981) mendefinisikan bahwa obat tradisional bahan-bahan obat yang berasal dari alam baik dari tumbuhan, hewan, maupun bahan-bahan mineral.

Tanaman temu ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb) dari famili Zingiberaceae merupakan salah satu dari sekian banyak tanaman obat tradisional yang ada di Indonesia. Tumbuhan ini menurut Syamsuhidayat dan Hutapea (1991) mengandung saponin, flavonoid, dan polifenol, disamping minyak atsiri.

Ikan (1969) menggolongkan flavonoid menjadi 11 kelas seperti ditunjukkan Gambar 1. Semua kelas ini mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆ yaitu dua cincin aromatis yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga.

Perbedaan tingkat oksidasi -C₃- penghubung inilah yang menjadi menjadi dasar penggolongan jenis flavonoid.

Modifikasi flavonoid lebih lanjut mungkin terjadi pada berbagai tahap dan menghasilkan penambahan (atau pengurangan) hidroksilasi, metilasi gugus hidroksi inti flavonoid, isoprenilasi gugus hidroksi atau inti flavonoid, metililasi gugus



Gambar 1. Kelas Falvonoid berdasarkan oksidasi rantai C₃ (Ikan, 1969).

orto-hidroksi, dimerisasi (pembentukan) biflavonoid, pembentukan bisulfat, dan terpenting glikosilasi gugus hidroksi (pembentukan flavonoid O-glikosida) atau inti flavonoid (pembentukan flavonoid C-glikosida)(Markham, 1988).

Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan hijau, seperti pada: akar, daun, kulit kayu, benang sari, bunga, buah dan biji buah. Sedangkan pada hewan hanya dijumpai pada kelenjar bau berang-berang, "sekresi lebah" (propolis) dan dalam sayap kupu-kupu (Harborne, 1987). Efek flavonoid terhadap macam-macam organisme sangat banyak, antara lain sebagai reduktor. Beberapa flavonoid dalam makanan mempunyai efek antihipertensi. Isoflavan tertentu merangsang pembentukan estrogen pada mamalia (Robinson, 1995). Isoflavon juga dapat berfungsi sebagai antifungal dan insektisidal (Geissman, 1962)

BAHAN DAN METODE

Bahan dan alat

Bahan penelitian yang digunakan adalah rimpang temu ireng yang berasal dari Kabupaten Bantul, Yogyakarta. Sedangkan pelarut yang digunakan adalah petroleum eter p.a (E Merck), kloroform p. a (BDH), n-butanol, p.a. (E Merck), dan metanol p.a (E Merck). Untuk uji warna digunakan ammonium hidroksida (*Baker analyzed reagent*), vanilin, HCl (E Merck), AlCl₃ (E Merck), FeCl₃(E Merck), dan Shinoda test. Selain itu digunakan bahan lain yaitu: plat TLC SG 60 F₂₅₄(E Merck), Silika Gel Kieselgel 60, 43-60 µm (230-400 mesh ASTM: E Merck).

Alat yang digunakan untuk penelitian ini berupa seperangkat alat ekstraksi Soxhlet, pemanas mantel, evaporator Buchii, kolom kromatografi, lampu UV (Camac UV-cabinet II), bejana pengembang, spektrofotometer UV-Vis (UV, Milton Roy-Spectronic-300-Array), spektrofotometer infra merah (IR, Shimadzu FTIR-8201 PC) dan kromatografi gas-spektrometer massa (GC-MS, Shimadzu QP-5000).

Isolasi flavonoid

Rimpang temu ireng sebanyak 1 g dimasukkan dalam erlenmeyer dan ditambah etanol 25 mL, kemudian dipanaskan sampai mendidih dan dilanjutkan dengan penyaringan. Filtrat yang diperoleh diuapkan, sampai volume pelarut tinggal setengahnya. Adanya flavonoid diuji dengan Shinoda Tes.

Tahap selanjutnya adalah mengangin-anginkan rimpang temu ireng pada suhu kamar sampai kering. Rimpang kering dihaluskan, kemudian dimasukkan ke dalam alat ekstraktor Soxhlet. Ekstraksi dilakukan secara berturutan menggunakan pelarut petroleum eter, kloroform, n-butanol dan metanol masing-masing selama 8 jam.

Hasil ekstraksi berupa ekstrak petroleum eter, kloroform, n-butanol dan metanol masing-masing dilakukan uji warna untuk flavonoid. Ekstrak yang positif mengandung flavonoid kemudian ditentukan

eluen yang sesuai untuk langkah selanjutnya yaitu kromatografi kolom.

Penentuan eluen pada ekstrak petroleum eter (PE) dilakukan dengan menggunakan eluen PE-kloroform pada berbagai perbandingan volume. Untuk ekstrak kloroform, eluen yang digunakan adalah kloroform-etil asetat pada berbagai perbandingan volume. Sedangkan pada ekstrak n-butanol digunakan eluen etil asetat-metanol pada berbagai perbandingan volume. Ekstrak metanol tidak dicari eluen yang sesuai.

Persiapan pertama kromatografi kolom adalah memanaskan silika gel pada suhu 160°C selama 3 jam kemudian didinginkan. Setelah dingin, silika dibuat bubuk dan dimasukkan dalam kolom, lalu dibiarkan semalam.

Ekstrak pekat dilarutkan dalam eluen yang kurang polar dan dimasukkan kolom menggunakan pipet. Sampel dibiarkan turun sampai permukaannya hampir "terbuka", kemudian ditambah eluen pelan-pelan sampai mendapat eluen yang tidak berwarna pada permukaan penyerap. Langkah selanjutnya ditambah eluen, dengan laju elusi 20 tetes/menit. Setiap 2 mL eluat, ditampung dalam botol sampel.

Untuk pembagian fraksi, masing-masing botol dianalisis secara fisika menggunakan sinar UV-VIS pada λ = 254 nm dan λ = 366 nm dan TLC, serta secara kimia menggunakan uji warna. Fraksi tunggal yang mempunyai harga Rf sama dan uji fisika serta kimia sama dikumpulkan, dan pelarutnya diuapkan. Selanjutnya dilakukan identifikasi struktur untuk menggunakan spektrofotometer UV-VIS, IR dan GC-MS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi flavonoid

Persiapan awal ekstraksi adalah mengangin-anginkan rimpang temu ireng yang bertujuan untuk mengurangi kadar air. Penghancuran rimpang temu ireng berguna untuk memperbesar luas permukaan rimpang temu ireng, sehingga interaksi pelarut dengan senyawa yang akan diambil dapat lebih efektif. Hasil penjarangan flavonoid untuk masing-masing ekstrak yaitu ekstrak petroleum eter (PE), kloroform, n-butanol dan metanol disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil penjarangan flavonoid masing-masing ekstrak rimpang temu ireng.

Pereaksi	Ekstrak petroleum eter	Ekstrak kloroform	Ekstrak n-butanol	Ekstrak metanol
Vanilin-HCl	mj/+	mj/+	km/+	-
Mg/HCl	m/+	-	-	-
FeCl ₃ 5%	Ha/+	ha/+	ch-ha/+	-
AlCl ₃ 5%	kf/+	kf/+	oc	-

Keterangan: mj: merah jambu, ha: hitam/abu-abu, m: merah, ch: coklat kehijauan, kf: kuning flurosense, oc: orange-coklat, km: kemerahan, +: positif uji flavonoid.

Dari hasil uji warna terlihat bahwa ekstrak yang mengandung flavonoid adalah ekstrak PE, kloroform, dan n-butanol. Ekstrak metanol tidak positif terhadap uji warna untuk flavonoid, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol tidak mengandung flavonoid. Pemisahan flavonoid dari campuran dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom. Sebelum masuk ke kromatografi kolom perlu dilakukan penentuan eluen yang sesuai, yaitu yang dapat memisahkan setiap komponen dengan baik. Penentuan eluen ini dilakukan dengan TLC untuk ekstrak PE, kloroform, dan n-butanol. Eluen yang memberikan hasil pemisahan terbaik, ditentukan harga Rf-nya dan dianalisis dengan sinar UV-VIS pada $\lambda = 254$ nm dan $\lambda = 366$ nm seperti ditunjukkan pada Tabel 2, 3 dan 4.

Tabel 2. Hasil TLC ekstrak petroleum eter dengan eluen PE-Kloroform (1:9).

No. Noda	Harga Rf x 100	Warna pada $\lambda = 254$ nm	Warna pada $\lambda = 366$ nm
1	95	hitam	-
2	79	-	biru muda
3	7	hitam	-
4	55	hitam	-
5	45	hitam	-
6	28	hitam	-
7	21	hitam	-
8	15	hitam	-
9	9	hitam	kuning
10	1	hitam	kuning

Tabel 3. Hasil TLC ekstrak kloroform dengan eluen kloroform-etil asetat(1:2).

No. Noda	Harga Rf x 100	Warna pada $\lambda = 254$ nm	Warna pada $\lambda = 366$ nm
1	95	hitam	-
2	83	hitam	-
3	68	hitam	-
4	60	hitam	-
5	44	hitam	-
6	31	hitam	-
7	21	hitam	-
8	13	hitam	-
9	4	hitam	-
10	0	hitam	-

Tabel 4. Hasil TLC ekstrak n-butanol dengan eluen etil asetat-metanol (1:1).

No. Noda	Harga Rf x 100	Warna pada $\lambda = 254$ nm	Warna pada $\lambda = 366$ nm
1	93	hitam	-
2	53	hitam	-
3	40	hitam	-
4	0	hitam	-

Untuk langkah selanjutnya, yaitu kromatografi kolom, digunakan ekstrak PE sebagai sampel yang akan dipisahkan komponen-komponennya. Hal ini dengan pertimbangan bahwa ekstrak PE memberikan hasil uji warna positif terhadap adanya flavonoid

yang paling banyak dibandingkan ekstrak kloroform dan ekstrak n-butanol. Larutan pengelusi yang akan digunakan adalah campuran pelarut PE-kloroform (1:9; v/v).

Hasil dari kromatografi kolom dibedakan berdasarkan harga Rf. Botol yang berisi fraksi tunggal dengan Rf sama dikelompokkan menjadi satu, sehingga diperoleh 9 fraksi tunggal (Tabel 5). Setelah itu dilakukan identifikasi menggunakan uji warna dan dilihat kenampakannya dibawah sinar UV-VIS pada $\lambda = 254$ nm dan $\lambda = 366$ nm .

Tabel 5. Hasil uji warna eluen dari kromatografi kolom.

Fraksi	No. botol	Rf	UV 366 nm	Pereaksi					
				FeCl ₃	V-HCl	AlCl ₃	AlCl ₃ (UV)	NH ₃ (UV)	Mg-HCl
1	1-4	0,95	-	ha	mj	-	kf	-	mm
2	5,6	0,79	bm	ha	-	-	kf	-	mj
3	7	0,7	-	ha	mj	-	kf	-	m
4	8,	0,55	-	ha	mj	-	kf	-	c
5	10,11	0,45	-	ha	mj	-	kf	-	c
6	15-17	0,28	-	ha	mj	-	-	-	-
7	27	0,21	-	-	mj	-	-	-	-
8	18-26 28-34	0,09	-	ha	mj	-	kf	-	kc
9	35-40	0,01	k	ha	mj	-	kf	-	c

keterangan: bm: biru muda, ha: hitam/abu-abu, -: tidak berwarna, mm: merah muda, kf: kuning fluoresense, m: merah, mj: merah jambu, kc: kuning kecoklatan, c: coklat, Mg/HCl: Mg dalam HCl, V-HCl: Vanilin dalam HCl.

Flavonoid adalah turunan senyawa fenolat, sehingga untuk identifikasi awal dapat digunakan pereaksi FeCl₃. Pereaksi FeCl₃, bereaksi dengan ion fenolat. membentuk ion kompleks [Fe(Oar)₆]³⁺. Test fenolat memberikan hasil positif jika setelah beberapa saat terbentuk warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam kuat (Harborne, 1987). Pereaksi lain untuk identifikasi fenol adalah larutan vanilin-HCl. Test positif memberikan warna merah jambu biru, merah bata atau merah beberapa saat setelah penambahan pereaksi (Harborne *et al.*, 1975).

Analisis dengan uji warna menunjukkan bahwa f7 bukan flavonoid, karena tidak bereaksi positif terhadap pereaksi FeCl₃. Pereaksi ini spesifik untuk senyawa yang merupakan turunan dari fenol, dan flavonoid yang merupakan turunan dari fenol seharusnya memberikan uji positif. Fraksi f7 memberi test positif terhadap pereaksi vanilin-HCl, yang berarti bahwa f7 merupakan senyawa fenol sederhana atau turunannya. Adapun kedelapan fraksi yang lain memberikan hasil positif turunan fenol.

Harborne *et al.* (1975) menyatakan bahwa pelarut PE bersifat kurang polar, sehingga hanya dapat melarutkan flavonoid yang bersifat kurang polar. Dilain pihak hasil uji ammonia terhadap kedelapan fraksi yang diduga flavonoid bereaksi negatif. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa jenis flavonoid yang bersifat kurang polar yang mungkin terdapat pada kedelapan fraksi adalah leucoantosianidin (flavan-3,4-diol), flavanon, isoflavon atau katekin (Geissman, 1962)

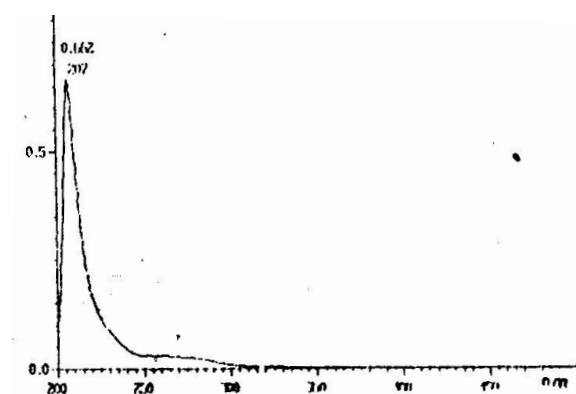
Uji warna menggunakan Mg/HCl untuk fraksi f1, f2 dan f3 menghasilkan warna merah, sehingga diduga bahwa ketiga fraksi tersebut mengandung flavonoid golongan flavan-3,4-diol, flavanon atau isoflavon. Sedangkan fraksi f4, f5 dan f8 menghasilkan warna coklat, sehingga diduga f4, f5 dan f9 mengandung flavonoid golongan isoflavon. Uji warna dengan pereaksi Mg/HCl terhadap fraksi f6 dan f8 tidak menunjukkan perubahan warna, sehingga diduga kedua fraksi tersebut mengandung flavonoid golongan katekin.

Identifikasi struktur flavonoid

Identifikasi struktur flavonoid yang terkandung dalam ekstrak PE dilakukan dengan alat spektrofotometer UV-Vis, IR dan GC-MS. Analisis dengan spektrofotometer UV-VIS berguna dalam menentukan golongan senyawa flavonoid. Analisis penting lainnya adalah menggunakan spektrofotometer IR untuk menentukan gugus fungsional dalam suatu senyawa, dilanjutkan analisis spektra GC-MS untuk menentukan struktur senyawa tersebut. Hasil analisis dengan spektrofotometer UV dan IR menunjukkan bahwa hanya f2, f4 dan f9 yang merupakan isoflavon. Karena diduga bahwa senyawa aktif dalam rimpang temu ireng adalah isoflavon, maka identifikasi struktur lebih lanjut hanya dilakukan pada fraksi f2, f4 dan f9.

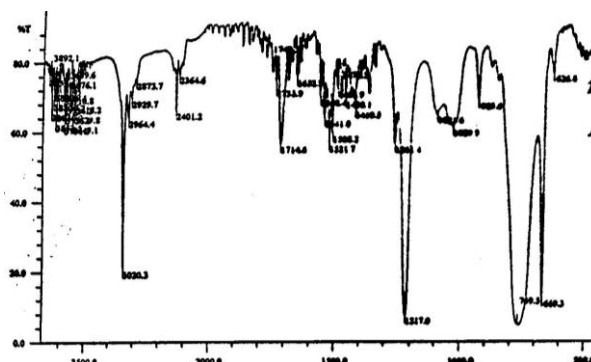
Identifikasi struktur flavonoid fraksi f2

Spektrum UV-VIS fraksi f2 seperti pada Gambar 2 bentuknya sama dengan bentuk spektrum isoflavon (Markham, 1988). Gambar spektrum UV-Vis ini memperlihatkan adanya panjang gelombang maksimum pada 207 nm dan bahu pada 250 nm-300 nm. Adanya satu puncak serapan maksimum dan bahu memberi petunjuk bahwa fraksi f2 mengandung senyawa isoflavon



Gambar 2. Spektrum UV-VIS fraksi f2.

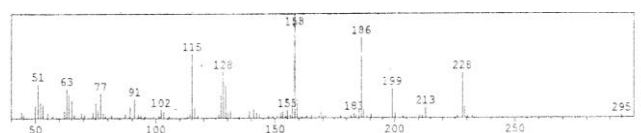
Analisis selanjutnya menggunakan spektrofotometer IR untuk menentukan gugus-gugus fungsional senyawa yang berada pada fraksi f2 ditunjukkan oleh Gambar 3.



Gambar 3. Spektrum infra merah fraksi f2

Berdasarkan Gambar 3 tersebut dapat dilihat adanya pitakuat pada 1714,6 cm⁻¹ yang spesifik untuk gugus karbonil. Serapan tajam pada 1261,4 cm⁻¹ dan 1217,0 muncul dari vibrasi gugus C-O yang terkonjugasi. Pita pada 1091,6 dan 1029,9 cm⁻¹ merupakan serapan dari gugus metoksi. Pita pada 3020,3 cm⁻¹ berasal dari =C-H str dengan didukung oleh pita-pita antara 1600 cm⁻¹ dan 1500 cm⁻¹ menunjukkan keberadaan inti aromatis. Pita kecil lemah yaitu pada 1652,9 cm⁻¹ berasal dari gugus vinyl. Pita-pita pada daerah dibawah 3000 cm⁻¹ dan diperkuat oleh pita-pita disekitar 1450 cm⁻¹ menyatakan adanya alkyl yaitu metilen. Berdasarkan analisis terhadap spektrum pada Gambar 3, dapat disimpulkan bahwa f2 mengandung senyawa aromatis, gugus C=O, C-O, vinyl, -CH₂- dan gugus metoksi.

Untuk penentuan struktur senyawa pada fraksi f2, maka dilakukan analisis dengan alat kromatografi gas dilanjutkan dengan spektra massa. Analisis flavonoid dengan MS fraksi f2 ini dilakukan terhadap 1 puncak utama dan didapat hasil seperti disajikan pada Gambar 4.

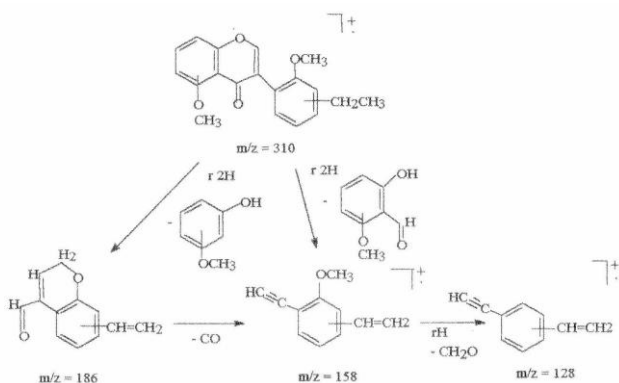


Gambar 4. Spektra massa puncak fraksi f2.

Spektra fraksi f2 menunjukkan adanya puncak dasar pada m/z = 158 dan puncak-puncak lain pada m/z = 295, 186 dan 128. Puncak dengan limpahan kecil pada m/z = 295 berasal dari ion molekul yang melepaskan metal (M⁺- 15). Ion molekulnya sendiri yaitu pada m/z = 310 tidak terlihat sebagai puncak, karena ion molekulnya kurang stabil.

Lepasnya radikal C₇H₇O₂ diikuti oleh penatan ulang 2H dan lepasnya H₂ dari ion molekul ditunjukkan oleh limpahan pada m/z = 186 (M⁺- 125). Isoflavon ini mengalami pemecahan karakteristik menjadi 2 bagian yaitu pada m/z = 160 dan pada m/z = 150. Puncak-puncak ini tidak terlihat karena tidak stabil. Keberadaan m/z = 150 dapat dilihat dari adanya limpahan pada m/z = 149 yang berasal dari lepasnya 1H dari puncak karakteristik (M⁺- 150).

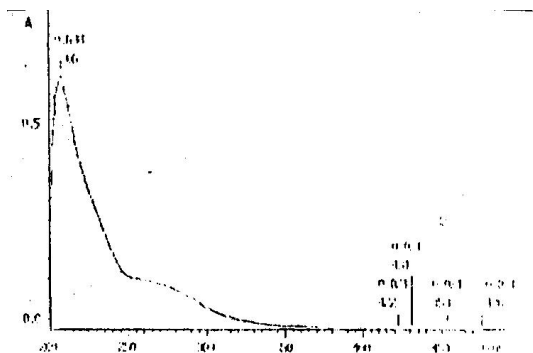
Puncak dasar yaitu puncak dengan limpahan terbesar mempunyai $m/z = 159$ berasal dari pecahan karakteristik untuk isoflavon dari ion molekulnya yang telah melepaskan H_2 . Puncak pada $m/z = 158$ ini juga dapat terjadi dari puncak $m/z = 186$ yang melepaskan gugus karbon monoksida (CO) yang diikuti oleh penataan ulang dari 1 H. Lepasnya gugus CH_2O dari puncak dasar terlihat pada limpahan yang cukup besar pada $m/z = 128$. Berdasarkan analisis tersebut, serta didukung oleh analisis dengan uji warna, spektrofotometer UV-Vis, dan IR, maka dapat dibuat fragmentasi dari fraksi f2 seperti disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Fragmentasi spektra massa fraksi f2.

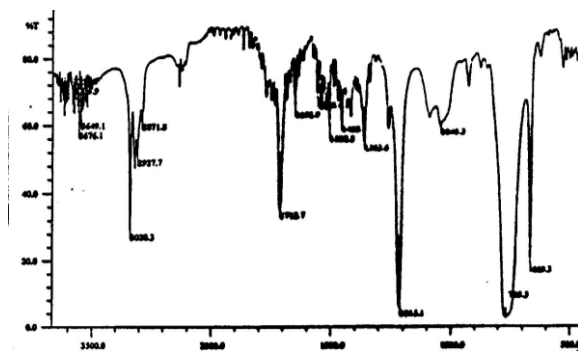
Identifikasi struktur flavonoid fraksi f4

Identifikasi struktur flavonoid fraksi f4 pertama kali dengan spektrofotometer UV-Vis disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Spektrum UV-VIS fraksi f4.

Hal yang menarik adalah bahwa spektrum UV-VIS fraksi f4 juga sesuai dengan spektrum UV-VIS untuk isoflavon, hanya ada sedikit perbedaan bentuk spektrum dan panjang gelombangnya. Hal ini dimungkinkan karena perbedaan gugus substituenya. Berdasarkan keterangan ini, maka disimpulkan bahwa fraksi f4 mengandung isoflavon dengan substituen gugus yang menyebabkan terjadinya pergeseran hipsokromik, dengan perbedaan jenis ataupun jumlah gugus hipsokromiknya. Analisis selanjutnya adalah menggunakan spektrofotometer IR untuk menentukan gugus-gugus fungsional yang ada pada fraksi f4 seperti disajikan Gambar 7.

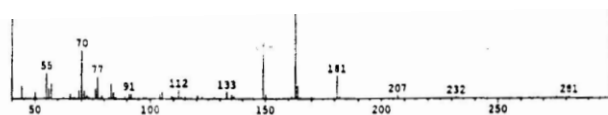


Gambar 7. Spektrum infra merah fraksi f4.

Spektrum infra merah f4, seperti ditunjukkan oleh Gambar 7 dapat diterangkan sebagai berikut: Pita kuat tajam pada $1712,7\text{ cm}^{-1}$ adalah karakteristik untuk gugus karbonil. Pita pada $3020,3\text{ cm}^{-1}$ dari $=C-H$ str diperkuat oleh pita-pita pada $1558,4\text{ cm}^{-1}$ memberi petunjuk adanya gugus aromatis, sedangkan serapan tajam pada $1652,9\text{ cm}^{-1}$ berasal dari gugus vinyl. Serapan berupa pita pada $2927,7\text{ cm}^{-1}$ dan $2871,8\text{ cm}^{-1}$ diperkuat oleh pita pada 1458 cm^{-1} dan $1363,6\text{ cm}^{-1}$ yang berasal dari gugus alkyl yaitu metal. Pita yang paling kuat yaitu pada $1215,1\text{ cm}^{-1}$ memberi keterangan yang jelas tentang adanya gugus C-O.

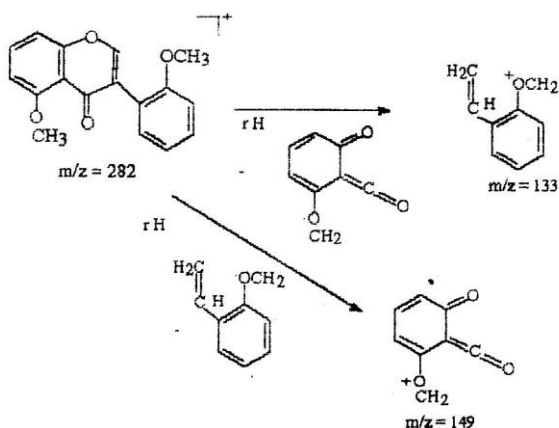
Dari seluruh keterangan yang diperoleh dalam analisis spektrum infra merah f4 dapat disimpulkan bahwa senyawa mempunyai gugus aromatis, C=O, -C-O dan paling sedikit satu gugus $-CH_3$.

Analisis struktur lebih lanjut dilakukan dengan alat GC-MS, diperoleh kromatogram fraksi f4. Identifikasi struktur dilakukan terhadap 1 puncak utama yang diperkirakan berasal dari flavonoid. Hasil spektra massa fraksi f4 disajikan pada Gambar 8.



Gambar 8. Spektra massa fraksi f4.

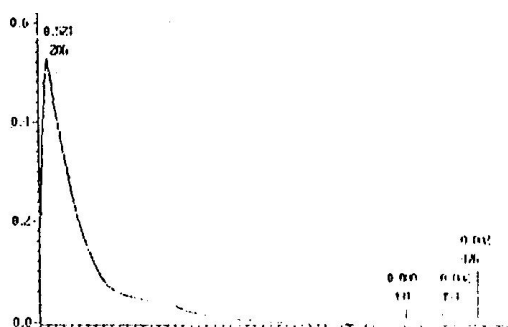
Dari spektra Gambar 8 terlihat bahwa m/z terbesar adalah 281, yang berarti bukan ion molekul, karena m/z -nya ganjil. Berdasarkan hasil analisis sebelumnya, maka spektra ini berasal dari isoflavon dengan substituen 2 gugus metoksi. Ion molekul tidak terdeteksi karena tidak stabil. Spektra mempunyai puncak dasar pada $m/z = 163$, dengan puncak-puncak lain pada $m/z = 281$, $m/z = 232$, $m/z = 149$, $m/z = 133$, dan lain-lain. Fragmentasi senyawa ini disajikan Gambar 9.



Gambar 9. Fragmentasi fraksi f4.

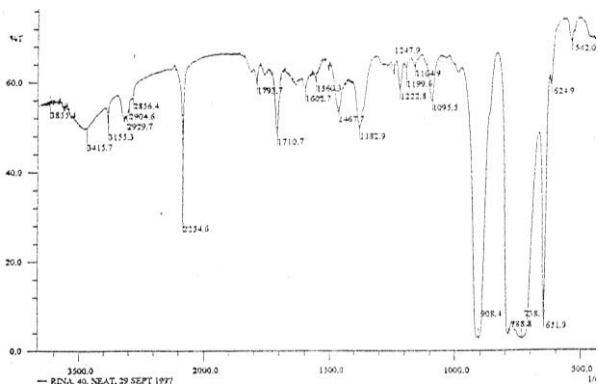
Identifikasi struktur flavonoid fraksi f9

Analisis terhadap spektrum UV-Vis fraksi f9 memperlihatkan serapan maksimum dan bahu seperti disajikan Gambar 10, sehingga diduga fraksi f9 adalah isoflavan.



Gambar 10. Spektrum UV-Vis fraksi f9.

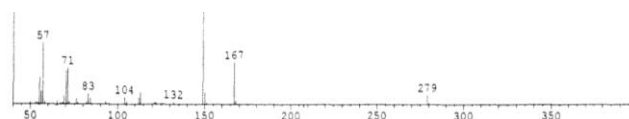
Analisis lebih lanjut dilakukan dengan spektra infra merah ditunjukkan Gambar 11. Berdasarkan spektrum tersebut diperoleh keterangan sebagai berikut: Pita kuat dan tajam pada 1710,7 cm⁻¹ karakteristik gugus karbonil. Serapan berupa pita melebar pada 3415,7 cm⁻¹ menyatakan adanya gugus hidroksi (-OH) diperkuat oleh adanya gugus -C-O pada 1300 cm⁻¹ – 1000 cm⁻¹, yang juga berasal dari gugus eter.



Gambar 11. Spektrum infra merah fraksi f9.

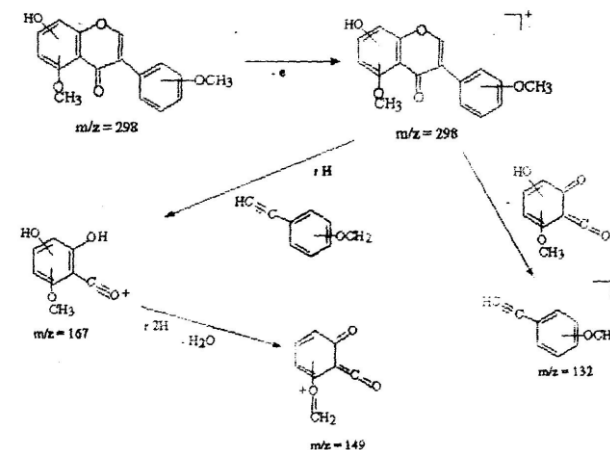
Pita pada 3155,3 cm⁻¹ berasal dari C_{sp}2-H str aromatic, yang didukung oleh pita-pita antara 1600 cm⁻¹ dan 1500 cm⁻¹. Sedangkan pita-pita antara 3000 cm⁻¹ dan 2800 cm⁻¹ adalah berasal dari gugus alkyl. Adanya pita-pita pada 1467,7 cm⁻¹ dan 1382,9 cm⁻¹ menyatakan bahwa gugus tersebut adalah metal. Hal ini dapat disimpulkan bahwa fraksi f9 mempunyai gugus aromatik, -OH, eter dan -CH₃.

Hasil kromatogram GC-MS fraksi f9 menunjukkan adanya 20 puncak, dengan puncak utama no. 20. Spektra GC-MS untuk puncak no. 20 seperti disajikan pada Gambar 12.



Gambar 12. Spektra massa fraksi f9.

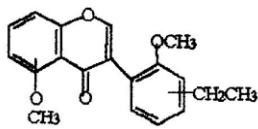
Spektra GC-MS fraksi f9 memberi petunjuk adanya limpahan sebagai puncak dasar pada m/z = 149 dan puncak-puncak lain pada m/z = 167, 132, 123 dan 104. Berdasarkan analisis dengan uji warna dan terhadap spektra UV-Vis, IR dan GC-MS, dapat disimpulkan bahwa fraksi f9 mengandung isoflavan dengan substituen 2 gugus metoksi dan 1 gugus hidroksi. Keseluruhan fragmentasi spektra GC-MS untuk fraksi f9 disajikan pada Gambar 13.



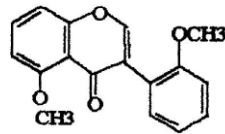
Gambar 13. Fragmentasi spektra massa fraksi f9.

KESIMPULAN DAN SARAN

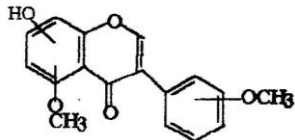
Ekstrak petroleum eter, kloroform dan n-butanol rimpang temu ireng mengandung flavonoid, sedangkan ekstrak metanol tidak mengandung flavonoid. Flavonoid dalam ekstrak petroleum eter dapat dipisahkan dengan cara kromatografi kolom menggunakan eluen petroleum eter-kloroform = 1 : 9 (v/v), penyerap silika gel merk kiesee1ge160 43-60 mm (230-400 mesh) dan kecepatan eluen 20 tetes/menit. Ekstrak petroleum eter mengandung senyawa flavonoid golongan isoflavan yang diperkirakan mempunyai struktur:



a. Isoflavon dalam fraksi f2



b. Isoflavon dalam fraksi f4



c. Isoflavon dalam fraksi f9

Untuk itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada ekstrak kloroform dan n-butanol rimpang temu ireng; perlu penelitian lebih lanjut terhadap senyawa yang telah berhasil diisolasi dari rimpang temu ireng sehubungan dengan aktifitas biologisnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Departemen Kesehatan (Depkes) RI. 1981. Pemanfaatan Tanaman Obat. edisi kedua. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Geissman, T.A. 1962. *The Chemistry of Flavonoid Compounds*. New York: The Macmillan Company.
- Harborne, J.B., T.J. Mabry, and H. Mabry. 1975. *The Flavonoid*. London: Chapman and Hall.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerjemah: Padmawinata, K. Terbitan kedua. Bandung: Penerbit ITB.
- Ikan, R. 1969. *Natural products (A laboratory Guide)*. Jerusalem: The Hebrew University of Jerusalem.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Penerjemah: Padmawinata, K. Bandung: Penerbit ITB.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Penerjemah: Padmawinata, K. Bandung: Penerbit ITB.
- Syamsuhidayat, S.S. dan J.R. Hutapea. 1991. *Invetaris Tanaman Obat Indonesia*. Jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.