



**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVONOID DARI EKSTRAK ETANOL
BUAH BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi*L.) DENGAN METODE
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF FLAVONOID COMPOUND FROM
ETHANOL EXTRACT OF STARFRUITS (*Averrhoa bilimbi* L.) by USING
SPECTROPHOTOMETRY UV-VIS METHOD**

Siti Hamdanah^{1*}, Syariful Anam¹, Jamaluddin¹

¹Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Tadulako, Palu, Indonesia.

Received 25 Januari 2015, Accepted 26 Februari 2015

ABSTRAK

Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dari familia Oxalidaceae merupakan tanaman yang berpotensi sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Flavonoid adalah senyawa aktif dari ekstrak buah belimbing wuluh yang berpotensi sebagai antibakteri. Buah belimbing wuluh diekstraksi dengan etanol 96% dengan cara maserasi. Ekstrak yang diperoleh diidentifikasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) analitik dengan eluen n-butanol- asam asetat glasial – air (6;1:3). Isolasi secara KLT preparative menghasilkan 3 pita. Masing-masing pita tersebut disentrifuge sehingga diperoleh isolat. Isolat dianalisis secara fisika menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan secara kimia menggunakan uji warna (perekasi geser). Hasil spektrum UV-Vis dengan pereaksi geser dari isolat 1 diduga merupakan senyawa isoflavon dengan gugus OH pada posisi 6,7,4' dan gugus o-di OH pada cincin A, pada isolat 2 bukan merupakan senyawa flavonoid dan diperkirakan merupakan senyawa polifenol lain, serta pada isolat 3 diduga senyawa flavon dengan gugus OH pada posisi 5,6,7,4' dan gugus o-di OH pada cincin A.

Kata kunci : *Averrhoa bilimbi* L., Flavonoid, Spektrofotometer UV-Vis.

ABSTRACT

Starfruits (*Averrhoabilimbi* L.) from family ofoxalidaceaeis a plant which has potential as an antibacterial *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Flavonoid are the active compounds from the extract of starfruit which has potential as an antibacterial. Starfruit were extracting by ethanol 96 % using maceration. Extract were identified using thin layer chromatography (TLC) with eluent analytic n-butanol- glacial acetic acid- water (6:1:3). Preparative isolation using thin layer chromatography resulting three bands. Each band was centrifuged to obtain isolates. Physics isolates were analyzing using spectrophotometer UV Vis and chemically using color test (shift reagent). UV Vis spectrum results with shift reagent from isolates 1, suspected as isoflavone compound with OH groups in position 6,7,4 and OH groups in O- ring A, in isolates 2 was not flavonoid compound and predicted as other polyphenolic compound and in isolates 3 suspected of flavonecompound with OH groups in position 5,6,7 and OH groups in O-ring A.

Keywords : *Averrhoa bilimbi* L., Flavonoid, Spectrophotometer UV-Vis

* Corresponding author : Siti Hamdana, sitihamdana34@yahoo.co.id (ph: +62-852-4114-5288)

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki banyak jenis tanaman yang dapat dibudidayakan karena bermanfaat dan kegunaannya besar bagi manusia dalam hal pengobatan. Dalam tanaman ada banyak komponen kimia yang dapat digunakan sebagai obat. Pada saat ini, banyak orang kembali menggunakan bahan-bahan alam yang dalam pelaksanaannya membiasakan hidup dengan menghindari bahan-bahan kimia sintesis dan lebih mengutamakan bahan-bahan alami. Pengobatan dengan bahan alam yang dapat dipilih sebagai solusi mengatasi penyakit, salah satunya ialah penggunaan ramuan obat berbahan herbal (Kardinan dan Kusuma, 2004). Salah satu tumbuhan mengandung senyawa obat yaitu buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Hal ini memungkinkan dilakukannya penelitian dan penelusuran senyawa kimia tentang metabolit sekunder yang terkandung dalam tumbuh-tumbuhan, metode pemisahan, metode analisis, dan uji farmakologinya.

Hasil isolasi metabolit sekunder dapat memberikan informasi kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam tumbuhan sebagai obat atau bahan baku obat. Bagian tanaman belimbing wuluh yang digunakan sebagai bahan baku obat adalah buah, bunga dan daun. Kandungan zat kimia terdapat dalam buah belimbing wuluh adalah flavonoid. Bunganya sering digunakan untuk mengobati batuk dan sariawan. Daunnya digunakan untuk menyembuhkan sakit perut, demam, dan encok. Sementara itu, buahnya digunakan untuk mengobati gusi berdarah, meredakan batuk, membasmi jerawat dan mengatasi tekanan darah tinggi (Adji, 2004).

Berdasarkan penelitian telah dilakukan oleh (Zakaria, dkk, 2007) dan (Chandra, dkk, 2011) menyatakan bahwa buah belimbing wuluh memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri Gram positif *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Corynebacterium diphtheriae* dan *Kocuria rhizophilla* serta pada bakteri Gram negatif yaitu *Salmonellaparatyphi*. Sedangkan menurut penelitian (Qurrotu, 2008) menunjukkan bahwa ekstrak kasar buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) berpotensi sebagai anti bakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Dimana diduga golongan senyawa aktif dari ekstrak buah belimbing wuluh yang berpotensi sebagai antibakteri adalah flavonoid.

Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian ini dengan mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa flavonoid yang terdapat dalam buah belimbing wuluh. Hal ini bertujuan untuk dapat membantu dalam pengembangan ilmu pengetahuan dan studi penelitian selanjutnya.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan uji yang digunakan adalah Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.).

Bahan penelitian yang digunakan berderajat teknis yaitu akuades (H_2O) dan etanol 96 % (C_2H_5OH), yang berderajat p.a (Pro.Analysis) yaitu metanol (CH_3OH), asam klorida (HCl), kloroform ($CHCl_3$), n-butanol (C_4H_9OH), asam asetat glasial (CH_3COOH), aluminium klorida ($AlCl_3$), natrium asetat ($CH_3COO.Na$), asam borat (H_3BO_3), magnesium (Mg), amonia (NH_4) dan silika gel (60 GF₂₅₄).

Metode

Pengambilan Sampel.

Sampel buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) diperoleh dari Desa Lolu, Kecamatan Sigi, Kabupaten Sigi Biromaru, Sulawesi Tengah. Identifikasi sampel dilakukan di UPT sumber Daya Hayati, Sulawesi Tengah, Universitas Tadulako.

Ekstraksi sampel (Maserasi).

Sebanyak 587,82 gram simplisia yang telah halus diekstraksi dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96 %. Maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam dengan tiap 1 x 24 jam dilakukan pengadukan sehingga semua senyawa organik memungkinkan akan tertarik pada pelarut yang digunakan. Kemudian di saring untuk mendapatkan filtrat atau ekstrak cair, lalu filtrat yang diperoleh di pekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 70⁰ C dengan kecepatan 100 rpm sampai didapatkan ekstrak kental.

Isolasi Senyawa Flavonoid.

Pada tahap ini dilakukan pemisahan senyawa flavonoid dengan KLT analitik, kromatografi vakum cair dan KLT preparatif. KLT analitik bertujuan untuk mencari eluen terbaik untuk pemisahan senyawa flavonoid dari ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) hasil yang diperoleh digunakan sebagai eluen untuk KLT preparatif.

1. KLT Analitik. Menotolkan ekstrak kental pada plat KLT menggunakan pipa kapiler yang sebelumnya plat telah

dibuat garis batas atas 1 cm dan batas bawah 1 cm dengan ukuran plat KLT silika gel 60 F₂₅₄ yang berukuran 2 x 10 cm. Dalam Markham (1988) disebutkan bahwa pada umumnya eluen yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen dalam bahan alam yang diduga mengandung flavonoid adalah campuran n-butanol : asam asetat glasial : air (BAA) (4:1:5), BAA (6:1:3) dan metanol : kloroform (7:3), (6:4), (5:5), (4:6), (3:7), (2:8), (1:9), (1:19), dan (1:29) masing-masing sebanyak 20 mL. Hasil pemisahan KLT analitik berupa Bercak yang tampak diperiksa dengan lampu UV 245 nm dan 366 nm kemudian diidentifikasi menggunakan uap amonia. Lempong KLT yang sudah kering diletakkan diatas gelas kimia yang berisi amonia. Bercak yang terbentuk diperiksa dengan lampu UV pada panjang gelombang 245 nm dan 366 nm kemudian disemprot dengan pereaksi AlCl₃ lalu diperiksa kembali dengan lampu UV 254 nm dan 266 nm. Eluen yang memberikan pemisahan yang paling baik nantinya akan digunakan dalam pemisahan kromatografi vakum cair dan KLT preparatif.

2. Kromatografi Vakum Cair. Kolom kromatografi vakum cair dibersihkan, kemudian dipasang tegak lurus. Adsorben (silika gel 60 GF₂₅₄) dimasukkan dalam kolom lalu ditambah cairan pengelusi awal, sambil pompa vakum dijalankan untuk memadatkan atau memampatkan adsorben (silika gel) (Rahim dkk, 2012).

Dari hasil KLT analitik yang membuktikan bahwa positif terdapat senyawa flavonoid pada ekstrak kental tersebut, maka selanjutnya dilakukan pemisahan dengan metode KVC, dimana 4 gram sampel ekstrak kental dibuatkan dalam bentuk suspensi dengan cara melarutkan dalam eter secukupnya dan ditambahkan silika gel secukupnya. Fase diam berupa silikagel dimasukkan kedalam kolom lalu dihisap dengan cara menggunakan pompa vakum hingga mampat. kemudian memasukkan cairan pengelusi yaitu campuran n-butanol : asam asetat glasial : air dengan perbandingan berturut-turut (12:1), (8:1), (6:1), (6:1:1), (6:1:1), (6:1:2), (6:1:4) dan campuran metanol : air (1:1) masing-masing sebanyak 25 mL. Dijalankan pompa vakum hingga eluen turun mengelusi komponen kimia dan eluat (fraksi) yang keluar ditampung.

Masing-masing fraksi di totolkan pada lempeng KLT untuk melihat pemisahan Bercak yang baik dan menunjukkan adanya senyawa flavonoid. Kemudian Bercak tersebut diambil untuk dilanjutkan ke tahap isolasi menggunakan KLT preparatif.

Isolasi Senyawa Flavonoid dengan KLT Preparatif.

Fraksi-fraksi yang didapatkan dari hasil KVC memiliki warna dan spot yang hampir sama atau mirip, diambil untuk di KLT preparatif. Kemudian fraksi-fraksi ditotolkan secara horizontal sepanjang plat dengan menggunakan pipet mikro pada jarak 1 cm dari garis bawah dan dari 1 cm

garis atas sehingga membentuk pita. Lalu dibiarkan plat KLT terelusi pada chamber yang berisi eluen n-butanol: asam asetat glasial : air (6:1:3) sebanyak 20 mL. Hasil KLT diangin-anginkan dan diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 245 nm dan 366 nm. Bercak hasil KLT (pita) dikerok dan dilarutkan dengan pelarut metanol secukupnya, kemudian *disentrifuge* untuk mengendapkan silikanya, sehingga diperoleh supernatan. Supernatan diuapkan hingga kering pada suhu 25⁰ C lalu ditimbang dan didapatkan isolat.

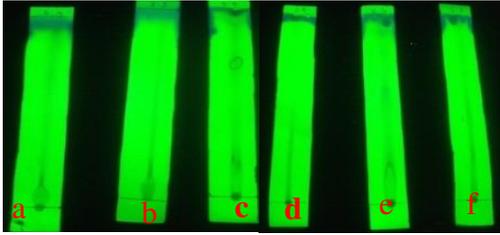
Identifikasi Senyawa Flavonoid.

Isolat dianalisis secara fisika menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan secara kimia menggunakan uji warna (pereaksi geser) yaitu aluminium klorida, natrium hidroksida, asam asetat, dan asam borat.

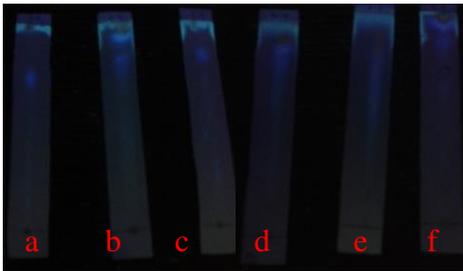
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemisahan KLT Analitik menunjukkan bahwa eluen dari campuran metanol : kloroform (7:3), (6:4), (5:5), (4:6), (3:7), (2:8) dan (1:9) belum dapat memisahkan komponen-komponen senyawa flavonoid yang terkandung dalam buah belimbing wuluh, dapat dilihat pada gambar 1 dan 2. Eluen campuran n-butanol: asam asetat glasial : air (BAA) dengan perbandingan (4:1:5) dan (6:1:3) dapat memisahkan komponen senyawa flavonoid dalam ekstrak etanol buah belimbing wuluh., dapat dilihat pada gambar 3 dan 4. Eluen campuran BAA (4:1:5) mampu menghasilkan 4 bercak namun kurang terpisah baik dan eluen campuran BAA

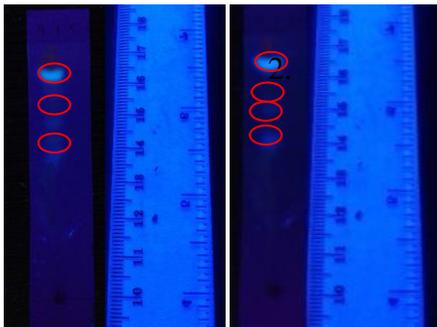
(6:1:3) mampu menghasilkan 3 bercak yang terpisah baik.



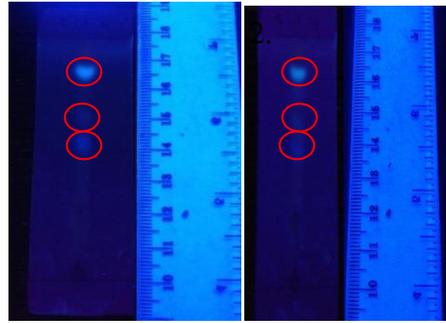
Gambar 1. Profil KLT dibawah lampu UV 254 nm menggunakan pelarut metanol : kloroform dengan variasi konsentrasi a(7:3), b(6:4), c (5:5), d (4:6), e (3:7), dan f (2:8)



Gambar 2. Profil KLT A dibawah lampu UV 366 nm menggunakan pelarut metanol : kloroform dengan variasi konsentrasi a(7:3), b(6:4), c (5:5), d (4:6), e (3:7), dan f (2:8)

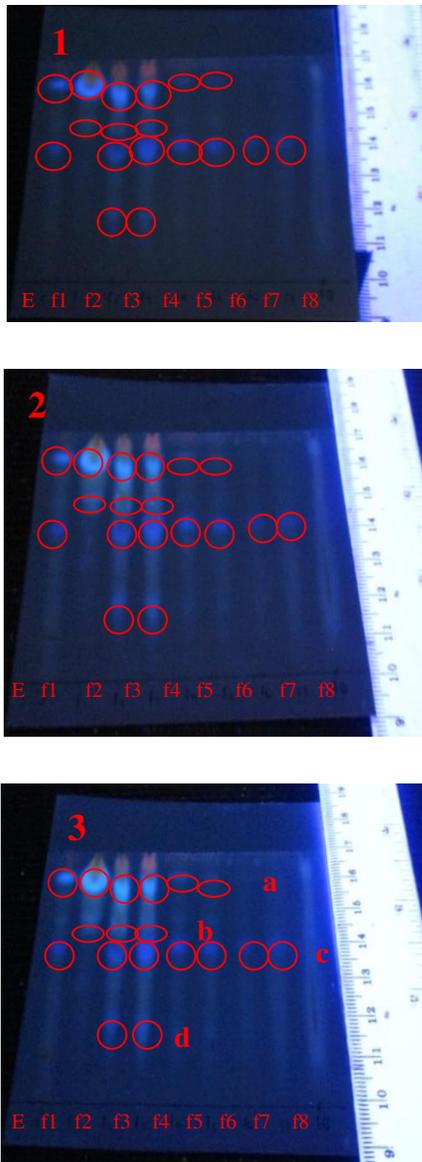


Gambar 3. Kromatogram ekstrak etanol 96 % buah belimbing wuluh fase diam silika gel, fase gerak BAA (4:1:5 %), Jarak migrasi 7,5 cm, 1(dibawah lampu UV 366 nm), 2 (setelah uap amonia)



Gambar4. Kromatogram ekstrak etanol 96 % buah belimbing wuluh fase diam silika gel, fase gerak BAA (6:1:3 %), Jarak migrasi 7,5 cm, 1(dibawah lampu UV 366 nm), 2 (setelah uap amonia)

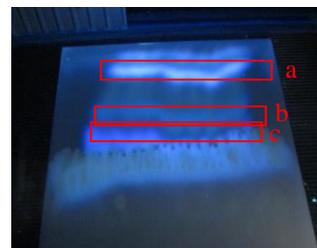
Pemisahan senyawa-senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol buah belimbing wuluh dilakukan dengan kromatografi vakum cair dengan menggunakan silika gel 60 (GF₂₅₄) sebagai fase diam. Sampel sebanyak 4 gram dilarutkan dalam metanol secukupnya lalu ditambahkan dengan fase diam secukupnya dipreabsorpsi dengan silika gel 60 (GF₂₅₄) sebanyak 26,68 gram kemudian di elusi dengan eluen BAA dengan perbandingan (12:10), (8:1), (6:1), (6:1:1) sebanyak 2 kali, (6:1:2), (6:1:4) dan metanol : air (1:1). Masing-masing eluat ditampung dalam vial, kemudian diangin-anginkan sehingga didapatkan eluat kental. Pemisahan ini menghasilkan 8 fraksi. Fraksi 3,4,5 memberikan indikasi adanya bercak utama pada hasil profil KLT. Dari hasil profil KLT memberikan 3 jenis bercak yang cukup baik pemisahannya yaitu bercak berwarna biru muda, hijau-kuning dan lembayung gelap. Pengamatan profil KLT dari hasil KVC dengan gabungan Fraksi 3,4, dan 5 dapat dilihat pada gambar 5



Gambar5. Kromatogram hasil fraksi dengan eluen BAA (12:1), (8:1), (6:1), (6:1:1), (6:1:1), (6:1:2), (6:1:4) dan metanol : Air (1:1), 1 (sebelum di uap amonia), 2 (setelah di uap amonia), dan 3 (setelah di semprot $AlCl_3$).

- Ket : a (Bercak berwarna biru muda)
 b(Bercak berwarna hijau-kuning)
 c (Bercak berwarna lembayung gelap)
 d (Bercak berwarna lembayung gelap)

Hasil pemisahan dari kromatografi vakum cair yang menghasilkan 3 fraksi (Fraksi 3,4,dan 5) digabung dan dilakukan pemisahan dengan KLT preparatif. Eluen yang digunakan pada KLT preparatif adalah eluen terbaik dari hasil KLT analitik yaitu eluen BAA (6:1:3). Plat yang digunakan adalah plat KLT silika gel 60 PF 254 dengan ukuran 20 x 20 cm. Penggunaan silika gel PF₂₅₄ memiliki mekanisme secara adsorpsi dan partisi, dimana simbol ‘P’ artinya lapisan untuk preparatif yang di gunakan pada plat Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP) sehingga pita-pita yang nampak pada plat dapat dikerok. Setelah dilakukan proses elusi pada hasil gabungan fraksi dalam chamber, plat KLTP diamati di bawah lampu UV 366 nm. Pada plat menghasilkan 3 pita. Pita pertama berfluoresensi warna biru muda, pita kedua berfluoresensi warna hijau-kuning dan pita ketiga berfluoresensi warna lembayung gelap. Pita-pita yang dihasilkan kemudian dikerok dan dilarutkan dalam metanol. Kemudian di sentrifuge untuk mengendapkan silika gel atau memisahkan silika gel dan supernatan yang didapatkan sehingga diperoleh isolat. Isolat yang diperoleh diidentifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan menggunakan pereaksi geser.



Gambar 6. KLT Preparatif dibawah 366 nm

Ket :

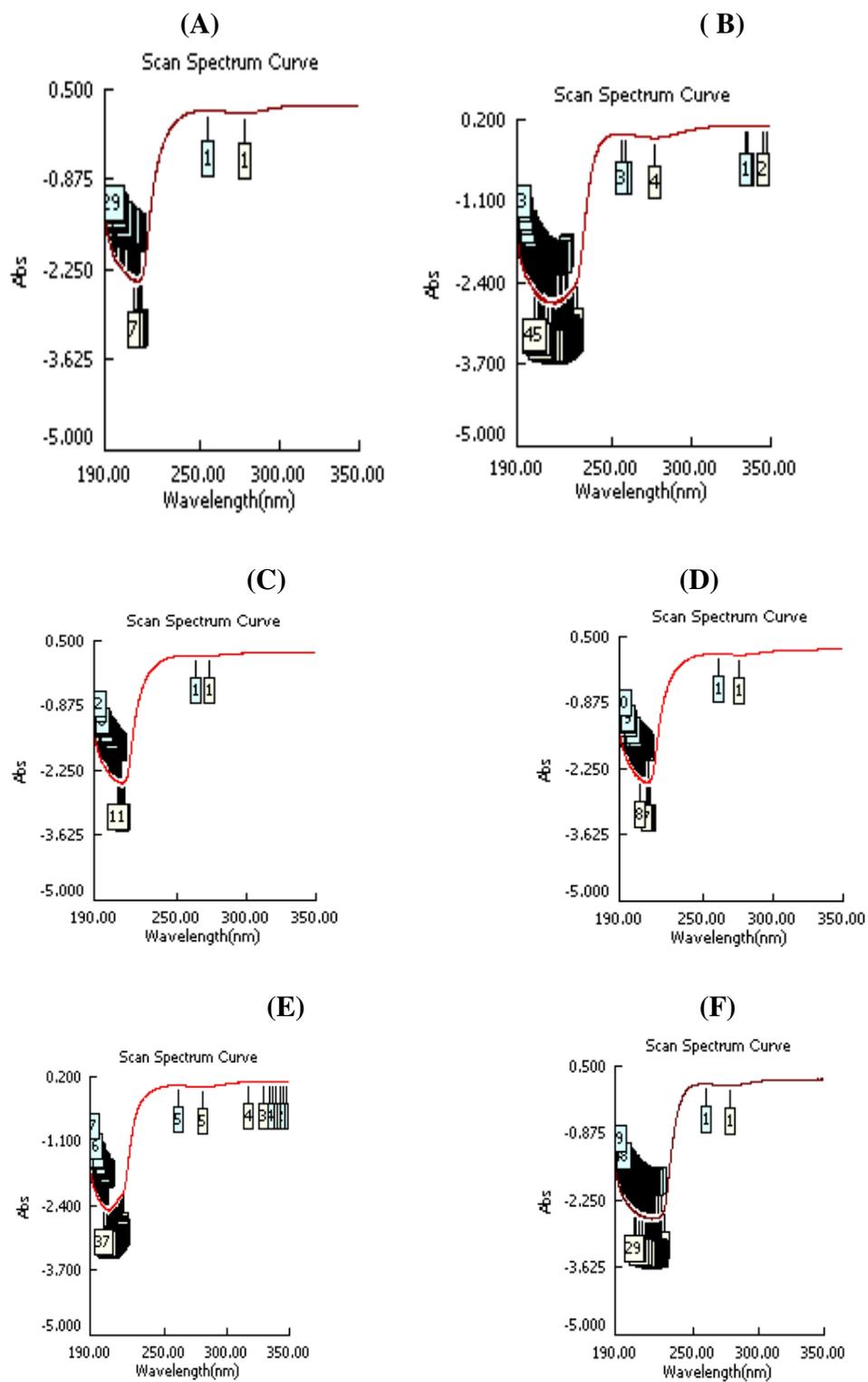
- Isolat 1 berwarna hijau-biru
- Isolat 2 berwarna hijau-kuning
- Isolat 3 berwarna lembayung gelap

Dari data spektrum pada tabel 1. Didapatkan senyawa flavonoid dari hasil KLT preparatif adalah isolat 1 dan 3. Isolat 2 bukan merupakan senyawa flavonoid

karena setelah ditambahkan pereaksi geser (metanol dan AlCl_3), (metanol, HCl , dan AlCl_3), (metanol dan natrium asetat), dan (metanol, natrium asetat, dan asam borat) tidak memiliki panjang gelombang maksimum dan panjang gelombang maksimum pada penambahan pereaksi NaOH tidak sesuai dengan data literatur. Sehingga diperkirakan isolat-isolat tersebut merupakan senyawa polifenol yang lain.

Tabel 1. Panjang gelombang maksimum dari bercak KLT preparative dibawah sinar UV 245 dan 366 nm serta penambahan pereaksi geser.

Isolat	Panjang gelombang maksimum (nm) dengan penambahan pereaksi geser					
	CH_3OH	$\text{CH}_3\text{OH} + \text{NaOH}$	$\text{CH}_3\text{O} + \text{AlCl}_3$	$\text{CH}_3\text{OH} + \text{AlCl}_3/\text{HCl}$	$\text{CH}_3\text{OH} + \text{CH}_3\text{COO. Na}$	$\text{CH}_3\text{OH} + \text{CH}_3\text{COO. Na} + \text{H}_3\text{Bo}_3$
1	305	354	311	307	320	315
	212	258	224	226	246	226
2	328	397	-	-	-	-
	305	396	-	-	-	-
3	314	369	316	-	323	323
	249	256	314	278	229	260



Gambar 7. Spektrum UV hasil senyawa isolat 1 dalam Metanol (A), NaOH (B), AlCl₃ (C), AlCl₃ + HCl (D), Natrium Asetat (E), dan Natrium Asetat + Asam Borat (F).

Tabel 2. Interpretasi perubahan panjang gelombang dari isolat 1 dengan penambahan pereaksi geser.

Perlakuan	Panjang Gelombang $\lambda_{maks}(nm)$		Geseran panjang Gelombang $\lambda_{maks}(nm)$		Dugaan substitusi
	Pita I	Pita II	Pita I	Pita II	
	Isolat + CH ₃ OH	305	212	-	
Isolat + CH ₃ OH + NaOH	354	258	+49	+46	4'-OH
Isolat + CH ₃ OH + AlCl ₃	311	224	+6	+12	Mungkin <i>o</i> -diOH pada cincin A; 5-OH (isoflavon)
Isolat + CH ₃ OH + AlCl ₃ + HCl	307	226	+2	+14	Mungkin <i>o</i> -diOH pada cincin A; 5-OH (isoflavon)
Isolat + CH ₃ OH + CH ₃ COO.Na	320	246	+15	+20	7-OH
Isolat + CH ₃ OH + CH ₃ COO.Na + H ₃ BO ₃	315	226	+10	+14	<i>o</i> -diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8)

Hasil pemeriksaan pendahuluan terhadap isolat 1 mengarah dugaan pada isoflavon yang tak mengandung 5-OH bebas. Hal ini didasarkan pada uji pendahuluan dengan menggunakan KLT menghasilkan bercak warna biru muda sebelum diberi uap amonia dan tetap berwarna biru muda setelah di beri uap amonia.

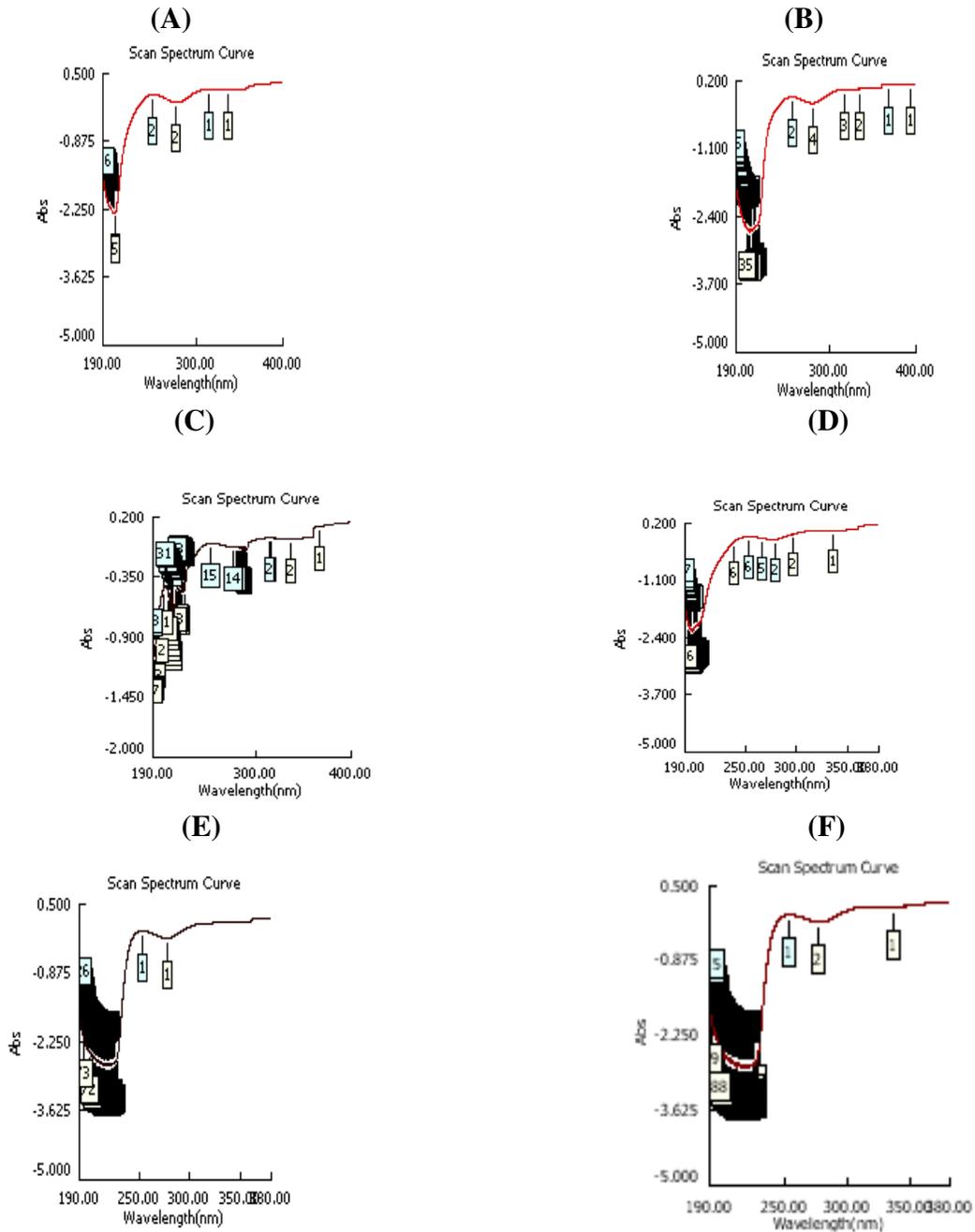
Pada identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan menggunakan pereaksi geser, interpretasi perubahan panjang gelombang dari isolat 1 dengan penambahan NaOH menyebabkan pergeseran panjang gelombang batokromik pada pita I sebesar 49 nm dan pita II sebesar 46 nm yang menunjukkan bahwa adanya gugus 4'-OH, jenis senyawa flavonoid yang diduga adalah flavon dan flavonol. Penambahan AlCl₃ menyebabkan pergeseran pada pita I sebesar 6 nm dan

pergeseran pada pita II sebesar 12 nm, sedangkan penambahan AlCl₃+HCl menghasilkan pergeseran pada pita I sebesar 2 nm dan pada pita II terjadi pergeseran sebesar 14 nm. Hal ini menunjukkan kemungkinan adanya gugus *o*-diOH pada cincin A dan 5-OH (isoflavon). Jenis senyawa yang diduga adalah isoflavon.

Penambahan Natrium Asetat menyebabkan pergeseran panjang gelombang yang panjang pada pita I sebesar 15 nm dan pita II sebesar 20 nm, hal ini menunjukkan adanya gugus 7-OH. Penambahan Natrium Asetat + Asam borat menghasilkan pergeseran panjang gelombang lebih kecil pada pita I sebesar 10 nm dan pita II sebesar 15 nm. Hal ini menunjukkan adanya gugus *o*-diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8). Jenis senyawa yang diduga adalah isoflavon, flavanon dan dihidroflavon.

Dari data di atas dapat diduga bahwa isolat 1 adalah senyawa isoflavon dengan

gugus OH pada posisi 6,7,4' serta gugus o-diOH pada cincin A.



Gambar 8. Spektrum UV hasil senyawa isolat 3 dalam Metanol (A), NaOH (B), AlCl₃ (C), AlCl₃+HCl (D), Natrium Asetat (E), dan Natrium Asetat + Asam Borat(F)

Tabel 3. Interpretasi perubahan panjang gelombang dari isolat 3 dengan penambahan pereaksi geser.

Perlakuan	Panjang Gelombang $\lambda_{maks}(nm)$		Geseran panjang Gelombang $\lambda_{maks}(nm)$		Dugaan substitusi
	Pita I	Pita II	Pita I	Pita II	
Isolat + CH ₃ OH	314	249	-	-	
Isolat + CH ₃ OH + NaOH	369	256	+55	+7	4'-OH
Isolat + Metanol + AlCl ₃	316	314	+2	+58	Mungkin <i>o</i> -diOH pada cincin A ; Mungkin 3-OH (dengan atau tanpa 5-OH)
Isolat + CH ₃ OH 1 + AlCl ₃ + HCl	-	278	-	+29	<i>o</i> -diOH pada cincin A (6,7 dan 7,8)
Isolat + CH ₃ OH + CH ₃ COO.Na	323	229	+9	-20	7-OH
Isolat + CH ₃ OH + CH ₃ COO.Na + H ₃ BO ₃	323	260	+9	-11	<i>o</i> -diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8)

Hasil pemeriksaan pendahuluan terhadap isolat 3 mengarah dugaan yang biasanya flavon atau flavonol tersulih pada 3-*O* mempunyai 5-OH tetapi tanpa 4'-OH bebas, beberapa 6- atau 8-OH flavon dan flavonol tersulih pada 3-*O* serta mengandung 5-OH. Hal ini didasarkan pada uji pendahuluan dengan menggunakan KLT menghasilkan bercak lembayung gelap sebelum diberi uap amonia dan tetap berwarna lembayung gelap setelah di beri uap amonia.

Pada identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan menggunakan pereaksi geser, interpretasi perubahan panjang gelombang dari isolat 3 dengan penambahan NaOH menyebabkan

pergeseran panjang gelombang pada pita I sebesar 55 nm dan pita II sebesar 7 nm yang menunjukkan adanya gugus 4'-OH. Jenis senyawa yang diduga adalah flavon dan flavonol.

Penambahan AlCl₃ menyebabkan pergeseran panjang gelombang pada pita I sebesar 2 nm (penambahan lebih kecil) yang menunjukkan kemungkinan adanya gugus *o*-di OH pada cincin A sedangkan pergeseran panjang gelombang pita II sebesar 58 nm (pergeseran lebih besar) yang menunjukkan kemungkinan adanya gugus 3-OH (dengan atau tanpa 5-OH). Jenis senyawa yang diduga adalah flavon dan flavonol.

Penambahan Natrium Asetat menyebabkan pergeseran panjang gelombang pada pita I sebesar 9 nm dan pita II sebesar 20 nm yang menunjukkan adanya gugus 7-OH. Hal yang sama juga ditunjukkan pada penambahan Natrium Asetat + Asam borat. Pergeseran panjang gelombang pada pita I sebesar 9 dan pita II sebesar 11 yang menunjukkan adanya gugus *o*-diOH pada cincin A (6,7 atau 7,8). Jenis senyawa yang di duga adalah flavon dan flavonol.

Dari data di atas, dapat diduga bahwa isolat 3 adalah senyawa flavon dengan gugus OH pada posisi 5,6,7,4' serta gugus *o*-diOH pada cincin A. Pada data isolat telah didapatkan senyawanya, namun perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk penentuan struktur flavonoid dari buah Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan metode spektroskopi lainnya seperti NMR, FTIR, dan MS.

DAFTAR PUSTAKA

- Adithya, Yonahes, Koirewoan, dkk. (2010). *Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Daun Beluntas (Pluchea Indica L.)*. Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115.
- Chandra, Sreedam, das Shapna, Sultana., Sumon, Roy., Sheikh, Sayed, Hasan. (2011). *Antibacterial and cytotoxic activities of methanolic extracts of leaf and fruit parts of the plant Averrhoa bilimbi (Oxalidaceae)*. Department of Pharmacy. Southeast University, Dhaka, Bangladesh Department of Pharmaceutical Technology, University of Dhaka, Dhaka, ISSN: 2152-649X. Bangladesh.
- Harsodjo S.(2003). *Isolasi Dan Identifikasi Flavonoid Pada Daun Katu (Sauropus androgynous (L.) Merr)*. Badan Pengawas Obat dan Makanan, Departemen Kesehatan RI. Jakarta 10560. Indonesia; Jurusan Farmasi, FMIPA, Institut Sains dan Teknologi Nasional, MAKARA SAINS, Vol. 7, No. 2, Agustus. Jakarta.
- Khoirina, Dwi, Nugrahaningtyas.,Sabirin, Matsjeh., Tutik, Dwi, Wahyuni. 2005. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Rimpang Temu Ireng (Curcuma aeruginosa Roxb.)*. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS), Surakarta.
- Markham, K.R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Penerjemah Padmawinata, K. Penerbit ITB. Bandung.
- Pino, J.A., Marbot, R., & Bello, A. (2004). Volatile Components of *Averrhoa bilimbi* L. Fruit Grown in Cuba. *Journal of Essential Oil Research: JEOR*, (Online), (http://findarticles.com/p/articles/miqa4091/is200405/ai_n94520_07, diakses 15 November 2013).

- Qurrotu A.(2008). *Uji Efektivitas Ekstrak Kasar Senyawa Anti Bakteri Pada Buah Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) dengan Variasi Pelarut* (Skripsi), Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Malang.
- bilimbi* L. Leaves and Fruits Extracts. *International Journal of Tropical Medicine* 293: 96-100.
- Rahim, A., Alam, G., Agustina, R., dan Rusydi, M. (2012). Skrining Toksisitas Ekstrak Herba Bandotan (*Ageratum conyzoides* L) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, Vol. 16(2): 99 – 106.
- Rahmawan R. (2008). *Isolasi Dan Identifikasi Flavonoid Dari Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.)* (Skripsi). Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah, Surakarta.
- Sastrohamidjojo, H.(2007). *Dasar-Dasar Spektrofotokopi, edisi kedua, cetakan kedua*. Penerbit Liberty : Jogjakarta.
- Sastrohamidjojo, H. (1996). *Sintesis Bahan Alam*. Gadjah Mada University Press.Yogyakarta.
- Yohanes, Fatimawali, Weny, Indayang, Wiyono. (2013) *.Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Daun Beluntas (*PlucheaIndica*L.)*. Program Studi Farmasi Fmipa Unsrat Manado.
- Zakaria, Z.A., H. Zaiton., E. F. P., Henie., A. M., Mat Jains & E. N.H. Engka Zainuddin. (2007). *In Vitro Antibacterial Activity of *Averrhoa**