

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVONOID DALAM DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* L.)

Yohanes Adithya Koirewoa¹⁾, Fatimawali¹⁾, Weny Indayany Wiyono¹⁾

¹⁾ Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

²⁾ Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

³⁾ Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRAK

Telah dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dalam daun beluntas (*Pluchea indica* L.). Isolasi dilakukan dengan cara ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 96% p.a selama 7 hari dan partisi menggunakan pelarut n-heksana yang menghasilkan ekstrak kental daun beluntas. Ekstrak yang diperoleh dipisahkan dengan Kromatografi Lapis Tipis menggunakan eluen n-butanol : asam asetat : air (BAA) (4:1:5). Isolat 3, hasil dari pemisahan Kromatografi Lapis Tipis positif mengandung senyawa golongan flavonoid. Dari spektrum Ultra Violet - Visibel, dapat diduga bahwa senyawa flavonoid tersebut merupakan golongan flavonol, yang dapat dilihat dari rentang panjang gelombangnya yaitu antara 250-280 nm (pita II) dan 350-385 nm (pita I).

Kata kunci: beluntas, flavonoid, Kromatografi Lapis Tipis, Spektrofotometer UV-Vis

ISOLATION AND IDENTIFICATION FLAVONOID COMPOUNDS IN BELUNTAS LEAF (*Pluchea indica* L.)

ABSTRACT

Isolation and identification flavonoid compounds in beluntas leaf (*Pluchea indica* L.) have been conducted. Isolation was carried out by using 96% p.a ethanol solvent of maceration extraction for 7 days and partition using n-heksana solvent to obtain concentrated beluntas leaf extract. The extract was purified by thin layer chromatography using eluent n-butanol : asetic acid : water (BAA) (4:1:5). Isolate 3, result from thin layer chromatography contain flavonoid compound. Ultra Violet - Visible spectra showed that the flavonoid compound was flavonol, with characteristic wavelengths from 250 to 280 nm for band II and 350-385 nm for band I.

Keywords: beluntas, flavonoid, Thin Layer Chromatography, UV-Vis Spectrophotometer

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 yang kembali menggunakan bahan-bahan alam yang dalam pelaksanaannya membiasakan hidup dengan menghindari bahan-bahan kimia sintesis dan lebih mengutamakan bahan-bahan alami. Ada banyak pengobatan dengan bahan alam yang dapat dipilih sebagai solusi mengatasi penyakit yang salah satunya ialah

penggunaan ramuan obat berbahan herbal (Kardinan dan Kusuma, 2004). Salah satu tumbuhan yang mengandung senyawa obat yaitu beluntas (*Pluchea indica* L.).

Beluntas umumnya tumbuh liar di daerah kering pada tanah yang keras dan berbatu, atau ditanam sebagai tanaman pagar. Tumbuhan ini memerlukan cukup cahaya matahari atau sedikit naungan, banyak ditemukan di daerah pantai dekat laut sampai ketinggian 1.000 m dpl. Daun beluntas mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, minyak atsiri, natrium, kalium, aluminium, kalsium, magnesium, dan fosfor. Sedangkan akarnya mengandung flavonoid dan tanin (Dalimartha, 1999). Daun

beluntas berbau khas aromatis dan rasanya getir, berkhasiat untuk meningkatkan nafsu makan (*stomatik*), penurun demam (*antipiretik*), peluruh keringat (*diaforetik*), penyegar, TBC kelenjar, nyeri pada rematik dan keputihan (Dalimartha, 1999). Penelitian-penelitian telah dilakukan dan menunjukkan bahwa daun beluntas memiliki aktivitas antibakteri karena adanya senyawa flavonoid (Purnomo, 2001). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa flavonoid yang terdapat dalam daun beluntas (*Pluchea indica* L.). Dari proses isolasi akan didapatkan isolat-isolat suatu senyawa atau kumpulan senyawa sehingga dapat mempermudah untuk melakukan identifikasi senyawa-senyawa yang terdapat dalam simplisia. Sedangkan identifikasi diperlukan untuk mengetahui jenis senyawa flavonoid yang berada dalam simplisia.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun beluntas (*Pluchea indica* L.) yang diambil dari tanaman yang terdapat di daerah kampus Universitas Sam Ratulangi dalam keadaan segar. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah n-heksana, n-butanol, asam asetat, metanol, etanol 96% p.a, amoniak, serbuk seng, asam klorida, plat kromatografi lapis tipis (KLT) dan aquades.

Peralatan

Alat – alat yang digunakan pada penelitian adalah oven, neraca analitik, blender, pipet tetes, Chamber KLT, Lampu UV 254 nm dan 366 nm, Sentrifuge, Spektrofotometer UV-Vis, aluminium foil, *vacum rotary evaporator*, peralatan gelas laboratorium dan kertas saring.

Cara Kerja

Sebanyak 50 gram serbuk simplisia daun beluntas dimasukkan ke dalam *Erlenmeyer* (500 ml) kemudian direndam dengan 250 ml pelarut etanol 96% p.a, ditutup dengan *aluminium foil* dan dibiarkan selama 7 hari, sambil sesekali dikocok. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *vacum rotary evaporator* pada suhu 70°C sehingga diperoleh ekstrak pekat daun beluntas. Ekstrak pekat daun beluntas dicampurkan dengan etanol 96% p.a kemudian

dipartisi dengan n-heksana. Ekstrak yang diperoleh dilakukan uji fitokimia flavonoid. Ekstrak yang positif mengandung flavonoid dilanjutkan untuk di isolasi dan pemurnian dengan teknik kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan fase diam GF254 dengan ukuran 20 cm x 20 cm dan fase gerak campuran dari n-butanol-asam asetat-air (BAA) (4:1:5). Selanjutnya isolat relatif murni diidentifikasi menggunakan spektrofotometer Ultra Violet – Visibel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Untuk mendapatkan ekstrak daun beluntas, mula-mula daun beluntas diambil dan dicuci. Setelah itu dikeringkan dengan diangin-anginkan pada udara terbuka dan kembali di oven pada suhu 40 °C selama 3 hari. Sampel yang telah kering diblender lalu diayak dengan ayakan nomor 65 mesh. Sampel yang diperoleh berupa serbuk sebanyak 100 g. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi maserasi. Hasil maserasi yang di dapat kemudian dipisahkan pelarutnya dengan menggunakan *vacum rotary evaporator* dengan suhu 70°C. Filtrat yang diperoleh berwarna hijau pekat. Filtrat hasil penyaringan difraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah dengan pelarut n-heksana. Untuk mengetahui kandungan kimia dalam tanaman dilakukan skrining fitokimia. Dari skrining fitokimia yang dilakukan, diperoleh hasil yang menunjukkan sampel positif mengandung flavonoid.

Isolasi senyawa flavonoid daun beluntas dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT). KLT yang digunakan terbuat dari silika gel dengan ukuran 20 cm x 20 cm GF254 (Merck). Plat KLT silika gel GF254 diaktifasi dengan cara dioven pada suhu 100 °C selama 1 jam untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat KLT (Sastrohamidjojo, 2007).

Ekstrak kental hasil ekstraksi dilarutkan dengan etanol 96% p.a, kemudian ditotolkan sepanjang plat dengan menggunakan pipet mikro pada jarak 1 cm dari garis bawah dan 1 cm dari garis atas. Selanjutnya dielusi dengan menggunakan eluen yang memberikan hasil pemisahan terbaik pada KLT yaitu n-butanol : asam asetat : air (BAA) dengan perbandingan (4:1:5).

Hasil KLT seperti pada gambar 1 kemudian diangin-anginkan dan diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm. Noda yang terbentuk yaitu sebanyak 3 noda, noda-noda tersebut lalu dilingkari dan dihitung nilai Rfnya. Pemisahan dengan KLT menghasilkan harga Rf dari noda pertama sebesar 0,69. Noda kedua memiliki nilai Rf sebesar 0,78 dan noda ketiga memiliki nilai Rf sebesar 0,89.



Gambar 1. Foto plat hasil KLT ekstrak daun beluntas dengan eluen BAA (4:1:5) dengan sinar UV 366 nm

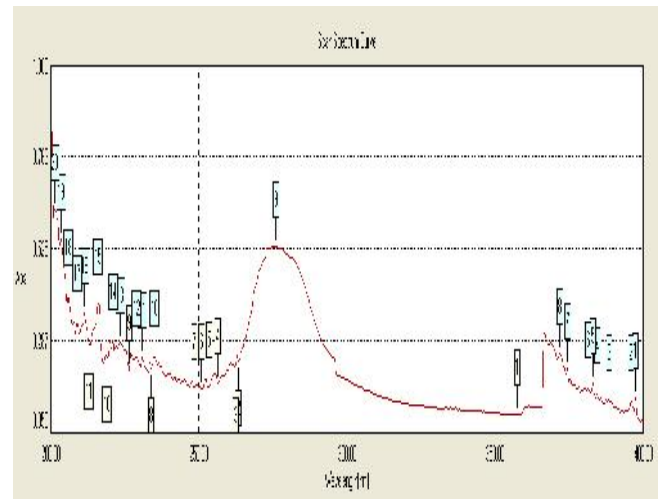
Tabel 1. Nilai Rf dan warna noda hasil KLT

Noda	Nilai Rf	Warna noda setelah disinari dengan lampu UV 366 nm
1	0,69	Hijau muda
2	0,78	Merah muda
3	0,89	Hijau
Rutin	0,64	Kuning

Nilai Rf dan warna noda dapat dilihat pada tabel 1. Setelah disinari dengan lampu UV panjang gelombang 366, noda pertama menghasilkan warna hijau muda. Noda kedua menghasilkan warna merah muda dan noda ketiga menghasilkan warna hijau. Dari ketiga noda yang tampak, noda ketiga yang berwarna hijau diduga mengandung karena setelah

diuapi dengan amoniak terjadi perubahan warna sedikit pada noda ketiga yaitu berubah dari warna hijau ke hijau tua. Noda-noda hasil KLT dikerok dan dilarutkan dalam pelarut metanol sebanyak 4 ml, kemudian diidentifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Pembanding rutin yang dipakai dalam mengisolasi ialah kuersetin, yang merupakan pembanding rutin yang biasanya di pakai untuk mengisolasi senyawa flavonoid. Dari hasil KLT, Kuersetin memiliki noda warna kuning setelah diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm dan memiliki Rf sebesar 0,64.

Metode yang digunakan untuk identifikasi ialah metode spektrofotometer UV-Vis. Ketiga isolat hasil KLT yang telah dikerok dan disentrifuge kemudian dibaca pada alat spektrofotometer UV-Vis menggunakan pelarut baku metanol. Dari ketiga isolat tersebut, isolat ketiga yang memiliki hasil spektrum senyawa flavonoid yaitu flavonol seperti yang bisa dilihat pada gambar 2.



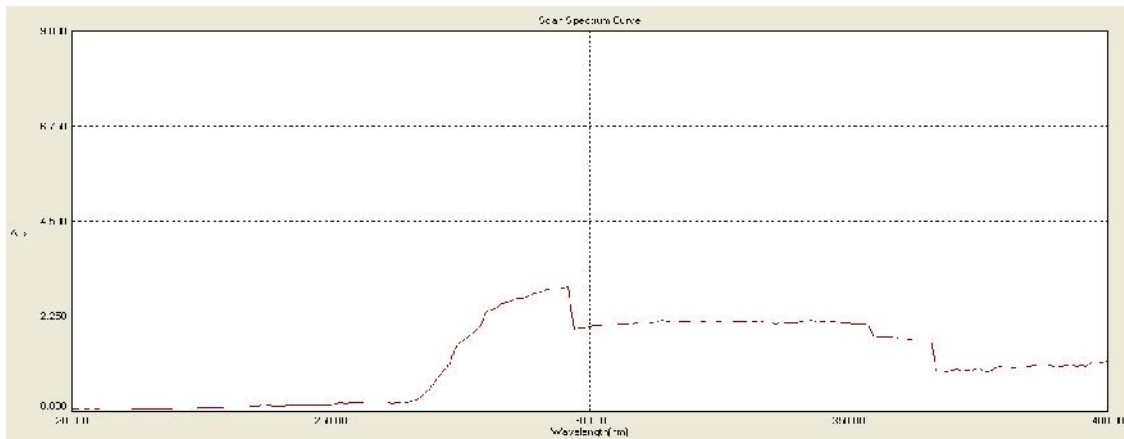
Gambar 2. Spektrum UV-Vis pada panjang gelombang 200-400 nm.

Dari hasil spektrum yang tampak, terdapat dua pita pada isolat ketiga. Pita pertama mempunyai panjang gelombang 372 nm pada absorbansi 0,252 dan pita kedua mempunyai panjang gelombang 276 nm pada absorbansi 0,532 ini menandakan bahwa isolat yang dibaca positif mengandung flavonol. Hal ini diperkuat oleh markham (1988) bahwa rentang serapan spektrum flavonol mempunyai

panjang gelombang 350-385 nm pada pita pertama dan pita kedua pada panjang gelombang 250-280 nm.

Jika dibandingkan dengan pembading rutin flavonol yaitu kuesertin seperti pada gambar 3 hasil yang didapat mempunyai rentang separan yang sama yaitu pita pertama

terdapat antara panjang gelombang 350-385 nm yaitu 377 nm dan pita kedua pada panjang gelombang 250-280 nm yaitu 280 nm. Hal ini memperkuat hasil yang di dapat bahwa isolat ketiga positif mengandung flavonol.



Gambar 3. Spektrum UV-Vis pembading rutin kuesertin pada panjang gelombang 200-400 nm.

Pembahasan

Daun beluntas yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun beluntas yang diambil dari tanaman yang terdapat di daerah kampus Universitas Sam Ratulangi. Daun yang diambil ialah daun yang berada pada pertengahan ranting, karena kadar flavonoidnya lebih tinggi daripada kadar flavonoid pada daun beluntas yang masih muda atau berada di pucuk. Pengeringan sampel dilakukan secara alami yaitu dikeringkan dengan diangin-anginkan pada udara terbuka dengan tidak dikenai sinar matahari langsung, kira-kira pada suhu kamar yaitu 25-30°C selama 2 minggu untuk menghilangkan air dan mencegah terjadinya perubahan kimia (daun cepat busuk sehingga dapat menghasilkan mikroorganisme yang dapat merubah senyawa kimia yang terkandung di daun tersebut). Daun beluntas kembali di oven pada suhu 40 °C selama 3 hari agar air yang masih terdapat dalam daun beluntas dapat lebih diminimalisir. Sampel yang telah kering diblender untuk memperluas permukaan serta membantu pemecahan dinding dan membran sel, sehingga lebih mudah memaksimalkan proses ekstraksi.

Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya

terhadap dua cairan tidak saling larut yang berbeda (Rahayu, 2009). Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi maserasi. Maserasi adalah salah satu metode pemisahan senyawa dengan cara perendaman menggunakan pelarut organik pada temperatur ruangan. Proses ekstraksi ini tidak dilakukan dengan metode soxhlet karena dikhawatirkan ada golongan senyawa flavonoid yang tidak tahan panas, selain itu senyawa flavonoid mudah teroksidasi pada suhu yang tinggi. Proses maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena selain murah dan mudah dilakukan, dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut. Pelarut yang mengalir ke dalam sel dapat menyebabkan protoplasma membengkak dan bahan kandungan sel akan larut sesuai dengan kelarutannya (Lenny, 2006).

Semakin lama waktu ekstraksi, kesempatan untuk bersentuhan makin besar sehingga hasilnya juga bertambah sampai titik jenuh larutan. Kontak antara sampel dan pelarut dapat ditingkatkan apabila dibantu

dengan pengocokan agar kontak antara sampel dan pelarut semakin sering terjadi, sehingga proses ekstraksi lebih sempurna. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96% p.a. Pemilihan pelarut ini karena senyawa flavonoid yang ada dalam daun beluntas merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga harus dilarutkan dengan pelarut yang bersifat polar. Suatu molekul bersifat polar apabila tersusun atas atom-atom yang berbeda dan molekul yang tersusun atas atom-atom yang sama. *Vacuum* yang dipakai dalam proses maserasi berfungsi untuk mempermudah proses penguapan pelarut dengan memperkecil tekanan dalam *vacuum* daripada di luar ruangan, sehingga temperatur di bawah titik didih dan pelarut dapat menguap.

Warna hijau pekat pada filtrat terbentuk karena pelarut yang digunakan tidak hanya mengekstraksi senyawa flavonoid melainkan juga mengekstraksi klorofil yang ada dalam tumbuhan. Filtrat hasil penyaringan difraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah dengan pelarut n-heksana untuk memisahkan senyawa-senyawa nonpolar seperti klorofil, triterpen, lemak dan senyawa nonpolar lain. Penambahan n-heksana sebanyak 100 ml memisahkan senyawa nonpolar yang ada dalam ekstrak dan meningkatkan koefisien distribusi. Penambahan n-heksana menyebabkan terbentuk 2 fase dan terdapat endapan pada dinding dasar corong pisah yang berwarna cokelat, karena kedua pelarut tersebut memiliki berat jenis dan kepolaran yang berbeda. Berat jenis n-heksana lebih besar dari pada etanol sehingga lapisan n-heksana berada di bagian bawah dan lapisan etanol berada di bagian atas.

Pemisahan senyawa flavonoid daun beluntas dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT). KLT merupakan suatu metode pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam yang digunakan ialah plat silika gel yang bersifat polar, sedangkan eluen yang digunakan sebagai fase gerak bersifat sangat polar karena mengandung air. Kepolaran fase diam dan fase gerak hampir sama, tetapi masih lebih polar fase gerak sehingga senyawa flavonoid yang dipisahkan terangkat mengikuti aliran eluen, karena senyawa flavonoid bersifat polar. KLT yang digunakan terbuat dari silika gel dengan ukuran 20 cm x

20 cm GF254 (Merck). Penggunaan bahan silika karena pada umumnya silika digunakan untuk memisahkan senyawa asam-asam amino, fenol, alkaloid, asam lemak, sterol dan terpenoid. Plat KLT silika gel GF254 diaktifasi dengan cara dioven pada suhu 100 °C selama 1 jam untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat KLT (Sastrohamidjojo, 2007).

Eluen yang dipakai dalam KLT ialah eluen campuran n-butanol : asam asetat : air (BAA) (4:1:5) yang mampu memberikan pemisahan terbaik. Karena dari komposisinya, eluen tersebut bersifat sangat polar sehingga bisa memisahkan senyawa flavonoid yang juga bersifat polar. Eluen yang baik ialah eluen yang bisa memisahkan senyawa dalam jumlah yang banyak yang ditandai dengan munculnya noda. Noda yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara noda satu dengan yang lainnya jelas (Harborne, 1987).

Spektrofotometer UV-Vis merupakan suatu metode yang digunakan untuk identifikasi struktur dari suatu senyawa. Metode ini digunakan untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid yang didapat dari hasil pemisahan senyawa dengan KLT. Pemakaian kuersetin dalam Spektrofotometer UV-Vis sebagai pembanding rutin dikarenakan kuersetin merupakan senyawa yang paling luas penyebarannya dan 25% terdapat pada tumbuhan. Flavonol merupakan salah satu jenis flavonoid yang paling banyak ditemukan dalam bunga maupun daun tumbuhan, hanya sedikit sekali yang ditemukan pada bagian tanaman yang berada di bawah permukaan tanah. Flavonol terdiri atas kuersetin, kaemferol, dan mirisetin. Kuersetin umumnya merupakan komponen terbanyak dalam suatu tanaman.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa flavonoid dapat di isolasi dan di identifikasi dari daun beluntas dengan metode kromatografi lapis tipis dan spektrofotometer UV-Vis dan jenis senyawa flavonoid yang ditemukan ialah flavonol.

SARAN

Perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang identifikasi jenis senyawa flavonoid yang ada pada daun beluntas menggunakan metode spektrofotometer lain seperti MS, NMR dan IR dan perbandingan kandungan

flavonoid pada daun beluntas yang ditanam di berbagai lokasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Dalimartha, S. 1999. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid I. Trubus Agriwidya : Jakarta.
- Harborne, J. B. 1987. Metode Fitokimia. Jilid II. Penerbit ITB : Bandung.
- Hariana, A. 2006. Tumbuhan Obat dan Khasiatnya. Seri 1. Penebar Swadaya : Jakarta.
- Kardinan, A., Kusuma F., R. 2004. Meniran Penambah Daya Tahan Tubuh Alami. Agromedia pustaka : Jakarta.
- Lenny, S. 2006. Isolasi dan Uji Bioaktivitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metoda Uji Brine Shrimp. F-MIPA Universitas Sumatera Utara : Medan.
- Markham, R.K. 1988. Cara Mengidentifikasi Flavonoid. ITB : Bandung.
- Purnomo, M. 2001. Isolasi Flavonoid dari Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less) yang Mempunyai Aktivitas Antimikroba. Terhadap Penyebab Bau Keringat. Universitas Airlangga.
- Rahayu, L. 2009. Isolasi dan Identifikasi senyawa flavonoid dari Biji Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata* L.). Universitas Brawijaya Malang.
- Sastrohamidjojo, H. 2007. Dasar-Dasar Spektrofotokopi, edisi kedua, cetakan kedua. Penerbit Liberty : Jogjakarta