

Isolasi Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Etanol Daun Pacar Air (*Impatiens Balsamina* L.)

Tiara Pramudita¹⁾, Livia Syafnir²⁾, Leni Purwanti³⁾

Prodi Farmasi FMIPA, Universitas Islam Bandung, Jl. Tamansari No. 1 Bandung
40116

e-mail : tiara_pramudita@ymail.com¹⁾

Abstrak. Telah dilakukan penelitian mengenai isolasi senyawa flavonoid dari ekstrak etanol daun pacar air (*Impatiens balsamina* Linn), dengan tujuan untuk mengetahui golongan senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun pacar air. Hasil uji parameter standarisasi ekstrak dan simplisia adalah kadar air 6,12%, kadar sari larut air 20,67%, kadar sari larut etanol 6,77%, susut pengeringan 9,85%, kadar abu total 1,26%, kadar abu tidak larut asam 0,76% dan bobot jenis 0,72%. Berdasarkan hasil skrining fitokimia simplisia mengandung senyawa flavonoid, saponin, polifenolat, triterpenoid dan steroid. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 95%. Ekstrak etanol yang diperoleh di fraksinasi dengan metode fraksinasi cair – cair menggunakan pelarut n-heksana, etilasetat dan air. Hasil fraksinasi dilakukan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan berbagai fase gerak. Hasil KLT terbaik diperoleh dari fraksi etilasetat dengan pengembang n-heksana : etilasetat (5:5). Hasil KLT kemudian dilakukan kromatografi kolom dan dilakukan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif dengan fase gerak n-heksan : etilasetat (50:50). Isolat fraksi etil asetat yang diperoleh di karakterisasi dengan spektrofotometri UV-Vis dengan menggunakan pereaksi geser $AlCl_3/HCl$. Hasil penafsiran spektrofotometri UV-Vis adalah senyawa golongan flavonoid flavonol yang kemungkinan mempunyai 5-OH dengan gugus prenil pada C6.

Kata kunci : Pacar air, Flavonoid, KLT, KLTP, Spektrofotometri UV-Vis.

A. Pendahuluan

Penggunaan obat bahan alam, baik sebagai obat maupun tujuan lain cenderung meningkat, terlebih dengan adanya isu *back to nature*. Obat tradisional dan tanaman obat banyak digunakan masyarakat dalam upaya promotif (Gunawan, 1995:9). Obat tradisional merupakan warisan nenek moyang yang telah dikembangkan sejak dahulu. Sumber obat tradisional terutama berasal dari bahan alam baik tumbuhan ataupun bahan-bahan mineral. Indonesia merupakan salah satu negara penghasil tanaman obat yang potensial, dimana hasil alam yang paling banyak digunakan sebagai bahan obat adalah tumbuhan, yang telah digunakan dalam kurun waktu cukup lama (Djauhariyah, 2004:57). Masyarakat Indonesia memanfaatkan tumbuhan obat secara tradisional karena efek samping lebih kecil dari obat yang dibuat secara sintesis. Mahalnya obat sintesis membuat masyarakat beralih ke tumbuhan obat. Hal ini menandai adanya peningkatan kesadaran masyarakat untuk kembali ke alam dalam rangka mencapai kesehatan optimal dan untuk mengatasi berbagai penyakit secara alami (Mursito, 2001:2). Salah satu tumbuhan obat adalah pacar air (*Impatiens balsamina* L.) dari suku Balsaminaceae. Tumbuhan pacar air mempunyai biji yang mengandung saponin, daunnya mengandung flavonoid, saponin, steroida dan glikosida. Bunga dengan beberapa warna yaitu merah, putih, kuning, jingga dan ungu. Kandungan kimia dari bunga diantaranya antosianin (sianidin, delphinidin, pelargonidin, malpudin) dan kaemferol, pada akarnya mengandung sianidin, monoglikosida (Phuphathanaphong, 1999:92).

Salah satu tumbuhan obat adalah pacar air (*Impatiens balsamina* L.) dari suku Balsaminaceae. Tumbuhan pacar air mempunyai biji yang mengandung saponin, daunnya

mengandung flavonoid, saponin, steroida dan glikosida. Bunga dengan beberapa warna yaitu merah, putih, kuning, jingga dan ungu. Kandungan kimia dari bunga diantaranya antosianin (sianidin, delpinidin, pelargonidin, malpidin) dan kaemferol, pada akarnya mengandung sianidin, monoglikosida (Phuphathanaphong, 1999:92).

Tumbuhan ini memiliki banyak khasiat obat, diantaranya bagian yang digunakan adalah biji, daun, bunga dan akarnya. Biji digunakan untuk mengatasi terlambat haid, sulit melahirkan, memar (luka). Bunga digunakan membuat pewarna merah pada kuku dan bengkak karena gumpalan bekuan darah. Daun digunakan untuk mengatasi keputihan, nyeri haid, obat luka, bisul, kolesterol dan penyakit kulit. Akar digunakan untuk mengatasi rematik, leher kaku, sakit pinggang, terlambat haid (Phuphathanaphong, 1999:92).

Flavonoid adalah sekelompok besar senyawa polifenol tanaman yang tersebar luas pada tumbuhan tingkat tinggi, sedangkan pada alga flavonoid jarang ditemukan (Markham, 1988:10). Daun pacar air mengandung flavonoid, saponin, dan steroid. Sampai saat ini masih belum diketahui golongan senyawa flavonoid apa yang terkandung dalam daun pacar air. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai golongan senyawa flavonoid dalam daun pacar air.

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu: golongan senyawa flavonoid apa yang terkandung dalam daun pacar air? Pada penelitian menggunakan daun pacar air karena daun mudah didapat dan tumbuh sepanjang tahun. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun pacar air, sehingga dapat memberikan informasi tambahan kepada masyarakat Indonesia mengenai kandungan daun pacar air. Pada penelitian ini dilakukan pengamatan secara kualitatif terhadap kandungan kimia yang memiliki potensi besar di bidang farmasi, yaitu golongan senyawa flavonoid pada daun pacar air dengan metode Spektrofotometri UV-Vis menggunakan pereaksi geser $AlCl_3/HCl$.

B. Landasan Teori

Pacar air merupakan tanaman herba berakar tunggang, berbatang basah, tegak, lunak, bulat, bercabang – cabang sederhana, dengan buku- buku yang membengkak, warna hijau kekuningan, tidak berbulu atau berbulu halus saat muda. Pacar air biasanya di tanam sebagai tanaman hias dengan tinggi 30-80 cm. Arah tumbuhnya tegak dan percabangannya monopodial. Pacar air mempunyai daun tunggal, tersusun spiral dan bertangkai pendek.

Flavonoid merupakan salah satu program fenol yang tersebar luas pada tumbuhan berwarna hijau dan terdapat dalam berbagai bentuk struktur yang mengandung 15 atom karbon dalam inti dasar.

Salah satu pendekatan untuk penelitian tumbuhan obat adalah penapisan senyawa kimia atau skrining fitokimia yang terkandung di dalam tanaman. Skrining fitokimia dalam tumbuhan merupakan tahap awal untuk mengidentifikasi kandungan kimia yang terkandung dalam tumbuhan. Parameter standar yaitu suatu metode standarisasi untuk menjaga kualitas dari suatu simplisia maupun ekstrak. Parameter standar ini meliputi pengujian parameter standar spesifik dan parameter non- spesifik terhadap simplisia dan ekstrak.

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian

semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Agoes, 2009:21). Proses untuk mendapatkan suatu ekstrak adalah ekstraksi. Ekstraksi adalah tahap awal untuk mengisolasi kandungan zat kimia dari simplisia tanaman obat dan pemisahan bahan dari campuran dengan menggunakan pelarut.

Fraaksinasi adalah metode pemisahan campuran menjadi beberapa fraksi yang berbeda susunannya. Fraaksinasi diperlukan untuk memisahkan golongan utama kandungan satu dari golongan utama yang lainnya. Fraaksinasi meruakan suatu proses pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran (Harbone, 1996:7). Fraaksinasi secara kromatografi dapat memisahkan suatu campuran berdasarkan perbedaan perpindahan senyawa dalam fase gerak dan fase diam. Pemeriksaan fraksi menggunakan kromatografi lapis tipis dengan fase diam silika gel.

C. Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini bahan yang digunakan adalah daun pacar air (*Impatiens balsamina* L.) yang di kumpulkan dari Kampung Cikembang, Desa Rancamanggung, Kecamatan Tanjungsiang, Kabupaten Subang, Jawa Barat. Daun segar yang diperoleh sebanyak 10 kg. Determinasi dilakukan di Herbarium Bandungense Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung.

Proses pengeringan dilakukan dengan menggunakan kotak pengering pada suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$ selama 12 hari. Berat rajangan daun pacar air yang diperoleh setelah pengeringan adalah 980 gram. Pengeringan dimaksudkan untuk mengurangi kadar air dan mencegah tumbuhnya jamur atau bakteri, sehingga simplisia dapat disimpan lebih lama dan tidak mudah rusak sehingga komposisi kimianya tidak mengalami perubahan. Bahan kering yang telah diperoleh kemudian di blender untuk didapatkan serbuk simplisia daun pacar air.

Hasil pemeriksaan makroskopik menunjukkan daun pacar air berbentuk lanset sampai jorong sempit, tidak berbulu dan tepinya bergerigi. Daun pacar air memiliki panjang 8,0 cm -19,1 cm, dengan lebar daun 1,4 cm - 2,9 cm. Pangkalnya berbentuk pasak dan ujungnya lancip. Berdasarkan hasil pengamatan makroskopik daun pacar air sesuai dengan pustaka (Phuphathanaphong, 1999:92). Sedangkan serbuk simplisia berbentuk halus, bewarna hijau, tidak berbau dan tidak berasa.

Hasil pemeriksaan mikroskopis terhadap serbuk daun pacar air pada pelarut fluroglucinol + HCl 10% terlihat berkas pembuluh dan rambut penutup, sedangkan untuk mikroskopik daun segar dengan pelarut kloralhidrat terlihat stomata anomositik sesuai dengan pustaka (Cronquist, 1981:834), rambut penutup, epidermis atas, jaringan palisade, berkas pembuluh dan epidermis bawah

Penetapan parameter standar simplisia dan ekstrak digunakan untuk menjamin keseragaman khasiat dan kualitas bahan yang akan digunakan dalam penelitian (Saifudin dkk., 2011:5). Penetapan parameter standar meliputi penetapan kadar air, susut pengeringan, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam dan penetapan bobot jenis.

Hasil penetapan parameter kadar air dari serbuk daun pacar air diperoleh 6,12%. Kadar air memberikan batasan maksimal atau rentang besarnya kandungan air di dalam tumbuhan dan menentukan stabilitas ekstrak dan bentuk sediaan selanjutnya (Saifudin dkk., 2011:70).

Hasil penetapan parameter susut pengeringan dari serbuk simplisia yang diperoleh dari serbuk daun pacar air diperoleh 9,85%. Nilai parameter susut pengeringan

yang diperoleh menunjukkan besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Hasil penetapan parameter kadar sari larut air dari serbuk simplisia daun pacar air diperoleh 20,97%.

Kadar sari larut air memberikan gambaran awal mengenai jumlah senyawa kandungan yang larut air (Depkes RI, 2000:31). Hasil penetapan parameter kadar sari larut etanol dari serbuk simplisia daun pacar air diperoleh 6,77%. Kadar sari larut etanol memberikan gambaran mengenai jumlah senyawa kandungan dalam bahan yang larut dalam etanol (Depkes RI, 2000:32).

Hasil penetapan kadar abu total dari serbuk simplisia daun pacar air diperoleh 1,24%. Penetapan nilai kadar abu memberikan gambaran kandungan mineral dan anorganik internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya simplisia (Saifudin dkk., 2011:74). Hasil penetapan kadar abu tidak larut asam dari simplisia daun pacar air diperoleh 0,49%. Penetapan nilai kadar abu tidak larut asam bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan senyawa anorganik yang berasal dari luar tanaman (eksternal) seperti pasir dan paparan polusi yang menempel pada simplisia (Depkes RI, 2000:17).

Hasil penetapan parameter bobot jenis ekstrak dari daun pacar air diperoleh 0,72/ml. Nilai bobot jenis yang diperoleh memberikan batasan rentang besarnya massa per satuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai ekstrak pekat yang masih dituang. Hasil bobot jenis dari ekstrak lebih besar dari bobot jenis air, hal ini dikarenakan ekstrak mempunyai tingkat kepekatan dan keenceran yang berbeda dari air (Depkes RI, 2000:13).

Penapisan fitokimia bertujuan untuk pemeriksaan kandungan kimia secara kualitatif untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam suatu tumbuhan, terdiri dari alkaloid, polifenolat, flavonoid, saponin, kuinon, tanin, monoterpen dan seskuiterpen, triterpenoid dan steroid. Hasil negatif terdeteksi pada golongan alkaloid, kuinon, tanin, monoterpen dan seskuiterpen, triterpenoid. Sedangkan hasil positif terdeteksi pada golongan senyawa polifenolat, fenolat, flavonoid, saponin dan steroid. Namun terdapat perbedaan pada senyawa saponin, pada simplisia terdeteksi sedangkan pada ekstrak tidak terdeteksi. Kemungkinan pelarut tidak mampu menarik saponin pada saat diekstrak sehingga tidak menimbulkan busa dan simplisia mengandung saponin sedikit sehingga pada saat diekstrak hilang karena telah melewati proses ekstraksi.

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Perendaman sampel tumbuhan akan mengakibatkan pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang berada di dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur perendaman yang dilakukan (Agoes, 2009:78).

Daun pacar air 980 gram dimaserasi dengan pelarut etanol sebanyak 20 L pada suhu ruang selama 3x24. Etanol digunakan sebagai pelarut karena etanol merupakan pelarut universal sehingga mampu menarik sebagian besar senyawa yang terkandung dalam simplisia, serta kemampuannya untuk mengendapkan protein dan menghambat kerja enzim yang dapat terhindar dari adanya protein hidrolisis dan oksidasi.

Filtrat yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan “vacuum rotary evaporator” pada suhu 40°C sampai semua etanol menguap sehingga diperoleh ekstrak etanol berwarna coklat sebanyak 52,05 gram. Rendemen yang diperoleh dari hasil proses ekstraksi adalah 5,31% dengan berat 52,05 gram. Ekstrak etanol kemudian difraksinasi dengan tujuan menyederhanakan senyawa metabolit sekunder yang terekstraksi. Fraksinasi dilakukan berdasarkan kepolarannya. Fraksinasi ini menggunakan pelarut n-heksana, etil

asetat dan air.

Ekstrak difraksinasi dengan n-heksana terlebih dahulu karena untuk menarik semua senyawa metabolit sekunder yang bersifat non-polar. Kemudian fraksinasi dengan etilasetat untuk menarik semua senyawa metabolit sekunder yang bersifat semipolar. Dari hasil fraksinasi diperoleh tiga fraksi yaitu fraksi n-heksana, fraksi etilasetat dan fraksi air. Ketiga fraksi ini dilakukan pemantauan dengan ditotolkan pada plat kromatografi lapis tipis yang diuapkan dengan amonia. Pada kromatografi, komponen-komponennya akan dipisahkan dengan fase diam dan fase gerak. Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF 254 yang berarti silika gel dengan fluoresen yang berpendar pada 254 nm. Fase gerak yang digunakan pada kromatografi lapis tipis yaitu n-heksan: etilasetat dengan perbandingan 5: 5 (v/v).

Pengembangan dilakukan dalam chamber penuh uap dan tertutup rapat agar pemisahan berlangsung sempurna. Pemisahan komponen sangat dipengaruhi oleh adanya interaksi antara adsorbent dan eluen. Deteksi bercak dilakukan di bawah sinar UV 254 nm dan 365 nm kemudian dilakukan penampak bercak menggunakan uap amonia dengan mengitung Rf. Dari hasil kromatografi lapis tipis, fraksi etilasetat positif mengandung flavonoid karena diuapkan dengan amonia terjadi perubahan warna dengan Rf 0,41.

Dari perubahan warna yang terjadi diduga fraksi etilasetat mengandung senyawa flavonoid golongan flavonol. Fraksi etilasetat dikromatografi kolom untuk memisahkan beberapa senyawa yang ada di dalam fraksi etilasetat menjadi senyawa yang murni. Hasil kromatografi kolom dengan menggunakan elusi landaian adalah 29 vial. Vial – vial yang diperoleh dibiarkan menguap hingga pekat dan mudah terdeteksi pada waktu kromatografi lapis tipis yang akan digunakan untuk memastikan tingkat kemurnian.

Proses selanjutnya 29 vial di uji kromatografi lapis tipis untuk mencari vial keberapa yang diduga mengandung senyawa flavonoid. Eluen yang digunakan n-heksan: etilasetat dengan perbandingan 5 : 5 (v/v). Berdasarkan hasil kromatografi lapis tipis terdapat bercak yang sebanding dengan fraksi etilasetat dan perubahan warna ketika diuapkan dengan amonia yaitu vial nomer 20 dan 21, dengan nilai Rf 0,43. Maka dapat di duga senyawa flavonoid berada pada vial nomer 20 dan 21.

Fraksi yang terpilih yaitu pada vial nomer 20 dan 21 karena vial nomer 20 dan 21 memiliki Rf yang sebanding dengan fraksi etilasetat. Pada kromatografi lapis tipis preparatif penggunaan sampel lebih banyak karena hasilnya dapat digunakan untuk analisa uji kemurnian.

Hasil kromatografi lapis tipis preparatif dapat dilihat pada panjang gelombang 254nm dan 365nm, dimana terdapat 1 pita yang bewarna biru pada sinar UV 365nm dengan Rf 0,42 dan ketika diuapkan dengan amonia terjadi perubahan warna menjadi biru – hijau dengan Rf 0,41. Pita hasil preparatif kemudian dikerok dan dilarutkan dengan metanol. Terhadap hasil preparatif dilakukan pemantauan kromatografi lapis tipis untuk uji kemurnian sehingga didapatkan isolat yang murni bebas dari pengotor. Metode yang digunakan untuk uji kemurnian adalah kromatografi lapis tipis satu dimensi dan kromatografi lapis tipis dua dimensi. Pada kromatografi lapis tipis satu dimensi dan dua dimensi menggunakan tiga campuran eluen yang berbeda dengan kepolaran yang berbeda yaitu n-heksan, etilasetat dan metanol. Hasil yang diperoleh Setelah dilihat di detektor UV menunjukkan isolat yang dihasilkan murni.

Setelah serangkaian tahapan skrinning fitokimia, ekstraksi, fraksinasi, pemurnian dan uji kemurnian dilakukan maka dilakukan karakterisasi isolat. Tahapan berikutnya yang dilakukan adalah isolat dilarutkan dengan metanol, kemudian menggunakan blanko metanol pada spektrofotometer UV – Vis. Dari hasil spektrum UV-Vis isolat etilasetat

dihasilkan 2 pita serapan, yaitu pita 1 terletak pada panjang gelombang 368nm dan pita II terletak pada panjang gelombang 275nm. Berdasarkan pustaka, data spektrum UV-vis adalah senyawa flavonoid golongan flavonol (3-OH bebas). Spektrum serapan flavonoid golongan flavonol (3-OH bebas) memberikan serapan daerah 250 – 280 nm dan 350 – 380 nm (Markham, 1988:39). Pada struktur senyawa flavonoid tidak terjadi perubahan ketika ditambahkan pereaksi geser $AlCl_3/HCl$ sehingga diduga termasuk serapan flavonoid flavonol 5-OH dengan gugus prenil pada C6.

D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, isolasi senyawa flavonoid dari ekstrak etanol daun pacar air (*Impatiens balsamina* L.) pada fraksi etil asetat dapat di isolasi dengan cara ekstraksi, fraksinasi, dan kromatografi. Dapat disimpulkan bahwa isolat yang dihasilkan adalah murni karena dapat memberikan spot tunggal dan Rf yang memenuhi syarat. Diduga senyawa flavonoid yang terdapat pada daun pacar air termasuk golongan flavonol 5-OH dengan gugus prenil pada C6.

Daftar Pustaka

- Agoes, G. (2009). *Teknologi Bahan Alam*, Penerbit ITB, Bandung.
- Cronquist, A. (1981). *An Intregated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press, New York.
- David, G., dan Watson. (2009). *Analisis Farmasi*, Edisi 2, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta. Departemen Keseharan Republik Indonesia. (1977) *Materia Medika Indonesia*. Jilid 1, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1986). *Sediaan Galenik*, Direktorat