

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tanaman Rambutan

2.1.1 Morfologi dan Klasifikasi



Gambar 2.1 Tanaman dan Buah Biji Rambutan

Tanaman rambutan merupakan tanaman tahunan. Secara alami, pohon rambutan dapat mencapai ketinggian 5-9 meter. Batang rambutan berkayu keras, tumbuhan kokoh dan berwarna kecoklatan. Percabangan tumbuh secara horizontal, namun kadang sedikit miring keatas. Daun rambutan berbentuk bulat panjang dengan ujung tumpul atau meruncing, pada umumnya berwarna hijau muda sampai hijau tua (Rukmana, 2002). Tanaman rambutan merupakan tanaman tropis yang berasal dari Indonesia dan telah menyebar ke daerah beriklim tropis lainnya seperti Filipina, Malaysia dan negara-negara Amerika Latin. Secara alami, pohon rambutan dapat mencapai ketinggian 5-9 meter. Batang rambutan berkayu keras, tumbuhan kokoh dan berwarna kecoklatan. Percabangan tumbuh secara horizontal, namun kadang sedikit miring keatas. Daun rambutan berbentuk bulat panjang dengan ujung tumpul atau meruncing, pada umumnya berwarna hijau muda sampai hijau tua (Rukmana, 2002). Buah rambutan bentuknya bulat lonjong, panjang 3-5 cm dengan duri temple (rambut) lemas sampai kaku. Kulit buah berwarna hijau, dan menjadi kuning atau merah kalau sudah masak. Dinding buah tebal. Biji berbentuk elips, terbungkus daging buah berwarna putih transparan yang dapat dimakan dan

banyak mengandung air. Rasanya bervariasi dari masam sampai manis dan kulit biji tipis berkayu.

2.1.2 Klasifikasi Tanaman Rambutan

Klasifikasi Menurut data BPDAS Pemali Jratun(2010), rambutan diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Sapindales
Famili	: Sapindaceae
Genus	: <i>Nephelium</i>
Spesies	: <i>Nephelium lappaceum</i>

2.1.3 Manfaat Tanaman Rambutan

Rambutan selain menjadi tanaman konsumsi mempunyai manfaat lain yaitu seluruh bagian dari rambutan sebagai tanaman obat(Setiawan, 2003). Bagian dari rambutan yang dapat digunakanyaitu, kulit kayu, daun, kulit buahdan biji. Manfaat dari bagian-bagian rambutan sebagai berikut:

1. Kulit kayu : sebagai obat sariawan
2. Daun : sebagai perawatan rambut
3. Kulit buah : sebagai obat disentri dan demam
4. Biji : sebagai obat kencing manis

2.2 Kandungan Tanaman Rambutan Secara Umum

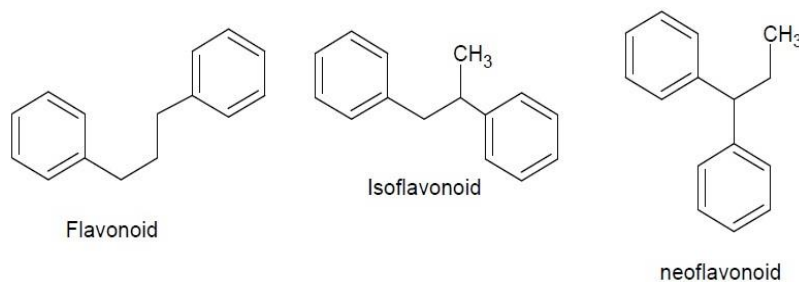
Buah rambutan merupakan tanaman multiguna bagi manusia, memiliki kandungan nutrisi yang cukup lengkap. Di antaranya karbohidrat, dan beberapa jenis vitamin A, C, dan macam-macam mineral seperti kalsium, magnesium, zinc, plus fosfor, zat bersari dan potasium. Kandungan nutrisi yang terdapat pada buah rambutan dapat membantu penderita diabetes untuk mengendalikan nafsu makan. Di Dalam buah rambutan tidak hanya terdapat daging yang hanya memiliki manfaat, Saat mengkonsumsi buah rambutan seringkali sebagian besar masyarakat membuang biji rambutan(*Nephelium lappaceum* L.).Biji yang terbungkus oleh daging buah memang pahit dan keras. Akan tetapi buah biji rambutan(*Nephelium lappaceum*L.)yang memiliki rasa pahit ini justru sangat baik bagi kesehatan. Terlebih sangat bagus di konsumsi pada penderita diabetes karena Biji rambutan mempunyai kandungan senyawa metabolit sekunder fenol, flavonoid dan tanin (Yuda dkk., 2015). Kandungan tersebut bisa memiliki efek sebagai antidiabetes.

2.2.1 Kandungan Biji Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Secara Metabolit Sekunder

2.2.1.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman (Rajalakshmi,1985).Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam.

Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, dan biru, dan sebagian berwarna kuning dalam tumbuh-tumbuhan. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Cuppert,1994).



Gambar 2.2 Klasifikasi Flavonoid

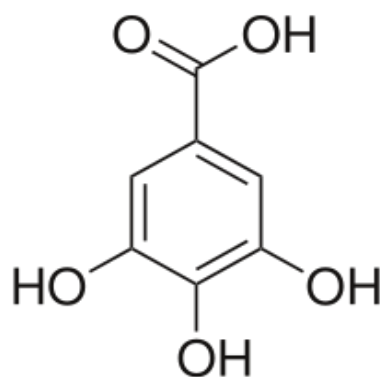
Klasifikasi flavonoid sangat beragam, di antaranya ada yang mengklasifikasikan flavonoid menjadi flavon, flavonon, isoflavon, flavanol, antosianin, dan kalkon (Harborne, 1984). Sifat kimia dan fisika senyawa flavonoid adalah senyawa fenol yaitu agak asam dan dapat larut dalam basa, alkohol merupakan senyawa polihidroksi (gugus hidroksil) maka juga bersifat polar sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti alkohol, etanol, aseton, air, butanol, dimetil, sulfoksida, dimetil formamida. Disamping itu dengan adanya gugus glikosida yang terikat pada gugus flavonoid sehingga cenderung menyebabkan flavonoid mudah larut dalam air.

Tanaman yang mengandung senyawa flavonoid dapat digunakan sebagai antikanker, antioksidan, antiinflamasi, antialergi dan antihipertensi (Fauziah, 2010). Peran terpenting flavonoid dari sayuran dan buah segar adalah mengurangi resiko terkena penyakit jantung dan stroke (Safitri, 2004). Menurut Sarastani (2002) kebanyakan sumber antioksidan alami adalah tanaman yang mengandung senyawa fenol yang terbesar di seluruh bagian tanaman baik di kayu, biji, daun, buah, akar, bunga maupun serbuk sari.

Antioksidan juga memiliki zat penghambat reaksi oksidasi akibat radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan asam lemak tak jenuh, membran bebas yang dapat menyebabkan kerusakan asam lemak tak jenuh, membran dinding sel, pembuluh darah, dan jaringan lipid sehingga menimbulkan penyakit (Subeki, 1998). Suatu tanaman dapat memiliki aktivitas antioksidan apabila mengandung senyawa yang mampu menangkal radikal bebas seperti fenol dan flavonoid.

2.2.1.2 Tanin

Secara struktural tanin adalah suatu senyawa fenol yang memiliki berat molekul besar yang terdiri dari gugus hidroksi dan beberapa gugus yang bersangkutan seperti karboksil untuk membentuk kompleks kuat yang efektif dengan protein dan beberapa makromolekul (Horvart, 1981). Tanin ditemukan hampir setiap bagian dari tanaman; kulit kayu, daun, buah, dan akar (Hagerman et al., 1998). Tanin dibentuk dengan kondensasi turunan flavon yang ditransportasikan ke jaringan kayu dari tanaman, tanin juga dibentuk dengan polimerisasi unit kuinon (Anonymous, 2005).



Gambar 2.3 struktur tanin (Robinson, 1995 dalam sa'adah 2010)

Secara kimia sifat tanin (Rinsnasari, 2002) adalah sebagai berikut:

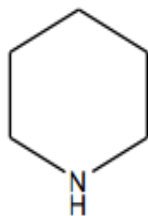
1. Tanin memiliki sifat umum, yaitu memiliki gugus phenol dan bersifat koloid.
2. Semua jenis tanin dapat larut dalam air, metanol, etanol, aseton dan pelarut organik lainnya.

Kelarutan besar, dan akan bertambah besar apabila dilarutkan dalam air panas.

3. Dengan garam besi memberikan reaksi warna. Reaksi ini digunakan untuk menguji klasifikasi tanin, karena tanin dengan garam besi memberikan warna hijau dan biru kehitaman.
4. Tanin akan terurai menjadi pyrogallol, pyrocatecholdan phloroglucinol bila dipanaskan sampai suhu (99-102⁰C).
5. Tanin dapat dihidrolisa oleh asam, basa dan enzim.

2.2.1.3 Alkaloid

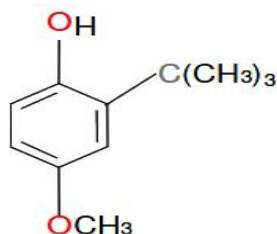
Alkaloid merupakan suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan tingkat tinggi. Sebagian besar alkaloid terdapat pada tumbuhan dikotil sedangkan untuk tumbuhan monokotil dan pteridofita mengandung alkaloid dengan kadar yang sedikit. Alkaloid biasanya berbentuk garam organik dalam tumbuhan berbentuk padat dan berkristal serta kebanyakan tidak berwarna. Alkaloid memiliki efek dalam bidang kesehatan berupa pemicu sistem saraf, menaikkan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, anti mikroba, obat penenang, obat penyakit jantung dan lain-lain (Robinson, 1995). Alkaloid dapat juga berbentuk cair, misalnya nikotin dan konin. Pada umumnya alkaloid hanya larut dalam pelarut organik. Kebiasaan pada alkaloid menyebabkan senyawa tersebut mudah mengalami dekomposisi terutama oleh panas dan sinar dengan adanya oksigen. Hasil dekomposisi seringkali berupa Noksida (Lenny, 2006). Alkaloid dapat dipisahkan dari sebagian besar komponen tumbuhan yang lain berdasarkan sifat dasarnya.



Gambar 2.4 Struktur Senyawa Alkaloid (Robinson 1995)

Sebagian besar alkaloid mempunyai kerangka dasar polisiklik termasuk cincin heterosiklik nitrogen serta mengandung substituen yang tidak terlalu bervariasi. Atom nitrogen alkaloid hampir selalu berada dalam bentuk gugus amin ($-NR_2$) atau gugus amida ($-CO-NR_2$) dan tidak pernah dalam bentuk gugus nitro (NO_2) atau gugus diazo. Sedangkan substituen oksigen biasanya ditemukan sebagai gugus fenol ($-OH$), metoksi ($-OCH_3$) atau gugus metilendioksi ($-O-CH_2-O$) substituen oksigen ini dan gugus N-metil merupakan ciri sebagian besar alkaloid (Lenny, 2006).

2.2.1.4 Polifenol



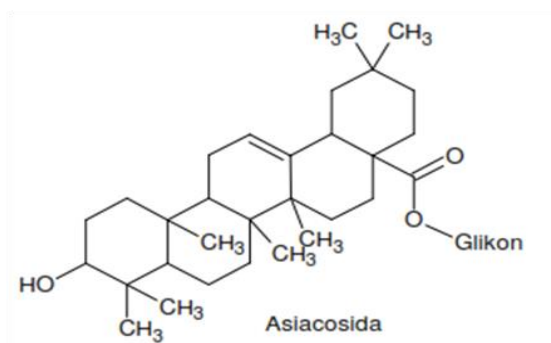
Gambar 2.5 Struktur Polifenol (Inggrid and Santoso 2014)

Senyawa fenol meliputi aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan, yang mempunyai ciri sama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua penyulih hidroksil. Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam air karena, umumnya sering kali berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat dalam vakuola sel. Beberapa ribu senyawa fenol telah diketahui strukturnya (Indraswari, 2008).

Flavonoid merupakan golongan terbesar, tetapi fenol monosiklik sederhana, fenil propanoid, dan kuinon fenolik juga terdapat dalam jumlah yang besar. Beberapa golongan bahan polimer penting dalam tumbuhan seperti lignin, melanin, dan tanin adalah senyawa polifenol (Wahyuningtyas, 2008).

2.2.1.5 Saponin

Saponin adalah deterjen atau glikosida alami yang mempunyai sifat aktif permukaan yang bersifat amfifilik, mempunyai berat molekul besar dan struktur molekulnya terdiri dari aglikon steroid atau triterpen yang disebut dengan sapogenin dan glikon yang mengandung satu atau lebih rantai gula (Sirohi et al., 2014). Saponin berasal dari kata Latin yaitu “sapo” yang berarti mengandung busa stabil bila dilarutkan dalam air. Kemampuan busa dari saponin disebabkan oleh kombinasi dari sapogenin yang bersifat hidrofobik (larut dalam lemak) dan bagian rantai gula yang bersifat hidrofilik (larut dalam air) (Naoumkina et al., 2010).



Gambar 2.6 Struktur Molekul Saponin

Saponin merupakan glikosida yang memiliki aglikon berupa steroid dan triterpenoid. Saponin memiliki berbagai kelompok glikosil yang terikat pada posisi C3, tetapi beberapa saponin memiliki dua rantai gula yang menempel pada posisi C3 dan C17 (Vincken et al., 2007). Struktur saponin tersebut menyebabkan saponin bersifat seperti sabun atau deterjen sehingga

saponin disebut sebagai surfaktan alami (Mitra & Dangan, 1997; Hawley & Hawley, 2004). Saponin steroid tersusun atas inti steroid (C₂₇) dengan molekul karbohidrat (Hostettmann and Marston, 1995) dan jika terhidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang dikenal saraponin. Saponin steroid terutama terdapat pada tanaman monokotil seperti kelompok sansevieria (Agavaceae) (Boycea and Tinto, 2007) gadung (dioscoreaceae) dan tanaman berbunga (Liliacea) (Negi et al., 2013). Saponin triterpenoid tersusun atas inti triterpenoid dengan senyawa karbohidrat yang dihidrolisis menghasilkan aglikon yang dikenal sapogenin.

2.3 Ekstraksi

Salah satu metode yang digunakan untuk penemuan obat tradisional adalah metode ekstraksi. Dimana pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih suatu metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu. Ada beberapa target ekstraksi, diantaranya (Sarker SD dkk., 2006):

1. Senyawa bioaktif yang tidak diketahui
2. Senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme
3. Sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural

2.3.1 Ekstraksi Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan. Prosedurnya dilakukan dengan merendam simplisia dalam pelarut yang sesuai dalam wadah tertutup. Kelemahan dari maserasi adalah prosesnya membutuhkan waktu yang cukup lama. Ekstraksi secara menyeluruh juga dapat menghabiskan sejumlah besar volume pelarut yang dapat berpotensi hilangnya metabolit. Beberapa senyawa juga tidak terekstraksi secara efisien jika kurang terlarut pada suhu kamar (27°C).

Ekstraksi secara maserasi dilakukan pada suhu kamar (27°C), sehingga tidak menyebabkan degradasi metabolit yang tidak tahan panas (Departemen Kesehatan RI, 2006).

2.4 Tinjauan Skrining Fitokimia

Penelitian senyawa organik bahan alam telah berkembang pesat dengan pengkajian yang lebih luas. Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam penelitian fitokimia. Secara umum dapat dikatakan bahwa metodenya sebagian besar merupakan reaksi pengujian warna dengan suatu pereaksi warna. Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian fitokimia yang bertujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna. Hal penting yang sangat berperan dalam skrining fitokimia adalah pemilihan pelarut dan metode ekstraksi. Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif, suatu ekstrak kasar yang mempunyai efek racun atau efek farmakologis lain yang bermanfaat bila diujikan dengan sistem biologi atau bioassay (Khusnul, 2016).

2.4.1 Identifikasi Flavonoid

Ekstrak diencerkan dengan etanol 70%, lalu ditambahkan dengan 2 mg serbuk magnesium dan ditambahkan dengan asam klorida. Hasil menunjukkan positif mengandung flavonoid jika terbentuk warna merah muda, oranye, atau warna merah hingga ungu (Fransworth, 1966; Evans, 2002).

Diambil sebanyak 1 mL ekstrak etanol lalu dipindahkan ke masing-masing dua tabung reaksi, tabung pertama ditambahkan H_2SO_4 2 M sebanyak 2 tetes dan dikocok kuat. Sampel positif mengandung flavonoid apabila terjadi perubahan warna menjadi kuning, merah, atau

coklat. Untuk tabung ke dua ditambahkan 2 tetes NaOH 10% lalu dikocok kuat. Apabila terjadiperubahan warna menjadi kuning, coklat, merah, atau hijau hal itu berarti sampel positif mengandung flavonoid.

Larutan ekstrak uji sebanyak 1ml diuapkan hingga kering, sisanya dibasahkan dengan aseton P, ditambahkan sedikit serbuk halus asam borat P dan serbuk halus asam oksalat P, dipanaskan hati-hati di atas penangas air dan dihindari pemanasan berlebihan. Sisa yang diperoleh dicampur dengan 10 mL eter P, dan kemudian diamati dengan sinar UV 366 nm; larutan berfluorosensi kuning intensife, menunjukkan adanya flavonoid (DepKes RI, 1989)

Uji flavonoid dilakukan dengan memanaskan ekstrak etanol tanaman selama lima menit kemudian ditambahkan beberapa tetes HCl pekat dan bubuk Mg. Hasil ditunjukkan dengan munculnya warna merah tua (Robinson, 1995).

Uji flavonoid dilakukan menurut sangi et al. (2008). Sampel dirajang halus sebanyak 200 mg, diekstrak dengan 5 ml etanol dan dipanaskan selama 5 menit dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambah 3 tetes HCl pekat. Kemudian ditambahkan 0,2 g bubuk Mg. Hasil positif ditunjukkan dengan timbulnya warna orange-merah tua selama 3 menit.

Sebanyak 1 gram ekstrak dicampur dengan 5 ml etanol, dikocok, dipanaskan, dan dikocok lagi kemudian disaring. Kemudian ditambahkan Mg 0,2 g dan 3 tetes HCl pada masing-masing filtrat. Terbentuknya warna merah pada lapisan etanol menunjukkan adanya flavonoid (Mustikasari & Ariyani, 2016).

Uji flavonoid dilakukan dengan diambil ekstrak biji sebanyak 0,5 mL dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50%. Ditambahkan logam Mg

dan 0,5 mL HCl pekat, jika larutan berwarna merah/jingga maka menunjukkan adanya flavonoid.

2.4.2 Identifikasi Tanin

Ekstrak dipanaskan dalam 10 mL aquades dalam tabung reaksi, kemudian disaring. Filtrat ditambahkan FeCl_3 0,1% dan diamati, hasil positif jika terbentuk warna biru, hijau, biru kehijauan, hijau kecoklatan atau biru kehitaman (Evans.,2002; Fransworth, 1966).

Uji tanin dilakukan dengan cara melarutkan ekstrak sampel kedalam etanol sampai sampel terendam semuanya. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Sangi et al.,2008).

Ekstrak etanol diambil 1 mL lalu dimasukkan ke tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes FeCl_3 1%. Sampel mengandung tanin bila terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman.

Uji tanin dilakukan Sangi et al. (2008). Sampel dirajang halus sebanyak 20 mg ditambah etanol sampai sampel terendam semuanya. Kemudian ditambahkan 3 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau.

Uji tanin dilakukan dengan diambil ekstrak biji sebanyak 0,5 mL dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan FeCl_3 1% 2-3 tetes. Hasil positif diperoleh dengan terbentuknya warna hijau kehitaman menunjukkan senyawa tanin katekol dan warna biru kehitaman menunjukkan senyawa tanin galat.

2.4.3 Identifikasi Fenol

Ekstrak diteteskan pada dua bagian plat tetes. Bagian I sebagai kontrol dan bagian II ditetesi larutan FeCl_3 . Apabila timbul warna biru sampai kehitaman, maka positif mengandung senyawa fenolik (Harbourne, 1987).

Uji fenol dilakukan dengan mereaksikan ekstrak etanol tanaman dengan larutan FeCl_3 1%. Hasil ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru tua, biru, biru kehitaman atau hijau kehitaman (Harborn, 1987)

Uji fenol dilakukan dengan diambil ekstrak biji sebanyak 1 mL dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan FeCl_3 5%. Hasil positif mengandung fenol ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau atau hijau biru.

2.4.4 Identifikasi Alkaloid

Ditimbang 500 mg serbuk simplisia, Ditambahkan 1 mL asam klorida 2 N dan 9 mL aquadest, panaskan di atas tangas air selama 2 menit, dinginkan dan saring, pindahkan 3 tetes filtrat pada kaca arloji, tambahkan 2 tetes larutan Bouchardat (Jika terdapat endapan berwarna cokelat sampai hitam, maka serbuk mengandung alkaloid), tambahkan 2 tetes larutan Mayer (Jika terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning yang larut dalam metanol P, maka serbuk mengandung alkaloid).

Uji alkaloid dilakukan dengan menambahkan 1 mL ekstrak etanol tanaman dengan beberapa tetes reagen mayer dan dragendrof. Hasil ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih pada reagen mayer dan endapan jingga pada reagen dragendrof (Harbone., 1987; Kristanti et al., 2008).

Ekstrak diambil sebanyak \pm 2 gram dicampur dengan 5 mL kloroform dan 5 mL amoniak kemudian dipanaskan, dikocok dan disaring. Ditambahkan 5 tetes asam sulfat N pada masing-masing filtrat, kemudian kocok dan didiamkan. Bagian atas dari masing-masing filtrat diambil dan diuji dengan pereaksi Meyer, Wagner, dan Dragendorf. Terbentuknya endapan jingga, cokelat, dan putih menunjukkan adanya alkaloid (Mustikasari & Ariyani, 2016)

Uji alkaloid dilakukan dengan diambil ekstrak biji sebanyak 0,5 mL dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 0,5% HCl 2% dan dibagi dalam dua tabung. Tabung pertama ditetaskan preaksi dragendroff 2-3 tetes jika terbentuk endapan jingga menunjukkan adanya alkaloid. Tabung kedua ditetaskan preaksi mayer 2-3 tetes jika terbentuk endapan kekuning-kuningan menunjukkan adanya alkaloid.

2.4.5 Saponin

Sebanyak 1 mL ekstrak etanol 70% tanaman dilarutkan ke dalam beaker glass kemudian ditambahkan 100 mL air panas dan dididihkan selama 5 menit. Setelah itu, disaring dan filtratnya digunakan untuk pengujian. Sebanyak 10 mL filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi tertutup kemudian dikocok selama 10 detik dan dibiarkan selama 10 menit. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil.

Masukkan 5 mL ekstrak ke dalam tabung, tambahkan 10 mL aquadest panas. Dinginkan, dikocok dengan tangan selama 10 menit. Ambil 1 mL sampel di atas, diencerkan dengan 10 mL akuades, dikocok kuat-kuat selama 10 menit. Busa stabil yang dihasilkan setelah ditambahkan 1 tetes HCl 2 N mengindikasikan saponin.

Menurut Simes et al. (Sangi et al., 2008) uji saponin dilakukan dengan cara memasukkan ekstrak sebanyak 1 gram ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan akuades hingga seluruh sampel terendam, dididihkan selama 2-3 menit, dan selanjutnya didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil.

Uji Saponin dilakukan menurut metode Sangi et al. (2008). Sampel dirajang halus sebanyak 2g, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan aquadest hingga seluruh sampel terendam, dididihkan selama 2-3 menit, dan selanjutnya didinginkan, kemudian

dikocok kuat-kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil selama 15 menit.

Sebanyak 2 gram ekstrak dididihkan dengan 20 mL air dalam pemanas air. Filtrat dikocok dan diamkan selama 15 menit. Terbentuknya busa yang stabil berarti positif terdapat saponin (Mustikasari dan Ariyani, 2016).

Uji saponin dilakukan dengan diambil ekstrak biji 0,5 mL dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan air (1:1) lalu kocok selama 1 menit dan di tetesi HCl 1 N 2 tetes, biarkan 10 menit jika busa yang terbentuk stabil maka positif mengandung saponin.

2.5 Tinjauan Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi adalah prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu peroses migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase atau lebih, salah satu diantaranya bergerak secara berkesinambungan dalam arah tertentu dan didalamnya zat-zat itu menunjukkan perbedaan mobilitas karena adanya perbedaan dalam absorpsi, partisi, kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul atau kerapatan muatan ion (Ardianingsih, 2010).

Secara umum kromatografi merupakan satu proses migrasi, diferensial dimana komponen-komponen sampel ditahan secara selektif oleh fase diam (Amalina and Ela Turmala S, 2013).

Dalam analisa kimia suatu bahan kering diharapkan pada pekerjaan-pekerjaan seperti menghilangkan konstituen-konstituen yang dikehendaki. Oleh karena itu, sebelum melakukan identifikasi maupun pengukuran jumlahnya, diperlukan cara-cara pemisahan. Cara pemisahan ada dua metode, yaitu metode klasik dan metode modern. Metode klasik misalnya destilasi,

kristalisasi, pengendapan, dan ekstraksi. Adapun metode modern, misalnya kromatografi (Rubiyanto, 2017).

2.5.1 Klasifikasi kromatografi

Kromatografi dapat digolongkan menjadi tiga kelompok, (Rubiyanto, 2017) Yaitu:

1. Berdasarkan jenis fase yang digunakan dapat dibedakan menjadi dua fase yaitu fase diam dan fase gerak, misalnya : gas-cair, cair-cair, cair-padat.
2. Berdasarkan metode prinsip pemisahan kromatografi
3. Berdasarkan metode prinsip pemisahan kromatografi dibedakan menjadi dua, yaitu: kromatografi partisi dan kromatografi absorpsi
4. Berdasarkan teknik yang digunakan
5. Berdasarkan teknik yang digunakan kromatografi dibedakan menjadi tiga yaitu kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis, dan kromatografi kolom.

Kromatografi lapis tipis merupakan metode pemisahan fisik dan kimia yang lapisannya memisahkan terdiri dari butiran halus (fase diam) yang dilapiskan pada lempeng atau pelat yang cocok. Dasar pemisahan bisa penyerapan (absorpsi), pembagian (partisi) atau gabungannya tergantung dari jenis zat penyerap dan jenis pelarut. Pada kromatografi lapis tipis fase geraknya yaitu zat cair, sedangkan fase diamnya merupakan lapis tipis pada permukaan lempeng yang rata(Wardani, 2008).

Keuntungan metode kromatografi lapis tipis adalah penyerapan sedikit, butiran-butiran zat penyerap halus, cuplikan sedikit, komponen hasil pemisahan terlokalisir, proses cepat dapat dipakai untuk senyawa hidrofob dan dapat digunakan pereaksi korosif. Kerugian metode kromatografi lapis tipis adalah Rf tidak tetap sehingga harus selalu menggunakan pembanding (Baraja, 2008).

2.5.2 Bagian-bagian dari kromatografi lapis tipis (Wahyuningsih et al., 2008).

1. Lempeng penyangga atau penyokong

Bahan penyangga hendaknya menggunakan bahan yang stabil terhadap pereaksi korosif. Hal ini banyak digunakan adalah kaca, kecuali dari lemeng aluminium dan plastik dengantebal dan rata pada seluruh permukaan. Ukuran baan penyangga, panjangnya adalah 20 cm dan lebar 5 s/d 10cm atau 20 cm yang sering digunakan untuk pengujian dengan ukuran 20x20 cm(Wahyuningsih et al., 2008).

2. Bejana kromatografi

Bejana kromatografi ini terbuat dari bahan yang tahan terhadap pelarut organik, biasanya dari kaca. Ukuran tidak boleh terlalu besar atau tida boleh terlalu kecil, penutupnya harus rata sehingga bisa tertutup rapat dapat dibantu dengan diolesi vaselin. Bejana harus jenuh uap pelarut pengembang (fase gerak), tingkat kejenuhan harus tetap terjaga selama proses. Untuk mengontrol dan mempercepat penjenuhan dilakukan beberapa kegiatan. Pertama, memasukkan kertas saring hingga bagian dasar kertas saring tercelup dan kemudian pelarut pengembang akan merembes pada kertas saring sampai seluruh permukaan sudah basah yang berarti dalam bejana sudah jenuh dengan uap pelarut (Wahyuningsih et al., 2008).

3. Fase diam atau penyerap

Fase diam zat penyerap bisa langsung dilapiskan pada lemeng bisa juga ditambahkan zat pengikat yang bertujuan untuk menambah daya elkat pada lempeng zat pengikat yang bisa dipakai, misalnya CuSO_4 anhidrat, kanji. Dapat juga ditambahkan indikator fluoresensi sehingga noda yang mengabsorbsi pada frekuensi tertentu (254 nm) gelap dan latar belakang berfluoresensi. Sifat-sifat fase diam iniadalah partikel halus ukuran 1-25nm, harus homogen, mempunyai daya absorpsi (Mukaromah and Maharani, 2008).

4. Fase gerak atau pelarut pengembang

Fase gerak adalah medium angkut yang terdiri dari satu atau beberapa pelarut yang bergerak didalam fase diam yang merupakan lapisan berpori karena adanya daya kapiler. Cairan yang dipakai untuk kromatografi lapis tipis harus murni, karena cairan pengembang tadi akan melarutkan kembali zat-zat yang terserap pada bahan penyerap sesudah ditetaskan keatas lempeng. Dengan adanya bahan lain yang mengganggu atau mengurangi kemurnian cairan eluen, seperti air ataupun alkohol maka kelarutan kembali, zat-zat yang telah terserap akan berkurang atau terganggu sehingga tidak didapatkan pemisahan yang sempurna (Parwata, Ratnayani, and Listya, 2010).

Cairan pengembang hendaknya dipilih sedemikian rupa sehingga bercak yang diperoleh terletak pada daerah 20-80% dari jarak yang ditempuh fase gerak pada lempeng tipis. Menurut Setyowati et al., (2007) disebutkan bahwa dalam pemilihan fase gerak harus memperhatikan empat hal. pertama, kelarutan senyawa dalam fase gerak. kedua, polaritas senyawa pada fase gerak. ketiga, kemurnian komponen pelarut penyusun fase gerak. keempat, pengaruh fisika kimia senyawa dan fase gerak seperti terjadi interaksi antara senyawa dan cairan pengembang, sifat disosiasi atau asosiasi antara senyawa dengan fase gerak tersebut.

Identifikasi senyawa flavonoid dengan teknik Kromatografi Lapis Tipis menggunakan fasa diam silika gel F₂₅₄ dan fase gerak kloroform : metanol = 9 : 1 (v/v) (Akbar, 2010). Pada penelitian senyawa flavonoid yang lain menggunakan fase gerak asam asetat glacial : butanol : air (1:4:5) (Marliana, 2005). Pada penelitian senyawa tanin menggunakan fase gerak n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) (Sa'adah, 2010). Pada penelitian senyawa tanin yang lain menggunakan fase gerak n-heksan : etil asetat (6:4) (Mangunwardoyo dkk., 2009) dan butanol : asam asetat : air (14 :1:5) (Sriwahyuni, 2010). Pada penelitian senyawa fenol menggunakan fase gerak toluen :

etil asetat : asam formiat (3:3:0,2) (Annegowda et al., 2012) dan etil asetat : metanol : air (100:13,5:10) (Hayati et al., 2012). Pada penelitian senyawa alkaloid menggunakan fase gerak metanol : kloroform (0,5:9,5) (Hayati et al., 2012). Pada penelitian senyawa saponin menggunakan fase gerak kloroform : metanol : air (13:7:2) (Harborne et al., 2012).

5. Penotolan

Pembanding jika mungkin dilarutkan dalam pelarut organik dengan titik rendah agar mudah menguap setelah larutan ditotolkan. Titik penotolan harus ditandai terlebih dahulu, dapat dilakukan dengan pensil untuk lapis tipis siap pakai, demikian juga untuk jarak rambat atau pengembangan. penotolan dapat dilakukan dengan pipet mikro atau pipet lamda atau jarum mikro dibantu dengan sablon pada jarak kira-kira 2 cm dari tepi bawah lempeng. jarak penotolan 1,5 cm hingga 2 cm dan untuk rambat atau pengembang 10-15 cm dari titik penotolan. jumlah contoh yang ditotolkan untuk pemisahan atau dengan tujuan analisa kualitatif adalah 1-20 dari larutan dengan konsentrasi 0,5-1%. diameter penotolan hendaknya sekecil mungkin, biasanya lebih kecil dari penotolan kromatografi kertas. penotolan dapat berupa bentuk titik atau bulatan ataupun dalam bentuk garis. Kecuali dengan penotolan biasa (mikro-pipet) dapat digunakan dengan alat yang lebih modern autoliner dan multispotler (Djarmiko and Pramono, 2005).

6. Pengembangan atau eluasi

Pengembangan atau eluasi adalah proses pemisahan campuran cuplikan akibat pelarut pengembangan merambat naik dalam fase diam. Untuk proses pengembangan, pengembang dimasukkan kedalam bejana kromatografi dimana bejana tersebut sudah dilapisi kertas saring, ditunggu sampai permukaan kertas saring basah dengan pelarut lalu dimasukkan lempeng yang

sudah ditotolkan dan secepat mungkin bejana segera ditutup. Pada proses ini titik penotolan tidak boleh terendam. Disini fase gerak akan merambat melalui fase diam sambil membawa komponen-komponen atau noda-noda dari cuplikan. Pada pengembangan dilakukan sampai batas yang ditentukan, misalnya antara 10-15 cm dihitung dari titik penotolan. Bila sudah mencapai batas yang sudah ditentukan maka lempeng segera dikeluarkan, diangin-anginkan kemudian dilakukan identifikasi(Armigustien, 2012).

7. Visualisasi noda

Penentuan kromatogram pada kromatografi lapis tipis merupakan noda-noda yang setelah visualisasi dengan cara fisika dan kimia. Visualisasi cara fisika adalah melihat noda kromatogram yang mengabsorpsi radiasi ultra violet dan berfluorosensi dengan radiasi ultra violet pada panjang gelombang 254 nm atau 364 nm. Visualisasi cara kimia adalah mereaksikan kromatogram dengan pereaksi warna yang memberikan warna atau fluorosensi yang spesifik. Visualisasi ini dilakukan dengan cara penyemprotan atomizer atau memberikan uap zat kimia pada kromatogram atau dengan cara mencelupkan ke dalam pereaksi penampak warna atau noda, misalnya asam sulfat pekat, uap atau iodium, larutan dragendrof, perhitungan kromatogram pada kromatografi lapis tipis dapat dinyatakan dalam harga Rf (Faktor Retardasi). harga Rf dapat didefinisikan dengan rumus sebagai berikut(Kusuma 2015):

$R_f = \frac{\text{jarak dari titik penotolan sampai titik pusat bercak}}{\text{jarak dari titik penotolan sampai jarak pengembangan}}$

8. Letak Bercak

Posisi bercak dinyatakan dengan harga Rf (*Retention factor*) yaitu perbandingan jarak antara titik penotolan dengan bercak dibanding dengan jarak rambat (Dwi 2007). Harga Rf

merupakan parameter spesifik pada kromatografi kertas dan kromatografi lapis tipis. Harga ini merupakan ukuran kecepatan migrasi suatu senyawa pada kromatogram.

Ada dua variasi dalam menetapkan harga R_f , yaitu:

1. Mengukur jarak antara titik pusat bercak dengan titik penotolan

$$R_f = \frac{\text{jarak titik pusat bercak dari awal titik penotolan}}{\text{jarak rambat}}$$

2. Mengukur jarak antara batas atas dan batas bawah bercak dengan titik penotolan

$$R_f = \frac{\text{batas bawah dari penotolan}}{\text{jarak rambat}} - \frac{\text{batas atas dari penotolan}}{\text{jarak rambat}}$$

Jika tujuannya untuk memberikan harga orientasi saja, maka cukup diukur atau ditetapkan harga satu R_f . Bila tujuannya untuk memperlihatkan besarnya bercak, maka digunakan variasi kedua. Angka R_f berkisar antara 0,00-1,00 dan hanya dapat ditentukan oleh dua decimal, sedangkan harga R_f adalah angka R_f dikalikan faktor 100 (hundred), menghasilkan angka berkisar 0-100.

9. Harga R_f

Mengidentifikasi noda-noda dalam lapisan tipis lazim menggunakan harga R_f yang diidentifikasi sebagai perbandingan antara jarak perambatan suatu zat dengan jarak perambatan pelarut yang dihitung dari titik penotolan pelarut zat. Jarak yang ditempuh oleh tiap bercak dari titik penotolan diukur dari pusat bercak. Untuk mengidentifikasi suatu senyawa, maka harga R_f senyawa tersebut dapat dibandingkan dengan harga R_f senyawa pembanding (Ningsih, 2009).

Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi harga R_f (Ningsih, 2009):

1. Pelarut

Disebabkan pentingnya koefisien partisi, maka perubahan-perubahan yang sangat kecil dalam komposisi pelarut dapat menyebabkan perubahan-perubahan harga Rf.

2. Suhu

Perubahan dalam suhu merubah koefisien partisi dan juga kecepatan aliran

3. Ukuran dari bejana

Volume dari bejana mempengaruhi homogenitas dari atmosfer jadi mempengaruhi kecepatan penguapan komponen-komponen pelarut dari kertas. Jika bejana besar digunakan, ada tendensi perambatan lebih lama, seperti perubahan-perubahan komposisi pelarut sepanjang kertas, maka koefisien partisi akan berubah juga. Dua faktor yaitu penguapan dan komposisi mempengaruhi harga Rf.

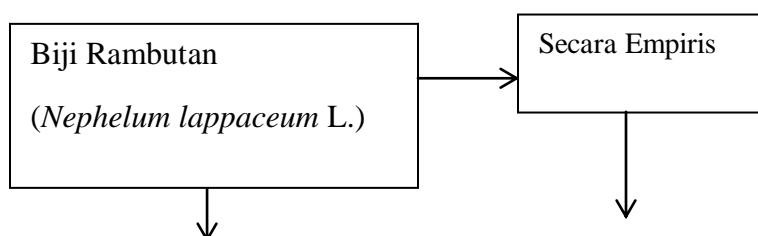
4. Kertas

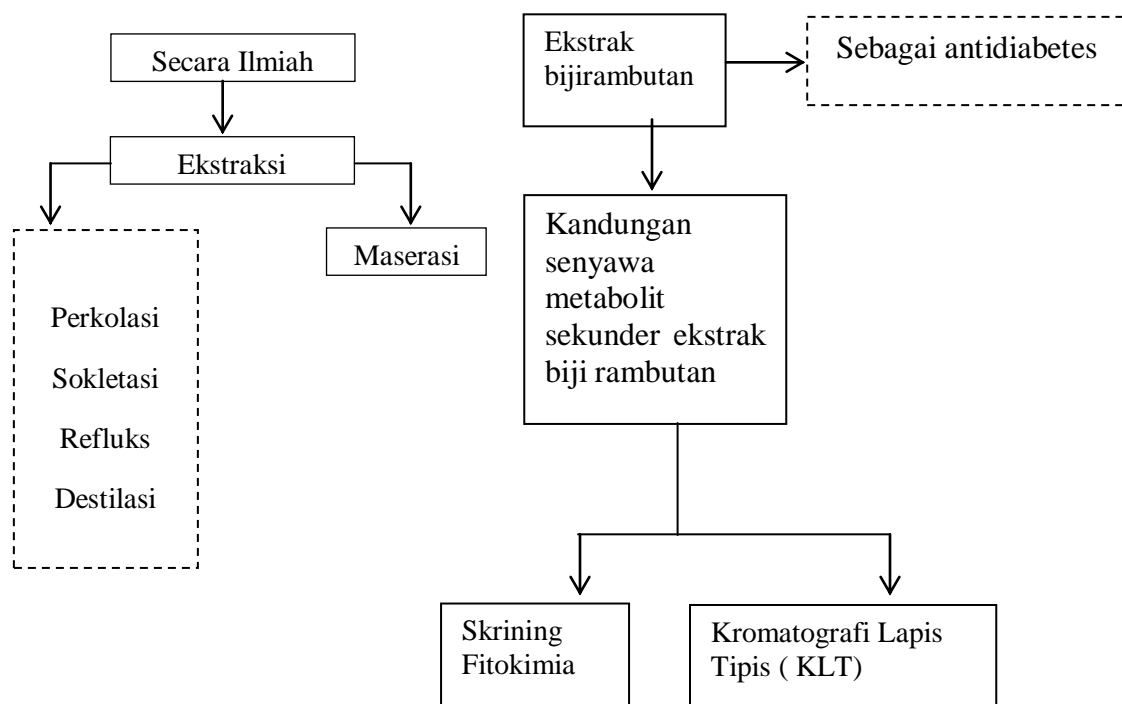
Pengaruh utama kertas pada harga-harga Rf timbul dari perubahan ion dan serapan, yang berbeda untuk macam-macam kertas mempengaruhi kecepatan aliran, dan juga mempengaruhi pada keseimbangan partisi.

5. Sifat dari campuran

Berbagai senyawa mengalami partisi diantara volume-volume yang sama dari fase tetap dan bergerak. Mereka hampir selalu mempengaruhi karakteristik dari kelarutan satu terhadap lainnya hingga terdapat harga-harga Rf.

2.6 Kerangka Konsep





Gambar 2.7 Bagan Kerangka Konsep

Keterangan :

—: Diteliti

-----: Tidak diteliti

2.6.1 Kerangka Teori

Bahan-bahan alam yang terdapat di wilayah Indonesia sebagian besar telah dimanfaatkan oleh masyarakat sekitar dalam kehidupan sehari-hari, namun belum maksimal dalam penggunaannya dan penelitiannya. Tumbuh-tumbuhan yang ada di kawasan Indonesia tidak kalah penting dengan sumber daya alam lainnya. Sumber daya alam memiliki kandungan bahan

kimia yang tidak terbatas jumlah maupun jenisnya yang dapat bermanfaat untuk manusia sebagai obat-obatan dan kosmetik. Pengobatan secara tradisional sebagian besar ramuan atau racikan obat berasal dari tanaman atau tumbuhan, misalnya akar, batang, daun, bunga dan biji. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan adalah tanaman rambutan. Tanaman rambutan merupakan tanaman yang fungsional yang semua dari bagian tanaman rambutan dapat di manfaatkan baik secara ilmiah maupun empiris, salah satunya yaitu biji rambutan yang secara empiris bisa berpotensi sebagai antidiabetes dengan menghambat aktivitas enzim α -glukosidase pada usus halus yang berperan pada penyerapan karbohidrat.

Biji rambutan secara empiris dari penelitian sebelumnya di ekstrak menggunakan etanol 70% dengan metode ekstraksi maserasi. Biji rambutan yang telah kering dibersihkan dari kulit arinya. Biji rambutan kemudian diserbukkan dengan cara diblender hingga halus. Penghalusan bertujuan untuk memperbesar luas permukaan dari biji rambutan sehingga ketika diekstraksi senyawa metabolit sekunder yang ada di biji rambutan dapat keluar secara maksimal. Tahap selanjutnya proses pengestrakan terhadap ekstrak biji rambutan menggunakan etanol 70% dilakukan sampai menghasilkan ekstrak kental. Ekstrak kental merupakan proses penarikan suatu zat terlarut dari larutannya. Metode maserasi ini dilakukan dengan cara merendam sampel ke dalam pelarut sehingga terjadi kontak sampel dan pelarut yang cukup lama.

Skrining fitokimia adalah tahapan awal untuk mengidentifikasi kandungan kimia yang terkandung dalam tumbuhan, karena pada tahap ini kita bisa mengetahui golongan senyawa kimia. Pada penelitian sebelumnya biji rambutan mengandung senyawa aktif fenol, flavonoid dan tanin dengan menggunakan metode uji skrining fitokimia.

Setelah dilakukan skrining fitokimia dilakukan pengujian KLT untuk memisahkan komponen-komponen sampel berdasarkan perbedaan kepolaran. Pemisahan dan permurnian dari

uji skrining fitokimia senyawa flavonoid, tanin, fenol dan dilanjutkan dengan senyawa alkaloid, saponin dapat dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) sampai diperoleh isolat yang positif mempunyai senyawa metabolit sekunder.