

UJI SENYAWA FLAVONOID TOTAL DARI EKSTRAK ETANOL HERBA BINARA (*Artemisia Annu*) MENGGUNAKAN *HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC)* TAHUN 2019

Novandi Purba¹ Jhon Patar Sinurat² Romauli Anna Teresia Marbun³

Fakultas Farmasi Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam

E-mail : gultomvandi6196@gmail.com

DOI : <https://doi.org/10.35451/jfm.v2i1.323>

ABSTRAK

Herba binara (Artemisia Annu) is one of the plants that contains flavonoids which are efficacious as antioxidants and anticancer. The purpose of this study was to determine the total flavonoid compounds contained in ethanol extract of binara herbs (Artemisia Annu). Compounds in ethanol extract of binara herbs were identified by phytochemical screening. The results showed that the ethanol extract of binara herbs contained alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins. Extraction was carried out in two stages, namely maceration stage with 96% ethanol and fat removal stage by hydrolysis using distilled water solvent. The extract was partitioned with ethyl acetate and n-hexane solvents, then the partitions were examined by TLC using the mobile phase of chloroform and ethyl acetate (7: 3). Ribbon patches that have the same Rf and color prices as the initial detection are taken and searched. Then analyzed using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Based on the wavelength as well as the TLC test, a partial structure which was strongly suspected of total flavonoids was 0.93 g.

Kata Kunci :Herba Binara (*Artemisia Annu*), flavonoid, KLT, *High Performance Liquid Chromatography*(HPLC).

I. PENDAHULUAN

Berbagai tumbuhan di Indonesia yang dimanfaatkan secara tradisional untuk penanggulangan masalah kesehatan, salah satunya adalah Tumbuhan Herba Binara (*Artemisia Annu*). *Artemisia Annu* dari familia *Asteraceae* merupakan salah satu jenis *Artemisia* yang banyak ditemukan di Jawa Tengah khususnya di daerah Kopeng dan Tawang mangu. Jenis ini kurang banyak dieksplorasi karena kandungan artemisiannya relatif rendah dibanding jenis *Artemisia* yang lain. Selain itu tumbuhan ini juga dikenal memiliki efek merangsang rahim sehingga dapat meningkatkan efek menstruasi. Tumbuhan binara berkhasiat

untuk mengobati disentri, keputihan, muntah darah, mimisan, pendarahan usus, menghilangkan rasa sakit, mencegah keguguran dan mengatur menstruasi. Survey yang dilakukan di Masyarakat Simpang Empat Kabupaten Karo, masyarakat menggunakan Herba Binara dengan cara mengunyah beberapa daun kemudian ditempelkan pada bagian luka diluar tubuh seperti luka tersayat. Pengobatan diare dan perut yang kram, herba binara diambil sebanyak 5 lembar yang telah dipanaskan diatas api dan kemudian ditempelkan disekitar perut yang sakit (Widyaningrum, 2011; Marbun, et al, 2018).

Flavonoid merupakan sekelompok besar senyawa polifenol tanaman yang

tersebar luas dalam berbagai bahan makanan dan berbagai konsentrasi. Flavonoid memiliki kerangka dasar karbon yang terdiri atas 15 atom karbon, dimana dua cincin benzen (C6) terikat pada suatu rantai propan (C3) sehingga membentuk susunan C6-C3-C6. Flavonoid dapat berperan sebagai antibakteri dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme bakteri. Flavonoid menghambat pertumbuhan bakteri dengan menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom (Yunukawati, 2013).

Berdasarkan laporan penelitian yang telah dilakukan, tumbuhan binara (*Artemisia Annu*) mengandung senyawa bioaktif berupa flavonoid dan minyak atsiri, saponin. Dari penelitian sebelumnya, dilaporkan herba binara memiliki bahan aktif berupa flavonoid yang dapat digunakan sebagai antibakteri (Lia Febrina dkk, 2017). Berdasarkan penelitian sebelumnya, menunjukkan bahwa herba binara (*Artemisia Annu*) mengandung flavonoid dan mempunyai aktivitas antioksidan yang sedang sampai kuat (Lintar, 2018). Dari penelitian sebelumnya, dilaporkan bahwa herba binara memiliki aktivitas antioksidan ekstrak daun tiga genus *Artemisia* sp dengan metode DPPH serta penetapan kadar flavonoid, fenol dan karotenoid (Asep, 2017).

Menurut survey literature menunjukkan bahwa konstituen bioaktif *Artemisia* sp, tersebut memberikan keuntungan bagi kesehatan manusia dan beberapa spesies lain telah dilaporkan memiliki aktivitas antimalaria, sitotoksik, antihepatolitik, antibakteri, antijamur dan antioksidan (Tan, et al, 1999).

Oleh karena itu, dalam penelitian ini akan dilakukan identifikasi senyawa Flavonoid Total yang terkandung pada ekstrak etanol herba binara dengan Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) (Parhan, 2018).

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol herba binara (*Artemisia Annu*), Kloralhidrat, Etanol 96%, Etil astet, Metanol, Chloroform, n-Heksan, FeCl, pereaksi bouchardat, pereaksi mayer, NaOH, H₂SO₄, Aquadest dan pereaksi Dragendorf.

B. Alat

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rotary Evaporator (B-ONE), Hot Plate (VELP AREC), Timbangan neraca analitik (Shimadzu), *High Performance Liquid Chromatography* (LANSIDA), Plat KLT, Corong pisah (SCHOOT DURAN, Waterbath (MEMMERT)).

C. Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak etanol dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Sebanyak 5 kg serbuk simplisia dimasukkan kedalam wadah kaca, lalu ditambahkan pelarut etanol sampai serbuk simplisia terendam, kemudiandidiamkan selama 1 hari lalu ekstrak disaring, setelah itu ekstrak dimaserasi kembalisampai ketika diskriming pada ekstrak tidak terdapat lagi mengandung flavonoid, kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu sekitar 40°C, hasilnya diperoleh ekstrak kental (Depkes RI, 1979).

D. Pembuatan Larutan Standar

Sebanyak 1,25 gram standar yang tersedia dilarutkan dalam 10 ml Metanol 62,5%, sehingga diperoleh standar *stock* dengan konsentrasi 500µg/ml. Setelah itu 2,5ml dari standar *stock* dilarutkan dalam 20 ml Metanol 62,5%. Kemudian dicampurkan dengan 5 ml HCL 6M untuk menjaga kondisi asamnya supaya komponen flavonoid tersebut tidak terdegradasi. Penambahan methanol

dilakukan hingga volume mencapai 50 ml sehingga konsentrasi yang diperoleh adalah 25µg/ml. Larutan standar yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas lima konsentrasi, yaitu 0,5, 2,5, 10, 20 dan 25µg/ml. Sampel yang larut dalam fase gerak diinjeksikan ke dalam kolom kromatografi dengan menggunakan syringe. Volume yang ditampung adalah 0,2 ml, juk berlebih akan dikeluarkan. Fase gerak akan dialirkan dengan menggunakan pompa. Sampel yang masuk kedalam kolom akan didorong oleh fase gerak sehingga zat-zat yang terkandung dalam sampel akan dianalisis dan bereaksi dengan fase diam. Oleh detektor akan dibaca dan dihasilkan keluaran berupa grafik dan data tinggi beserta luas puncak dalam bentuk angka.

E. Injeksi Larutan Standar ke kolom HPLC

Larutan standar dengan berbagai konsentrasi tersebut diinjeksikan ke kolom HPLC C-18 *phase*; Develosil ODS-UG-3 yang memiliki dimensi panjang 75mm dan diameter 4,6 mm. Fase gerak yang digunakan adalah 25% acetonitril didalam K_2HPO_4 0,025M, dengan laju aliran 0,9 ml/menit. Diinjeksikan pula larutan standar campuran pada berbagai konsentrasi.

F. Pembuatan Kurva Standar

Hasil dari kromatogram standar pada berbagai konsentrasi tersebut kemudian dimasukkan kedalam satu grafik. Dari data masing-masing, dibuat persamaan garis yang akan digunakan pada perhitungan *Limit of Detection* masing-masing standar. Dari data kromatogram standar campuran, dibuat persamaan garis yang digunakan pada perhitungan kandungan komponen flavonoid pada sampel.

G. Perhitungan Limit Deteksi

Limit of Detection (LOD) atau limit deteksi diperoleh dengan cara menginjeksikannya masing-masing sebanyak standar sebanyak sepuluh kali. Konsentrasi yang digunakan untuk

menentukan LOD adalah konsentrasi yang terendah. Setelah diperoleh kesepuluh area tersebut, dimasukkan kedalam persamaan kurva standar masing – masing, sehingga diperoleh konsentrasi dan standard deviasinya. Besarnya LOD adalah tiga kali dari nilai standar deviasi.

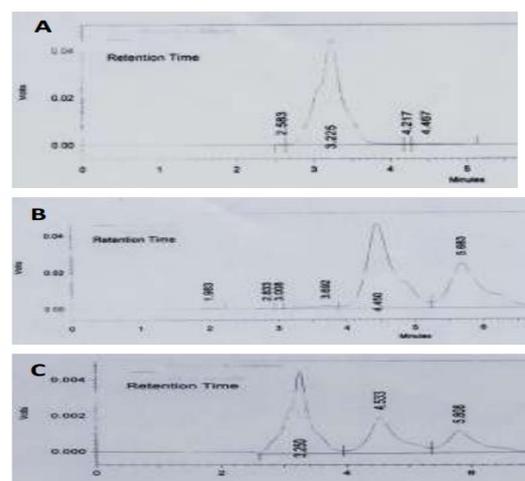
H. Teknik Pengumpulan Data dan Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian yaitu golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol dari hasil skrining fitokimia. Penentuan fase diam dan eluen dengan menggunakan KLT akan diperoleh data berupa spot – spot hasil pemisahan dan nilai R_f untuk tiap perbandingan eluen nheksan dan etil asetat, yang selanjutnya hasil pemisahan yang baik untuk menentukan metabolit sekunder.

Pemisahan komponen polar herba binara menggunakan HPLC menghasilkan data berupa profil kromatogram, waktu retensi, dan luas puncak. Jumlah puncak menunjukkan jumlah komponen senyawa dalam ekstrak etanol (kualitatif). Luas puncak digunakan untuk menghitung % kandungan masing – masing komponen polarsenyawa dalam ekstrak etanol herba binara (kuantitatif).

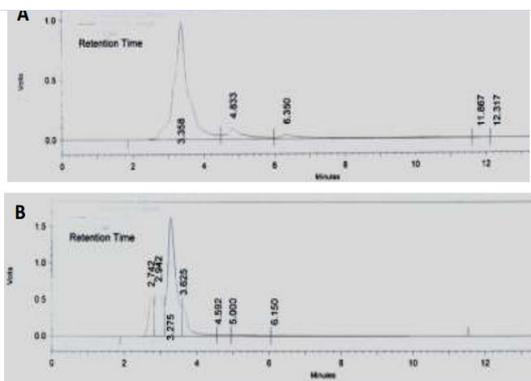
Dalam proses pemisahan, metode pemisahan yang paling tepat untuk memisahkan komponen polar herba binara adalah metode yang menghasilkan data terbaik dari sisi kualitatif ataupun kuantitatifnya. Komponen polar yang teridentifikasi baik dengan menggunakan metode pemisahan tersebut kemudian dianalisis golongan senyawa lebih lanjut.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN



Gambar 4.1 Spektrum Hasil Analisis dengan Menggunakan HPLC (Baku Perbandingan.)

Dari beberapa perbandingan fase gerak yang digunakan diperoleh hasil terbaik dengan menggunakan fase gerak chloroform : etil asetat padaperbandingan 7 : 3 dan sistem KCKT partisi fase terbalik RP 18 (250 x 4,6 mm, 5 µm), detektor UV pada panjang gelombang 360 nm dan kecepatan alir 1 mL/menit. Dari kromatogram dapat dilihat bahwa senyawa rutin terlihat pada waktu retensi 3,225 menit, sedangkan pada kromatogram perbandingan kuersetin terdapat duapuncak yaitu isokuersetin terlihat pada waktu retensi 4,450 menit dan kuersetin terlihat pada waktu retensi 5,683 menit. Kromatogram campuran kedua senyawa perbandingan tersebut menunjukkan tiga puncak pada waktu retensi 3,250, 4,533 dan 5,808 menit. Pada pengukuran KCKT senyawa perbandingan secara berulang diperoleh waktu retensi seperti pada Dari kromatogram hasil pengukuran ekstrak etanol herba binara dapat dilihat bahwa pada fraksi chloroform dan etil asetat dapat terdeteksi beberapa senyawa.



Gambar 4.2 Spektrum Hasil Analisis dengan Menggunakan HPLC (Sampel ekstrak etanol herba binara (*Artemisia Annua*)).

Berdasarkan hasil pengujian pada sampel maka didapatkan kromatogram dari chloroform dan etil asetat. Pada kromatogram fraksi etil asetat dari ekstrak etanol herba binara (*Artemisia*

Annua) terdapat limapuncak. Pada kromatogram fraksi butanol terdapat tujuh puncak. Bila puncak-puncak yang didapatkan pada kromatogram fraksi-fraksi dari ekstrak etanol herba binara (*Artemisia Annua*) dibandingkan dengan waktu retensi senyawa perbandingan (Gambar 4.1) terlihat bahwa beberapa puncak mendekati waktu retensi untuk rutin, isokuersetin dan kuersetin.

Dari hasil penelitian ini dapat dilihat bahwa ekstrak etanol herba binara (*Artemisia Annua*) memiliki kandungan kimia flavonoid, terutama rutin, isokuersetin dan kuersetin. Hal ini ditunjukkan dari puncak rutin yang terdapat pada fraksi chloroform dan etil asetat yang lebih dominan sehingga dapat dijadikan sebagai senyawa penanda untuk penentuan mutu ekstrak etanol herba binara (*Artemisia Annua*). Dengan demikian pola KCKT ini dapat dipakai untuk identifikasi dan pemastian mutu ekstrak etanol herba binara (*Artemisia Annua*).

IV. KESIMPULAN

Adapun kesimpulan dari penelitian sebagai berikut :

1. Hasil pemeriksaan golongan senyawa kimia serbuk simplisia herba binara menunjukkan adanya kandungan senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin.
2. Kadar total flavonoid dalam sample ekstrak etanol herba binara (*Artemisia Annua*) sebesar 0,93 gram.
3. Dari hasil penelitian ini dapat dilihat bahwa ekstrak etanol herba binara (*Artemisia Annua*) memiliki kandungan kimia flavonoid yang dilihat dari beberapa puncak yang mendekati waktu retensi baku perbandingan yang memiliki kandungan flavonoid yaitu rutin, isokuersetin dan kuersetin.

DAFTAR PUSTAKA

- Ditjen POM RI.(1979). *Farmakope Indonesia. Edisi III*. Jakarta:Departemen Kesehatan RI. Halaman 9.
- Goodman & Gilman. (2014). *Dasar Farmakologi Terapi. Edisi 10 Volume 2*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Halaman 666-675, 688-689.
- Katno, Pramono, S.(2005). *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan obat Tradisional*. Balai Penelitian Tanaman Obat Tawangmangu Fakultas Farmasi, UGM. Yogyakarta. [Http/www.google.com](http://www.google.com) [25 April 2011]. P 1-3
- Hariana, Arief.(2013). *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Seri I*, Jakarta: Penerbit Swedaya Grup
- Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modren Menganalisa Tumbuhan. Edisi 1*. Penerjemah: Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: ITB. Halaman 152.
- Lia Febriana. (2017). *Obat Tradisional dalam Zaman Teknologi*.Majalah Kesehatan Masyarakat No. 56, Hal:3-5.
- Marbun, R., Situmorang, N., & Wahyuni, S. (2018). The effect of immunomodulator by extract ethanol of herba binara (*artemisia vulgaris* L.) Toward the response of delayed-type hypersensitivity in rat male. *Jurnal Penelitian Farmasi & Herbal*, 1(1), 17-21. Retrieved from
- Parhan, P. (2018). Penetapan Kadar Na-Siklamat Pada Minuman Serbuk Instan Dan Minuman Kemasan Kaleng Yang Diperdagangkan Di Delitua Dengan Metode Alkalimetri. *JURNAL FARMASIMED (JFM)*, 1(1), 11-15. <https://doi.org/10.35451/jfm.v1i1.88>.
- Tan, R,X., Zhang, W.F., Tang. (1999). *Biologically active substances from the genus artemisia*, planta med 64, hal.295-302.
- Widyaningrum., Herlina., Tim Solusi Alternatif.(2011). *Kitab Tanaman Obat Nusantara. Cetakan Pertama*. Yogyakarta: Med Press(Anggota IKAPI). Halaman 209-210.
- Yunukawati.(2013). *Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol daun Surian yang berpotensi sebagai Antioksidan*.Makara, Sains :48-52.