

Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Ekstrak Dan Fraksi Daun Umbi Bit (*Beta vulgaris L*)

Identification Of Flavonoid Compounds Of Extract And Fractions Of Beetroot Leaves (*Beta vulgaris L*)

Noor Anisa Mahanani¹ Nastiti Utami², Diah Pratimasari³

mahananianisa@gmail.com

¹Laboratorium Teknologi Farmasi Bahan Alam dan Sintesis Obat, S1 Farmasi, Farmasi, STIKES Nasional, Sukoharjo

¹Laboratorium Kimia Instrumen, S1 Farmasi, Farmasi, STIKES Nasional, Sukoharjo

Abstrak

Daun umbi bit (*Beta vulgaris L*) dilaporkan memiliki banyak manfaat diantaranya memiliki aktivitas antioksidan dan hepatoprotektif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil kromatografi lapis tipis (KLT) senyawa flavonoid dalam ekstrak dan fraksi daun umbi bit. Metode esktraksi yang digunakan adalah metode maserasi dengan pelarut etanol 70% kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi bertingkat dengan pelarut n-heksan dan etil asetat. Ekstrak dan fraksi daun umbi bit dilakukan uji penampisan fitokimia dengan metode taubeck dan identifikasi dengan metode KLT. Uji penampisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi daun umbi bit mengandung senyawa flavonoid ditandai dengan adanya pendaran kuning intensif. Pada uji KLT ekstrak dan fraksi-fraksi daun umbi bit terdapat dua spot dengan nilai Rf 0,9375 dan Rf 0,8375 diduga adalah senyawa flavonoid golongan flavonol yang masih terikat pada glikosidanya. Hasil dari penelitian ini menunjukkan dalam ekstrak dan fraksi-fraksi daun umbi bit mengandung senyawa flavonoid.

Kata Kunci : Metode taubeck, maserasi, flavonol

Abstract

Beetroot leaves (*Beta vulgaris L*) are reported to have many benefits including antioxidant and hepatoprotective activity. This study aims to determine the thin layer chromatography (TLC) profile of ethanolic extract and fraction of leaves of beetroot. Leaves of beetroot simplisial powder was extracted using ethanol 70% by maceration method then fractionated using multilevel fractionation with n-hexane and ethyl acetate. Extracts and fraction of leaves of beetroot were tested by phytochemical screening using the Taubeck method and TLC method. Flavonoid compound spots showed yellow fluorecence under UV-lamp on 254 nm and 366 nm. In the TLC test of extracts and fractions of beetroot leaves, there were two spots with an Rf value of 0,9375 and an Rf of 0,8375 which were suspected to be flavonol compounds that found in glycosides. The results of this study showed that the extract and fraction of leaves of beetroot contain flavonoid compounds.

Keywords : Taubeck method, maceration, flavonol

Pendahuluan

Peningkatan penggunaan obat tradisional terus mengalami peningkatan setiap tahunnya, tercatat sebanyak 88% masyarakat diseluruh dunia telah menggunakan pengobatan tradisional (WHO, 2019). Pengobatan tradisional di Indonesia dianggap sebagai salah satu cara untuk melestarikan konsep pemikiran yang telah diberikan secara turun temurun oleh para leluhur. Kekayaan hayati Indonesia yang membentang mendukung sekitar 80% tanaman obat di dunia untuk dapat tumbuh di Indonesia. Namun eksplorasi tanaman obat di Indonesia masih sangatlah kurang. Dari 40.000 spesies keanekaragaman hayati di Indonesia hanya 283 yang telah terintegrasi sebagai tanaman obat (Jennifer dan Endah, 2015). Tanaman obat mengandung senyawa bioaktif yang berpotensi untuk menimbulkan aktivitas farmakologis, senyawa bioaktif yang terkandung dalam tanaman obat umumnya adalah senyawa metabolit sekunder.

Flavonoid merupakan salah satu golongan senyawa metabolit sekunder yang telah terbukti dari berbagai penelitian sebelumnya menimbulkan aktivitas farmakologis seperti , antivirus, anti inflamasi, kardioprotektif, antikanker dan antibakteri. Senyawa flavonoid tersusun dari 15 atom karbon yang tersusun sebagai konfigurasi C6-C3-C6. Kedua gugus C6 merupakan cincin benzene tersubstitusi yang dihubungkan dengan rantai alifatik berupa 3 atom C. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Maraie (2019), menyebutkan dalam ekstrak daun umbi bit mengandung senyawa metabolit sekunder glikosida, saponin, fenolik, tanin dan flavonoid. Hal tersebut juga diperkuat dengan penelitian yang dilakukan Genggaihi dkk (2016) yang menyatakan dalam analisis H-NMR ekstrak daun umbi bit mengandung senyawa flavonoid golongan flavonol.

Penelitian daun umbi bit masih sangat kurang, baik dalam skala nasional maupun internasional. Pada penelitiann ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid di dalam ekstrak dan fraksi-fraksi daun umbi bit.

Metode Penelitian

Alat

Alat-alat yang digunakan diantaranya seperangkat alat gelas (Iwaki®), Oven (Memmert®), rotary evaporator (IKA®), waterbath (Memmert®), corong pisah, lampu UV 254 nm dan 366 nm, timbangan analitik (Ohaus®), ayakan mesh nomor 60, moisture balance (Radwag®).

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan diantaranya daun umbi bit, etanol 70%, n-heksan, etil asetat, akuades, n-butanol pa., asam asetat pa., AlCl₃, asam oksalat, asam borat, aseton, eter, standar kuersetin, plat silika GF254.

Tahapan Penelitian

1. Pengumpulan Bahan

Tanaman umbi bit dipanen dari perkebunan warga di daerah Selo, Boyolali, Jawa Tengah. Tanaman dipanen pada umur 60 hari dan dipanen dipagi hari, ditandai dengan setengah umbi yang muncul ke permukaan tanah. Tanaman umbi bit kemudian dipisahkan bagian umbi dan daunnya.

2. Penyiapan Simplisia Daun Umbi Bit

Daun umbi bit kemudian dilakukan sortasi basah dan dicuci dengan air mengalir. Daun kemudian ditiriskan, kemudian dirajang dan dikering anginkan, setelah cukup layu daun dikeringkan dengan menggunakan metode pengovenan pada suhu 40°C. Daun yang telah kering dibuktikan dengan nilai kadar kelembapan kurang dari 10%. Simplisia daun umbi bit kemudian dihancurkan dengan blander dan diayak menggunakan ayakan mesh no 60.

3. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Umbi Bit

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi. Sebanyak 200 gram serbuk daun umbi bit ditambahkan dengan 1,5 liter etanol 70% dan ditempatkan dalam bejana tertutup rapat selama 3 hari, kemudian dilakukan penyaringan hingga terpisah residu dan filtratnya. Filtrat kemudian ditempatkan dalam botol kaca tertutup rapat dan residunya ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 500 ml ditempatkan dalam bejana tertutup rapat, kemudian dilakukan penyaringan. Proses pengadukan dilakukan selama satu kali 24 jam. Filtrat kemudian disatukan dan diuapkan dengan *rotary evaporator* dan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak yang kental.

4. Pembuatan Fraksi Daun Umbi Bit

Sebanyak 20 gram ekstrak etanol yang telah kental kemudian ditambahkan air hangat kuku dan pelarut n-heksan dengan perbandingan 1:1 kemudian dipisahkan menggunakan metode fraksinasi cair-cair. Fraksi yang terbentuk kemudian dipisahkan. Fraksi n-heksan daun umbi bit ditampung dalam wadah vial I. Fraksi air kemudian ditambahkan pelarut etil asetat dengan perbandingan yang sama dan dilakukan fraksinasi cair-cair. Fraksi yang terbentuk kemudian dipisahkan, fraksi etil asetat ditampung dalam wadah vial II dan fraksi air ditampung dalam wadah vial III. Masing-masing fraksi kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* dan *waterbath* (Muthmaina dkk, 2017).

5. Uji Fitokimia

Ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun umbi bit

kemudian dilakukan uji fitokimia dengan metode taubeck. Sebanyak 1 ml masing-masing ekstrak dan fraksi daun umbi bit serta standar kuersetin dimasukkan dalam cawan porselen kemudian diuapkan hingga tidak ada sisa pelarut. Sisa penguapan kemudian ditambahkan dengan aseton, asam borat, dan asam oksalat. Campuran kemudian diuapkan kembali dengan panas yang tidak berlebih. Sisa penguapan kemudian ditambahkan eter dan dilakukan pengamatan pada lampu UV 366 nm. Sampel yang positif mengandung flavonoid akan menunjukkan pendaran berwarna kuning intensif (Hanani Endang, 2015).

6. Uji Pendahuluan dengan metode KLT

Ekstrak, fraksi daun umbi bit konsentrasi 2% serta standar kuersetin dengan konsentrasi 1% ditotolkan pada plat silika GF 254, kemudian dielus dengan fase gerak n-butanol:asam asetat:air (3:2:5). Berck yang dihasilkan kemudian diamati pada UV 254 nm dan 366 nm. Setelah dilakukan pengamatan kemudian dilakukan penyemprotan dengan $AlCl_3$ 5% dan diamati kembali pada UV 254 nm dan 366 nm. Sampel yang positif mengandung flavonoid akan menunjukkan bercak berwarna kuning dengan nilai Rf yang sejajar dengan standar kuersetin.

Analisa Data

1. Uji Pendahuluan dengan Metode KLT

Analisis kualitatif dengan metode KLT ditentukan dengan membandingkan nilai Rf standar dan Rf sampel. Nilai Rf dapat dihitung dengan rumus:

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh zat}}{\text{terlarut Jarak yang ditempuh eluen}}$$

Hasil dan Pembahasan

Determinasi tanaman umbi bit dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Surakarta. Berdasarkan hasil determinasi dinyatakan bahwa sampel daun umbi bit yang digunakan benar-benar tanaman *Beta vulgaris var. rubra* (L.) Moq.

Pemanenan tanaman umbi bit

dilakukan pada pagi hari untuk menghindari kerusakan hasil panen karena adanya proses transpirasi (Pranoto dan Juang, 2016). Proses transpirasi merupakan proses kehilangan air yang disebabkan karena difusi uap air dari udara yang lembab dari dalam tanaman ke udara kering di luar tanaman. Tanaman umbi bit yang telah dipanen kemudian dipisahkan untuk memisahkan bagian yang tak terpakai.

Perajangan bahan bertujuan untuk memperkecil ukuran bahan sehingga akan mempercepat proses pengeringan. Pengeringan dilakukan dengan metode pengovenan. Pengeringan bertujuan untuk menurunkan kadar air pada bahan, mencegah mikroorganisme berkembang, dan menurunkan aktivitas enzim hidrolase dan enzim oksidase yang dapat merusak senyawa kimia dalam bahan. Metode pengeringan dengan oven dipilih untuk memaksimalkan proses pengeringan hal ini dikarenakan metode pengeringan dengan oven memaksimalkan pengeringan yang merata, suhu yang terjaga dan waktu yang singkat (Susiani, 2017). Suhu oven yang digunakan adalah 40°C, suhu 40°C dipilih untuk mencegah kerusakan senyawa flavonoid dalam daun umbi bit. Senyawa flavonoid merupakan senyawa termolabil sehingga perlu kontrol suhu untuk mencegah senyawa flavonoid terdegradasi. Proses pengeringan dihentikan jika nilai kadar kelembapan simplisia sudah masuk dalam rentang persyaratan yaitu <10% (Depkes RI, 2000). Penetapan nilai susut pengeringan dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Alat ini memiliki prinsip gravimetri (Safrina dan Wahyu, 2018).

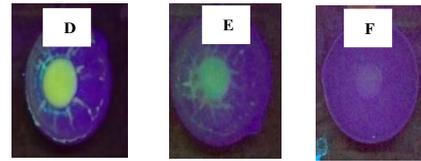
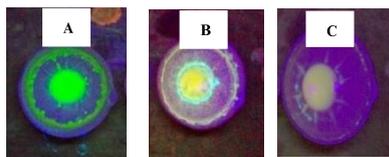
Metode yang digunakan adalah metode maserasi. Pemilihan pelarut etanol 70% disebabkan karena penggunaan etanol dengan konsentrasi di atas 70% akan menurunkan kadar flavonoid dalam sampel, hal ini juga dipengaruhi keberadaan flavonoid pada tumbuhan. Menurut Endang Hanani (2015), menyatakan bahwa ketersediaan flavonoid di alam kebanyakan dalam bentuk glikosida. Proses pengadukan saat maserasi bertujuan untuk menggantikan pelarut yang telah jenuh disekitar serbuk simplisia dengan pelarut yang belum cukup jenuh (Azmir dkk, 2013).

Ekstrak yang telah kental kemudian ditambahkan air hangat kuku (55°C) dan diaduk untuk dipisahkan dengan metode fraksinasi bertingkat. Penambahan air hangat memungkinkan tertariknya semua senyawa yang berbeda kepolarannya. Penambahan n-heksan pada proses fraksinasi cair-cair

sebanyak air hangat yang ditambahkan dalam ekstrak kental. Hal ini bertujuan untuk menghindari proses depolarisasi. Proses fraksinasi yang dilakukan merupakan proses fraksinasi cair-cair. Pemisahan fraksinasi cair-cair berdasarkan tingkat kepolaran suatu senyawa. Pada saat proses fraksinasi akan terbentuk dua lapisan yang terbentuk karena adanya perbedaan berat jenis pelarut. Pelarut n-heksan memiliki berat jenis lebih kecil dibandingkan pelarut air, sehingga ketika dipisahkan fraksi n-heksan akan berada pada lapisan atas, sedangkan lapisan bawah merupakan fraksi air.

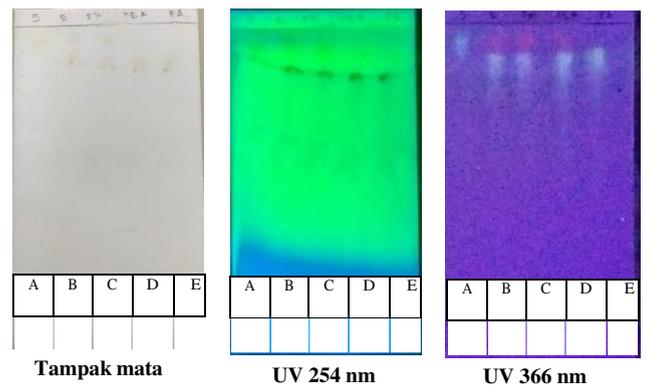
Fraksi air kemudian ditambahkan pelarut etil asetat dengan perbandingan 1:1. Pelarut etil asetat merupakan pelarut yang bersifat semi polar sehingga diharapkan dapat menarik senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun umbi bit dengan lebih baik. Hal ini dikarenakan pada penelitian yang dilakukan oleh Maraie (2019) menyatakan bahwa dalam daun umbi bit mengandung senyawa flavonoid golongan flavonol yaitu kuersetin dan kaemferol. Kelarutan kedua senyawa tersebut baik dalam pelarut etil asetat (Gazali dkk, 2019).

Hasil uji penampisan fitokimia dengan metode taubeck menunjukkan adanya pendaran bewarna kuning intensif pada ekstrak dan fraksi daun umbi bit. Penguapan sampel sebelum ditambahkan reagen bertujuan untuk menghilangkan sisa pelarut yang masih ada. Penambahan aseton, asam borat, dan asam oksalat bertujuan agar sampel mampu berflouresensi pada pengamatan dengan lampu UV 366 nm. Flouresensi bewarna kuning intensif merupakan hasil reaksi antara gugus hidroksil pada flavonoid yang terletak pada posisi orto dan asam borat (Susilowati dan Dian, 2016). Gambar 1. menunjukkan hasil uji taubeck pada ekstrak dan fraksi daun umbi bit



Gambar 1 . Penampisan Fitokimia Uji Taubeck.
Keterangan: A= Standar kuersetin, B= Ekstrak etanol, C=Fraksi n- heksan, D=Fraksi etil asetat, E=Fraksi air, F=Blanko

Pada uji pendahuluan flavonoid menggunakan metode KLT. Fase gerak yang digunakan adalah n-butanol:asam asetat:air (3:2:5) pemilihan fase gerak ditentukan setelah melakukan beberapa kali optimasi fase gerak. Hasil uji KLT diduga dalam ekstrak dan fraksi daun umbi bit mengandung senyawa flavonoid golongan flavonol yang masih terikat bentuk glikosidanya pada bercak dengan nilai Rf 0,8375 pada ekstrak etanol, Rf 0,85 pada fraksi n-heksan, Rf 0,0825 pada fraksi etil asetat, dan 0,8375 pada fraksi air. Hal ini dikarenakan posisi bercak yang ditimbulkan berada dibawah bercak merah dengan nilai Rf 0,9375. Bercak merah tersebut diduga adanya senyawa klorofil dengan kadar cukup tinggi hingga menutup floresensi bercak yang dihasilkan senyawa flavonoid golongan flavonol dalam bentuk aglikon (Esanda H, 2016). Tentu perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui jenis senyawa yang menunjukkan flouresensi bewarna merah tersebut. Gambar 4 menunjukkan hasil uji KLT pada ekstrak dan fraksi daun umbi bit.



Gambar 19. Uji pendahuluan KLT.
Keterangan : A= Standar kuersetin, B = Ekstrak etanol, C=Fraksi n-heksan, D= Fraksi etil asetat, E=Fraksi air

Simpulan

Dari penelitian identifikasi senyawa flavonoid dalam ekstrak dan fraksi daun umbi bit dapat disimpulkan bahwa ekstrak dan fraksi daun umbi bit mengandung senyawa flavonoid yang ditunjukkan dengan hasil positif pada uji taubeck dan uji KLT.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih penulis ucapkan kepada Ibu Nastiti Utami, S.Si., M.Sc dan Ibu apt. Diah Pratimasari, M.Farm selaku dosen pembimbing penulis dan seluruh staff serta laboran STIKES Nasional.

Daftar Pustaka

- Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini, N.A.N., Omar, A.K.M., 2013, Techniques for Exatraction of Bioactive compounds from Plant Material:A review, *Journal of Food Engineering*, 117, 426-436
- Depkes RI, 2000, Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Gazali, M., Hayatun, N., Nurjanah, Zuriat, 2019, Ekplokasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Daun Nipah (*Nypa fruticans* Wurmb) Asal Pesisir Aceh Barat sebagai Antioksidan, *JPHPI*, 22(1), 155-163
- Gengaihi, S.E.E., Manal, A.H., Doha, H.A., Abdel, T.H.M., 2016, Flavonoids from Sugar Beet as Hepatoprotective Agent, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(4), 281-286
- Hanani, E., 2015, Analisis Fitokimia, EGC, Jakarta
- Hernalis E., 2016, Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Fraksi Kloroform dn Fraksi Etil Asetat Daun Tanaman Adam Hawa (*Rhoe discolor* (L'her.)Hance) dengan Metode 2,2-diphenul-1-picrylhidrazul (DPPH), *Skripsi*, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta
- Jennifer, H., dan Endah, S., 2015, Preferensi Individu terhadap Pengobatan Tradisional di Indoneisa, *Jurnal Ekonomi dan Studi Pembangunan*, 16(1), 26- 41
- Maraie, N.K., Thukaa, Z.A.J., Anas, T.A., Hassan, A.J., 2014, Phytochemical Study of The Iraqi *Beta vulgaris* Leaves and its Clinical Application for the Treatment of Different Dematological Disease, *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(8), 5-19
- Muthmania, I., Sri, H.W.S., Maifitrianti, 2017, Aktivitas Penyembuhan Luka Bakar Frkasi dari Ekstrak Etanol 70% Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) pada Tikus, *Farmasains*, 4(2), 39-46
- Pranoto, B.R., Juang, G.K., 2016, Pengelolaan Aspek Produksi dan Pasca Panen Sayuran Daun Secara Aeroponik dan Hidroponik:Studi Kasus Lembang, Bandung., *Bul Agroborti*, 4(1), 9-19
- Safrina, D., Wahyu, J.P., 2018, Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh dan Pengeringan terhadap Flavonoid Total Sambang Colok (*Iresine Herbstii*), *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian*, 15(3), 156-162.
- Susilowati, Dian, E., 2016, Penentuan Golongan Senyawa dan Total Flavonoid Ekstrak Etanol Sarang Semut (*Myrmecodia pendens* Merr&Perry) secara Spektrofotometri UV-Vis, *Journal of Pharmacy*, 5(1), 19-24
- Susiani, A.F., Any G., Kintoko, 2017, Pengaruh Suhu Pengeringan terhadap Kadar flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Kumis Kucing (*Orthisiphom aristatus* (BL) Miq). *Borneo Journal of Phatmascientech*, 1(2), 1-8
- WHO, 2019, WHO Global Report on Traditional and Complementary Medicine 2019, WHO, Luxembourg

LAMPIRAN**Tabel I. Hasil Uji Fitokimia**

Sampel	Pengamatan Warna	Hasil
Standar Kuersetin	Kuning kehijauan	+
Ekstrak Etanol	Kuning	+
Fraksi N-heksan	Kuning kejinggaan	+
Fraksi Etil Asetat	Kuning kehijauan	+
Fraksi Air	Kuning kehijauan	+
Blanko	Tidak berflouresensi	+

Tabel II. Uji KLT

Sampel	<i>Rf</i>	<i>HRf</i>	Sebelum disemprot $AlCl_3$		Sesudah disemprot $AlCl_3$
			UV 254	UV 366	
Standar kuersetin	0,9375	93,75	Kuning kehijauan	Kuning Kehijauan	Kuning intensif
Ekstrak	0,9375	93,75	Kuning kehijauan	Merah	Merah
	0,8375	83,75	Kuning kecoklatan	Kuning kecoklatan	Kuning intensif
Fraksi n-heksan	0,9375	93,75	Kuning kehijauan	Merah	Merah
	0,85	85	Kuning kecoklatan	Kuning kecoklatan	Kuning intensif
Fraksi Etil Asetat	0,9375	93,75	Kuning kehijauan	Merah	Merah
	0,825	82,5	Kuning kecoklatan	Kuning kecoklatan	Kuning intensif
Fraksi Air	0,9375	93,75	Kuning kehijauan	Merah	Merah
	0,8375	83,75	Kuning kecoklatan	Kuning kecoklatan	Kuning intensif