

## Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Pakis Sayur [*Diplazium esculentum* (Retz.) Swartz]

Identification of Flavonoids Compound of Edible Fern [*Diplazium esculentum* (retz.) Swartz] Leaves

<sup>1</sup>Hermawan, <sup>2</sup>Leni Purwanti, <sup>3</sup>Undang A Dasuki

<sup>1,2,3</sup>Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116

email: <sup>1</sup>marwanhermawan18@gmail.com, <sup>2</sup>purwanti.leni@yahoo.com, <sup>3</sup>undangdasuki@gmail.com

**Abstract.** Indonesia is the country with the second highest biodiversity richness in the world after Brazil. One of the plants that is often used by Indonesian people is edible fern [*Diplazium esculentum* (Retz.) Swartz]. Edible fern is a plant that is not only consumed as food but also considered efficacious to cure various diseases. The purpose of this study is to determine flavonoid group derived from fern diplazium (*Diplazium esculentum*). Extraction has been done by multilevel maceration method using graded solvent n-hexane, ethyl acetate and methanol. N-hexane, ethyl acetate, and methanol viscous extracts were monitored using analytical KLT and AlCl<sub>3</sub> spotting appearance. Furthermore, ethyl acetate selected extract was subfractionated using vacuum liquid chromatography (KCV) method with gradient elution system, then subfraction of vacuum liquid chromatography (KCV) was re-monitored using analytical KLT and AlCl<sub>3</sub> spotting effect. The results showed that the leaves of the vegetable fern [*Diplazium esculentum* (Retz.) Swartz] were suspected to have flavonoid compounds in subfraction numbers five and six with marked color formation on the TLC plate that is yellow.

**Keywords:** Edible fern, *Diplazium esculentum*, identification, flavonoids.

**Abstrak.** Indonesia adalah negara dengan kekayaan keanekaragaman hayati tertinggi nomor dua di dunia setelah negara Brazil. Salah satu tumbuhan yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia adalah pakis sayur [*Diplazium esculentum* (Retz.) Swartz]. Pakis sayur merupakan tumbuhan yang tidak hanya dikonsumsi sebagai makanan tetapi juga dianggap berkhasiat untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui golongan flavonoid yang berasal dari tumbuhan pakis sayur (*Diplazium esculentum*). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol. Terhadap ekstrak kental n-heksana, etil asetat, dan metanol dilakukan pemantauan dengan menggunakan KLT analitik dan penampak bercak AlCl<sub>3</sub>. Selanjutnya ekstrak terpilih etil asetat dilakukan subfraksinasi menggunakan metode kromatografi cair vakum (KCV) dengan sistem elusi gradien, kemudian subfraksi hasil kromatografi cair vakum (KCV) dilakukan pemantauan kembali menggunakan KLT analitik dan penampak bercak AlCl<sub>3</sub>. Hasil identifikasi menunjukkan daun pakis sayur [*Diplazium esculentum* (Retz.) Swartz] diduga terdapat senyawa flavonoid pada subfraksi nomor lima dan enam dengan ditandai terbentuknya warna pada plat KLT yaitu berwarna kuning.

**Kata Kunci:** Pakis sayur, *Diplazium esculentum*, identifikasi, flavonoid.

### A. Pendahuluan

Indonesia adalah negara besar dengan penduduk muslim terbesar di dunia. Selain itu, negeri ini juga dikaruniai kekayaan keanekaragaman hayati yang sangat luar biasa banyaknya. Kekayaan itulah yang menyebabkan Indonesia menempati posisi penting dalam peta keanekaragaman hayati dunia dan dikenal sebagai salah satu negara megadiversity. Indonesia memiliki keanekaragaman hayati tertinggi nomor dua di dunia setelah Brazil (Supriatna, 2008: 15).

Salah satu keanekaragaman hayati yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia adalah pakis sayur [*Diplazium esculentum* (Retz.) Swartz], merupakan tumbuhan paku yang tidak hanya dikonsumsi sebagai makanan lezat, sayuran mentah ataupun salad akan tetapi bagi sebagian masyarakat juga dianggap memiliki berbagai khasiat untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Rebusan daun pakis sayur digunakan oleh wanita sebagai tonik setelah melahirkan, untuk menyembuhkan batuk berdahak serta batuk biasa, ekstrak daun tua digunakan untuk demam, daun yang digosokkan pada

tubuh untuk menghilangkan bau tidak menyengankan, rimpang ditumbuk lalu direndam dalam air digunakan sebagai antidiare dan antidisentri, rizoid (yang terlihat seperti rambut kuda) sebagai medium untuk pertumbuhan anggrek, masyarakat sunda menyebutnya 'kumpai cai' untuk merangsang pertumbuhan rambut. Pakis sayur juga tanaman hias yang menarik dan secara luas dibudidayakan (Hovenkamp and Umi Kalsom, 2003: 96).

Khasiat pakis sayur (*Diplazium esculentum*) disebabkan oleh adanya sejumlah senyawa aktif yang dikandungnya. Kandungan kimia yang terkandung dalam *Diplazium esculentum* meliputi steroid, triterpenoid, fenol, flavon, dan flavonoid (Kaushik et al., 2011: 1252).

Tumbuhan pakis sayur (*Diplazium esculentum*) memiliki banyak khasiat tidak lain karena memiliki kandungan kimia yang fungsinya dapat mengobati suatu penyakit. Salah satunya adalah senyawa flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu jenis komponen yang terkandung dalam tanaman, dan dapat ditemukan pada semua tanaman vaskuler. Flavonoid adalah komponen yang mempunyai berat molekul rendah, dan pada dasarnya merupakan phenyl benzopyrones (phenyl chromones) dengan berbagai variasi pada struktur dasarnya, yaitu tiga cincin utama yang saling melekat. Struktur dasar ini terdiri dari dua cincin benzene (A dan B) yang dihubungkan melalui cincin heterosiklik piron atau piron (dengan ikatan ganda) yang disebut cincin "C" (Middleton et al., 2000: 673-751).

Flavonoid merupakan senyawa yang bertanggung jawab untuk warna bunga, buah-buahan dan kadang-kadang daun, atau berkontribusi warna dengan bertindak sebagai co-pigmen. Flavonoid melindungi tanaman dari efek UV yang merusak. Baru-baru ini, flavonoid telah menarik minat karena penemuan aktivitas farmakologi sebagai anti-inflamasi, analgesik, antitumor, anti-HIV, antidiare, anti-hepatotoksik, antijamur, antilipolytic, antioksidan, vasodilator, imunostimulan dan anti-ulcerogenic. Contoh flavonoid biologis aktif yang rutin untuk mengurangi kerapuhan kapiler dan quercetin sebagai antidiare (de Winter and Amoroso, 2003: 25).

Berdasarkan latar belakang diatas maka dapat diambil perumusan masalah yaitu golongan flavonoid apa yang terdapat pada daun tumbuhan pakis sayur (*Diplazium esculentum*). Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui senyawa flavonoid yang berasal dari tumbuhan pakis sayur (*Diplazium esculentum*).

## B. Landasan Teori

Pakis sayur (*Diplazium esculentum*) memiliki rimpang tegak, tingginya sampai 100 cm diatas permukaan tanah. Daun berkumpul di ujung rimpang, tangkai daun panjangnya 50-70 cm, hitam, gundul dengan sisik-sisik coklat di dasar. Helai daun (lamina) bulat telur sampai lanset, berukuran 0,5-1,5 m x 0,5 x 1 m, menyirip ganda dengan pinula berlekuk dangkal, tepi hijau tua, "Pinnae" bulat telur, ukuran sampai 50 cm x 25 cm. Pinula linier-lanset, yang terbesar berukuran 10-15 cm x 2-4 cm, dasar subsesil (hampir tidak bertangkai), terdapat "aurikel" pada kedua sisi. Urat daun menyirip, dengan 8-10 pasang vena lateral (Hovenkamp and Umi Kalsom, 2003: 97).

*Diplazium* terdiri sekitar 400 spesies dan tersebar di seluruh hutan hujan di daerah tropis dan subtropis di dunia. *Diplazium esculentum* juga terdapat dari Cina tengah dan Jepang Selatan menyebar ke seluruh Asia tropis yang lembab juga di Polinesia dan secara luas dibudidayakan di kebun, sebagian yang lepas dari kebun, dapat tumbuh di luar daerah asalnya, misalnya di Florida Amerika Serikat (Hovenkamp and Umi Kalsom, 2003: 96).

Dalam 100 g bagian yang dapat dimakan, pakis sayur segar mengandung air 90 g, protein 3,1 g, lemak 0,3 g, karbohidrat 3,9 g, serat 1,2 g, abu 1,3 g, P 115 mg, Ca 22

mg, Fe 1,2 mg. Di Malaysia kandungan asam askorbat pada daun muda segar yang dijual sebagai sayuran sebanyak 29 mg per 100 g. Pakis sayur mengandung flavonoid proasianidin, quersetin-3-rutinosida, kaempferol-3-rutinosida, quersetin-3-glukosida dan eriodiktiol 5-O-metil eter 7- $\beta$ -D- silosilgalaktosida. Dan juga mengandung asam siringik (komponen utama asam fenolik) dan asam proto-katehuik (Hovenkamp and Umi Kalsom, 2003: 97).

Senyawa flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C6-C3-C6, artinya, kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C6 (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon (Robinson, 1995: 191). Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi pereduksi, baik secara enzim maupun nonenzim. Flavonoid bertindak sebagai penampung yang baik radikal hidroksi dan superoksida dan dengan demikian melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak. Aktivitas antioksidannya mungkin dapat menjelaskan mengapa flavonoid tertentu merupakan komponen aktif tumbuhan yang digunakan secara tradisional untuk mengobati gangguan fungsi hati (Robinson, 1995: 192-193).

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu komponen dari penyusun-penyusun lain dalam suatu campuran berdasarkan pada kelarutan komponen tersebut terhadap pelarut yang digunakan. Pemilihan metode ekstraksi yang tepat bergantung pada tekstur, kandungan air, bahan tumbuhan yang akan diekstraksi dan jenis senyawa yang akan diisolasi. Ekstraksi biasanya menggunakan pelarut organik yang berbeda kepolarannya. Kepolaran pelarut tergantung dari nilai konstanta dielektriknya (Harborne, 1996: 6). Ekstraksi bertujuan untuk mempermudah memperoleh senyawa metabolit sekunder dari suatu bahan biogenik dengan cara melepaskannya dari matriks. Karena sering kali terkandung bahan yang kompleks dan beberapa jumlah keberadaan unsurnya, pemilihan metode yang salah dapat menyebabkan seluruh proses isolasi menjadi gagal jika beberapa atau semua senyawa yang diinginkan dari bahan tidak bisa dilepaskan dari matriks dengan baik (Yrjönen, 2004: 12).

Kromatografi merupakan suatu teknik pemisahan dengan menggunakan fase diam (stationary phase) dan fase gerak (mobile phase). Teknik kromatografi telah berkembang dan telah digunakan untuk memisahkan dan mengkuantifikasi berbagai macam komponen-komponen yang kompleks, baik komponen organik maupun komponen anorganik (Gandjar dan Rohman, 2007: 323).

Kromatografi lapis tipis (KLT) dikembangkan oleh Izmailoff dan Schraiber pada tahun 1938. KLT merupakan bentuk kromatografi planar, selain kromatografi kertas dan elektroforesis. Berbeda dengan kromatografi kolom dimana fase diamnya diisikan atau dikemas di dalamnya, pada kromatografi lapis tipis, fase diamnya berupa lapisan yang seragam (uniform) pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, pelat alumunium, atau pelat plastik. Meskipun demikian kromatografi planar ini dapat dikatakan sebagai bentuk terbuka dari kromatografi kolom. Kromatografi lapis tipis dalam pelaksanaannya lebih mudah dan lebih murah dibandingkan dengan kromatografi kolom. Demikian juga peralatannya yang digunakan. Dalam kromatografi lapis tipis, peralatan yang digunakan lebih sederhana dan dapat dikatakan bahwa hampir semua laboratorium dapat melaksanakan setiap saat secara cepat (Gandjar dan Rohman, 2007: 353).

Kromatografi cair vakum merupakan salah satu kromatografi vakum khusus yang biasanya menggunakan silika gel sebagai adsorben. Kelebihan KCV jika dibandingkan dengan kromatografi kolom terletak pada kecepatan proses karena proses pengelusian dipercepat dengan memvakumkan kolom, selain itu KCV juga dapat memisahkan sampel dalam jumlah banyak. Pemilihan jenis silika gel yang tepat

merupakan faktor yang sangat penting untuk mendapatkan hasil pemisahan yang baik. Ukuran partikel silika gel yang terlalu kecil akan menyebabkan proses elusi berjalan sangat lambat (Pedersen and Rosenbohm, 2001: 2431-2434).

Spektrofotometri UV-Vis merupakan suatu instrumen analisis sampel untuk menentukan kandungan zat organik atau anorganik dalam larutan dengan menggunakan sumber radiasi elektromagnetik UV dan visible. Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis yaitu dengan menggunakan sumber cahaya dari sinar ultraviolet dan visible dengan pengaturan berkas cahaya menggunakan monokromator. Berkas sinar selanjutnya masuk pada sampel, sinar yang diterima sampel akan diserap dan ada juga yang disebarkan. Sebagian dari sinar yang tidak diserap dan disebar oleh sampel akan masuk ke detektor dan akan diolah sehingga muncul nilai absorbansi pada layar (Fessenden dan Fessenden, 1997: 536).

### C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

#### Pengumpulan Bahan dan Determinasi

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pakis sayur yang diperoleh dari wilayah pegunungan Girimukti, Kecamatan Singajaya, Kabupaten Garut, Propinsi Jawa Barat. Determinasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Jatinangor, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi F-MIPA Universitas Padjadjaran Bandung. Hasil determinasi menyatakan bahwa sampel tumbuhan merupakan pakis sayur dari jenis *Diplazium esculentum* [Retz.] Swartz.

#### Pengolahan dan Pembuatan Simplisia

Bahan segar daun pakis sayur dari jenis *Diplazium esculentum* (Retz.) Swartz diambil dari wilayah pegunungan Girimukti, Kecamatan Singajaya, Kabupaten Garut, Propinsi Jawa Barat sebanyak 25 kg. Bahan dilakukan sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, dan sortasi kering. Dari 18 kg daun pakis sayur segar diperoleh simplisia kering sebanyak 6 kg. Simplisia kemudian disimpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung dari sinar matahari. Rendemen simplisia yang diperoleh adalah sebesar 33,33%.

#### Pemeriksaan Makroskopik dan Mikroskopik

Hasil pemeriksaan makroskopik daun pakis sayur *Diplazium esculentum* (Retz.) Swartz dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Pemeriksaan Makroskopik Daun Pakis Sayur

| Parameter              | Responden     |               |               |               |               | Rata-rata         |
|------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-------------------|
|                        | 1             | 2             | 3             | 4             | 5             |                   |
| Tinggi tanaman         | 100 cm        | 99,8 cm       | 100 cm        | 98,9 cm       | 99,9 cm       | 99,72 cm          |
| Tangkai daun (petiole) | 57 cm         | 62 cm         | 66 cm         | 63 cm         | 65 cm         | 62,5 cm           |
| Rachis                 | 41 cm         | 37 cm         | 31 cm         | 40 cm         | 35 cm         | 36,8 cm           |
| Helai daun (lamina)    | 0,8 m x 0,5 m | 0,8 m x 0,6 m | 1 m x 0,8 m   | 1,2 m x 0,7 m | 0,9 m x 0,6 m | 0,94 m x 0,64 m   |
| Pinna                  | 51 cm x 24 cm | 49 cm x 25 cm | 51 cm x 24 cm | 50 cm x 24 cm | 51 cm x 25 cm | 50,4 cm x 24,4 cm |
| Pinula                 | 11 cm x 2 cm  | 14 cm x 3 cm  | 12 cm x 2 cm  | 14 cm x 4 cm  | 12 cm x 4 cm  | 12,6 cm x 3 cm    |

Berdasarkan tabel pemeriksaan diatas hasil pemeriksaan yang telah dilakukan sesuai dengan pustaka (Hovenkamp and Umi Kalsom, 2003: 97).



Pemeriksaan mikroskopik dilakukan terhadap daun segar pakis sayur *Diplazium esculentum* (Retz.) Swartz yaitu pada bagian sayatan melintang daun, sayatan permukaan bawah daun dan serbuk simplisia. Pelarut yang digunakan pada pemeriksaan mikroskopik adalah kloralhidrat dan flouroglusinol-HCl. Dari hasil pemeriksaan menunjukkan terdapat epidermis atas, epidermis bawah, mesofil yang mengandung kloroplas, berkas pembuluh (trakeid), sklerenkim, sel tetangga, sel penutup dari stomata. Hasil pemeriksaan yang telah dilakukan sesuai dengan pustaka (Bracegirdle and Miles, 1971: 89).

### Penetapan Parameter Standar Simplisia dan Ekstrak

Dilakukan penetapan parameter standar simplisia dan ekstrak. Penetapan parameter standar simplisia dan ekstrak bertujuan untuk mengetahui kualitas serta mutu dari suatu bahan yang digunakan pada penelitian. Hasil penetapan parameter standar simplisia dan ekstrak dapat dilihat pada **Tabel 2**.

**Tabel 2.** Hasil Penetapan Parameter Standar Simplisia dan Ekstrak

| No | Parameter                  | Hasil (Rata-rata)   |
|----|----------------------------|---|
| 1  | Organoleptik               |   |
|    | Simplisia                  | Serbuk berwarna hijau kecoklatan, bau khas, tidak berasa. |
|    | Ekstrak                    | Ekstrak kental berwarna hijau kehitaman, bau khas.        |
| 2  | Kadar sari larut air       | 14, 502%  |
| 3  | Kadar sari larut etanol    | 13, 819%  |
| 4  | Susut pengeringan          | 9, 545%   |
| 5  | Bobot jenis (Ekstrak)      | 0, 9%   |
| 6  | Kadar air                  | 8, 748%   |
| 7  | Kadar abu total            | 14, 593%  |
| 8  | Kadar abu tidak larut asam | 8, 614%   |

### Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan suatu tahapan awal yaitu untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman (Tyler et al., 1988: 187). Hasil skrining fitokimia daun pakis sayur *Diplazium esculentum* (Retz.) Swartz dapat dilihat pada **Tabel 3**.

**Tabel 3.** Hasil Skrining Fitokimia Simplisia dan Ekstrak Daun Pakis Sayur

| No | Golongan senyawa        | Simplisia | Ekstrak Terpilih Etil Asetat |
|----|-------------------------|-----------|------------------------------|
| 1  | Alkaloid                | -         | -                            |
| 2  | Flavonoid               | √         | √                            |
| 3  | Senyawa Polifenolat     | -         | -                            |
| 4  | Tanin                   | -         | -                            |
| 5  | Kuinon                  | √         | √                            |
| 6  | Monoterpen/Sesquiterpen | -         | -                            |
| 7  | Steroid/Triterpenoid    | √         | √                            |
| 8  | Saponin                 | -         | -                            |

#### Keterangan:

(√) = Teridentifikasi

(-) = Tidak teridentifikasi

Berdasarkan tabel hasil skrining fitokimia simplisia daun pakis sayur [*Diplazium esculentum* (Retz.) Swartz] diatas dapat diketahui bahwa pada simplisia dan ekstrak

daun pakis terkandung senyawa golongan flavonoid yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning yang timbul pada lapisan ami alkohol, kuinon yang ditandai dengan timbulnya warna merah dan steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau. Menurut Hovenkam dan Umi Kalsom (2003: 97). *Diplazium esculentum* mengandung senyawa flavonoid dan asam fenolat, tetapi pada penelitian ini tidak teridentifikasi senyawa fenolat.

### Ekstraksi

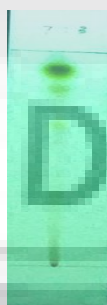
Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi bertingkat 3 x 24 jam dengan menggunakan tiga pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu n-heksana, etil asetat dan metanol. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan serbuk simplisia daun pakis sayur sebanyak 800 gram yang dimaserasi dengan menggunakan tiga pelarut yakni n-heksana, etil asetat dan metanol dengan perbandingan (1:10). Pemilihan metode ekstraksi maserasi bertingkat yaitu untuk memaksimalkan proses ekstraksi dimana senyawa akan terekstraksi berdasarkan pada kepolaran senyawa-senyawa yang terkandung didalamnya. Selain itu metode ini juga digunakan untuk memperoleh rendemen ekstrak yang lebih banyak.

### Pemekatan Ekstrak

Kemudian ekstrak cair n-heksana, etil asetat dan metanol dilakukan proses pemekatan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40°C. Untuk memaksimalkan proses pemekatan ekstrak dilakukan penguapan dengan menggunakan waterbath pada suhu tidak lebih dari 45°C. Hasil pemekatan diperoleh tiga ekstrak kental, yakni ekstrak kental n-heksana sebanyak 8,2035 gram, ekstrak etil asetat sebanyak 18,0027 gram, dan ekstrak metanol sebanyak 52,059 gram. Hasil perhitungan rendemen ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol.

### Pemantauan Ekstrak Kental

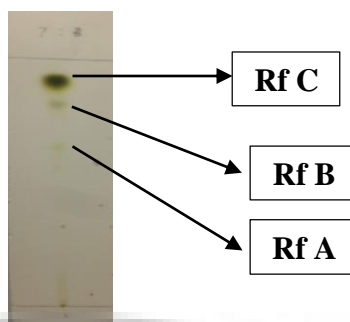
Selanjutnya ekstrak pekat n-heksana, etil asetat, dan metanol dilakukan pemantauan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) analitik dan penampak bercak AlCl<sub>3</sub>. Hasil pemantauan KLT analitik ekstrak terpilih etil asetat dapat dilihat pada **Gambar C.1.**



**Gambar 1.** Kromatogram Hasil Pemantauan KLT Ekstrak Terpilih Etil Asetat dengan Fase Gerak Etil Asetat : n-Heksana (7:3) pada Lampu UV 254 nm

Hasil pemantauan KLT menunjukkan bahwa ekstrak terpilih adalah ekstrak etil asetat karena menunjukkan pemisahan yang lebih baik dibandingkan ekstrak pekat n-heksana dan ekstrak pekat metanol.

Selanjutnya, plat KLT disemprot dengan menggunakan penampak bercak AlCl<sub>3</sub>. Hasil pemantauan dengan penampak bercak AlCl<sub>3</sub> dapat dilihat pada **Gambar 2.**



**Gambar 2.** Kromatogram Hasil Pemantauan dengan Penampak Bercak  $AlCl_3$  Ekstrak Terpilih Etil Asetat dengan Fase Gerak Etil Asetat : n-heksana (7:3) Pada Sinar Tampak

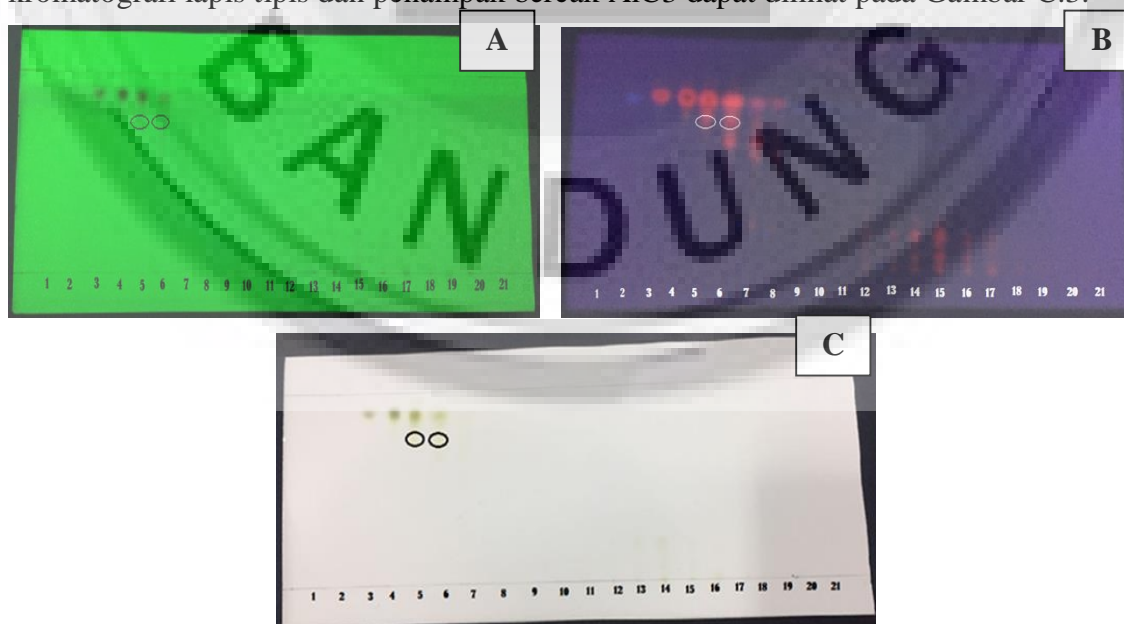
Dari hasil pemantauan dengan penampak bercak  $AlCl_3$  menunjukkan ekstrak terpilih etil asetat diduga mengandung senyawa flavonoid dengan ditandai terbentuknya warna pada plat KLT yaitu berwarna kuning dengan nilai Rf A 0,6; Rf B 0,8 dan Rf C 0,9.

### Pemisahan

Ekstrak terpilih yang terdeteksi mengandung senyawa flavonoid, dipisahkan lebih lanjut menggunakan kromatografi cair vakum (KCV) dengan menggunakan fase diam silika gel 60 H dan fase gerak yaitu n-heksana, etil asetat dan metanol. Sistem elusi yang digunakan adalah sistem elusi gradien dengan volume eluen sebanyak 150 mL. Dari hasil pemisahan dengan kromatografi cair vakum dihasilkan 21 vial berisi fraksi dengan eluen yang berbeda konsentrasinya.

### Pemantauan Fraksi

Terhadap 21 fraksi kemudian dilakukan pemantauan kembali dengan menggunakan kromatografi lapis tipis dan penampak bercak  $AlCl_3$ . Hasil pemantauan kromatografi lapis tipis dan penampak bercak  $AlCl_3$  dapat dilihat pada Gambar C.3.



**Gambar 3.** Kromatogram Hasil 21 Fraksi Kromatografi Cair Vakum yang Diduga Senyawa Flavonoid dengan Fase Gerak Etil Asetat : n-Heksana (7:3)

**Keterangan :** A : Pemantauan dengan sinar UV 254 nm  
 B : Pemantauan dengan sinar UV 366 nm  
 C : Pemantauan dengan penampak bercak AIC3

Dari hasil pemantauan kromatografi lapis tipis menunjukkan subfraksi nomor lima dan enam menghasilkan pemisahan yang lebih baik dibandingkan dengan subfraksi lainnya. Sedangkan untuk hasil pemantauan dengan penampak bercak AIC3 menunjukkan subfraksi nomor lima dan enam diduga mengandung senyawa flavonoid dengan ditandai terbentuknya warna pada plat KLT yaitu berwarna kuning dengan nilai Rf 0,7.

#### D. Kesimpulan

Berdasarkan tahapan identifikasi yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa dari tumbuhan pakis sayur [*Diplazium esculentum* (Retz.) Swartz] diduga terdapat senyawa flavonoid pada subfraksi nomor lima dan enam dengan ditandai terbentuknya warna pada plat KLT yaitu berwarna kuning.

#### Daftar Pustaka

- Bracegirdle, B and Miles, P.H. (1971). *An Atlas of Plant Structure*, Heinemann Educational Books, London.
- de Winter, W.P. and Amoroso, V.B. (2003). Introduction. In: de Winter, W.P. and Amoroso, V.B. (Editor): *Plants Resources of South-East Asia No 15 (2). Cryptograms: Ferns and fern allies*. Prosea Foundation, Bogor, Indonesia. pp. 25.
- Departemen Kesehatan RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Fessenden, R.J. dan Fessenden, J.S. (1997). *Kimia Organik*, Terjemahan Pudjaatmaja, A.H., Jilid 2, Edisi Ketiga, Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Gandjar, I.G dan Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Gritter, R.J., Bobbit, J.M., Schwarting, A.E. (1991). *Pengantar Kromatografi*, Terjemahan Padmawinata, K, Edisi Kedua, Penerbit ITB, Bandung.
- Harborne, J.B. (1996). *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Terjemahan Padmawinata, K. dan Sudiro, I., Terbitan kedua, Penerbit ITB, Bandung.
- Hostettmann, K., Hostettmann, M., dan Marston, A. (1995). *Cara Kromatografi Preparatif*. Terjemahan Padmawinata, K., Penerbit ITB, Bandung.
- Hovenkamp, P.H. and Umi Kalsom, Y. (2003). *Diplazium Swartz*. In: de Winter, W.P. and Amoroso, V.B. (Editors): *Plants Resources of South-East Asia No 15 (2). Cryptograms: Ferns and fern allies*. Prosea Foundation, Bogor, Indonesia. pp. 96-99.
- Kaushik, A., Kaushik, J.J., Das, A., Gemal, S., dan Gaim, D. (2011). 'Preliminary Studies on Anti-Inflammatory Activities of *Diplazium esculentum* in Experimental Animal Models', *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2(5). Hal. 1252.
- Markham, K.R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Terjemahan Padmawinata, K, Penerbit ITB, Bandung.
- Middleton, E.J.R., Kandaswami, C. and Theoharides, T.C. (2000), The Effect of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implication for Inflammation, Heart Disease and Cancer. *The American Society for Pharmacology and experimental Therapeutics*,



- Vol 52 (4), Printed in USA. Hal. 673-751. Pedersen, D.S., and Rosenbohm, C. (2001). Dry Column Vacuum Chromatography, *Journal of Synthesis*, Volume (16): 2431-2434.
- Purba, D.M. (2010). *Isolasi dan karakterisaasi senyawa alkaloid dari Umbi bawang sabrang (Eleutherinae bulbus) [Skripsi]*, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Robinson, T. (1995). *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Edisi ke-4 Terjemahan Padmawinata, K., ITB Press, Bandung.
- Sirait, M. (2007). *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*, Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Stahl, E. (1985). *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*, Terjemahan Padmawinata, K. dan Soediro, W., Penerbit Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Supriatna, J. (2008). *Melestarikan Alam Indonesia*, Edisi pertama, Yayasan Obor Indonesia, Jakarta.
- Tyler, V.E., Lynn, R.B., and Robbers, J.E. (1988). *Pharmacognosy*, Lea & Febiger, Philadelphia.
- United States Department of Agriculture. (2017). Natural Resources Conservation Service, Clasiffication *Diplazium esculentum* (Retz.) Sw. Vegetable Fern. pada Klip. (<https://plants.usda.gov/java/nameSearch?keywordquery=fern &mode=comname>) diunduh pada 20 Desember 2016.
- Yrjönen, T. (2004). 'Extraction and Planar Chromatographic Separation Techniques in the Analysis of Natural Products' [*Disertasi*], Divisi Farmakognosi, Fakultas Farmasi, Universitas Helsinki, Finlandia. Hal. 12.