



**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI ROTENON DARI
AKAR TUBA (*DERRIS ELLIPTICA*)**

tugas akhir II

disajikan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains

Program Studi Kimia

oleh

Bambang Hendriana

4350406514

PERPUSTAKAAN
UNNES

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
2011**

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa tugas akhir II ini bebas plagiat, dan apabila di kemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan.

Semarang, Maret 2011

Bambang Hendriana

NIM. 4350406514



PENGESAHAN

Tugas Akhir II yang berjudul :

Isolasi dan identifikasi rotenon dari akar tuba (*Derris Elliptica*) kering

di susun oleh

Bambang Hendriana

4350406514

Telah dipertahankan dihadapan sidang Panitia Ujian Tugas Akhir II

FMIPA UNNES pada tanggal 25 April 2011.

Panitia:

Ketua

Sekretaris

Dr. Kasmadi I.S., M.S
NIP. 19511115 197903 1 001

Drs. Sigit Priatmoko, M. Si
NIP. 19650429 199103 1 001

Ketua Penguji

Dr. Edy Cahyono, M.Si
NIP. 19641205 199002 1 001

Anggota Penguji/
Pembimbing Utama

Anggota Penguji/
Pembimbing Pendamping

Dra. Sri Mantini R.S, M.Si
NIP. 19501017 197603 2 001

Drs. Warlan Sugiyo, M.Si
NIP. 19470307 197304 1 001

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Motto:

” Orang-orang hebat di bidang apapun bukan baru bekerja karena mereka terinspirasi, namun mereka menjadi terinspirasi karena mereka lebih suka bekerja. Mereka tidak mengia-nyiakan waktu untuk menunggu inspirasi.”

Persembahkan:

1. Untuk ayah dan ibu
2. Kakak dan adikku yang
3. Teman – teman seperjuangan '06

PRAKATA

Alhamdulillah, segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya yang tak terhingga, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir II dengan judul ” Isolasi Dan Identifikasi Rotenon Dari Akar Tuba (*Derris Elliptica*) Kering”.

Penulis merasakan banyak sekali manfaat yang diperoleh selama penyusunan Tugas Akhir II ini. Dalam penyusunan Tugas Akhir II ini, banyak sekali pihak yang membantu dalam penyelesaiannya. Tidak lupa, penulis ingin mengucapkan terimakasih yang tulus dan sedalam-dalamnya kepada berbagai pihak yang telah membantu demi kelancaran dalam proses penyusunan Tugas Akhir II ini. Ucapan terimakasih ini penulis sampaikan kepada :

1. Dr. Kasmadi IS, M.S selaku Dekan FMIPA, UNNES.
2. Drs. Sigit Priatmoko, M.Si selaku Ketua jurusan kimia, FMIPA, UNNES.
3. Ibu Dra. Sri Mantini R.S, M.Si, pembimbing I yang telah memberikan ilmu, petunjuk, dan bimbingan dengan penuh kesabaran sehingga Tugas Akhir II ini dapat terselesaikan.
4. Bapak Drs. Warlan Sugiyo, M.Si., pembimbing II yang telah memberikan motivasi, arahan, dan bimbingan dalam menyusun Tugas Akhir II ini dengan ikhlas.

5. Bapak Dr. Edy Cahyono, M.Si., penguji utama yang telah memberikan arahan, kritikan, dan masukan sehingga Tugas Akhir II ini menjadi lebih baik.
6. Kepala laboratorium kimia beserta seluruh karyawan yang telah memberikan dukungan serta membantu kelancaran penelitian.
7. Bapak ibu dosen jurusan kimia FMIPA UNNES yang telah memberikan bekal ilmu kepada penulis.
8. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu, yang telah membantu dalam penyusunan Tugas Akhir II ini.

Demikian ucapan terima kasih dari penulis, mudah-mudahan Tugas Akhir II ini dapat bermanfaat dan dapat memberikan kontribusi positif bagi perkembangan ilmu pengetahuan dalam dunia penelitian, khususnya dalam sintesis senyawa organik.

Semarang,

Penulis

ABSTRAK

Hendriana, B . 2011. *Isolasi dan Identifikasi Rotenon Dari Akar Tuba (Derris Elliptica) Kering*. Tugas Akhir II, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Pembimbing Utama Dra. Sri Mantini R.S, M. Si dan Pembimbing Pendamping Drs. Warlan Sugiyo, M. Si.

Tanaman tuba dapat dimanfaatkan sebagai biopestisida. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi rotenon dari akar tuba dan menentukan struktur senyawa aktif dalam akar tuba. Uji pendahuluan dilakukan dengan cara mengekstrak serbuk akar tuba (*Derris Elliptica*) dengan pelarut metanol menggunakan metode maserasi, kemudian diuji adanya flavanoid. Dalam uji pendahuluan ini didapatkan hasil positif terhadap flavanoid. Pemisahan senyawa dilakukan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis dan kromatografi kolom. Sedangkan eluen yang digunakan dalam kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis adalah n heksan:kloroform:metanol (8:2:1). Fraksi yang didapat dianalisis dengan menggunakan GC-MS, spektrometer IR dan GC. Untuk analisis karakterisasi awal menggunakan GC-MS, berdasarkan hasil uji GC-MS dari variasi waktu 32, 40 dan 48 jam diketahui bahwa senyawa utama zat metabolit sekunder yang terkandung dalam akar tuba (*derris elliptica*) adalah rotenon, dari variasi waktu 32 jam didapat kadar 7,16% pada (t_R) 33,432, waktu 40 jam didapat kadar 7,29% pada (t_R) 32,924, waktu 48 jam didapat kadar 7,34% pada (t_R) 32,432. Untuk hasil uji dengan IR dari variasi waktu 40 dan 48 jam diduga adanya ikatan C-H alifatik, C=C aromatik, $-CH_3$, C-O dan C=O alkena. Adanya gugus OH dikarenakan penggunaan pelarut metanol yang belum terpisahkan pada saat kromatografi kolom. Dari hasil uji GC dari variasi waktu 40 jam didapat senyawa murni rotenon sebanyak 28,31%, sedangkan pada variasi waktu 48 jam didapat senyawa murni rotenon sebanyak 29,01%.

Kata kunci: Akar tuba, Rotenon, Biopestisida

ABSTRACT

Hendriana, B. 2011. Isolation and Identification of Root Rotenon From Tuba (Derris Elliptica). Final Project II, Department of Chemistry Faculty of Mathematics and Natural Sciences, State University of Semarang. Main supervisor Dra. Sri R.S Mantini, M. Si and Supervising Companion Drs. Warlan Sugiyo, M. Si.

Tubal plants can be used as biopesticides. This study aimed to isolate rotenon of tuba root and determine the structure of the active compounds in the roots of the tuba. Preliminary trials carried out by the root extract powder tuba (Derris Elliptica) with a methanol solvent using the method of maceration, then tested the flavonoids. In this preliminary test of flavonoids obtained positive results. Separation of compounds is done using thin layer chromatography and column chromatography. While the eluent used in the column chromatography and thin layer chromatography is n hexane: chloroform: methanol (8:2:1). Fractions obtained were analyzed using GC-MS, IR spectrometer and GC. For the initial characterization analysis using GC-MS, based on GC-MS assay results from the time variation of 32, 40 and 48 hours is known that the main compound of secondary metabolites of substances contained in the roots of the tuba (Derris elliptica) is rotenon, the time variation of the levels obtained 32 hours 7.16% in (tR) 33.432, a 40-hour levels of 7.29% obtained in (tR) 32.924, 48 hours gained 7.34% on the levels (tR) 32.432. For test results to the IRs of fariasi time 40 and 48 hours of suspected presence of aliphatic CH bonds, C = C aromatic, -CH₃, CO and C = O alkenes. The existence of the OH group of methanol due to the use of solvents that have not been separated during chromatography column. From the test results of the GC fariasi time of 40 hours of pure compounds obtained rotenon as many as 28, 31%, whereas at 48 hours fariasi pure compounds obtained rotenon as much as 29.01%.

Key words: Tuba roots, Rotenon, Biopesticide

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN.....	ii
PENGESAHAN	iii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	iv
PRAKATA	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Permasalahan	3
C. Tujuan	3
D. Manfaat	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tanaman Tuba	4
B. Rotenon	6
C. Flavanoid.....	8
D. Metode Ekstraksi.....	10
E. Kromatografi Gas	11
F. Spektrofotometer Infra Merah.....	14
G. Kromatografi Gas-Spektrometer Massa.....	15
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Populasi.....	17

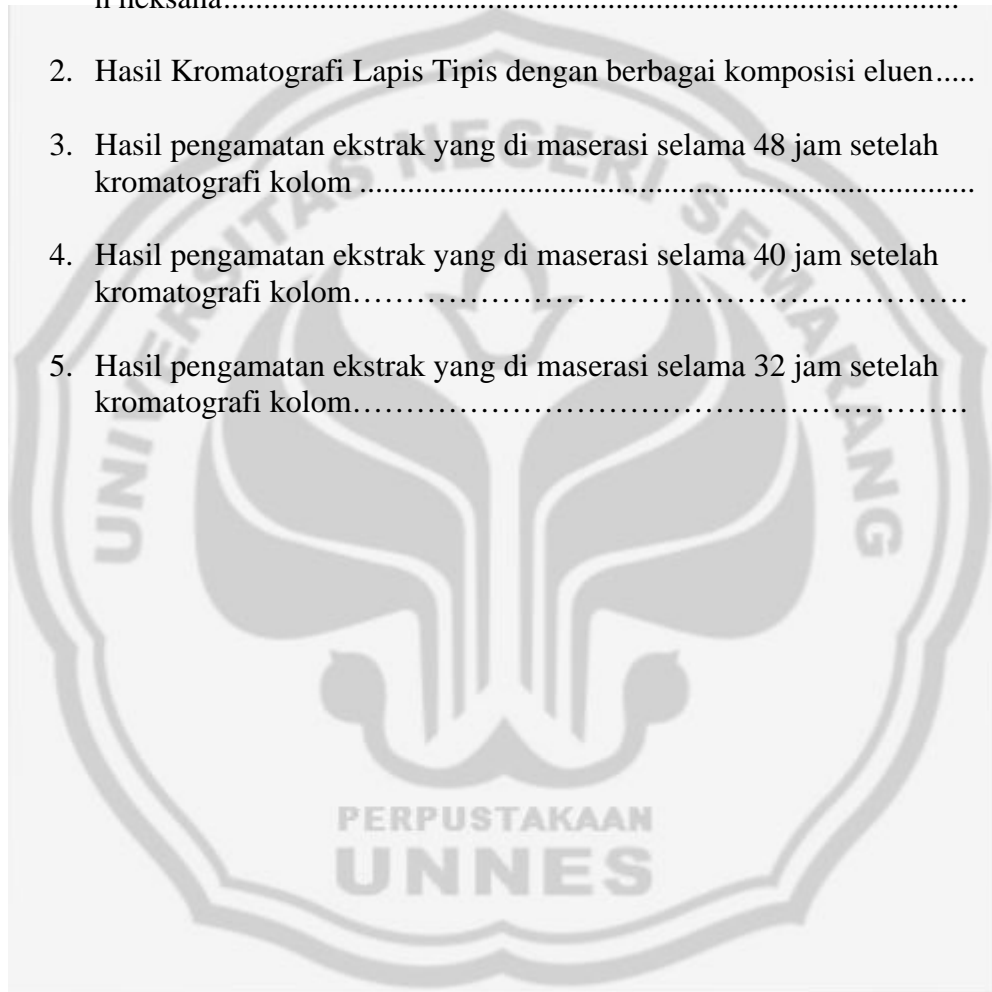
B. Sampel.....	17
C. Variabel penelitian.....	17
D. Alat dan Bahan.....	18
E. Langkah Penelitian.....	19
F. Metode Analisis Data.....	20
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil Ekstraksi Akar Tuba.....	22
B. Uji Fitokimia.....	24
C. Hasil Karakterisasi GC-MS Akar Tuba.....	25
D. Hasil Pemisahan dan Pemurnian Senyawa Flavanoid.....	28
E. Hasil spektrofotometer inframerah (IR) dalam ekstrak akar tuba fraksi n heksan.....	
F. Hasil karakterisasi GC Akar Tuba.....	33
BAB V PENUTUP	
A. Simpulan.....	36
B. Saran.....	36
DAFTAR PUSTAKA	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman Tuba (<i>Derris elliptica</i>)	5
2. Struktur senyawa Retenon.....	8
3. Struktur umum flavonoid	9
4. Kromatogram GC standar ekstrak akar tuba.....	13
5. Skema Peralatan Spektrofotometer Infra Merah.....	15
6. Uji flavanoid dengan penambahan NaOH 10% dan H ₂ SO ₄	22
7. Kromatografi GC-MS dari ekstrak akar tuba yang dimaserasi selama 48 jam.....	23
8. Spektrum massa puncak no 6 hasil ekstraksi 48 jam.....	24
9. Kromatografi GC-MS dari ekstrak akar tuba yang di maserasi selama 40 jam.....	24
10. Kromatografi GC-MS dari ekstrak akar tuba yang di maserasi selama 32 jam.....	25
11. A. KLT dengan komposisi 9:1:0,5; B. KLT dengan komposisi 8:2:1; C. KLT dengan komposisi 7:2,5:1,5	26
12. Spektrum infrared (IR) pada botol no 4 yang dimaserasi selama 48 jam.....	30
13. Spektrum infrared (IR) pada botol no 5 yang dimaserasi selama 40 jam.....	31
14. Kromatogram GC sampel ekstrak akar tuba yang dimaserasi selama 48 jam.....	33
15. Kromatogram GC sampel ekstrak akar tuba yang dimaserasi selama 40 jam.....	34
16. Grafik waktu maserasi terhadap kadar rotenone.....	35

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil ekstraksi akar tuba kering dengan pelarut metanol dan n heksana.....	21
2. Hasil Kromatografi Lapis Tipis dengan berbagai komposisi eluen.....	26
3. Hasil pengamatan ekstrak yang di maserasi selama 48 jam setelah kromatografi kolom	27
4. Hasil pengamatan ekstrak yang di maserasi selama 40 jam setelah kromatografi kolom.....	28
5. Hasil pengamatan ekstrak yang di maserasi selama 32 jam setelah kromatografi kolom.....	29



BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Banyak jenis pestisida telah diimport untuk mengendalikan hama serangga. Penyalahgunaan pestisida oleh petani dapat mengakibatkan hama tahan terhadap pestisida. Meskipun banyak tindakan telah diperkenalkan untuk mengendalikan hama serangga namun masih banyak masalah, seperti tingginya biaya produksi dan pencemaran lingkungan, adalah salah satu dampak yang diakibatkan oleh pestisida sintetis (Visetson, 2001: 1). Untuk mengatasi dampak negatif yang ditimbulkan pestisida sintetis, maka para peneliti tertarik untuk mencari pestisida alternatif yang berasal dari tumbuhan. Pestisida ini diharapkan dapat lebih selektif terhadap serangga sasaran dan lebih bersahabat dengan lingkungan. Untuk itu para peneliti memulai lagi melakukan pengujian terhadap tumbuhan yang telah diketahui bersifat pestisida. Salah satu tumbuhan yang diuji adalah tumbuhan akar tuba terhadap berbagai serangga hama (Nursal, 2004: 17).

Tanaman tuba merupakan jenis tanaman yang dikenal di kalangan masyarakat Indonesia. Tanaman ini tersebar hampir di seluruh wilayah Nusantara dan mempunyai kegunaan yang sangat banyak terutama digunakan sebagai peracun ikan. Selain itu akar tuba juga dapat dimanfaatkan sebagai biopestisida (Novizan, 2002: 15).

Akar tuba merupakan tumbuhan memanjat berkayu, yang merambat dan membelit hingga tinggi 10 m. Ranting-ranting yang tua berwarna kecoklatan. Daun-daun tersebar, majemuk menyirip ganjil beranak daun 7-15

helai, bertangkai 13-23 cm, anak daun bertangkai pendek, memanjang sampai bentuk lanset atau bundar telur terbalik 2-8 cm, dengan sisi bawah keabuan atau kebiruan, sering berambut rapat, daun yang muda coklat-unggu.

Di dalam tanaman tuba terkandung senyawa aktif yaitu rotenon, senyawa bio-aktif ini diketahui memiliki potensi yang sangat besar untuk digunakan sebagai bio-pestisida. Bio-pestisida merupakan alternatif yang paling baik dan memiliki potensi untuk mengganti penggunaan pestisida konvensional, karena lebih ramah lingkungan (Zubairi, 2004: 1).

Rotenon adalah senyawa pestisida yang ditemukan pada akar tuba (*Derris elliptica*). Rotenon juga diketahui terdapat di dalam biji bengkuang dan tanaman teprosia. Akar tuba sebelumnya telah dikenal luas sebagai racun ikan. Rotenon dapat diekstrak menggunakan eter atau aseton yang menghasilkan 2-4% resin rotenon. Hasil ekstraksi ini dibuat menjadi konsentrat cair atau diolah berbentuk tepung (Akpinar, 2005: 234).

Rotenon merupakan penghambat respirasi sel, berdampak pada jaringan saraf dan sel otot yang menyebabkan serangga berhenti makan. Kematian serangga terjadi beberapa jam sampai beberapa hari setelah terkena rotenon. Rotenon sangat beracun bagi ikan dan sering dipakai sebagai racun ikan (Akpinar, 2005: 234).

Karena akar tuba sangat terbatas penyebarannya dan sulit ditemukan diberbagai tempat, maka diperlukan isolasi senyawa aktif dari akar tuba untuk bahan pestisida.

Dari uraian di atas maka penulis memilih judul "Isolasi dan Identifikasi Rotenon Dari Akar Tuba (*Derris Elliptica*) Kering".

B. PERMASALAHAN

Berdasarkan hal-hal yang diungkapkan diatas, dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimana menentukan struktur rotenon yang diisolasi dari akar tuba?
2. Berapa kadar rotenon yang terdapat dalam akar tuba?

C. TUJUAN PENELITIAN

Tujuan yang ingin dicapai pada penelitian ini antara lain :

1. Menentukan struktur senyawa aktif dalam akar tuba
2. Menentukan kadar rotenon dalam akar tuba

D. MANFAAT PENELITIAN

Manfaat yang ingin dicapai pada penelitian ini adalah :

6. Menambah informasi tentang cara isolasi senyawa aktif dalam akar tuba (*derris elliptica*).
7. Menambah informasi tentang struktur rotenon yang dapat dikembangkan pemanfaatannya untuk pestisida dan penelitian lebih lanjut.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Tuba (*Derris elliptica*)

Tumbuhan tuba merupakan perdu memanjat dengan tinggi dapat mencapai 10 m, batang berkayu, bercabang monopodial, ketika muda berwarna hijau dan setelah tua berwarna coklat kekuningan. Perbanyakkan akar tuba dapat dilakukan dengan stek batang. Tuba dapat tumbuh baik di semak-semak, hutan atau pinggir sungai pada ketinggian 1-700 mdpl.

Tuba tumbuh liar mulai dari India bagian timur sampai Papuanugini. Di Indonesia, tuba terdapat hampir diseluruh wilayah Nusantara. Di Jawa ditemukan mulai dari dataran rendah sampai ketinggian 1500 mdpl. Tumbuh terpencair-pencar di tempat yang tidak begitu kering, ditepi hutan, dipinggir sungai atau dalam hutan belukar yang masih liar (Kartasapoetra, 1993: 57).

G. Akar Tuba

Dalam bahasa ilmiah disebut *Derris elliptica*, merupakan jenis tumbuhan yang biasa digunakan sebagai peracun ikan. Akar tanaman Tuba ini memiliki kandungan *rotenone*, sejenis racun kuat untuk ikan dan serangga (insektisida) (Budiyono, 2006: 38).

Dalam bahasa Inggris biasa disebut sebagai *Derris Root*, *Duva Ni Vavalagi*, atau *Tuba Root*. Tanaman memanjat ini mempunyai beberapa nama lokal seperti; *tuwa laleur*, *tuwa leteng*, *areuy kidang* (Sunda); *jenu*, *jelun*, *tuba*, *oyod tungkul*, *tungkul* (Jawa); *tobha*, *jheno*, *mombul* (Madura);

Akar dari tumbuhan tuba (*Derris elliptica*) yang berpotensi sebagai biopestisida ini selain dijumpai hampir di seluruh wilayah di Indonesia juga terdapat di Bangladesh, Asia Tenggara, dan beberapa kepulauan di Pasifik (Wahyudi, 2001: 2).



Gambar 1. Tanaman Tuba (*Derris elliptica*)

H. Ciri - ciri Tanaman Tuba

Tuba merupakan tumbuhan berkayu memanjat 7-15 pasang daun pada tiap rantingnya. Daun muda berambut kaku pada kedua permukaannya. Di bagian bawah daun diliputi oleh bulu lembut berwarna pirang. Batangnya merambat dengan ketinggian hingga 10 meter. Ranting-ranting tuba tua berwarna kecoklatan (Kardinan, 1996: 33).

Tumbuhan peracun ikan ini tumbuh berpencar-pencar, di tempat yang tidak begitu kering, di tepi hutan, di pinggir sungai atau dalam hutan belukar yang masih liar dan kadang-kadang ditanam di kebun atau pekarangan. Di Jawa tanaman tuba didapati mulai dari dataran rendah hingga ketinggian sekitar 1500 m dpl.

I. Manfaat Tanaman Tuba

Tanaman ini merupakan penghasil bahan beracun yang dapat digunakan untuk mengendalikan hama serangga, baik diluar ruangan maupun di dalam ruangan. Disamping *rotenon* sebagai bahan aktif utama, bahan aktif lain yang terdapat pada akar tanaman Tuba (*Derris elliptica*) adalah *deguelin*, *elliptone*, dan *toxicarol*. Bahan aktif ini ditemukan pada akar tuba dengan kadar antara 2,5-3%, paling banyak terkandung dalam kulit akar (Sari, 2004: 16).

Tanaman ini sering digunakan sebagai racun ikan. Namun dapat juga dapat digunakan sebagai pestisida, yaitu untuk pemberantasan hama pada tanaman sayuran, tembakau, kelapa, kina, kelapa sawit, lada, teh, coklat, dan lain-lain (Subiakto, 2009: 11).

B. Rotenon

Rotenon adalah salah satu anggota dari senyawa isoflavon, sehingga rotenon termasuk senyawa golongan flavanoida. Salah satu kandungan dari ekstrak tanaman tuba adalah rotenon dengan nama lain tubotoxin ($C_{23}H_{22}O_6$).

Tubotoxin merupakan insektisida alami yang kuat, titik lelehnya $163^{\circ}C$, larut dalam alkohol, karbon tetraklorida, kloroform, dan banyak larutan organik lainnya. Jika terbuka terhadap cahaya dan udara mengalami perubahan warna kuning terang menjadi kuning pekat, orange dan terakhir menjadi hijau tua

dan akan diperoleh kristal yang mengandung racun serangga (Casacchia, 2009: 215).

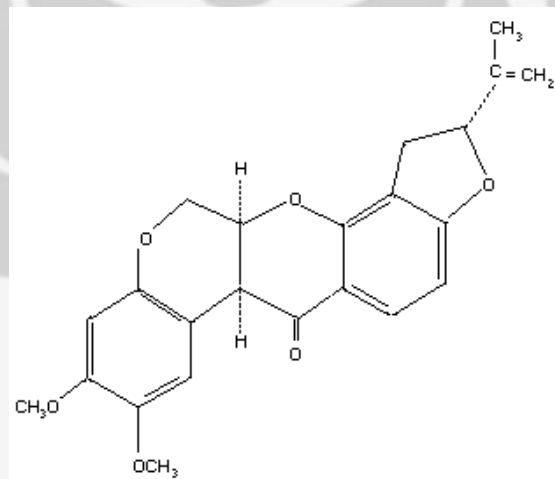
Rotenon merupakan racun sel yang sangat kuat dan merupakan racun akut. Rotenon murni yang belum diolah bahkan lebih beracun dari pada pestisida sintetis dari golongan karbaril atau malathion. Keracunan berat rotenon bisa menyebabkan kerusakan ginjal dan hati. Walaupun kadar racunnya sangat tinggi, rotenon bisa terurai dengan cepat karena sinar matahari.

Rotenon sangat beracun bagi serangga namun relatif tidak beracun untuk tanaman dan mamalia (Zubairi, 2004: 1). Rotenon dapat dipakai sebagai racun kontak dan racun perut untuk mengendalikan serangga. Beberapa percobaan menunjukkan bahwa rotenon efektif untuk mengendalikan kumbang pemakan daun dan beberapa jenis ulat. Di Amerika, Rotenon dilaporkan telah dengan efektif mengendalikan kumbang pada tanaman kentang yang telah kebal terhadap insektisida sintetis. Di Indonesia, hanya satu merk dagang pestisida dengan bahan aktif rotenon yang telah terdaftar di komisi pestisida Departemen Pertanian dengan merk dagang Chemfish 5 EC. Chemfish 5 EC mengandung rotenon 5 % dan dipakai untuk membunuh ikan yang tidak diinginkan pada tambak ikan.

Rotenon diketahui aman untuk para petani, karena diketahui hanya beracun untuk hewan berdarah dingin dan kurang beracun untuk hewan berdarah panas. Rotenon tidak stabil di udara, cahaya dan kondisi alkali.

Rotenon juga cepat didegradasi oleh tanah dan air. Oleh karena itu, toksisitas rotenon akan hilang setelah 2-3 hari setelah terkena cahaya matahari dan udara, sehingga baik untuk lingkungan dan aman untuk pertanian dan penggunaan lainnya (Hien, 2003: 83).

Tanaman ini sering digunakan sebagai racun ikan. Namun dapat juga digunakan sebagai pestisida, yaitu untuk pemberantasan hama pada tanaman sayuran, tembakau, kelapa, kina, kelapa sawit, lada, teh, coklat, dan lain-lain. Di Kalimantan, ekstrak akarnya digunakan sebagai racun untuk anak panah.



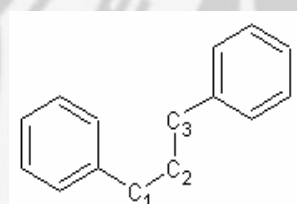
Gambar 2. Struktur senyawa Rotenon (Yun, 2006: 2)

C. Flavanoid

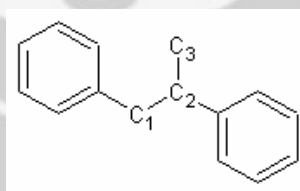
Flavanoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar dan terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga pastilah di temukan pula pada setiap telaah ekstrak tumbuhan. Terdapat berbagai warna pada jaringan tanaman, dan rotenoid misalnya, memiliki sifat insektisida. Kerangka dasar

terdapat pada flavon dan kebanyakan variasinya pada pola itu adalah berasal dari hidroksilasi (dan *O*-metilasi dan pembentukan glukosida), dan oksidasi cincin B. Beberapa variasi berikutnya berkaitan dengan pengaturan ulang cincin B yang terdapat pada flavon dan rotenon.

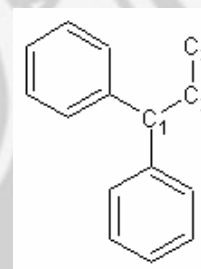
Senyawa flavonoid adalah senyawa yang mempunyai struktur $C_6-C_3-C_6$. Tiap bagian C_6 merupakan cincin benzen yang terdistribusi dan dihubungkan oleh atom C_3 yang merupakan rantai alifatik seperti di tunjukkan pada gambar 3.



Flavanoid



Isoflavanoid



Neoflavanoid

Gambar 3. Struktur umum flavonoid

Sebagian besar dari flavanoid alam ditemukan sebagai glikosida, dan aglikon flavanoid dapat dibebaskan dari glikosida oleh hidrolisa asam (Keenan, 1980: 4). Aglikon flavanoid (yaitu flavanoid tanpa gula terikat) terdapat dalam berbagai bentuk struktur (Markham, 1988: 13). Golongan flavanoid dapat digolongkan sebagai deretan senyawa $C_6-C_3-C_6$, kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C_6 (Cincin benzena) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon. Kelas-kelas yang berlainan dalam golongan flavanoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan

gugus hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan (Robinson, 1995: 27).

Flavanoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim dan non enzim. Flavanoid bertindak sebagai penampung yang baik radikal hidroksi dan superoksida dengan demikian melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak (Robinson, 1995: 36).

Flavanoid merupakan senyawa polar sehingga akan larut dalam pelarut polar etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida (DSMO), dimetilformamida (DMF). Adanya gula yang terikat pada flavanoid cenderung menyebabkan flavanoid lebih mudah larut dalam air dan demikian campuran pelarut diatas dengan air merupakan pelarut yang baik untuk glikosida. Sebaliknya, aglikogen yang kurang polar cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Sukadana, 2009: 18).

D. Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan salah satu metode pemisahan dua atau lebih komponen dengan menambahkan suatu pelarut yang tepat. Ekstraksi meliputi distribusi zat pelarut diantara dua pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang umum digunakan adalah air dan pelarut organik seperti kloroform, eter dan alkohol.

Dalam prosedur ekstraksi, zat-zat terlarut akan terdistribusi diantara lapisan air dan lapisan organik sesuai perbedaan kelarutannya. Pemisahan secara ekstraksi ada dua macam yaitu ekstraksi padat-cair, ekstraksi cair-cair atau dikenal sebagai ekstraksi pelarut.

Ekstraksi padat cair adalah salah satu metode pemisahan campuran terlarut yang terdapat dalam sampel padat dengan pelarut organik. Alat yang biasa di gunakan dalam ekstraksi padat-cair adalah soklet sehingga ekstraksi ini dikenal juga dengan metode sokletasi. Soklet merupakan suatu rangkaian alat ekstraksi dari bahan gelas yang terdiri dari bahan labu, tempat sampel dan pendingin balik.

Ekstraksi cair-cair adalah suatu peristiwa pemindahan suatu zat terlarut diantara dua pelarut yang tidak saling bercampur. Metode ini biasanya menggunakan alat yaitu corong pisah.

Metanol merupakan pelarut yang baik untuk digunakan dalam ekstraksi senyawa bahan alam tetapi metanol bersifat toksik, jika terminum dalam jumlah yang sangat kecil maupun melalui pernapasan kronis dapat menyebabkan kebutaan (Fessenden dan Fessenden, 1991: 253). Metanol merupakan bentuk alkohol yang paling sederhana. Pada keadaan atmosfer metanol berbentuk cairan yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar, dan beracun dengan bau yang khas (berbau lebih ringan dari etanol). Metanol digunakan sebagai bahan pendingin anti beku, pelarut, bahan bakar dan sebagai bahan aditif bagi etanol industri.

E. Kromatografi Gas (GC)

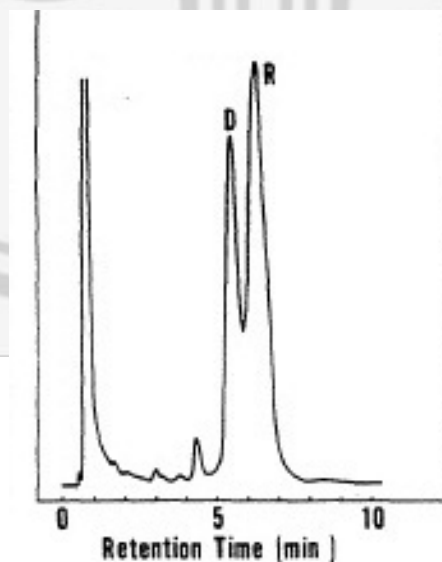
Kromatografi gas merupakan metode pemisahan campuran menjadi komponen-komponennya diantara fasa gerak dan fasa diam. Fasa gerak berupa gas yang stabil sedangkan fasa diamnya berupa zat padat atau zat cair yang mudah menguap. Cuplikan yang dapat dipisahkan dengan metode ini harus mudah menguap. Metode ini sangat cepat bekerjanya, dalam waktu beberapa detik dapat memisahkan secara sempurna, selain itu konsentrasi cuplikan sangat rendah dengan konsentrasi cuplikan sampai mg/l. Kromatografi gas dapat juga digunakan untuk analisis kualitatif atau kuantitatif senyawa organik. Cuplikan dalam bentuk uap di bawa oleh aliran gas kedalam kolom pemisah, hasil pemisahan dapat dianalisis dari kromatografi. Kromatogram adalah kurva yang diperoleh dari pengukuran kromatografi. Alat yang digunakan untuk percobaan ini disebut kromatograf (Hendayana, 1994: 169).

Kromatografi gas merupakan metode yang tepat dan cepat untuk memisahkan campuran yang sangat rumit. Waktu yang dibutuhkan sangat beragam, mulai dari beberapa detik untuk campuran sederhana sampai berjam-jam untuk yang mengandung 500-1000 komponen. Komponen campuran dapat diidentifikasi dengan menggunakan waktu tambat (waktu retensi) yang khas pada kondisi yang tepat. Waktu tambat adalah waktu yang menunjukkan berapa lama suatu senyawa tertahan dalam kolom. Waktu

tambat diukur dari jejak pencatat pada kromatogram dan serupa dengan volum tambat dalam KCKT dan Rf dalam KLT

Fasa bergerak dalam GLC (*Gas Liquid Chromatography*) adalah gas, yang paling lazim adalah helium, hidrogen, atau nitrogen. Pilihan gas pembawa terutama tergantung pada karakteristik detektor. Kromatografi komersial biasanya menyediakan katup pengatur tambahan untuk pengendalian tekanan yang baik pada inlet kolom.

Gambar dibawah ini adalah gambar spektrum standar hasil karakterisasi kromatografi gas ekstrak akar tuba yang di gunakan sebagai standar untuk menentukan waktu retensi akar tuba pada sampel. Dari spektrum standar akar tuba diketahui waktu retensi akar tuba standar adalah 6 menit (Norman, 1973:1346).



Gambar 4. Kromatogram GC standar ekstrak akar tuba (Norman, E.D, 1973)

F. Spektrofotometer Infra Merah (IR)

Senyawa senyawa yang belum diketahui fungsionalnya dapat diuji dengan data korelasi untuk mendeteksi gugus fungsional apa yang terdapat di dalamnya. Spektrofotometer Infra Merah (IR) adalah suatu instrumen yang digunakan untuk mengukur radiasi inframerah pada berbagai panjang gelombang (Fessenden, 1991: 357).

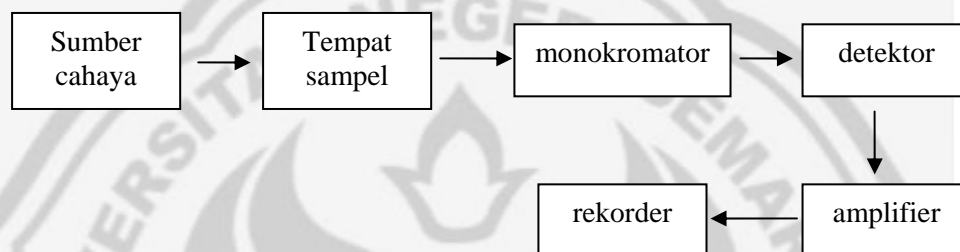
Spektrum IR mengandung banyak campuran yang di hubungkan dengan sistem vibrasi yang berinteraksi dengan molekul dan karena mempunyai karakteristik yang unik untuk setiap molekul maka dalam spektrum ini juga akan memberikan pita serapan yang khas (Sastrohamidojo, 2001: 15).

Seperti pada metode Spektroskopi ultraviolet dan tampak, bila sinar inframerah dilewatkan melalui cuplikan senyawa organik maka sejumlah frekwensi diserap sedang frekwensi yang lain akan diteruskan karena atom atom dalam suatu molekul tidak diam melainkan bervibrasi maka penyerapan frekwensi (energi) ini mengakibatkan terjadinya transisi diantara tingkat vibrasi tereksitasi. Metode ini juga digunakan untuk mendeteksi gugus fungsional pada suatu senyawa.

Spektrum IR senyawa tumbuhan dapat diukur dengan spektrofotometer IR yang merekam secara otomatis dalam bentuk larutan (dalam kloroform, karbon tetraklorida 1-5%), bentuk gerusan/ bentuk padat yang dicampur dengan kalium bromide. Kenyataan menunjukkan bahwa

banyak gugus fungsi dapat diidentifikasi dengan menggunakan IR. Spektrofotometri IR merupakan cara yang paling sederhana dan sering pula diandalkan dalam fitokimia (Harborne, 1987: 24).

Secara skematis komponen alat spektrometer infra merah ditunjukkan pada gambar 4.



Gambar 5. Skema Peralatan Spektrofotometer Infra Merah

G. Kromatografi Gas - spektrometer massa (GC - MS)

GC - MS merupakan gabungan antara kromatografi gas dengan spektrometer massa. Sampel yang di analisis menggunakan GC - MS akan menunjukkan berat molekul senyawa yang di analisis.

Kromatografi gas adalah suatu metode pemisahan campuran menjadi komponen - komponen penyusunnya. Kromatografi gas dapat digunakan untuk analisis kuantitati secara organik. Cuplikan dalam bentuk uap dapat di bawa oleh aliran gas ke dalam kolom pemisahan, hasil pemisahan dapat di analisis dengan kromatografi ini. Jumlah puncak menunjukkan senyawa yang terdapat dalam cuplikan sedangkan luas permukaan menunjukkan konsentrasi senyawa.

Spektrometer massa merupakan alat untuk menentukan massa (berat) molekul. Hasil - hasil yang di bentuk, ion - ion tidak bermuatan, yang massa - massa limpahan relatifnya ditunjukkan dalam spektrum massa (Sastrohamidjojo, 2001: 35). Dalam sebuah spektrometer di gambarkan keadaan gas dibombardir dengan elektron yang berenergi cukup untuk mengalahkan potensial ionisasi (sekitar 185 – 300 kkal/mol). Tabrakan antara sebuah molekul organik dan salah satu elektron berenergi tinggi menyebabkan lepasnya sebuah electron dari molekul itu dan terbentuknya ion organik. Ion organik yang di dihasilkan ini tidak stabil dan pecah menjadi fragmen kecil, baik berbentuk radikal bebas maupun ion-ion lain. Suatu molekul atau ion pecah menjadi fargmen-fargmen bergantung pada kerangka karbon dan gugus fungsional yang ada. Oleh karena itu, struktur dan massa fragmen memberikan petunjuk mengenai struktur molekul induknya. Juga sering kali untuk menentukan bobot molekul suatu senyawa dari spektrum massanya.

BAB III METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Kimia Organik Universitas Negeri Semarang dan laboratorium Kimia Organik Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Penelitian di laboratorium Kimia Organik Unnes meliputi: preparasi bahan sedangkan penelitian di laboratorium Universitas Gajah Mada Yogyakarta meliputi analisis dengan instrumen IR, GC dan GC-MS.

A. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah akar tuba kering jenis *Derris Elliptica* dari Kecamatan Gubug, Kabupaten Grobogan.

B. Sampel

Sampel adalah sebagian atau wakil dari populasi yang diteliti (Arikunto, 1993). Sampel dalam penelitian ini adalah 200 gram akar tuba kering.

C. Variabel Penelitian

Variabel yang di gunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Variabel bebas

Variable bebas yaitu faktor-faktor yang menjadi pokok permasalahan yang ingin diteliti atau penyebab utama suatu gejala. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah waktu yang di gunakan untuk maserasi 32 jam, 40 jam dan 48 jam.

2. Variabel terikat

Variabel terikat adalah variabel yang besarnya tergantung dari variabel bebas yang diberikan dan diukur untuk menentukan ada tidaknya pengaruh (kriteria dan variabel bebas). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah konsentrasi rotenon.

3. Variabel terkontrol

Variabel terkontrol adalah faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi hasil penelitian seperti cara kerja, peralatan yang digunakan, jenis akar tuba *derris elliptica* dan suhu.

D. Alat dan bahan

C. Alat - alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Spektrofotometer IR Shimadzu FTIR 820 IPC
- b. Seperangkat alat kromatografi Gas-Spektrum Massa (GC-MS)
- c. Kromatografi gas (GC) (shimadzu)
- d. Pipet volume
- e. Neraca analitik
- f. Erlenmeyer 250 ml
- g. Corong pisah, *Glastronic*
- h. Evaporator Buchii
- i. Kolom kromatografi gelas
- j. Blender

D. Bahan - bahan yang di gunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Akuades
- b. Serbuk akar tuba kering dari Kecamatan Gubug, Kabupaten Grobogan
- c. Metanol, merck
- d. Kloroform
- e. Kertas lakmus
- f. Larutan H_2SO_4
- g. n-heksana
- h. Silika Gel GF265

E. Langkah Penelitian

Isolasi rotenon dari akar tuba yang mengadopsi dari metode Astiti,

4. Akar tuba yang sudah dikeringkan lalu diserbukkan dan disaring dengan saringan 60 mesh. Sekitar 500 gram serbuk akar tuba dimaserasi dengan metanol sebanyak 1,5 L
5. Ekstrak / filtrat yang diperoleh kemudin disaring dan diuapkan dengan menggunakan evaporator dengan suhu $68^{\circ}C$ sampai dihasilkan larutan yang pekat atau filtrat tinggal 10 % dari volume semula.
6. Hasil residu diekstraksi dengan n-heksana, kemudian ekstrak n-heksana yang diperoleh diuji kandungan flavanoidnya
7. Isolat yang di dapat diuji dengan kromatografi lapis tipis (dengan larutan pengembang n-heksana: kloroform: metanol) dan GC-MS.

8. Selanjutnya isolat di murnikan dengan kromatografi kolom dengan silika gel 15 gram sebagai fase diam, panjang kolom 30 cm, diameter kolom 2 cm dan dengan eluen n-heksan, kloroform dan metanol dengan variasi volume (9:1:0,5), (8:2:1), (7:2,5:1,5).
9. Hasil kromatografi kolom diuji adanya senyawa flavonoid, fraksi yang positif flavonoid dilanjutkan dengan karakterisasi senyawa hasil isolat menggunakan spektrofotometer IR dan GC

F. Metode Analisis Data

Dalam penelitian ini metode analisis data yang dipakai yaitu dengan membaca spektrum dan kromatogram yang dihasilkan dari analisis menggunakan instrumentasi kimia antara lain spektrofotometer inframerah (IR), Kromatografi gas (GC), kromatografi gas spektrometri massa (GCMS).

Dari hasil spektrum IR yang dapat dianalisis adalah gugus fungsi yang terdapat pada senyawa yang diamati. Dari hasil kromatogram GC yang dapat diamati adalah kemungkinan banyaknya senyawa dan kadar yang terkandung dalam sampel. Kemudian kromatogram dan spektrum massa hasil analisis dengan menggunakan GCMS dapat diketahui kelimpahan relatif dan kemungkinan senyawa yang terdapat dalam sampel.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Ekstraksi Dari Akar Tuba

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah akar tuba yang berasal dari desa Trisari, Kecamatan Gubug, Kabupaten Grobogan. Sampel akar tuba diperoleh dengan cara mengeringkan akar tuba dalam oven pada suhu 110°C selama kurang lebih 2 jam untuk mengurangi kadar airnya.

Sampel kemudian diblender sampai terbentuk serbuk kasar akar tuba. Sebelum diblender akar tuba kering dipotong kecil-kecil agar menghasilkan serbuk yang lebih halus.

Akar tuba yang sudah diblender kemudian diekstraksi dengan menggunakan pelarut metanol. Adapun hasil ekstraksi akar tuba dengan menggunakan pelarut metanol dan n heksana dapat dilihat pada tabel 1.

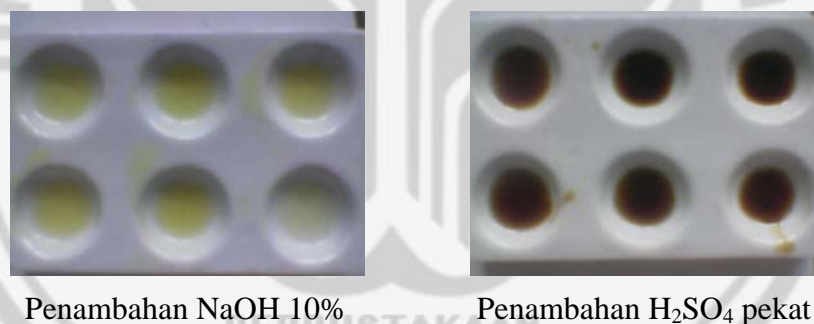
Tabel 1. Hasil ekstraksi akar tuba kering dengan pelarut metanol dan n heksana

Waktu maserasi	Pelarut metanol		Pelarut n heksana
	Hasil maserasi (mL)	Hasil evaporasi (mL)	
32	876 mL	93 mL	68 mL
40	932 mL	87 mL	69 mL
48	874 mL	93 mL	66 mL

Hasil pengamatan ekstraksi akar tuba dengan pelarut metanol dan pelarut n heksana dapat dilihat pada lampiran 5. Dari hasil ekstraksi dengan pelarut n heksana dilanjutkan dengan uji fitokimia.

B. Uji fitokimia

Ekstrak n heksana yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji flavanoid dengan cara uji warna menggunakan larutan NaOH 10% dan H₂SO₄. Hasil uji flavanoid pada ekstrak n-heksan adalah setelah ditetaskan NaOH 10% terjadi perubahan warna dari keruh menjadi kuning muda, setelah ditetaskan H₂SO₄ pekat terjadi perubahan warna dari keruh menjadi merah tua. Data pengamatan uji fitokimia dapat dilihat pada gambar 5.



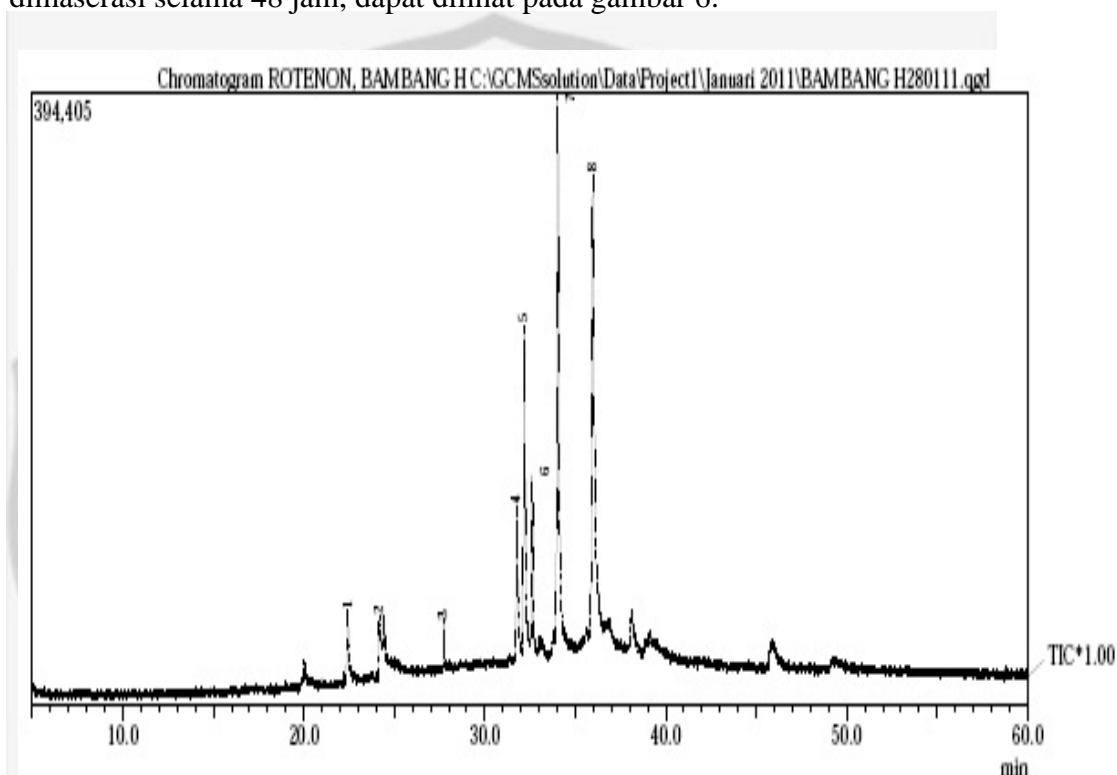
Gambar 6. Hasil uji flavanoid dengan penambahan NaOH 10% dan H₂SO₄

Dari uji fitokimia, ekstrak n-heksan positif mengandung flavanoid karena pada penambahan pereaksi warna tersebut terjadi perubahan yang khas untuk flavanoid. Perubahan warna yang terjadi diduga ekstrak n heksan mengandung senyawa flavanoid golongan flavon dan isoflavon. Terhadap ekstrak n heksan ini selanjutnya dilakukan uji pemisahan dan pemurnian

C. Hasil Karakterisasi GC-MS Ekstrak Akar Tuba

1. Hasil ekstraksi 48 jam

Hasil Kromatogram GC-MS hasil ekstrak dengan pelarut metanol yang dimaserasi selama 48 jam, dapat dilihat pada gambar 6.

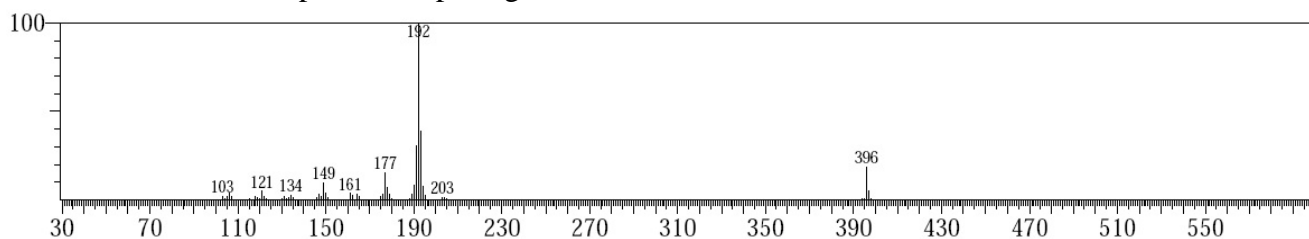


Gambar 7. Kromatogram GC-MS dari ekstrak akar tuba yang dimaserasi selama 48 jam

Berdasarkan kromatogram hasil GC-MS menunjukkan bahwa didalam ekstrak akar tuba mengandung senyawa flavanoid yang muncul pada (t_R) 32,609 menit memiliki kadar 7,38%.

Dari data kromatogram dan spektrum massa gambar 6 kromatogram memberikan puncak yang dominan (puncak nomor 6) dengan waktu retensi 32,609 menit dengan kelimpahan 7,38%. Puncak ini diperkirakan senyawa

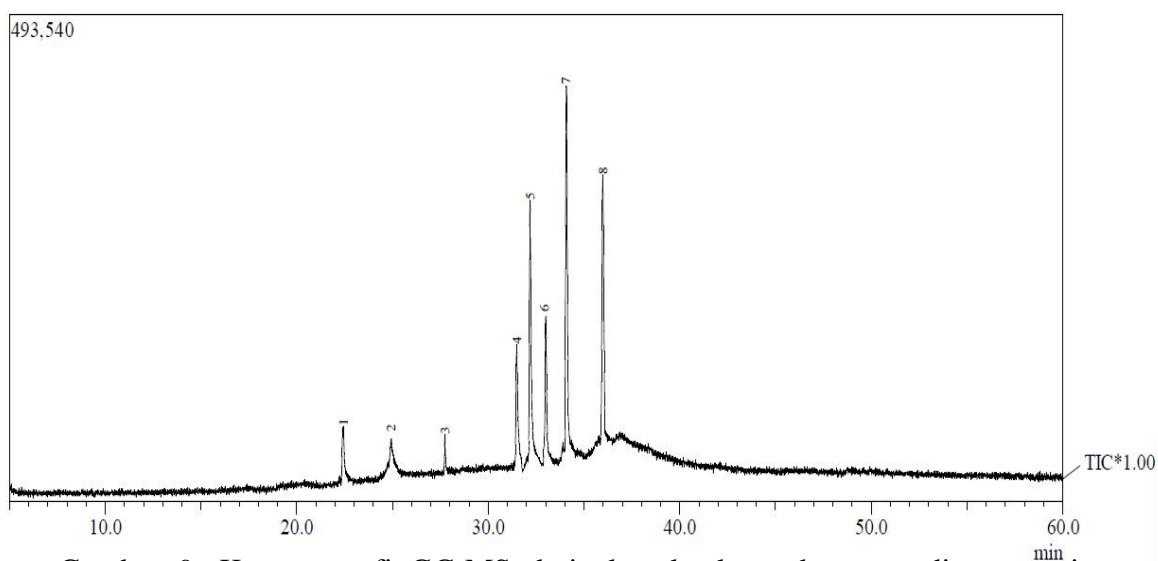
rotenone sesuai dengan fragmentasi pada lampiran 3. Spektrum massa puncak nomor 6 dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 8. Spektrum massa puncak no 6 hasil ekstraksi selama 48 jam.

2. Hasil ekstraksi 40 jam

Hasil Kromatogram GC-MS hasil ekstrak dengan pelarut metanol yang dimaserasi selama 40 jam, dapat dilihat pada gambar 8.

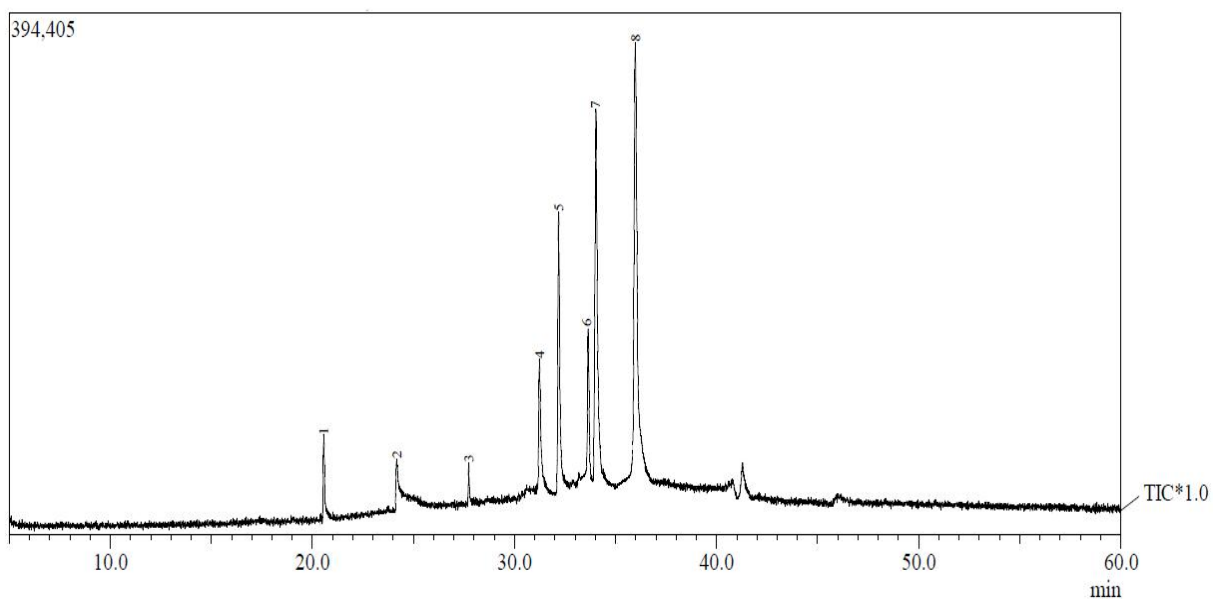


Gambar 9. Kromatografi GC-MS dari ekstrak akar tuba yang di maserasi selama 40 jam

Berdasarkan kromatogram hasil GC-MS menunjukkan bahwa didalam ekstrak akar tuba mengandung senyawa flavanoid yang muncul pada (t_R) 32,924 menit memiliki kadar 7,29%.

3. Hasil ekstraksi 32 jam

Hasil Kromatogram GC-MS hasil ekstrak dengan pelarut metanol yang dimaserasi selama 32 jam, dapat dilihat pada gambar 9.



Gambar 10. Kromatografi GC-MS dari ekstrak akar tuba yang di maserasi selama 32 jam

Berdasarkan kromatogram hasil GC-MS menunjukkan bahwa didalam ekstrak akar tuba mengandung senyawa flavanoid yang muncul pada (t_R) 33,436 menit memiliki kadar 7,16%.

D. Hasil Pemisahan dan Pemurnian Senyawa Flavanoid

Pada ekstrak n heksana yang positif flavanoid ini dilakukan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk mencari fase gerak yang memberikan pemisahan dan sebagai pembanding KLT adalah ekstrak metanol. Setelah memperoleh fase gerak yang terbaik dilakukan kromatografi kolom untuk

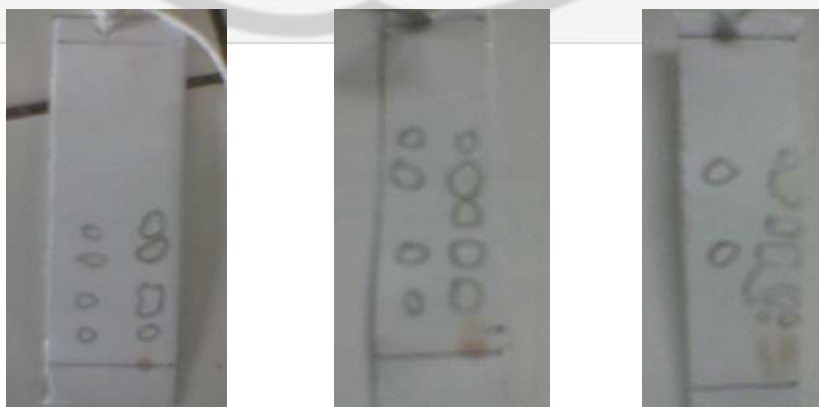
memisahkan komponen-komponen yang ada pada ekstrak n heksan. Hasil dari Kromatografi Lapis Tipis dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Kromatografi Lapis Tipis dengan berbagai komposisi eluen.

Komposisi Eluen n-Heksan : Kloroform : methanol (ml)	Rf komponen ekstrak n heksana				Rf komponen ekstrak metanol				
	9 : 1 : 0,5	0,10	0,23	0,35	0,43	0,12	0,26	0,4	0,48
7 : 2,5 : 1,5	0,43		0,66		Pemisahan tidak teratur				
8 : 2 : 1	0,18	0,32	0,55	0,67	0,21	0,33	0,44	0,55	0,64

Dari ketiga hasil Kromatografi Lapis Tipis yang di ambil adalah pada komposisi n Heksan : Kloroform : Metanol yaitu 8 : 2 : 1 karena pada komposisi tersebut komponen dapat terpisah dengan bagus sehingga komposisi tersebutlah yang akan dipakai untuk acuan dalam kromatografi kolom.

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dari berbagai komponen eluen yang dipakai untuk acuan dalam pemisahan kromatografi kolom di sajikan pada gambar 11.



Pada kromatografi kolom didapatkan 13 botol eluat dan ada 4 fraksi seperti pada tabel 3. Fraksi yang menunjukkan hasil lebih positif terhadap uji flavanoid adalah fraksi ke 2 (no botol 4), fraksi ini selanjutnya diuji flavanoidnya dan pada fraksi ini menunjukkan perubahan warna yang khas untuk flavanoid dan selanjutnya filtrat hasil kolom yang positif flavanoid di KLT sehingga didapatkan Rf dari masing-masing fraksi dan yang memiliki nilai Rf sama dicampur menjadi satu fraksi. Berdasarkan hasil KLT didapatkan 4 fraksi berbeda yaitu fraksi 1-3 nilai Rfnya 0,312, fraksi kedua botol no. 4 memiliki Rf 0,436, fraksi ketiga botol no. 5-7 memiliki nilai Rf 0,572 dan fraksi keempat botol no. 8-13 memiliki Rf 0,648. Sehingga hasil kromatografi kolom yang dipakai untuk analisis lebih lanjut adalah fraksi ke 2 karena memiliki nilai Rf mendekati Rf flavanoid. Karakterisasi dilakukan menggunakan IR dan GC.

Tabel 4. Hasil pengamatan ekstrak yang dimaserasi selama 40 jam setelah kromatografi kolom

Fraksi	No botol	Rf	wujud	Warna Larutan	Uji Flavanoid
1	1-4	0,34	Cair	Jernih	(-)
2	5	0,41	Cair	Kecoklatan	(+)
3	6-7	0,60	Cair	Jernih kecoklatan	(-)
4	8-13	0,71	Cair	Jernih	(-)

Pada kromatografi kolom didapatkan 13 botol eluat dan ada 4 fraksi seperti pada tabel 4. Fraksi yang menunjukkan hasil lebih positif terhadap uji flavanoid adalah fraksi ke 2 (no botol 5), fraksi ini selanjutnya diuji

flavanoidnya dan pada fraksi ini menunjukkan perubahan warna yang khas untuk flavanoid dan selanjutnya filtrat hasil kolom yang positif flavanoid di KLT sehingga didapatkan Rf dari masing-masing fraksi dan yang memiliki nilai Rf sama dicampur menjadi satu fraksi. Berdasarkan hasil KLT didapatkan 4 fraksi berbeda yaitu fraksi 1-4 nilai Rfnya 0,347, fraksi kedua botol no. 5 memiliki Rf 0,418, fraksi ketiga botol 6-7 memiliki nilai Rf 0,604 dan fraksi keempat botol no. 8-13 memiliki Rf 0,714. Sehingga hasil kromatografi kolom yang dipakai untuk analisis lebih lanjut adalah fraksi ke 2 karena memiliki nilai Rf mendekati Rf flavanoid.

Tabel 5. Hasil pengamatan ekstrak yang dimaserasi selama 32 jam setelah kromatografi kolom

Fraksi	No botol	Rf	wujud	Warna Larutan	Uji Flavanoid
1	1-3	0,32	Cair	Jernih	(-)
2	4-5	0,44	Cair	Kecoklatan	(+)
3	6-9	0,52	Cair	Jernih kecoklatan	(-)
4	10-13	0,72	Cair	Jernih	(-)

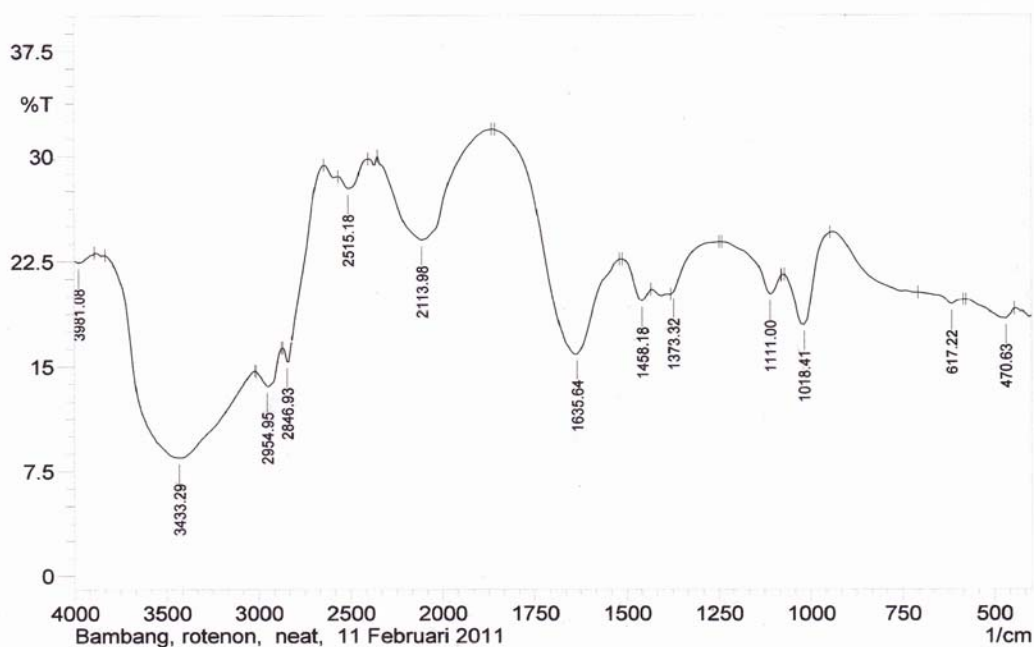
Pada kromatografi kolom didapatkan 13 botol eluat dan ada 4 fraksi seperti pada tabel 5. Fraksi yang menunjukkan hasil lebih positif terhadap uji flavanoid adalah fraksi ke 2 (no botol 4 dan 5), fraksi ini selanjutnya diuji flavanoidnya dan pada fraksi ini menunjukkan perubahan warna yang khas untuk flavanoid dan selanjutnya filtrat hasil kolom yang positif flavanoid di KLT sehingga didapatkan Rf dari masing-masing fraksi dan yang memiliki nilai Rf sama dicampur menjadi satu fraksi. Berdasarkan hasil KLT didapatkan

4 fraksi berbeda yaitu fraksi 1-3 nilai Rfnya 0,32, fraksi kedua botol no. 4-5 memiliki Rf 0,44, fraksi ketiga botol 6-9 memiliki nilai Rf 0,52 dan fraksi keempat botol no. 10-13 memiliki Rf 0,72. Sehingga hasil kromatografi kolom yang dipakai untuk analisis lebih lanjut adalah fraksi ke 2 karena memiliki nilai Rf mendekati Rf flavanoid.

E. Hasil spektrofotometer inframerah (IR) dalam ekstrak akar tuba fraksi n heksan

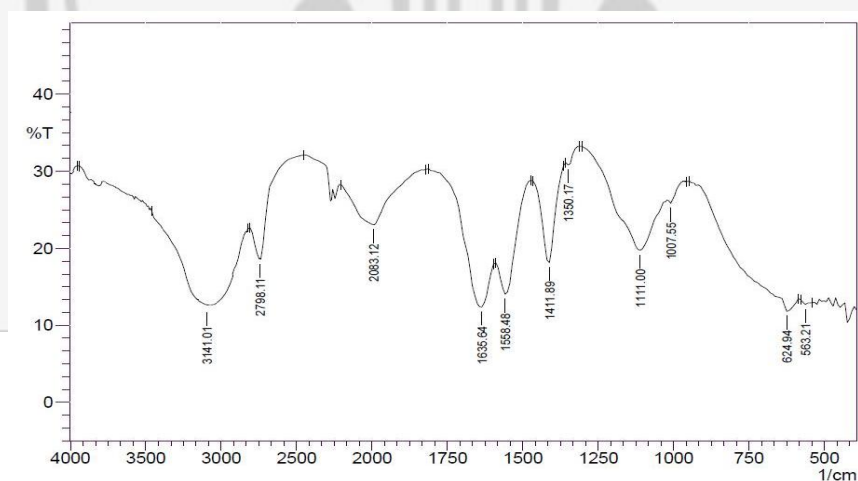
Spektrofotometer infra merah digunakan untuk menganalisis gugus fungsi dari senyawa kimia yang terdapat pada akar tuba dengan pelarut n heksan. Uji dengan spektrometer inframerah menghasilkan spektra IR seperti tampak pada gambar 12.

SHIMADZU



Gambar 12. Spektrum inframerah (IR) pada fraksi n heksana yang dimaserasi selama 48 jam

Hasil identifikasi ekstrak akar tuba fraksi n heksana dengan menggunakan spektrofotometer IR menunjukkan adanya serapan yang khas di daerah bilangan gelombang $2954,29\text{ cm}^{-1}$ dan $2846,93\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya ikatan C-H, pada bilangan gelombang $1635,64\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus C=O, pada bilangan gelombang $1458,18\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus $-\text{CH}_3$, pada bilangan gelombang $1111,00\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus C-O, pada bilangan gelombang $1018,41\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus C=C alkena. Adanya serapan pada bilangan gelombang $3433,29\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus $-\text{OH}$. Hal ini dikarenakan penggunaan pelarut metanol pada saat kromatografi kolom.



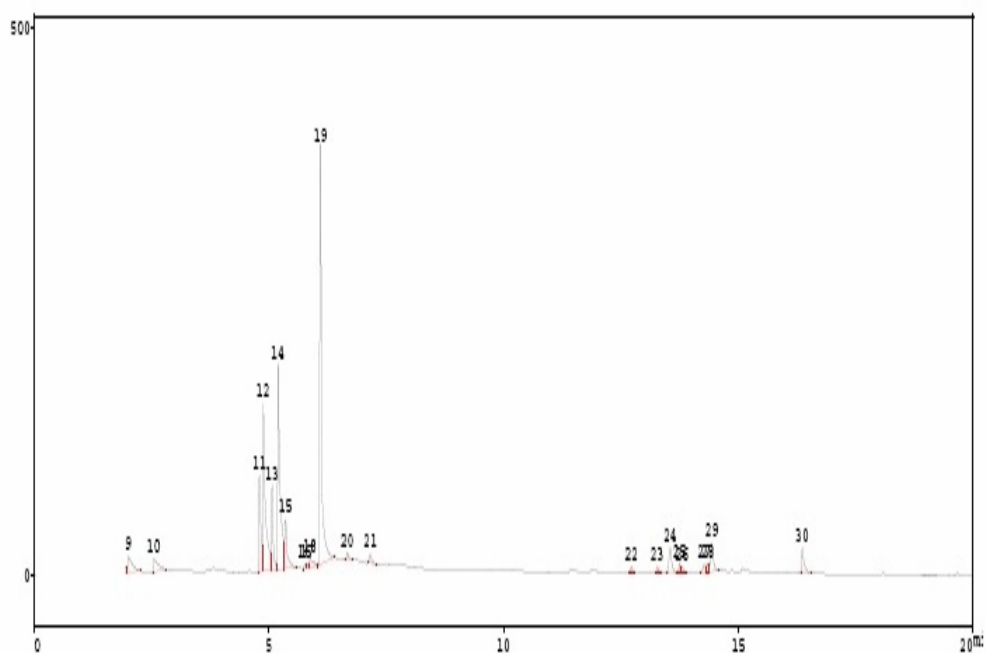
Gambar 13. Spektrum inframerah (IR) pada fraksi n heksana yang dimaserasi selama 40 jam

Hasil identifikasi ekstrak akar tuba fraksi n heksana dengan menggunakan spektrofotometer IR menunjukkan adanya serapan yang khas di daerah bilangan gelombang $2798,11\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya ikatan C-H, pada bilangan gelombang $1635,64\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus C=O, pada bilangan gelombang $1411,89\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus $-\text{CH}_3$, pada bilangan gelombang $1111,00\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus C-O, pada bilangan gelombang $1007,55\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus C=C alkena. Adanya serapan pada bilangan gelombang $3141,01\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus $-\text{OH}$. Hal ini dikarenakan penggunaan pelarut metanol pada saat kromatografi kolom.

F. Hasil karakterisasi GC Akar Tuba

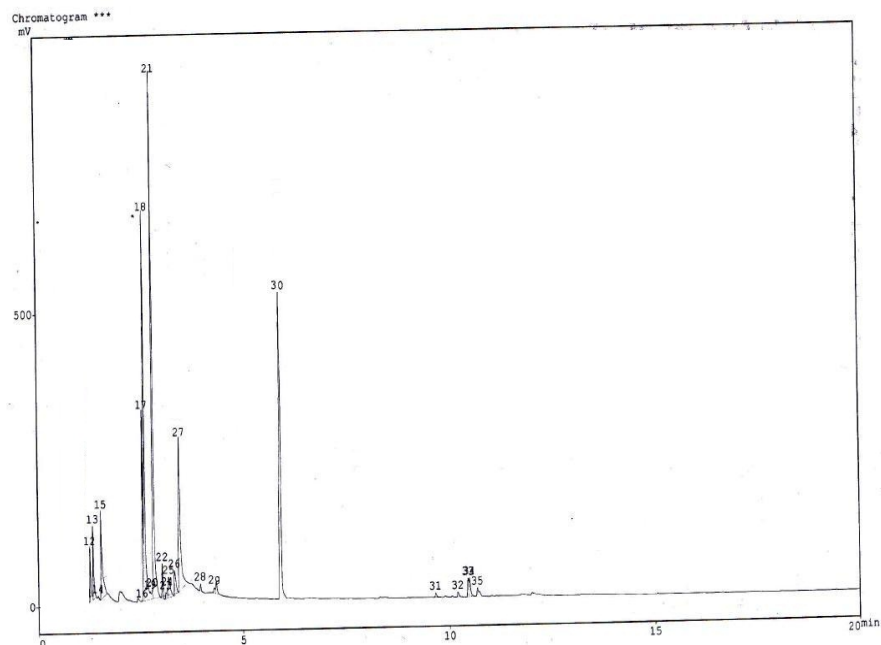
Dalam kromatografi gas, fase Bergeraknya adalah gas dan zat terlarut terpisah sebagai uap. Gas pembawa yang digunakan dalam kromatografi gas ini adalah gas Helium (He). Pemisahan tercapai dengan partisi sampel antara fase gas bergerak dan fase diam berupa cairan ekstrak akar tuba.

Kromatografi gas ini digunakan untuk analisis kualitatif dan analisis kuantitatif senyawa organik rotenon. Pemakaian kromatografi secara kualitatif digunakan untuk mengungkapkan ada atau tidak adanya suatu senyawa tertentu dalam sampel. Pemakaian kromatografi secara kuantitatif dapat menunjukkan banyaknya masing-masing komponen senyawa yang terdapat dalam campuran.



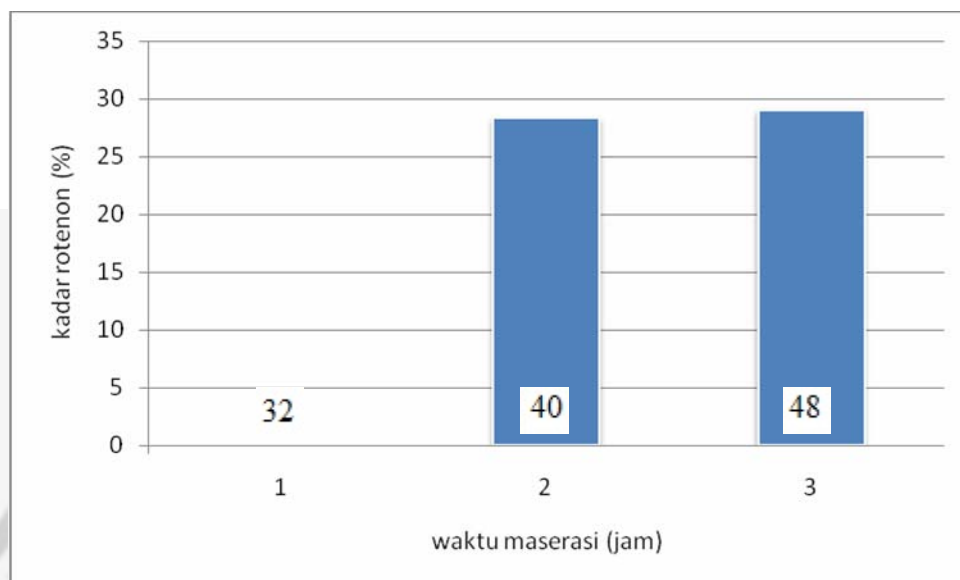
Gambar 14. Kromatogram GC sampel ekstrak akar tuba yang dimaserasi selama 48 jam

Berdasarkan kromatogram sampel ekstrak akar tuba pada gambar 14. diperoleh data interpretasi dari puncak-puncak yang terdeteksi. Dari puncak-puncak tersebut kemudian dibandingkan dengan kromatogram standar pada gambar 4. maka didapati puncak no 19 yang mirip. Dalam kromatogram standar dapat dilihat bahwa waktu retensi rotenon adalah 6 (Norman, E.D.). Dari kromatogram GC hasil penelitian maka puncak yang mirip adalah yang mempunyai waktu retensi 6,104 yang diduga sebagai puncak rotenon. Dari waktu retensi tersebut dapat diketahui konsentrasinya adalah 29,0105 % (b/v) yang berasal dari 200 gram akar tuba.



Gambar 15. Kromatogram GC sampel ekstrak akar tuba yang dimaserasi selama 40 jam

Berdasarkan kromatogram sampel ekstrak akar tuba pada gambar 15. diperoleh data interpretasi dari puncak-puncak yang terdeteksi. Dari puncak-puncak tersebut kemudian dibandingkan dengan kromatogram standar pada gambar 4. maka didapati puncak no 30 yang mirip. Dari kromatogram GC hasil penelitian maka puncak yang mirip adalah yang mempunyai waktu retensi 6,094 yang diduga sebagai puncak rotenon. Dari waktu retensi tersebut dapat diketahui konsentrasinya adalah 28,316 % (b/v) yang berasal dari 200 gram akar tuba. Pada gambar 14 disajikan grafik waktu maserasi terhadap kadar rotenon(%)



Gambar 16. Disajikan grafik waktu maserasi terhadap kadar rotenon(%)

Berdasarkan grafik diatas dapat dilihat bahwa semakin lama waktu maserasi yang dibutuhkan untuk perendaman akar tuba maka semakin tinggi pula kadar rotenon yang terdapat dalam ekstrak akar tuba.

Serbuk sampel akar tuba sebesar 200gram yang telah diekstraksi dengan pelarut methanol dengan cara maserasi selama 48 jam dan 40 jam diperoleh ekstrak akar tuba berwarna merah bata sebanyak 93mL dan 87mL. ekstrak sampel akar tuba tersebut di analisis dengan menggunakan kromatografi gas sehingga didapatkan kadar rotenon sebesar 29,0105 % dan 28,316 % . Perbedaan persentase kadar rotenon kemungkinan dipengaruhi oleh waktu yang digunakan untuk maserasi yaitu 48 jam, 40 jam dan 32 jam.

BAB V

PENUTUP

A. Simpulan

1. Dari hasil karakterisasi IR, GC dan GC-MS didapatkan rumus struktur rotenon $C_{23}H_{22}O_6$
2. Berdasarkan interpretasi kromatogram GC akar tuba dengan waktu maserasi 48 jam dengan waktu retensi 6,104 yang diduga sebagai puncak rotenon dengan kadar sebesar 29,01 % dan dengan waktu maserasi 40 jam dengan waktu retensi 6,094 yang diduga puncak rotenon dengan kadar rotenon sebesar 28,32 %

B. Saran

Dari hasil penelitian ini, masih perlu diadakan perbaikan penelitian agar dapat melakukan pemurnian rotenon dengan benar dan mendapatkan hasil yang lebih baik lagi dan perlu dilakukan uji daya bunuh terhadap hama serangga.

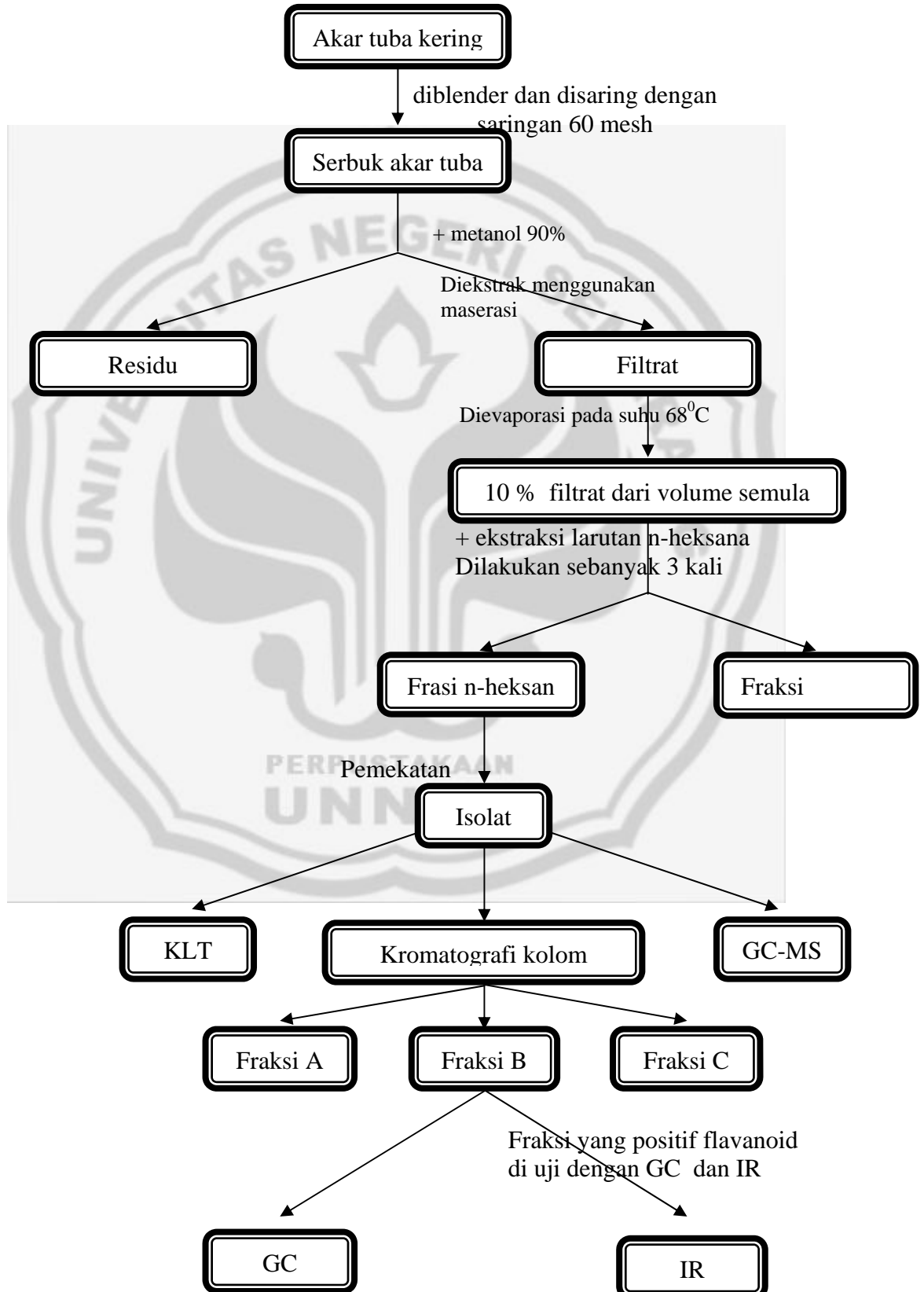
DAFTAR PUSTAKA

- Akpinar, M.B., Erdogan, H., Sahin, S., Ucar F., dan Ilham, A. 2005. *Pesticide Biochemistry Physiology*. 82, 233-239
- Astiti, A. I.A.R. 2009. *Jurnal Kimia*. 3 (1), 33-40
- Budiyono, S. 2006. *Bahan Alami Pengendali Hama*.
<http://bb.lasphat.com/gunkid/portal/home.html>
- Casacchia, T., Adriano, S., Toscano, P., Sebastianelli, L., dan Perri, E. 2009. *Food and Chemical Toxicology*. 47, 214-219
- Fessenden, R.J and J.S Fessenden. 1981. *Organic Chemistry*. Diterjemahkan oleh A.H Pudjatmaka. 1992. *Kimia Organik Edisi 3 Jilid 2*. Jakarta. Erlangga.
- Harborne, J.B. 1996. *Phytochemical methods*. Diterjemahkan oleh kosasih padmawinata dan iwang soediro. *Metode Fitokimia*. Bandung. Penerbit ITB.
- Hendayana, S. 1996. *Kimia Analitik Instrumen Edisi Kesatuan*. Semarang: IKIP Semarang Press.
- Hien, P. P., Gortnieszka, H., dan Kraemer, R. 2003. *OMONRICE*. 11, 83-92
- Kardinan, A. 2000. *Pestisida Nabati, Ramuan dan Aplikasi*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Kartasapoetra, A.G. 1993. *Hama Tanaman Pangan Dan Perkebunan*. Jakarta: Bumi aksara.
- Keenan, C. W., Kleinfelter, D. C., and Wood, J. H. 1980. *General College Chemistry, Sixth Edition*. Diterjemahkan oleh Aloysius Hadyana Pudjaatmaka, Ph. D. 1984. Jakarta: Erlangga.
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: ITB
- Norman, E. D. 1973. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*. 56, 1344-1349

- Novizan. 2002. *Membuat dan Memanfaatkan Pestisida Ramah Lingkungan*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Novizan. 2002. *Petunjuk Pemakaian Pestisida*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Nursal. 2004. *Jurnal Komunikasi Penelitian*. 16 (5)
- Robinson, T.1995. *The Organik Constituen of Higher Plant*, 6th edition. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Bandung: Penerbit ITB
- Sastrohamidjojo. 2001. *Dasar-dasar Spektroskopi*. Yogyakarta. Liberty
- Sari, L. dan Sucipto, H. A. 2004. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kayu Tropik*. 2 (1)
- Subiyakto. 2009. *Pestisida Nabati Pembuatan dan Pemanfaatannya*. Yogyakarta: Kanisius
- Sukadana, I. M. 2009. *Jurnal Kimia*. 3 (2), 109-116
- Wahyudi, P. 2001. *Alternatif Pestisida Massa Depan*. <http://Sinarharapan.co.id/berita/0112/26/ipt01.html> akses tanggal 25 juli 2010
- Yun, A.S., Ovatlarnporn, C., Itharat, A., and Wiwattanapatapee, R. 2006. *Journal Of Chromatography A*. (5)
- Zubairi, S. I, M. R., Sarmadi, R. A., Aziz, M. K. A., Ramli, R., Latip and N. I. A. Nordin. 2004. *Simposium Kimia Analisis Kebangsaan*. 26-28

Lampiran 1

SKEMA KERJA ISOLASI ROTENON



Lampiran 2

FOTO – FOTO PENELITIAN



Sampel akar tuba kering



Hasil ekstraksi dengan metanol



Proses evaporasi



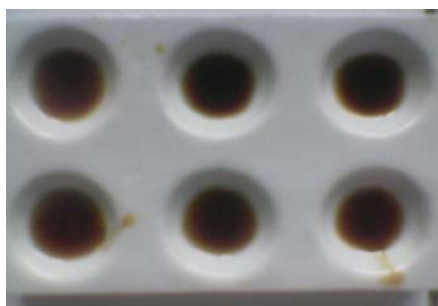
Hasil ekstraksi dengan n-heksan



Uji flavanoid dengan penambahan NaOH 10%



Ekatraksi dengan n-heksan



Uji flavanoid dengan penambahan H_2SO_4

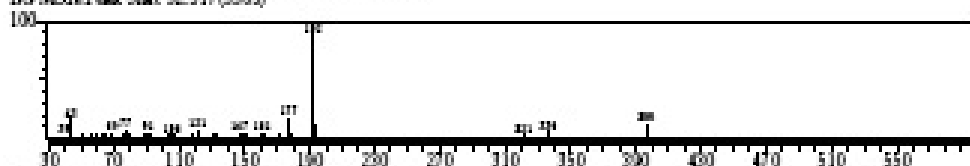
Kromatografi kolom

Lampiran 3

Hasil Fragmentasi GC-MS Ekstrak methanol yang di maserasi selama 48 jam



<< Target >>
 Line# 6 RTime: 32.608 (Scan# 3314) Retention Index: TargetRetIndex: MassPeak: 54
 BasePeak: Single: 32.608 (3314) BasePeak: 192.00 (30242)
 BC Mode: Peak Start: 32.517 (3303)



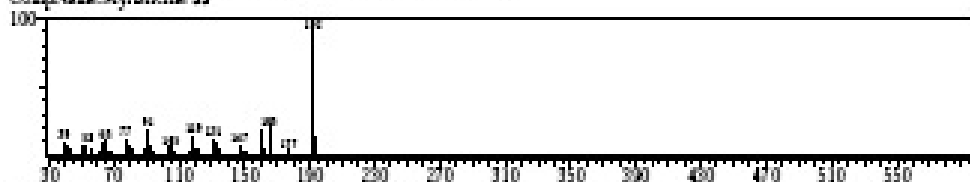
Hit#1 Entry: 192432 Library: WILEY229.LIB
 SE76 Formula: C23 H24 O6 CAS: 0-0-0 MolWeight: 396 RetIndex: 0
 CompName: Rotenone acid SS



Hit#2 Entry: 59948 Library: WILEY229.LIB
 SE74 Formula: C11 H12 O3 CAS: 61407-21-4 MolWeight: 192 RetIndex: 0
 CompName: 3-METHYLBENZOFURAN-5,6-DIOL DIMETHYL ETHER SS Benzofuran, 5,6-dimethoxy-2-methyl- (CAS)



Hit#3 Entry: 59962 Library: WILEY229.LIB
 SE75 Formula: C11 H12 O3 CAS: 0-0-0 MolWeight: 192 RetIndex: 0
 CompName: Myristicine SS



Hit#4 Entry: 48485 Library: NIST62.LIB
 SE72 Formula: C20H22NO4 CAS: 0-0-0 MolWeight: 343 RetIndex: 0
 CompName: Papaverine, 1,2,3,4-tetrahydro-



Hit#5 Entry: 169858 Library: WILEY229.LIB
 SE72 Formula: C19 H18 O6 CAS: 3664-85-0 MolWeight: 342 RetIndex: 0
 CompName: Murchisonone SS [1]Benzopyrro[3,4-b][1]benzopyrro-12(6H)-one, 6a,12a-dihydro-2,3,9-trimethoxy-, (6aS-12a)- (CAS)



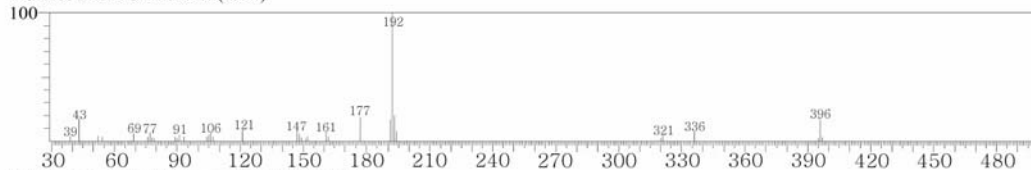
Hasil Fragmentasi GC-MS Ekstrak methanol yang di maserasi selama 40 jam dan 32 jam, pada peak no6

<< Target >>

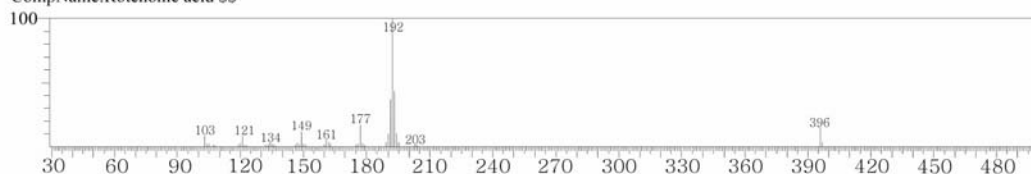
Line#:6 R.Time:32.272(Scan#:3381) Retention Index:\$TargetRetIndex\$ MassPeaks:54

RawMode:Single:32.272(3381) BasePeak:192.00(30242)

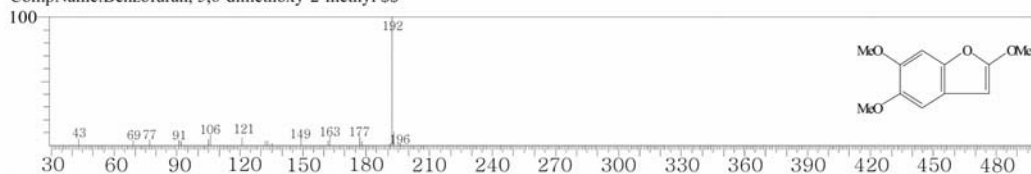
BG Mode:Peak Start:32.272(3324)



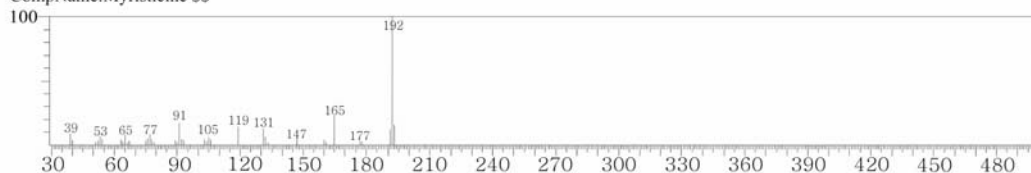
Hit#:1 Entry:141527 Library:WILEY229.LIB
SI:76 Formula:C23H24O6 CAS:0-0-0 MolWeight:396 RetIndex:0
CompName:Rotenonic acid SS



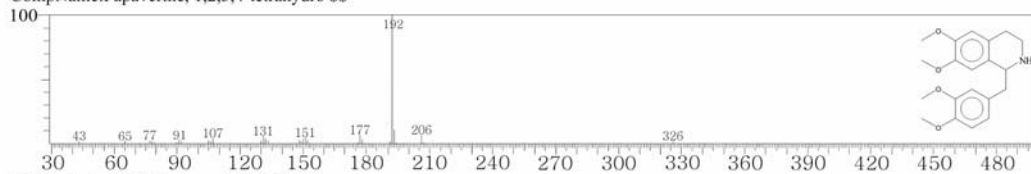
Hit#:2 Entry:141527 Library:WILEY229.LIB
SI:89 Formula:C11H12O3 CAS:0-0-0 MolWeight:192 RetIndex:0
CompName:Benzo[1,2-b:4,5-b']difuran, 5,6-dimethoxy-2-methyl SS



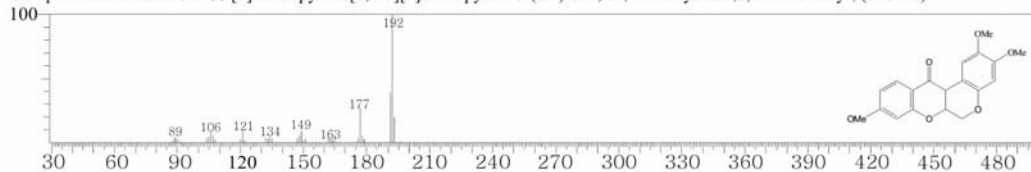
Hit#:3 Entry:141527 Library:WILEY229.LIB
SI:74 Formula:C11H12O3 CAS:56554-60-0 MolWeight:192 RetIndex:0
CompName:Myristicine SS



Hit#:4 Entry:42460 Library:NITS62.LIB
SI:72 Formula:C20H25NO4 CAS:0-0-0 MolWeight:343 RetIndex:0
CompName:Papaverine, 1,2,3,4-tetrahydro SS



Hit#:5 Entry:42460 Library:NITS62.LIB
SI:72 Formula:C19H18O6 CAS:3564-85-3 MolWeight:342 RetIndex:0
CompName:Munduserone SS [1]Benzopyrano[3,4-b][1]benzopyran-12(6H)-one, 6a,12a-dihydro-2,3,9-trimethoxy-, (6aS-cis)



Lampiran 5

Tabel Hasil ekstraksi akar tuba kering dengan menggunakan pelarut metanol dan n heksana.

Sampel	Perlakuan	Pengamatan	Hasil
Akar tuba 200 gram	Diekstraksi dengan menggunakan pelarut metanol 1000 mL selama 48 jam	Diperoleh larutan sebanyak 874 mL dengan warna coklat tua	Ekstrak n heksana dari akar tuba
	Ekstrak dievaporasi selama 2 jam menggunakan evaporator dengan suhu 68 ⁰ C	Larutan menjadi pekat dengan volume 93mL	
	Larutan yang terjadi diekstraksi dengan menggunakan n heksana 25 mL sebanyak 3 kali	Lapisan atas berwarna keruh dan lapisan bawah berwarna coklat	
Akar tuba 200 gram	Diekstraksi dengan menggunakan pelarut metanol 1000 mL selama 40 jam	Diperoleh larutan sebanyak 932 mL dengan warna coklat tua	Ekstrak n heksana dari akar tuba
	Ekstrak dievaporasi selama 2 jam menggunakan evaporator dengan suhu 68 ⁰ C	Larutan menjadi pekat dengan volume 87 mL	
	Larutan yang terjadi diekstraksi dengan menggunakan n heksana 25 mL sebanyak 3 kali	Lapisan atas berwarna keruh dan lapisan bawah berwarna coklat	
Akar tuba 200 gram	Diekstraksi dengan menggunakan pelarut metanol 1000 mL selama 32 jam	Diperoleh larutan sebanyak 876 mL dengan warna coklat tua	Ekstrak n heksana dari akar tuba
	Ekstrak dievaporasi selama 2 jam menggunakan evaporator dengan suhu 68 ⁰ C	Larutan menjadi pekat dengan volume 93 mL	
	Larutan yang terjadi diekstraksi dengan	Lapisan atas berwarna keruh dan lapisan bawah	

	menggunakan n heksana 25 mL sebanyak 3 kali	berwarna coklat	
--	--	-----------------	--

