

OPTIMASI CAIRAN PENYARI PADA PEMBUATAN EKSTRAK DAUN PANDAN WANGI (*Pandanus amaryllifous* Roxb) SECARA MASERASI TERHADAP KADAR FENOLIK DAN FLAVONOID TOTAL.

Agustiningsih

Achmad Wildan

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi
Yayasan Pharmasi Semarang

Mindaningsih

Sekolah Menengah Farmasi Yayasan
Pharmasi Semarang

Pandan wangi (Pandanus amaryllifous Roxb) merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai tonikum, penambah nafsu makan, penenang, penyedap, pewangi dan pemberi warna hijau pada masakan. Mengandung alkaloida, saponin, flavonoida, tanin, polifenol, fenil propanoid, dan zat warna (Dalimartha, 2000:103). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar fenolik dan flavonoid total dari hasil ekstraksi cairan penyari yang berbeda serta mengetahui cairan penyari yang paling optimal menarik senyawa fenolik dan flavonoid. Penyarian dilakukan dengan cara maserasi air; etanol 96%; dan air : etanol 96% (0,5 : 0,5). Uji pendahuluan kandungan kimianya menggunakan reaksi warna dan KLT. Hasil KLT senyawa flavonoid dari ketiga penyari adalah sama yaitu $R_f = 0,60$. Optimasi cairan penyari menggunakan metode simplex lattice design diperoleh dengan uji t. Hasil kadar fenolik total ekstrak daun pandan wangi penyari air = 24,0004 mg/g ekstrak; etanol 96% = 478,7629 mg/g ekstrak; air : etanol 96% (0,5 : 0,5) = 308,9702 mg/g ekstrak. Kadar flavonoid total ekstrak daun pandan wangi penyari air = 4,6102 mg/g ekstrak; etanol 96% = 99,4086 mg/g ekstrak; air : etanol 96% (0,5 : 0,5) = 33,6216 mg/g ekstrak. Hasil optimasi menunjukkan cairan penyari yang paling maksimal menarik senyawa fenolik dan flavonoid adalah etanol 96% dengan kadar fenolik total 478,7629 mg/g dan kadar flavonoid total 99,4086 mg/g. Uji t menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan kadar fenolik dan flavonoid total antara teori dengan percobaan.

Kata kunci : Daun pandan wangi, cairan penyari, kadar fenolik total, kadar flavonoid total, optimasi.

Pendahuluan

Pengobatan tradisional sudah dikenal di Indonesia sejak ribuan tahun yang lalu, sebelum pelayanan kesehatan dengan obat-obatan modern dikenal masyarakat, pengobatan tradisional tersebut menggunakan tanaman berkhasiat obat. Pengobatan ini mulai diakui oleh masyarakat dunia, dan menandai kesadaran untuk kembali ke alam. Pandan wangi (*Pandanus amaryllifous* Roxb) mengandung alkaloida, saponin, flavonoida, tanin, polifenol, fenil propanoid, dan zat warna (Dalimartha, 2000:103). Daun pandan wangi merupakan salah satu tanaman digunakan sebagai tonikum, penambah nafsu makan, penenang, penyedap, pewangi dan pemberi warna hijau pada masakan (Dalimartha, 2000 : 104).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui cairan penyari yang paling optimal dalam menarik senyawa fenolik dan flavonoid total. Berdasarkan sifat kelarutan kedua senyawa tersebut maka perlu dilakukan penelitian tentang

perbedaan kadar dari senyawa fenolik dan flavonoid total yang terkandung dalam daun pandan wangi dengan menggunakan penyari air; etanol 96%; dan air : etanol 96% (0,5 : 0,5). Flavonoid merupakan senyawa polar, maka umumnya flavonoid larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, butanol, air, dan lain-lain. Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air dan merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida (Markham, 1988:15). Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam air karena pada umumnya sering kali berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat pada vakuola sel (Harbone, 1987:47). Penetapan kadar fenolik dilakukan dengan penambahan pereaksi Folin-Chiocalteu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 745 nm, sedangkan kadar flavonoid total dilakukan dengan penambahan aluminium klorida, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 514 nm. Metode *simplex lattice design*, digunakan

untuk mengetahui cairan penyari yang paling optimal dalam menyari daun pandan wangi. Uji t digunakan untuk validasi persamaan *simplex lattice design*.

Metode Penelitian

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia daun pandan wangi, etanol 96%, aquadest, FeCl_3 , $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$, serbuk Zn, HCl, gelatin, lempeng silika gel GF₂₅₄, *n*-butanol p.a, asam asetat glasial, ammonia pekat, resorsinol p.a, reagen Folin – Ciocalteu, Na_2CO_3 p.a, rutin p.a, NaNO_2 p.a, AlCl_3 p.a, dan NaOH p.a.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *vacum rotary evaporator*, neraca analitik, *waterbath*, lempeng silika gel GF₂₅₄, *chamber*, pipa kapiler, lampu UV 254 nm, Spektrofotometer Shimadzu UV-Vis mini 1240, *vortex mixer*, dan mikropipet.

Cara Kerja

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi

Ditimbang 50 gram serbuk kering daun pandan wangi dan dimasukkan kedalam 3 bejana yang berbeda. Bejana I ditambah 375 ml air; bejana II ditambah etanol 96% 375 ml; dan bejana III ditambah air:etanol 96% (0,5:0,5) 375 ml. Simplisia direndam dalam cairan penyari selama 5 hari, sambil diaduk 3 – 4 jam sehari dengan shaker. Tiap 24 jam filtrat disaring, filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan cairan penyari diganti dengan yang baru dengan jumlah yang sama dengan yang pertama. Filtrat yang dihasilkan dijadikan satu dan dienapkan selama 1 hari. Selanjutnya filtrat diuapkan hingga diperoleh larutan yang lebih kental. Ekstrak daun pandan wangi kemudian ditimbang dan ditambah pelarut etanol p.a hingga diperoleh ekstrak 2% untuk penentuan kadar fenolik dan flavonoid total.

Penentuan Kadar Fenolik Total

2% ekstrak daun pandan wangi (200 μ l ekstrak air; 5 μ l ekstrak etanol 96%; 100 μ l ekstrak air : etanol 96% (0,5:0,5)) + 0,4 ml reagen Folin-Chiocalteu didiamkan 8 menit + 4,0 ml Na_2CO_3 7% + aquabidest sampai 10,0 ml, didiamkan 70 menit lalu diukur absorbansinya λ 745nm. Kadar fenolik total dihitung berdasarkan persamaan regresi linier kurva baku resorsinol (Sandrarini, 2009).

Penentuan Kadar Flavonoid Total

2% ekstrak daun pandan wangi (3,0ml ekstrak air; 0,080ml ekstrak etanol 96%; 1,0ml ekstrak air : etanol 96% (0,5:0,5)) + 4,0 ml aquabidest + 0,3 ml NaNO_2 10%, didiamkan 6 menit + 0,3 ml AlCl_3 10%, didiamkan 5 menit + 4,0 ml NaOH 10% + aquabidest sampai 10,0 ml, diukur absorbansinya λ 514 nm. Kadar flavonoid total dihitung berdasarkan persamaan regresi linier kurva baku rutin (Sandrarini, 2009).

Penentuan Cairan Penyari Optimal

Kadar fenolik dan flavonoid ekstrak daun pandan wangi dihitung pada tiap jenis cairan penyari. *Simplex lattice design* digunakan untuk mengetahui respon tiap kombinasi cairan penyari pada setiap parameter. Respon total ditentukan pada tiap kombinasi cairan penyari. Validasi terhadap persamaan *Simplex lattice design* dilakukan dengan melakukan uji t.

Hasil Penelitian Dan Pembahasan

Penyari yang digunakan dalam proses penyarian ada tiga jenis yaitu air, etanol 96%, dan air : etanol 96% (0,5:0,5). Senyawa fenolik dapat larut dalam air maupun pelarut organik yang polar (Robinson, 1995 : 57) dan flavonoid dalam tumbuhan dapat diekstraksi dengan air maupun etanol (Robinson, 1995 : 208). Senyawa fenolik yang ada dalam daun pandan wangi antara lain flavonoid, polifenol dan tanin. Ekstrak daun pandan wangi diuji secara kualitatif yaitu dengan mereaksikan ekstrak daun pandan wangi dengan reagen (FeCl_3 , $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$, serbuk Zn HCl, larutan gelatin) menggunakan metode kromatografi lapis tipis. Ekstrak daun pandan wangi bereaksi positif membentuk larutan berwarna dengan pereaksi tersebut dan warna noda pada lempeng KLT menunjukkan positif mengandung senyawa flavonoid jika bercak noda bewarna ungu setelah diamati lampu UV 254 nm dan berwarna kuning kecoklatan setelah diuapi ammonia. Hasil uji kualitatif bisa diamati pada tabel 1.

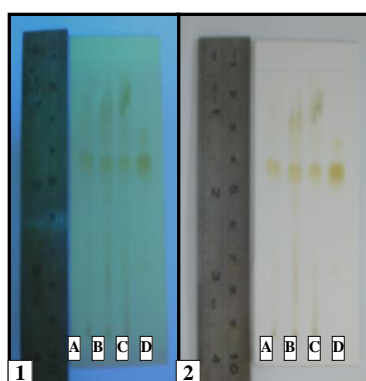
Uji kualitatif kromatografi lapis tipis, sebagai fase diam digunakan silika gel GF₂₅₄ dan menggunakan fase gerak *n* - butanol : asam asetat glasial : air (4 : 1 : 5) dengan jarak pengembangan 8 cm. Fase gerak dicampur, didiamkan 24 jam, dan diambil fase butanol. Sebagai pembanding digunakan rutin, karena rutin merupakan jenis flavonoid yang umumnya terdapat dalam tanaman dengan harga Rf yang

letaknya kira – kira berada di tengah

kromatogram (Harbone, 1987:74).

Tabel 1. Uji Kualitatif Ekstrak Daun Pandan Wangi

Uji Kualitatif	Pereaksi	Hasil Identifikasi			Ket
		Penyari air	Penyari etanol 96%	Penyari air : etanol 96% (0,5 : 0,5)	
Fenolik	FeCl ₃	Cokelat kehitaman	Hitam	Cokelat kehitaman	Positif
Polifenol	FeCl ₃ +K ₄ Fe(CN) ₆	Biru kehitaman	Biru kehitaman	Biru kehitaman	Positif
Flavonoid	Serbuk Zn+HCl	Merah muda	Merah muda	Merah muda	Positif
Tanin	Larutan gelatin	Endapan	Endapan	Endapan	Positif



Keterangan :

1 = Penampak noda : UV 254nm

2 = Penampak noda : uap ammonia

A = Baku Rutin

B = Sampel Ekstrak Air

C = Sampel Ekstrak Etanol 96% : Air (0,5 : 0,5)

D = Sampel Ekstrak Etanol 96%

Gambar 1. Kromatogram KLT Flavonoid Ekstrak Daun Pandan Wangi

Senyawa fenolik dan flavonoid terbukti secara kualitatif terdapat dalam ekstrak daun Pandan Wangi. Senyawa fenolik merupakan senyawa dalam tumbuhan dengan ciri memiliki cincin aromatik mengandung satu gugus hidroksil. Senyawa fenolik total dapat ditetapkan dengan metode Folin-Ciocalteu (Prior, *et al*, 2005 : 4297). Prinsip dari metode ini adalah reaksi reduksi oksidasi. Reagen Folin– Ciocalteu merupakan reagen pengoksidasi berupa larutan berwarna kuning. Senyawa fenolik dalam sampel akan dioksidasi oleh molybdotungstate yang merupakan komponen dari Folin–Ciocalteu membentuk senyawa berwarna biru. Reaksi antara senyawa fenolik dengan Folin–Ciocalteu berjalan lambat pada suasana asam, sehingga perlu penambahan natrium bikarbonat agar terbentuk suasana basa dan reaksi dapat berjalan lebih cepat. Penetapan kadar fenolik total digunakan baku resorsinol, karena merupakan senyawa fenolik dengan gugus OH posisi meta

yang tersedia dalam bentuk murni. Waktu operasi yang dilakukan pada baku resorsinol konsentrasi 1018 µg/ml menunjukkan intensitas warna stabil terjadi setelah menit ke – 70 pada panjang gelombang 745 nm.

Kadar Fenolik Total EkstrakDaun Pandan Wangi

Jenis Cairan Penyari	Kadar Fenolik Total	X ± SD
Air	18,9494	24,0004 ± 4,4385
	25,7736	
	27,2782	
Etanol 96%	436,5618	478,7629 ± 40,4679
	482,4869	
	517,2401	
Air : Etanol 96% (0,5 : 0,5)	152,3051	174,1391 ± 21,7584
	174,2910	
	195,8211	

Pada penelitian ini mengaplikasikan metode *simplex lattice design*, yaitu cara optimasi dengan megkombinasikan dua komponen yang dapat campur secara fisik dan tiap kombinasi selalu berjumlah satu. Komponen yang dikombinasikan adalah cairan penyari, yaitu air dan etanol 96%. Persamaan untuk dua komponen adalah

$$Y = a [A] + b [B] + ab [A][B].$$

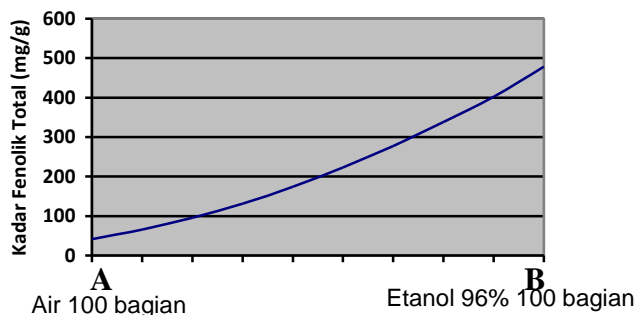
Dimana Y merupakan respon yang didapat dari kombinasi dua bahan penyari yaitu kadar

fenolik total (mg/gram ekstrak), A dan B adalah bagian komponen yang dicampurkan, sedangkan a dan b adalah koefisien yang diperoleh dari percobaan. Y sebagai kadar rata-rata fenolik total atau respon dalam menentukan persamaan dalam penentuan cairan penyari paling optimal, A komposisi air dan B komposisi etanol 96%. Dengan metode substitusi diperoleh persamaan *simplex lattice design* $Y = 24,0004 [A] + 478,7629 [B] - 308,9702 [A] [B]$

Kadar Fenolik Total Berdasarkan Persamaan *Simplex lattice Design*.

[A]	24,0004	+ [B]	478,7629	- [A][B]	308,9702	Kadar fenolik total (mg/g ekstrak)
1	24,0004	0	478,7629	0	308,9702	24,0004
0,9	24,0004	0,1	478,7629	0,09	308,9702	41,6693
0,8	24,0004	0,2	478,7629	0,16	308,9702	65,5177
0,7	24,0004	0,3	478,7629	0,21	308,9702	95,5454
0,6	24,0004	0,4	478,7629	0,24	308,9702	131,7525
0,5	24,0004	0,5	478,7629	0,25	308,9702	174,1391
0,4	24,0004	0,6	478,7629	0,24	308,9702	222,7050
0,3	24,0004	0,7	478,7629	0,21	308,9702	277,4504
0,2	24,0004	0,8	478,7629	0,16	308,9702	338,3752
0,1	24,0004	0,9	478,7629	0,09	308,9702	405,4793
0	24,0004	1	478,7629	0	308,9702	478,7629

Profil kadar fenolik total yang diperoleh dari persamaan *Simplex lattice design* menunjukkan bahwa ekstrak cairan penyari etanol 96% 100 bagian memiliki kadar senyawa fenolik yang paling tinggi dan ekstrak dengan cairan penyari air 100 bagian memiliki kadar senyawa fenolik yang paling rendah (Gambar 2).



Gambar2. Kurva Kadar Fenolik Total Ekstrak Daun Pandan Wangi

Berdasarkan persamaan *simplex lattice design* disimpulkan bahwa faktor air memberikan nilai respon kadar fenolik total sebesar 24,0004. Jumlah air yang menurun akan meningkatkan respon kadar fenolik total. Hal ini dapat dilihat dari nilai respon kadar fenolik total pada etanol

96% sebanyak 100% adalah 478,7629. Semakin besar komposisi etanol 96% maka kadar fenolik total juga akan meningkat. Selain fenolik total, flavonoid total juga digunakan sebagai parameter dalam optimasi cairan penyari.

Prinsip penetapan kadar flavonoid adalah adanya reaksi antara flavonoid dengan AlCl₃ kompleks berwarna kuning dan dengan penambahan NaOH akan membentuk senyawa kompleks berwarna merah muda yang diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal. Pengukuran flavonoid total diperoleh panjang gelombang maksimal 514 nm dan *operating time* pada menit 65. *Operating time* dilakukan dengan baku rutin konsentrasi 2028 µg/ml. Kadar flavonoid total dihitung dari persamaan regresi linier kurva baku rutin dan kadarnya dihitung sebagai mg/gram ekstrak.

Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Pandan Wangi

Jenis Cairan Penyari	Kadar Flavonoid Total (mg/g ekstrak)	X ± SD
Air	4,6782	4,6102 ± 0,1750
	4,4114	

Jenis Cairan Penyari	Kadar Flavonoid Total (mg/g ekstrak)	X ± SD
	4,7411	
Etanol 96%	95,4964	99,4086 ± 4,3047
	98,7094	
	104,0201	
Air : Etanol 96% (0,5 : 0,5)	32,7794	33,6216 ± 2,0279
	32,7794	
	35,9349	

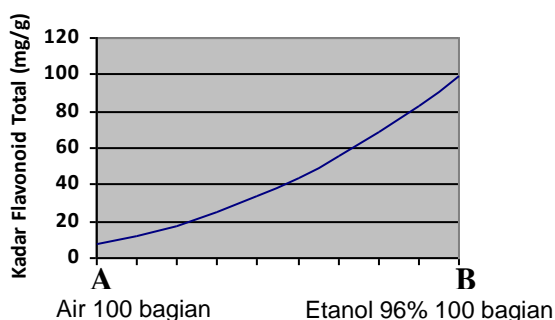
Optimasi dengan parameter kadar flavonoid total komponen yang dikombinasikan adalah air dan etanol 96%. Respon yang diukur adalah kadar flavonoid total. Persamaan *simplex lattice design* yang diperoleh pada perhitungan adalah $Y=4,6102 [A] + 99,4086 [B] - 33,6216 [A] [B]$.

Kadar Flavonoid Total Berdasarkan Persamaan Simplex Lattice Design

[A]	4,6102	+[B]	99,4086	-[A][B]	33,6216	Kadar flavonoid total (mg/g ekstrak)
1	4,6102	0	99,4086	0	33,6216	4,6102
0,9	4,6102	0,1	99,4086	0,09	33,6216	11,0641
0,8	4,6102	0,2	99,4086	0,16	33,6216	18,1904
0,7	4,6102	0,3	99,4086	0,21	33,6216	25,9892
0,6	4,6102	0,4	99,4086	0,24	33,6216	34,4604
0,5	4,6102	0,5	99,4086	0,25	33,6216	43,6040
0,4	4,6102	0,6	99,4086	0,24	33,6216	53,4200
0,3	4,6102	0,7	99,4086	0,21	33,6216	63,9085
0,2	4,6102	0,8	99,4086	0,16	33,6216	75,0695
0,1	4,6102	0,9	99,4086	0,09	33,6216	86,9028
0	4,6102	1	99,4086	0	33,6216	99,4086

Profil kadar flavonoid total yang diperoleh dari penelitian dengan menggunakan persamaan *simplex lattice design* menunjukkan kadar flavonoid total ekstrak cairan penyari air sebanyak 100 bagian memiliki kadar paling rendah. Ekstrak cairan penyari etanol 96% sebanyak 100 bagian memiliki kadar yang paling tinggi (Gambar 3).

Cairan penyari optimal ditentukan melalui nilai respon total yang paling besar. Respon pada masing-masing parameter dihitung dari kadar fenolik atau flavonoid dikali bobot. Kadar fenolik total diberi bobot 0,7 sebab senyawa fenolik merupakan golongan besar senyawa dalam daun pandan wangi, sehingga jumlah senyawa fenolik yang tinggi dalam ekstrak daun pandan wangi akan meningkatkan aktivitas farmakologinya. Kadar flavonoid total diberi bobot 0,3 sebab flavonoid hanya salah satu senyawa yang dikandung daun pandan wangi.



Gambar 3. Kurva Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Pandan Wangi

Respon total pada Tiap Kombinasi Cairan Penyari

A	B	Respon		Respon Total
		R ₁	R ₂	
1	0	16,80	1,38	18,18
0,9	0,1	29,17	2,24	31,41

A	B	Respon		Respon Total
		R ₁	R ₂	
0,8	0,2	45,86	3,54	49,40
0,7	0,3	66,88	5,28	72,16
0,6	0,4	92,23	7,46	99,69
0,5	0,5	121,89	10,09	131,98
0,4	0,6	155,89	13,15	169,04
0,3	0,7	194,22	16,66	210,88
0,2	0,8	236,86	20,60	257,46
0,1	0,9	281,74	24,99	306,73
0	1	335,13	29,82	364,95

Keterangan :

R₁ = respon pada parameter kadar fenolik total

R₂ = respon pada parameter kadar flavonoid total

pandan wangi dengan cairan penyari etanol 96% kemudian dihitung kadar fenolik dan flavonoid total. Nilai percobaan yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan perhitungan teoritis dari persamaan *Simplex lattice design*

dengan uji t. Persamaan berdasarkan *Simplex lattice design* dikatakan valid bila didapat kesimpulan tidak berbeda signifikan.

Hasil Uji t Pada Parameter Kadar Fenolik dan Flavonoid Total.

Parameter	Signifikasi		Kesimpulan
	Teori	Penelitian	
Kadar fenolik total	478,7629	475,4249	Tidak berbeda signifikan
Kadar flavonoid total	99,4086	97,5904	Tidak berbeda signifikan

Berdasarkan tabel diketahui bahwa antara teori dan percobaan kadar fenolik dan flavonoid total tidak berbeda signifikan. Harga signifikansi untuk parameter kadar fenolik dan flavonoid lebih besar dari 0,05, dimana nilai signifikansi untuk parameter kadar fenolik total 0,889 dan parameter kadar flavonoid total 0,772. Hasil tersebut menunjukkan bahwa persamaan *Simplex lattice design* dari tiap parameter adalah valid.

Kesimpulan

Simpulan dari penelitian ini adalah kadar fenolik total ekstrak daun pandan wangi penyari air 24,0004 mg/g ekstrak; etanol 96% 478,7629 mg/g ekstrak; air:etanol 96% (0,5:0,5) 308,9702 mg/g ekstrak. Kadar flavonoid total ekstrak daun pandan wangi penyari air = 4,6102 mg/g ekstrak; ekstrak penyari etanol 96% 99,4086 mg/g ekstrak; ekstrak penyari air:etanol 96% (0,5:0,5) 33,6216 mg/g ekstrak. Cairan penyari yang paling optimal dengan parameter kadar fenolik dan flavonoid adalah etanol 96%.

Daftar Pustaka

- Armstrong, N.A., and James, K. C. 1996. *Pharmaceutical Experimental Design and Interpretation*. USA : Taylor and Francis.
- Dalimartha, S. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid I. Ungaran : Trubus Agriwidya.
- Departemen Kesehatan RI. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta : Depkes RI.
- Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Cara Menganalisa Tumbuhan*. Diterjemahkan oleh Kosasih. Bandung : ITB Press.
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Diterjemahkan oleh Padmawinata, K. Bandung : ITB.
- Padda, S. M. 2006. Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Sweetpotatoes (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). *Disertasi*. Punjab :Punjab Agricultural University.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Diterjemahkan oleh Kosasih. Bandung : ITB.