

**IDENTIFIKASI DAN ISOLASI SENYAWA FLAVONOID
EKSTRAK ETANOL DAUN GENJER
(*Limnocharis flava* (L.) Buchenau)**

Ade Ferdinan*, Kurnia Audiah
Akademi Farmasi Yarsi Pontianak
email : ferdin.nay@gmail.com

ABSTRAK

Senyawa flavonoid adalah zat warna merah, ungu, biru dan sebagai zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak etanol daun genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau). Penelitian dilakukan dengan ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 96% kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental. Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan uji wilstater, NaOH 10%, dan H₂SO₄(pekat). Isolasi flavonoid dilakukan secara kromatografi kolom dan identifikasi senyawa flavonoid dilakukan secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menunjukkan adanya senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol daun genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau).

Kata kunci: Identifikasi, Isolasi, Ekstrak etanol daun genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau), Flavonoid

ABSTRACT

*Flavonoid compounds are red, purple, blue dyes and as yellow dyes found in plants. The purpose of research to determine the kind of flavonoid compounds found in the ethanol extract of genjer leaves (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau). The study was conducted by maceration extraction using 96% ethanol solvent then evaporated with a rotary evaporator so that a thick extract is obtained. The identification of flavonoid compounds was carried out by wilstater, 10% NaOH, and H₂SO₄ (concentrated) test. Isolation of flavonoids was done by column chromatography and identification of flavonoid compounds was done by Thin Layer Chromatography (TLC) test. Thin Layer Chromatography (TLC) results showed the presence of flavonoid compounds contained in the ethanol extract of genjer leaves (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau).*

Keywords: Identification, Isolation, Ethanol extract of genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau), Flavonoids

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu wilayah yang memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi dengan jenis flora yang diperkirakan mencapai 25.000 jenis atau lebih dari 10% dari jenis flora yang ada didunia. Salah satu diantaranya yaitu tanaman genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau) yang mengandung gizi cukup lengkap dari protein, lemak, karbohidrat, mineral dan vitamin (Wirakusumah, 2007).

Genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau) merupakan tanaman yang hidup di daerah perairan yang sejak lama telah dimanfaatkan sebagai bahan pangan maupun pakan. Tanaman ini tumbuh di rawa-rawa, perairan dangkal misalnya sawah, kolam ikan, dan parit-parit (Bergh, 1994).

Tumbuhan genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau) juga dapat dijadikan obat tradisional seperti digunakan untuk menjaga kesehatan pencernaan, antibiotik, mempercepat penyembuhan luka, anemia, antiradang, keracunan jengkolat, menjaga kesehatan kulit, membantu menurunkan kolestrol. selain itu juga memiliki aktivitas anti-lipooksigenase dan antioksidan (Ooh, *et al.*, 2015).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: seperangkat alat gelas, wadah maserasi, plat kromatografi lapis tipis (KLT), lampu UV penampak bercak 254 nm dan 366 nm, neraca analitik, penangas air, oven, penggaris, batang pengaduk, pipet tetes, botol vial, seperangkat alat kromatografi kolom, chamber, pipa kapiler, *rotary evaporator*, kertas saring.

Bahan yang digunakan adalah daun genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau), etanol 96%, larutan asam klorida (HCl), serbuk magnesium (Mg), larutan natrium hidroksida (NaOH) 10%, larutan asam sulfat (H₂SO₄) pekat, silika gel 60, fase gerak: n-butanol, asam asetat glasial, air.

Jalannya Penelitian

1. Ekstraksi Etanol Daun Genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau)

Serbuk simplisia daun genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau) dimasukkan kedalam bejana maserasi (Putra, dkk., 2021). Dituang secara perlahan pelarut etanol 96% sebanyak 2 Liter ke dalam bejana maserasi yang berisi serbuk simplisia (Ayuchecaria, dkk., 2019). Setelah itu dibiarkan cairan penyari merendam seluruh serbuk simplisia selama 3 hari sambil sesekali diaduk, kemudian disaring untuk mengambil filtratnya (Musiam, dkk., 2018). Filtrat diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental etanol daun genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau). Kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 40°C selama 24 jam.

2. Uji Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Genjer(*Limnocharis flava* (L.) Buchenau)

a. Uji wilstater

Sejumlah ekstrak etanol daun genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau) ditambahkan 2-4 tetes larutan HCl pekat dan 2-3 potong kecil logam Mg. Perubahan warna yang terjadi diamati dari kuning tua menjadi orange (Musiam, dkk., 2020).

b. Uji dengan NaOH 10%

Sejumlah ekstrak etanol daun genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau) ditambahkan 2-4 tetes larutan NaOH 10%. Perubahan warna yang terjadi diamati dari kuning tua menjadi kuning muda (Sari, dkk., 2018).

c. Uji dengan H₂SO₄ (pekat)

Sejumlah ekstrak etanol daun genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau) ditambahkan 2-4 tetes larutan H₂SO₄ (pekat). Perubahan warna yang terjadi diamati dari kuning tua menjadi coklat.

3. Isolasi Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Genjer(*Limnocharis flava* (L.) Buchenau)

Silika gel₆₀ sebanyak 40 gram ditambahkan dengan sedikit fase gerak n-butanol:asam asetat glasial:air (4:1:5) hingga menjadi bubur. Selanjutnya fase gerak dimasukkan ke dalam kolom yang bagian bawah kolom telah tersumbat kapas. Aliran pelarut dalam kolom diatur kecepatan alirannya dan bubur dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam kolom. Setelah seluruh bubur masuk, fase diam dielusi sampai terjadi pemampatan dengan sempurna.

Sampel ekstrak etanol daun genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau) sebanyak 1,5 gram dilarutkan dengan etanol secukupnya kemudian dimasukkan dengan hati-hati melalui tepat di atas (tepat di bagian tengah) kolom, sementara aliran fase gerak diatur 1 tetes/detik. Begitu sampel masuk ke dalam fase diam, fase gerak ditambahkan secara terus menerus sampai terjadi pemisahan. Eluat ditampung pada penampung fraksi setiap 5 mL. Eluat yang diperoleh kemudian dilihat pola nodanya pada KLT.

Disiapkan plat KLT aluminium berlapis silika gel 60 GF₂₅₄ merk ukuran 4cm x 7cm (lebar x tinggi). Dibuat garis batas atas dan bawah dengan jarak 1 cm, Disiapkan chamber, pinset, gelas ukur, dan kertas saring. Kemudian masukkan fase gerak n-butanol : asam asetat glasial : air (4:1:5) ke dalam chamber. Dimasukkan kertas saring dengan ukuran yang sesuai ke dalam chamber dan tempatkan sedemikian rupa. Dibiarkan chamber jenuh dengan uap eluen yang ditandai dengan basahanya kertas saring.

Disiapkan hasil kolom, pipa kapiler, tisu, pelarut etanol, dan plat KLT. Dibersihkan pipa kapiler dengan pelarut etanol dan dikeringkan dengan tisu. Diambil larutan sampel di dalam tiap vial dengan menggunakan pipa kapiler bersih

dan ditotolkan tepat ditengah pada garis bawah plat KLT. Dimasukkan plat KLT yang sudah ditotolkan ke dalam chamber yang sudah jenuh dengan posisi tegak. Garis batas bawah tidak boleh terendam oleh eluen. Ditutup chamber dengan cepat dan ditunggu sampai eluen mencapai tanda batas atas. Diambil plat KLT dengan pinset dandikering anginkan.

Diamati plat KLT di bawahsinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Hitung harga R_f masing-masing warna noda.

$$R_f = \frac{\text{Jarak pergerakan noda}}{\text{Jarak pergerakan eluen}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan adalah daun genjer dengan nama ilmiah yaitu (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau). Pengeringan merupakan proses pengawetan simplisia sehingga simplisia tahan lama dalam penyimpanan (Putri, dkk., 2020). Proses pengeringan juga akan menghindari terurainya kandungan kimia karena pengaruh enzim (Febrianti, dkk., 2019) (Febrianti, dkk., 2019). Simplisia harus dikeringkan dengan cukup untuk menghindari pertumbuhan mikroorganisme dan kapang (jamur) (Febrianti, dkk., 2020). Sampel basah yang digunakan yaitu sebanyak 2500 gram menghasilkan simplisia kering sebanyak 288, 96 gram dan didapatkan susut pengeringan sebesar 88,44 %. Susut pengeringan memberikan batasan besarnya senyawa yang hilang pada saat pengeringan. Kemudian simplisia dihaluskan menggunakan blender dan didapatkan serbuk sebanyak 280 gram, penghalusan berguna untuk meningkatkan luas permukaan partikel yang kontak dengan pelarut sehingga pelarut dapat masuk kedalam serbuk dan akan mengeluarkan zat kimia yang akan bercampur dengan zat penyari sehingga proses penyarian dapat berlangsung lebih efektif.

Metode maserasi digunakan untuk menarik komponen yang terkandung dalam daun genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau). Metode maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari selama beberapa hari dalam temperatur kamar terlindung dari cahaya. Proses maserasi aman untuk senyawa yang tidak tahan panas, karena maserasi merupakan metode ekstraksi dingin sehingga metode ini hanya tergantung lamanya waktu kontak antara pelarut dengan sampel dan kepolaran pelarutnya (Kumalasari, dkk., 2021).

Larutan yang digunakan dalam proses maserasi ialah etanol (Kumalasari, dkk., 2019). Etanol merupakan pelarut yang bersifat polar sehingga pelarut akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat – zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Selain itu, pelarut etanol dapat menapis senyawa polar karena senyawa polar bersifat antibakteri.

Simplisia daun genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau) yang telah diserbuk diambil sebanyak 280 gram kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 3000 mL selama 3 x 24 jam. Perendaman sampel tumbuhan akan mengakibatkan pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan sehingga senyawa metabolit sekunder yang berada di dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut etanol (Musiam, dkk., 2020). Diperoleh maserat berwarna hijau tua sebanyak 2000 mL. Kemudian maserat yang didapatkan diuapkan menggunakan *Rotary evaporator*, didapatkan ekstrak kental etanol daun genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau) sebanyak 26, 54 gram dengan % randemen ekstrak yang dihasilkan yaitu 9, 47%. Kemudian dilakukan uji senyawa flavonoid untuk mengetahui ada tidaknya senyawa flavonoid pada ekstrak etanol daun genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau).

Tabel 1. Hasil Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau)

Sampel (Replikasi)	Pereaksi		
	Wilstater	NaOH 10%	H ₂ SO ₄ (pekat)
1	Hijau muda	Kuning muda	Coklat
2	Hijau muda	Kuning muda	Coklat
3	Hijau muda	Kuning muda	Coklat
Keterangan	Negatif	Positif	Positif

Pada uji wilstater didapat hasil negatif karena sampel tidak mengalami perubahan warna menjadi orange. Uji wilstater ini berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron pada struktur flavonoid.

Uji NaOH 10% merupakan katalis basa yang menyebabkan terjadinya penguraian senyawa flavonoid menjadi molekul asetofenon. Pada Uji NaOH 10% didapat hasil positif yang ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning muda. Pada penambahan NaOH 10% sampel mengalami penguraian oleh basa menjadi molekul seperti asetofenon yang berwarna kuning karena adanya pemutusan ikatan pada struktur isoprena. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak etanol daun genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau) mengandung senyawa flavonoid. (Desandi, 2014).

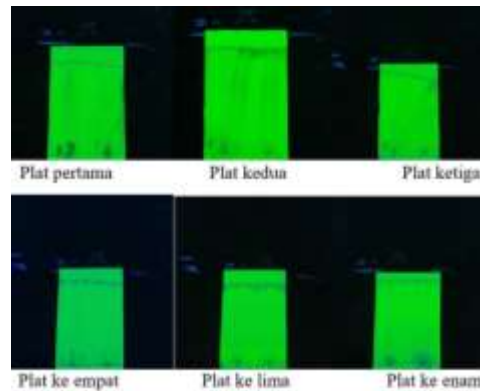
Uji H₂SO₄ (pekat) merupakan katalis asam yang menyebabkan terjadinya reaksi substitusi elektrofilik. Pada uji H₂SO₄ (pekat) didapat hasil positif yang ditandai dengan perubahan warna menjadi coklat. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak etanol daun genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau) mengandung senyawa flavonoid karena terjadinya reaksi oksidasi reduksi antara H₂SO₄ (pekat) dan flavonoid yang menyebabkan terbentuknya senyawa kompleks yang menimbulkan warna coklat (Asih, 2009).

Ekstrak etanol daun genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau) yang positif mengandung flavonoid kemudian dipisahkan dan dimurnikan secara kromatografi kolom. Fase diam yang digunakan dalam kromatografi kolom adalah silika gel 60 dan menggunakan fase gerak n-butanol : asam asetat glasial : air (4:1:5). asam

asetat glasial : air dengan perbandingan masing-masing 4:1:5 20mL. Pemilihan eluen yang digunakan merupakan eluen yang mempunyai kepolaran yang tinggi sehingga dapat memisahkan senyawa flavonoid yang bersifat polar.

Tabel 2 : Hasil Nilai *Rf* Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau)

Vial	<i>Rf</i> (cm)		Keterangan
	Sampel	Standar	
Vial 1	0,92		Positif flavonoid
Vial 2	0,86		Positif flavonoid
Vial 3	0,94		Positif flavonoid
Vial 4	0,94		Positif flavonoid
Vial 5	0,86		Positif flavonoid
Vial 6	0,94	0,69 – 0,88	Positif flavonoid
Vial 7	0,54		-
Vial 8	0,38		-
Vial 9	0,78		Positif flavonoid
Vial 10	0,3		-
Vial 11	0,38		-
Vial 12	0,5		-



Gambar 1.1 Hasil Uji KLT

Berdasarkan penelitian Mustapa, A dkk (2019) yang menyatakan bahwa senyawa flavonoid memiliki range nilai *Rf* yaitu sebesar 0,69-0,88 dengan warna bercak noda kuning kecoklatan. Dari hasil pengamatan dapat diketahui *Rf* senyawa flavonoid ekstrak etanol daun genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau) yaitu 0,78-0,94 dengan bercak noda berwarna kuning kecoklatan..

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau) mengandung senyawa flavonoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Ayuchecaria, N., Munirah, N., Wahyuni, A., Kumalasari, E., Sari, R., & Musiam, S. (2019). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Kulit ARI Buah Jengkol (*Pithecellobium jiringa*) Sebagai Biolarvasida Nyamuk (*Aedes aegypti* L.). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 4(1), 127 - 136. <https://doi.org/10.36387/jiis.v4i1.288>
- Bergh MH. (1994). *Limnocharis flava* (L) Buchenan. Didalam : Siemonsma JS dan Piluek K, editor. *Plant Resources of South-East Asia*. Bogor : Prosea. Hlm 192-194
- Depkes RI. (1995). *Materia Medika Indonesia Jilid VI*. Jakarta : Depkes RI. Hlm 109-110
- Depkes RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Jilid I*. Jakarta : Depkes RI. Hlm 393.
- Febrianti, D., & Musiam, S. (2019). POTENSI KOMBINASI KAPUR SIRIH DAN DAUN KUMPAI MAHUNG (*Eupatorium inulifolium* H.B&K.) Sebagai Alternatif Salep Anti Inflamasi Alami. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 4(2), 323-330. <https://doi.org/10.36387/jiis.v4i2.339>
- Febrianti, D., & Musiam, S. (2020). AKTIVITAS ANTI-INFLAMASI EUPATORIUM INULIFOLIUM DAN KALSIMUM KARBONAT PADA TIKUS JANTAN. *Jurnal Pharmascience*, 7(1), 92-98. <http://dx.doi.org/10.20527/jps.v7i1.8078>
- Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan Terbitan Kedua*. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. ITB : Bandung.
- Kumalasari E, Musiam S. PERBANDINGAN PELARUT ETANOL-AIR DALAM PROSES EKSTRAKSI DAUN BAWANG DAYAK (*Eleutherine palmifolia* Linn) Terhadap Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH. JIFI [Internet]. 29May2019 [cited 16Jul.2021];2(1):98-07. Available from: <http://e-jurnal.stikes-isfi.ac.id/index.php/JIFI/article/view/322>
- Kumalasari, E., Mudjib Nararia, N., & Musiam, S. (2021). PENETAPAN KADAR FENOLIK TOTAL EKSTRAK ETANOL 70% DAN FRAKSI ETIL ASETAT DAUN BAWANG DAYAK (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) Dengan Metode Spektrofometri UV-VIS. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 4(1), 74-84. <https://doi.org/10.36387/jifi.v4i1.665>
- Markham, K. R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Terjemahan Kosasih Padmawinata. ITB : Bandung
- Marzouk, M.M. (2016). Flavonoid Constituents And Cytotoxic Activity Of *Erucaria Hispanica* (L.) Druce Growing Wild In Egypt. *Arabian Journal Of Chemistry*, 9, 411-415.
- Musiam, S., Armianti, M., & Putra, A. (2018). Uji Biolarvasida Ekstrak Metanol Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 3(1), 55 - 63. <https://doi.org/10.36387/jiis.v3i1.137>.
- Musiam, S., Ariyanto, A., & Ayuchecaria, N. (2020). AKTIVITAS BIOLARVASIDA EKSTRAK DAUN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*)

- TERHADAP LARVA NYAMUK *Culex* sp. Jurnal Insan Farmasi Indonesia, 3(1), 162 - 168. <https://doi.org/10.36387/jifi.v3i1.490>
- Musiam, S., Ulfah, F., Faisal, I. A., Kumalasari, E., & Alfian, R. (2020). AKTIVITAS ANTIFUNGI FLAVONOID DARI EKSTRAK DAUN *Citrus aurantifolia* KALIMANTAN SELATAN TERHADAP PERTUMBUHAN *Candida albicans*. AFAMEDIS, 1(1), 55 - 63. Retrieved from <https://www.jurnal-afamedis.com/index.php/afamedis/article/view/8>
- Ooh, K. F., Ong, H. C., Wong, F. C., Chai, T. (2015). HPLC profiling of phenolic acids and flavonoids and evaluation of anti-lipoxygenase and antioxidant activities of aquatic vegetable *Limnocharis flava*. *Acta poloniae pharmaceutica drug research*. 72, (5), 973-979
- Plantamor. (2008). *Plantamor Situs Dunia Tumbuhan, Informasi Genjer*. (Online). (<http://www.plantamor.com/index.php?plant=777>, 30 Juli 2011)
- Putra, A. M. P., Sari, R. P., & Musiam, S. (2021). Combination of Bawang Dayak Extract and Acarbose against Male White Rat Glucose Levels. *Borneo Journal of Pharmacy*, 4(2), 84-90. <https://doi.org/10.33084/bjop.v4i2.1703>
- Putri, M.A., Saputra, M.E., Amanah, I.N., Musiam, S., & Fabiani, V.A. (2020). Hand Sanitizer Ekstrak Daun Pucuk Idat (*Cratoxylum glaucum*) sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, Vol. 16(2) 2020, 227-231
- Qinghu, W., Jinmei, J., Nayintai, D., Narenchaoketu, H., Jingjing, H., Baiyinmuqier, B. (2016). Anti-inflammatory Effects, Nuclear Magnetic Resonance Identification And High-Performance Liquid Chromatography Isolation Of The Total Flavonoids From *Artemisia Frigida*. *Journal Of Food And Drug Analysis*, 24, 385-391.
- Sari, A., Alfian, R., Musiam, S., Prasdianto, P., & Renny, R. (2018). PENETAPAN KADAR FENOLIK DAN FLAVONOID TOTAL EKSTRAK METANOL KAYU KUNING (*Arcangelisia flava* Merr) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VISIBEL. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 1(2), 210-217. Retrieved from <http://e-jurnal.stikes-isfi.ac.id/index.php/JIFI/article/view/260>
- Sastrohamidjojo, H. (2007). *Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press
- Wirakusumah, E. S. (2007). *Kandungan Gizi Buah dan Sayuran*. Penebar Swadaya. Jakarta