

# BAB I

## TINJAUAN PUSTAKA

### 1.1 Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav)

#### 1.1.1 Klasifikasi (Cronquist, 1981: 88-89)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Anak Kelas	: Magnoliidae
Ordo	: Piperales
Famili	: Piperaceae (suku sirih-sirihan)
Genus	: <i>Piper</i>
Spesies	: <i>Piper crocatum</i> Ruiz & Pav.
Sinonim	: -
Nama Umum	: Sirih merah ( Indonesia ) (Hasyim, 2009 : 408)

#### 1.1.2 Deskripsi

Tanaman sirih merah (**Gambar I.1**) merupakan tumbuh menjalar seperti halnya sirih hijau. Batangnya bulat berwarna hijau keunguan. Batangnya berbuku dan beruas dengan jarak buku 5-10 cm. Di setiap buku tumbuh akar adventif. Daunnya bertangkai membentuk jantung dengan bagian atas meruncing, bertepi rata, dan permukaannya mengkilap atau tidak berbulu. Panjang daun 15-20 cm. Warna daun bagian atas hijau bercorak warna putih keabu-abuan. Bagian bawah daun berwarna merah hati cerah. Daunnya berlendir, berasa sangat pahit, dan beraroma wangi khas sirih (Sudewo, 2006 : 23).



**Gambar I.1** Tanaman Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav ) (Anonim, 2010)

### **1.1.3 Asal dan Penyebaran**

Tanaman daun sirih merah diketahui berasal dari negara Peru. Di Indonesia sirih merah merupakan tanaman yang diketahui tumbuh di berbagai daerah seperti di lingkungan Keraton Yogyakarta dan di lereng Merapi sebelah timur, serta Papua dan Jawa Barat, Aceh (Sudewo, 2006 : 22).

### **1.1.4 Ekologi**

Tanaman sirih merah lebih suka tumbuh di tempat teduh. Misalnya di bawah pohon besar yang rindang. Bisa juga tumbuh subur di tempat yang berhawa sejuk, hanya butuh 60-75 persen cahaya matahari. Dengan tumbuh di tempat teduh, daunnya akan melebar. Warna merah marunnya yang cantik akan segera terlihat bila daunnya dibalik. Batangnya pun tumbuh gemuk. Sebaliknya bila terlalu banyak kena air akar dan batangnya akan membusuk (Sudewo, 2006 : 23).

### 1.1.5 Kandungan Kimia

Kandungan kimia tanaman sirih merah belum diteliti secara detil. Daun sirih merah mengandung flavonoid, senyawa polifenolat, tanin, dan minyak atsiri. Senyawa fitokimia yang terkandung dalam daun sirih merah yakni alkaloid, saponin, dan flavonoid (Sudewo, 2006 : 24).

Kandungan kimia lainnya yang terdapat di daun sirih merah adalah minyak atsiri, hidroksikavicol, kavicol, kavibetol, allylprokatekol, karvakrol, eugenol, p-cymene, cineole, caryofelen, kadimen estragol, terpenena, dan fenil propada. Karvakrol bersifat desinfektan, anti jamur, sehingga bisa digunakan untuk obat antiseptik pada bau mulut dan keputihan. Eugenol dapat digunakan untuk mengurangi rasa sakit (Sudewo, 2006 : 24).

### 1.1.6 Manfaat

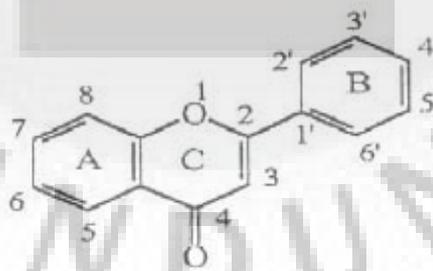
Sirih merah kini sedang jadi primadona. Daunnya terlihat eksotis dengan warna merah yang mencuri perhatian. Selain indah untuk hiasan, tanaman ini diyakini membawa dan bisa menyembuhkan aneka penyakit. Efek zat aktif yang terkandung dalam daun sirih merah dapat merangsang saraf pusat. Di samping itu, juga memiliki efek pencegah ejakulasi dini, antikejang, antimikrobial, analgetik, antiketombe, antidiabetes, pelindung hati, antidiare, mempertahankan kekebalan tubuh, dan penghilang bengkak. Daun sirih merah juga mampu mengatasi radang paru, radang pada tenggorok, radang pada gusi, radang pada payudara, hidung berdarah, dan batuk berdarah (Sudewo, 2006 : 30).

Ekstrak daun sirih merah mampu mematikan jamur *Candida albicans* penyebab keputihan akut, dan gatal-gatal pada alat kelamin. Secara empiris

ekstrak daun sirih merah dalam pemakaian secara tunggal atau diformulasikan dengan tanaman obat lainnya mampu membasmi aneka penyakit, seperti diabetes mellitus, peradangan akut pada organ tubuh tertentu, luka yang sulit sembuh, kanker payudara dan kanker rahim, leukemia, TBC, radang pada lever, lemah syahwat, ambeien, jantung koroner, darah tinggi, dan asam urat (Sudewo, 2006 : 30).

## 1.2 Flavonoid

Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mengandung C<sub>15</sub> terdiri atas dua inti fenolat yang dihubungkan dengan tiga satuan karbon. Struktur umum flavonoid dapat juga digambarkan sebagai deretan senyawa C<sub>6</sub> – C<sub>3</sub> – C<sub>6</sub>. struktur umum molekul ini ditunjukkan dalam **Gambar I.2** (Sastrohamidjojo, 1996 : 44).



Gambar I.2. Struktur umum flavonoid (Markham, 1988 : 3)

Semua flavonoid, menurut strukturnya, merupakan turunan senyawa induk flavon yang terdapat berupa tepung putih pada tumbuhan. Semua turunan senyawa flavonoid mempunyai sejumlah sifat yang sama. Dikenal sekitar sembilan kelas flavonoid yaitu antosianin, proantosianidin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavonil, khalkon dan auron, flavanon, dan isoflavon. Antosianin, flavonol dan

flavon yang tersebar luas dalam tumbuhan. Sedangkan khalkon, auron, falvonon, dihidrokhalkon dan isoflavon penyebarannya hanya terbatas pada golongan tertentu saja (Harborne, 1987 : 69).

Flavonoid mencakup banyak pigmen yang paling umum dan terdapat pada seluruh dunia tumbuhan dari Fungus sampai Angiospermae. Pada tumbuhan tingkat tinggi, flavonoid terdapat baik dalam bagian vegetatif maupun dalam bunga (Robinson, 1995 : 191-213). Sebagian besar flavonoid alam ditemukan dalam bentuk glikosida dimana unit flavonoid terikat pada satu gula. Flavonoid dapat ditemukan sebagai mono, di atau triglikosida (Achmad, 1986 : 5). Flavonoid yang berupa glikosida merupakan senyawa polar sehingga dapat diekstrak dengan etanol, metanol ataupun air. Karena merupakan senyawa fenol, maka warnanya akan berubah bila ditambah basa atau amonia sehingga mudah dideteksi pada kromatogram. Flavonoid merupakan pigmen berwarna yang terdapat pada tanaman, misalnya antosianin adalah penyusun warna biru, violet dan merah, flavon dan flavonol merupakan penyusun warna kuning redup, khalkon dan auron merupakan penyusun warna kuning terang, sedangkan isoflavon, flavonol merupakan senyawa tak berwarna. Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi. Oleh karena itu menunjukkan pita serapan yang kuat pada daerah spektrum UV dan tampak (Harborne, 1987 : 69).

Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, bunga, buah dan biji.

### 1.2.1 Sifat Berbagai Golongan Flavonoid

Terdapat sembilan golongan flavonoid dengan penyebaran dan ciri khasnya (Harborne, 1987 : 69)

#### 1 Antosianin

Antosianin menyebar sebagai pigmen pada bunga berwarna merah dan biru, juga dalam daun dan jaringan lain. Ciri khasnya antosianin larut dalam air dengan memiliki panjang gelombang maksimal 515-545 nm, bergerak dengan BAA (butanol-asam asetat-air) pada kertas.

#### 2 Proantosianidin

Proantosianidin penyebarannya sebagai tanwarna dalam daun tumbuhan berkayu. Ciri khasnya menghasilkan antosianidin bila jaringan dipanaskan dalam HCl 2 M selama setengah jam.

#### 3 Flavonol

Flavonol umumnya merupakan ko-pigmen sebagai tanwarna didalam bunga sianik dan asianik, tersebar luas dalam daun. Ciri khasnya setelah dihidrolisis berupa bercak kuning mirip pada kromatogram Forestal bila disinari dengan sinar UV, panjang gelombang maksimal 350-386 nm.

#### 4 Flavon

Penyebarannya sama seperti flavonol. Ciri khasnya setelah dihidrolisis flavon berupa bercak coklat redup pada kromatogram Forestal dengan panjang gelombang maksimal 330-350 nm.

#### 5 Glikoflavon

Penyebarannya sama seperti flavonol. Ciri khasnya mengandung gula yang

terikat melalui ikatan C-C, bergerak dengan pengembang air, tidak seperti flavon biasa.

#### 6 Biflavonil

Penyebarannya sebagai tanwarna, hampir seluruhnya terbatas pada Gimnospermae. Ciri khasnya pada kromatogram BAA (butanol-asam asetat-air) berupa bercak redup dengan Rf tinggi.

#### 7 Khalkon dan auron

Penyebarannya sebagai pigmen bunga kuning, terkadang terdapat juga dalam jaringan lain. Ciri khasnya dengan amonia berwarna merah (perubahan warna dapat diamati *in situ*) panjang gelombang maksimal 370-410 nm.

#### 8 Flavanon

Penyebarannya sebagai tanwarna dalam daun dan buah. Ciri khasnya berwarna merah kuat dengan Mg/HCl, terkadang sangat pahit.

#### 9 Isoflavon

Penyebarannya sebagai tanwarna, seringkali dalam akar, hanya terdapat dalam satu suku yaitu Leguminosae. Ciri khasnya bergerak pada kertas dengan pengembang air, tidak ada uji warna yang khas.

### 1.3 Isolasi Senyawa Flavonoid

#### 1.3.1 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan yang diperoleh dengan mengekstrak zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang

tersisa diperlukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Anonim, 1995 : 325).

Ekstraksi merupakan suatu cara untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam bahan simplisia. Cara ekstraksi yang tepat tergantung pada susunan jaringan, kandungan air, bahan tanaman dan jenis zat yang akan diekstraksi (Herwandi, 1991 : 55). Metode ekstraksi dapat digunakan dengan cara panas atau cara dingin. Metode yang umum digunakan adalah cara dingin, yaitu maserasi. Maserasi bisa disebut juga perendaman (Harborne, 1987 : 6).

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut. Penekanan utama dalam metode ini adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dengan jaringan yang diekstraksi. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel, maka larutan yang terpekat di desak ke luar. Pelarut yang digunakan dapat berupa etanol, air-etanol, atau pelarut lain. Keuntungan cara ekstraksi ini adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana. Sedangkan kerugiannya adalah waktu pengerjaannya lama dan ekstraksi kurang sempurna (Ahmad, 2006 : 7).

Menurut Markham (1988 : 69), aglikon flavonoid adalah polifenol dan karena itu mempunyai sifat kimia senyawa fenol, yaitu agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Namun karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil atau mempunyai suatu gula, flavonoid juga bersifat polar dan karenanya cukup larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton dan air. Sebaliknya

aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform. Metode yang biasa digunakan dalam mengisolasi senyawa flavonoid adalah dengan mengekstrak jaringan segar dengan metanol. Jubaidi (1997 : 14)) dan Suraya (2000 : 18) mengisolasi senyawa flavonoid dari bunga tembakau dan biji kapas dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol yang mengandung 1 % HCl pekat. Dhanarti (2000 : 23), Purwaningsih (2003 : 28), dan Rosadi (2005 : 10) mengisolasi senyawa flavonoid dari rimpang temu putih, biji kacang tunggak dan daun kelor menggunakan pelarut metanol. Metanol banyak digunakan untuk ekstraksi tetapi dibandingkan dengan pelarut etanol, etanol lebih baik karena metanol dapat menyebabkan kebutaan (Anonim, 2013).

### **1.3.2 Fraksinasi**

Fraksinasi merupakan metode pemisahan campuran menjadi beberapa fraksi yang berbeda susunanya. Fraksinasi diperlukan untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lainnya. Prosedur pemisahan senyawa dilakukan berdasarkan perbedaan kepolarannya. Metode dari fraksinasi yang biasa digunakan adalah metode ekstraksi cair-cair dan kromatografi (Harborne, 1987 : 7).

### **1.3.3 Isolasi dan Pemurnian**

Isolasi adalah suatu usaha bagaimana caranya memisahkan senyawa yang bercampur sehingga kita dapat menghasilkan senyawa tunggal yang murni. Tumbuhan mengandung ribuan senyawa sebagai metabolit primer dan metabolit sekunder. Biasanya proses isolasi senyawa dari bahan alami mengisolasi senyawa

metabolit sekunder, karena dapat memberikan manfaat bagi kehidupan manusia (Harborne, 1987 : 4).

Kandungan senyawa dari tumbuhan untuk isolasi dapat diarahkan pada suatu senyawa yang lebih dominan dan salah satu usaha isolasi senyawa tertentu maka dapat dimanfaatkan pemilihan pelarut organik yang akan digunakan pada isolasi tersebut, dimana pelarut polar akan lebih mudah melarutkan senyawa polar dan sebaliknya senyawa non polar lebih mudah larut dalam pelarut non polar (Harborne, 1987 : 4).

Pemisahan dan pemurnian kandungan tumbuhan terutama dilakukan dengan menggunakan salah satu teknik dari empat teknik kromatografi atau gabungan teknik tersebut. Keempat teknik kromatografi itu yaitu kromatografi kertas (KKt), kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi gas cair (KGC), dan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) (Harborne, 1987 : 9)

#### **1.4 Kromatografi**

Kromatografi adalah proses pemisahan yang didasarkan atas perbedaan distribusi komponen diantara fase gerak dan fase diam (Vogel, 1978 : 130-131). Pada kromatografi lapis tipis, cuplikan yang akan dipisahkan ditotolkan pada plat KLT yang nantinya akan diabsorpsi oleh zat penyerap dan selanjutnya dielus oleh fasa gerak. Pemisahan ini didasarkan pada sifat polaritas senyawa. Senyawa yang memiliki polaritas hampir sama dengan fasa geraknya akan terelusi lebih dulu dibandingkan senyawa dengan sifat polaritas yang berbeda dengan fasa geraknya. Dalam kromatografi lapis tipis ini terjadi persaingan antara proses penyerapan

yang cenderung menempelkan senyawa dalam fasa diam dan proses pelarutan yang cenderung membawa dalam fasa gerak (Shellard, 1975).

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan cara analisis cepat yang memerlukan bahan yang sedikit. Untuk penelitian pendahuluan kandungan flavonoid suatu ekstrak, sudah menjadi kebiasaan umum untuk menggunakan pengembang beralkohol pada pengembangan pertama dengan kromatografi lapis tipis, misalnya butanol-asam asetat-air (BAA) (Markham, 1988).

Metode identifikasi yang sederhana adalah dengan menggunakan nilai Retardation factor (Rf), yang didefinisikan dengan persamaan :

$$Rf = \frac{\text{jarak yang digerakkan oleh senyawa}}{\text{Jarak yang digerakkan oleh permukaan pelarut}}$$

Tetapi pada gugus-gugus yang besar dari senyawa-senyawa yang susunannya mirip, seringkali harga Rf berdekatan satu sama lainnya (Sastroshamidjojo, 1991 : 34-35).

Pembandingan Rf flavonoid yang belum dikenal dengan Rf flavonoid yang telah dikenal dan yang sejenis merupakan cara yang berguna untuk membandingkan flavonoid yang sedang diidentifikasi (Markham, 1988 : 55).

Kromatografi lapis tipis dapat digunakan untuk tujuan kualitatif dan preparatif, KLT kualitatif digunakan untuk menganalisis senyawa-senyawa organik dalam jumlah kecil (misal menentukan jumlah kumpulan dalam campuran), menentukan pelarut yang tepat untuk pemisahan dengan KLT preparatif atau kromatografi kolom, dan juga untuk mengidentifikasi komponen penyusun campuran melalui perbandingan dengan senyawa yang diketahui strukturnya. Sedangkan KLT preparatifnya digunakan untuk memisahkan

campuran senyawa dari sampel dalam jumlah yang besar berdasarkan fraksinya, yang selanjutnya fraksi-fraksi tersebut dikumpulkan dan digunakan untuk analisis berikutnya (Townshend, 1995 : 714-728). Flavonoid berupa senyawa polifenol dan warnanya akan berubah bila bereaksi dengan basa sehingga flavonoid mudah dideteksi pada kromatogram. Flavon 7-glikosida berwarna coklat pudar, kuning atau hijau dengan sinar UV dan berubah menjadi hijau-kuning terang dengan uap  $\text{NH}_3$ . Isoflavon sukar dicirikan karena reaksinya yang tidak khas dengan pereaksi warna manapun. Beberapa isoflavon (misalnya daidzein) memberikan warna biru muda cemerlang dengan sinar UV bila diuapi amonia, tetapi kebanyakan yang lain (misalnya genestain) tampak sebagai bercak lembayung pudar dengan amonia berubah menjadi coklat pudar (Harborne, 1987 : 84).

Menurut Robinson (1995:191-213) jika tidak ada pigmen yang mengganggu, jaringan tumbuhan (misalnya daun bunga putih) dapat diuji mengenai adanya flavon dan flavonol dengan diuapi uap amonia. Warna kuning menunjukkan adanya senyawa ini. Kalkon dan auron berubah dari kuning menjadi merah pada uji ini. Jika ekstrak pigmen dalam air dibasakan, berbagai perubahan warna dapat terlihat, meskipun perubahan pada pigmen yang satu dapat menutupi perubahan pada pigmen lain. Perubahan pigmen dan warna dapat dilihat **Tabel I.1**.

**Tabel I.1.** Macam-macam pigmen dan warna (Robinson, 1995 : 191-213)

Pigmen	Warna
Antosianin	Lembayung biru
Flavon, Flavonol, xanton	Kuning
Flavanon	Tanpa warna, menjadi merah jingga (terutama jika dipanaskan)
Kalkon dan auron	Segera lembayung merah
Flabanonol	Coklat jingga

### 1.5 Kromatografi Cair Vakum

Cara ini pertama kali dipublikasikan oleh Coll dkk., pada tahun 1977 dengan menggunakan corong Buchner kaca masir atau kolom pendek untuk mengisolasi diterpena senebrenoida dari terumbu karang Australia. Kolom kromatografi dikemas kering dalam keadaan vakum agar diperoleh kerapatan kemasan maksimum. Vakum dihentikan, pelarut yang kepolarannya rendah dituangkan ke permukaan penjerap lalu divakumkan lagi. Kolom dihisap sampai kering dan sekarang siap dipakai (Hostettmann, et al., 1995:33).

Sampel dilarutkan dalam pelarut yang cocok, dimasukkan langsung pada bagian atas kolom atau pada lapisan penjerap dan dihisap perlahan-lahan ke dalam kemasan dengan memvakumkannya. Kolom dielusi dengan campuran pelarut yang cocok, mulai dari pelarut yang kepolarannya rendah lalu kepolarannya ditingkatkan perlahan-lahan, kolom dihisap sampai kering pada setiap pengumpulan fraksi, oleh karena itu kromatografi cair vakum menggunakan tekanan rendah untuk meningkatkan laju aliran fase gerak (Hostettmann, et al., 1995:33).

## 1.6 Spektrofotometri ultra ungu – sinar tampak

Spektrofotometri ultra ungu - sinar tampak merupakan suatu metode identifikasi yang didasarkan pada struktur elektronik molekul, yang dikenal sebagai spektroskopi elektronik (Sastrohamidjojo, 1991:34-35). Penyerapan sinar tampak dan ultraviolet oleh suatu molekul dapat menyebabkan terjadinya eksitasi molekul dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Elektron-elektron yang menyerap radiasi ultraviolet dalam suatu molekul organik adalah elektron-elektron yang terlibat langsung dalam ikatan antara 2 atom dan elektron-elektron bebas seperti pada atom oksigen, halogen, nitrogen dan belerang. Transisi yang penting pada daerah ultraviolet dan tampak (Hendayana, dkk., 1994 : 191).

Spektrofotometri ultra ungu - sinar tampak dapat digunakan untuk mengidentifikasi jenis flavonoid dan menentukan pola oksigenasi. Kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti flavonoid dapat ditentukan dengan menambahkan pereaksi geser ke dalam larutan cuplikan dan mengalami pergeseran puncak serapan yang terjadi. Metode ini secara tidak langsung juga berguna untuk menentukan kedudukan gula atau metil yang terikat pada salah satu gugus hidroksil fenol. Pereaksi geser yang biasa digunakan adalah Natrium Metoksida (NaOMe) / Natrium Hidroksida (NaOH), Natrium Asetat (NaOAc), Natrium Asetat / Asam Borat ( $H_3BO_3$ ), Alumunium (III) klorida ( $AlCl_3$ ) dan Alumunium (III) klorida / Asam hidroklorida (HCl). Penambahan Natrium Metoksida (NaOMe) / Natrium Hidroksida (NaOH) menyebabkan batokromik karena adanya ionisasi dari gugus hidroksil yang peka basa. Pergeseran terjadi pada pita I sebesar 45-65 nm untuk flavon dan flavonol (Markham, 1988: 35).