

**PENETAPAN PARAMETER STANDARDISASI
NON SPESIFIK DAN SPESIFIK EKSTRAK
DAUN PACAR KUKU (*Lawsonia inermis* L.)**

**DETERMINATION OF NON SPECIFIC AND SPECIFIC
STANDARDIZATION PARAMETER OF
HENNA (*Lawsonia inermis* L.) LEAVES EXTRACT**

Zainab, Nanik Sulistyani, Anisaningrum
Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan
Email: zzanisa@gmail.com

ABSTRAK

Standardisasi ekstrak tumbuhan obat di Indonesia merupakan salah satu tahapan penting dalam pengembangan obat asli Indonesia. Daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) merupakan salah satu tanaman yang mengandung senyawa naftokuinon dengan berbagai aktivitas. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan standardisasi ekstrak daun pacar kuku sehingga diharapkan dapat digunakan sebagai acuan parameter standar mutu ekstrak karena standarisasi ekstrak pacar kuku belum tercantum di MMI dan FHI. Dalam penelitian ini penyarian ekstrak daun pacar kuku dilakukan menggunakan metode infundasi. Penetapan parameter non spesifik meliputi kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam dan cemaran mikroba dengan metode ALT. Penetapan parameter spesifik yaitu dengan mengetahui organoleptis ekstrak, profil KLT dan menetapkan kadar naftokuinon total menggunakan metode kromatografi lapis Tipis (KLT) dengan fase diam silika gel 60 F₂₅₄, fase gerak metanol : kloroform (2:8) dan analisis kuantitatif menggunakan densitometri pada panjang gelombang maksimal. Hasil standardisasi untuk parameter non spesifik menunjukkan kadar air (7,33±0,52% v/b), kadar abu total (6,43±0,25%), kadar abu tidak larut asam (0,106±0,004%), dan uji cemaran mikroba (85x10² CFU/g). Hasil untuk parameter spesifik menunjukkan organoleptis ekstrak (kental, warna coklat tua, rasa agak pahit dan berbau khas daun pacar kuku), dengan kandungan senyawa naftokuinon, kumarin, flavonoid, polifenol, alkaloid, dan kadar naftokuinon total (7,43±0,28%). Ekstrak daun pacar kuku sudah memenuhi persyaratan sesuai acuan standar Farmakope Herbal Indonesia tentang syarat ekstrak sebagai bahan baku sediaan obat tradisional.

Kata kunci : Ekstrak, pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.), parameter non spesifik, parameter spesifik

ABSTRACT

*Standardization of extracts of medicinal plants in Indonesia is one of the important stages in the development of original drugs Indonesia. Leaves of henna (*Lawsonia inermis* L.) is one of the plants that contain of naphthoquinone*

compounds with various activities. In this research, the lack of standardization of the extracts of leaves of henna. Because in this case, the raw material crude drugs and extracts of henna leaves is not listed in the monograph official publication of the Ministry of Health (Materia Medika Indonesia and medicinal plant extract Monograph). Therefore, it is expected to do the determination of standardizing parameters henna leaves extract can be used as a reference as a parameter extracts quality standards. In this research henna leaf extract made with infundation method. Determination of non-specific parameters includes moisture content, total ash, acid insoluble ash content and microbial contamination with ALT method. Determination of specific parameters by organoleptic extract, TLC profile and naphthoquinone content using thin layer chromatography (TLC) with the stationary phase silica gel 60 F254, the mobile phase of methanol: chloroform (2:8) and quantitative analysis using densitometry which scan spectra at maximum wavelength. The result of standardization for non-specific parameter shows moisture content ($7.33 \pm 0.52\%$ v/w), total ash content ($6.43 \pm 0.25\%$), acid insoluble ash content ($0.106 \pm 0.004\%$), and microbial contamination test (85×10^2 CFU/g). Results for specific parameter showed organoleptic extract (thick, dark brown color, bitter taste, no smell), with a compound naphthoquinone, coumarin, flavonoids, polyphenols and alkaloids, and the levels of total naphthoquinone ($7.43 \pm 0.28\%$). Henna leaf extract has met the requirements according to the standard reference for Farmakope Herbal Indonesia of the terms extract as a raw material preparation of traditional medicine.

Keywords : *Extract, henna leaves (Lawsonia inermis L.), non-specific parameter, specific parameter.*

PENDAHULUAN

Di Indonesia terdapat lebih dari 30.000 jenis tumbuhan dan lebih dari 1.000 jenis tumbuhan obat telah dimanfaatkan dalam industri obat tradisional sebagai jamu, obat herbal terstandar, ataupun fitofarmaka. Obat tradisional dibuat dalam bentuk ekstrak kental atau ekstrak cair yang proses pembuatannya disesuaikan dengan bahan aktif yang terkandung serta tujuan penggunaannya, dan ekstrak tersebut harus pula terstandarisasi untuk menjamin mutu dan keamanannya (Hariyati, 2005).

Beberapa kandungan golongan senyawa dalam tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai obat diantaranya adalah flavonoid, kumarin, lawson, tanin dan saponin. Senyawa lawson sendiri mempunyai potensi tinggi sebagai antioksidan dan secara simultan dapat menghambat toksisitas oksidatif (Guha *et al.*, 2013). Selain itu, lawson juga memiliki aktivitas antimikroba yang luas termasuk di dalamnya sebagai antibakteri, antiviral, antimikotik dan antiparasit (Babu *and* Subhasree, 2009). Salah satu tanaman Indonesia yang dapat

dimanfaatkan untuk tujuan tersebut adalah daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.). Daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) memiliki kandungan kimia yang bermanfaat untuk pengobatan antara lain yaitu lawson (*2-hydroxy-1,4-naphthoquinone*), flavonoid (luteolin, apigenin dan glikosida), kumarin (esculetin, fraxetin, scopoletin), tanin dan saponin (Borade *et al.*, 2011; Chaundary *et al.*, 2010). Hasil penelitian Zainab (2013), ekstrak air daun pacar kuku mempunyai potensi aktivitas biologi yang tinggi, hal ini dikarenakan salah satunya adanya kandungan naftokuinon dalam ekstrak tersebut. Adapun ekstrak daun pacar kuku dengan kandungan naftokuinon memiliki potensi aktivitas biologi yang tinggi, maka untuk memperoleh ekstrak yang berkualitas perlu adanya penetapan parameter standardisasi ekstrak meliputi parameter non spesifik dan spesifik yaitu kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, uji cemaran mikroba, organoleptis ekstrak, uji kualitatif serta kuantitatif kandungan senyawa dalam ekstrak (Anonim, 2000; Anonim, 2008). Hasil penelitian penetapan parameter standardisasi ekstrak daun pacar kuku ini diharapkan dapat dijadikan acuan sebagai parameter standar mutu ekstrak dalam menunjang kesehatan karena belum tercantum dalam buku *Materia Medika Indonesia* dan *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat*.

METODE PENELITIAN

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah inkubator, oven, timbangan analitik (AND GR 202), eksikator, krus porselin, tanur (Ney Vulcan D130), aluminium foil, kertas saring, densitometer (Camag TLC Scanner 3), alat infundasi meliputi panci infusa, penangas air, waterbath (Memmerth), termometer, corong buchner (pyrex-iwaki), penggaris, kamera. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.), standar Lawson p.a (Aldrich), media MH, NaCl 0,9%, methanol p.a (E-Merck), kloroform p.a (E-Merck), akuades, pereaksi FeCl₃ p.a (E-Merck), pereaksi AlCl₃ p.a (E-Merck), toluena p.a (E-Merck), asam klorida encer p.a (E-Merck), pereaksi Dragendrof, dan KOH 10% dalam etanol p.a (E-Merck).

Jalannya Penelitian

A. Determinasi Tanaman

Identifikasi tanaman/determinasi dilakukan untuk memastikan bahan yang digunakan benar-benar daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.). Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta dengan buku acuan *Flora of Java* karangan Backer and Van (1965).

B. Pengumpulan Bahan

Daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) diperoleh dari Celeban Baru Yogyakarta, pada bulan Oktober 2015.

C. Pembuatan Ekstrak Daun Pacar Kuku

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara infundasi. Serbuk simplisia daun pacar kuku yang telah kering, ditimbang sebanyak 100 g dibasahi dengan akuades sebanyak 200 mL kemudian diinfundasi dengan menggunakan 900 mL akuades ke dalam panci selama 15 menit setelah mencapai suhu 90°C, diuapkan di atas *waterbath* pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental.

D. Parameter Organoleptis

Untuk mengetahui organoleptis dari ekstrak daun pacar kuku, digunakan panca indera untuk mendeskripsikan bentuk, bau, rasa dan warna.

E. Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air pada penelitian ini menggunakan cara destilasi toluen, yaitu ekstrak ditimbang sebanyak 5 g dan dimasukkan ke dalam labu, kemudian dimasukkan lebih kurang 200 mL toluen P yang sudah dijenuhkan 18-24 jam ke dalam labu dan alat dihubungkan dan dilakukan destilasi sampai adanya pemisahan antara air dan toluen.

F. Penetapan Kadar Abu Total

Kadar abu ekstrak daun pacar kuku ditetapkan dengan metode gravimetri. Ditimbang sebanyak 2 g ekstrak daun pacar kuku ke dalam krus yang telah ditimbang sebelumnya, kemudian dipijarkan bertahap hingga suhu 600±25°C.

G. Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Asam

Abu yang diperoleh dididihkan dengan 25 mL asam klorida encer selama 5 menit. Pengumpulan bagian yang tidak larut asam, disaring melalui kertas saring

bebas abu, dicuci dengan air panas. Abu yang tersaring dan kertas saringnya dimasukkan kembali dalam krus silikat yang sama, dipijarkan secara perlahan-lahan dalam krus (dengan suhu dinaikkan secara bertahap hingga $600 \pm 25^\circ\text{C}$, kemudian ditimbang hingga bobot tetap (Anonim, 2000).

H. Uji Cemaran Mikroba dengan Metode Angka Lempeng Total

Sampel ekstrak 0,5 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 4,5 mL NaCl 0,9% steril (pengenceran 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10.000 dengan NaCl 0,9% steril). Dimasukkan ke dalam lemari inkubator suhu 37°C selama 18-24 jam, dihitung koloni yang tumbuh.

I. Optimasi Fase Gerak

Fase diam silika gel 60 F₂₅₄ terlebih dahulu dipanaskan pada suhu $105-110^\circ\text{C}$ selama 1 jam. Ekstrak daun pacar kuku dengan konsentrasi 20% ditotolkan sebanyak 5 μL pada fase diam, kemudian dielusi dengan fase gerak kloroform : metanol 8:2 (Fatmawati, 2015) dan komposisi yang kedua kloroform : metanol 7:3 (Zainab, 2013).

J. Penentuan Profil dan Uji Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak daun pacar kuku konsentrasi 20% ditotolkan sebanyak $\pm 5 \mu\text{L}$ pada fase diam, kemudian dielusi dengan fase gerak kloroform : metanol (8:2). Plate KLT yang sudah dielusi dideteksi pada sinar UV 254 nm dan UV 365 nm kemudian dihitung R_f masing-masing. Bercak diidentifikasi dengan pereaksi semprot KOH 10% dalam etanol (naftokuinon dan kumarin), FeCl₃ (fenol), AlCl₃ (flavonoid), dan pereaksi Dragendrof untuk alkaloida (Harborn, 2006; Stahl, 1985).

K. Pengukuran Kadar Naftokuinon Total Secara Densitometri

1. Pembuatan Standar Lawson

Ditimbang serbuk standar lawson sebanyak 20,0 mg, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a sampai 10,0 mL. Dibuat seri larutan kurva baku dengan pengenceran menggunakan metanol p.a hingga konsentarsi 0,125; 0,25; 0,5; 0,75 dan 1,0 mg/mL.

2. Pembuatan Sampel Larutan Uji dengan Konsentrasi 50 mg/mL

Ditimbang ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) sebanyak 250,0 mg dilarutkan dengan akuades hingga 5 mL. Pembuatan sampel larutan uji dilakukan sebanyak 5 kali replikasi.

3. Kromatografi Lapis Tipis

Ditotolkan masing-masing 1 μL larutan deret standar (0,125; 0,25; 0,5; 0,75 dan 1,0 mg/mL) dan larutan uji 5 μL (50 mg/mL) dengan 5 kali replikasi pada lempeng kromatografi lapis tipis (KLT) silika gel 60 F₂₅₄, kemudian dielusi dengan fase gerak metanol : kloroform (2:8).

4. Pengukuran Kadar Lawson Secara Densitometri

Bercak yang muncul pada fase diam dari larutan standar Lawson dan ekstrak sampel pada R_f yang sama, kemudian *discanning* dengan densitometer pada panjang gelombang serapan maksimal sehingga dapat diketahui harga R_f sesungguhnya, luas area dan persamaan regresi linier, dihitung kadar (%).

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman

Berdasarkan hasil determinasi dapat dipastikan bahwa tumbuhan yang digunakan adalah benar-benar tumbuhan pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.).

B. Pengumpulan dan Pembuatan Simplisia

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pacar kuku yang tua, segar, dan tidak terkena penyakit yang diperoleh dari Celeban Baru, Umbulharjo, Yogyakarta bulan Oktober 2015.

C. Hasil Pembuatan Ekstrak Daun Pacar Kuku

Proses ekstraksi pada penelitian ini menggunakan metode infundasi karena beberapa kandungan senyawa kimia daun pacar kuku bersifat polar seperti glikosida naftokinon, glikosida flavonoid dan lain-lain sehingga kandungan zat aktif yang larut dalam air tersebut akan tersari dengan baik. Penyarian dengan cara infundasi ini mudah digunakan oleh masyarakat karena pembuatan infusa ini dengan cara direbus saja. Hasil rendemen ekstrak pacar kuku tersaji pada Tabel I.

Tabel I. Hasil rendemen ekstrak daun pacar kuku

Bobot serbuk simplisia (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (%)
300,04	65,30	21,76

D. Hasil Penetapan Parameter Non Spesifik Ekstrak Daun Pacar Kuku

Penetapan Parameter non spesifik ekstrak secara umum dilakukan terhadap kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, dan cemaran mikroba dalam ekstrak. Organoleptis ekstrak dan simplisia bertujuan sebagai pengenalan awal yang sederhana seobyektif mungkin menggunakan panca indera dengan mendiskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa (Anonim, 2000; Anonim 2008). Hasil parameter organoleptis ekstrak daun pacar kuku tersaji pada Tabel II.

Tabel II. Hasil penetapan parameter standarisasi non spesifik ekstrak daun pacar kuku

Parameter uji	Hasil
Kadar air (% v/b)	7,33±0,52
Kadar abu (%)	6,43±0,25
Kadar abu tidak larut asam (%)	0,106±0,004
Cemaran mikroba (CFU/g)	8,5x10 ³

Berdasarkan hasil yang terlihat pada Tabel II, kadar air ekstrak daun pacar kuku yang diperoleh 7,33±0,52% v/b atau kurang dari 10% sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun pacar kuku yang digunakan memenuhi persyaratan standar. Kadar air dalam ekstrak kurang dari 10% dapat meminimalisir tumbuhnya jamur dan kapang serta menghasilkan daya tahan penyimpanan dan mutu ekstrak daun pacar kuku tetap baik.

Penetapan kadar abu total dapat digunakan untuk memberikan gambaran kandungan mineral ekstrak, mulai dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak, sehingga parameter kadar abu total terkait dengan kemurnian dan kontaminasi suatu ekstrak (Anonim, 2000). Pada hasil penelitian ini diperoleh kadar abu total sebesar 6,43±0,25%, artinya kandungan anorganik di dalam ekstrak masih terlalu tinggi karena melebihi kadar abu ekstrak yang baik yaitu 5%. Tetapi hasil kadar abu ini masih lebih rendah bila dibandingkan dengan hasil penelitian Jain *et al.*, 2010 yaitu sebesar 14,60%. Kadar abu tidak larut asam yang diperoleh pada

penelitian ini adalah $0,106 \pm 0,004\%$, dapat disimpulkan bahwa tingkat kontaminasi mineral atau logam yang tidak larut asam dalam suatu ekstrak maupun simplisia masih rendah.

Hasil uji cemaran mikroba diperoleh $8,5 \times 10^3$ CFU/g, hasil tersebut masih tergolong di bawah batas maksimum cemaran mikroba, yaitu syarat cemaran mikroba tidak lebih dari 10^4 koloni/g (BPOM, 2006).

E. Hasil Penetapan Parameter Spesifik Ekstrak Daun Pacar Kuku

Penetapan parameter spesifik ekstrak daun pacar kuku dilakukan terhadap organoleptis, profil kromatografi lapis tipis untuk melihat golongan senyawa kimia dan penetapan kadar naftokinon yang terdapat dalam ekstrak.

F. Hasil Uji Organoleptis Ekstrak

Uji organoleptis ekstrak yang dilakukan meliputi bentuk, warna, bau dan rasa. Uji ini dilakukan agar diperoleh gambaran awal dari ekstrak yang dihasilkan. Hasil uji organoleptis ekstrak dapat dilihat pada Tabel III.

Tabel III. Hasil uji organoleptis ekstrak daun pacar kuku

Parameter uji	Hasil
Organoleptis ekstrak :	
a. Bentuk	Kental
b. Warna	Coklat tua
c. Bau	Bau khas daun pacar kuku
d. Rasa	Agak pahit

G. Hasil Penentuan Profil dan Uji Kromatografi Lapis Tipis

Uji identifikasi dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) dan hasil identifikasi naftokinon, polifenol, alkaloid, kumarin dan flavonoid tersaji pada Tabel IV, V, VI, VII dan VIII.

Hasil data pada Tabel IV dapat dilihat bahwa terdapat 1 bercak standar lawson dengan Rf 0,38, dan 6 bercak sampel dengan Rf 0,10; 0,21; 0,38; 0,53; 0,69 dan 0,81. Bercak sampel no 1,2, dan 3 dengan Rf 0,10; 0,21; 0,38 menunjukkan ciri bercak naftokinon karena terjadi pepadaman di bawah sinar UV 254 nm, berfluoresensi merah kecoklatan pada UV 365 nm dan bila disemprot dengan KOH 10% terdapat bercak berwarna orange atau coklat kemerahan

(Wagner *and* Bladt, 1996). Berdasarkan hal tersebut maka dapat disimpulkan bahwa di dalam ekstrak daun pacar kuku memiliki kandungan naftokuinon.

Tabel IV. Hasil identifikasi naftokuinon secara KLT

Totalan	Deteksi					Keberadaan naftokuinon
	Rf	UV 254	UV 365	UV 365+KOH 10%	Visibel + KOH 10%	
Ekstrak	0,10	Pemadaman	Biru	Merah kecoklatan	Kuning orange	+
	0,21	Pemadaman	Biru	Merah kecoklatan	Kuning orange	+
	0,38	Pemadaman	Biru	Merah kecoklatan	Kuning orange	+
	0,53	Pemadaman	Kuning	Biru	Kuning	-
	0,69	Pemadaman	Biru	Biru	Kuning	-
	0,81	Pemadaman	Biru	Biru	Kuning	-
Naftokuinon	0,38	Pemadaman	Biru	Merah kecoklatan	Kuning orange	+

Tabel V. Hasil identifikasi polifenol secara KLT

Totalan	Deteksi				Keberadaan polifenol
	Rf	UV 254	UV 365	Visibel + FeCl ₃	
Ekstrak	0,13	Pemadaman	Biru	Hijau kehitaman	+
	0,23	Pemadaman	Biru	Hijau kehitaman	+
	0,38	Pemadaman	Biru	Hijau kehitaman	+
	0,50	Pemadaman	Kuning	Hijau kehitaman	+
	0,69	Pemadaman	Biru	Hijau kehitaman	+
	0,81	Pemadaman	Biru	Hijau kehitaman	+
Quersetin	0,51	Pemadaman	Kuning	Hijau kehitaman	+

Hasil data Tabel V dapat dilihat bahwa terdapat 1 bercak standar dengan Rf 0,51, dan 6 bercak sampel dengan Rf 0,13; 0,23; 0,38; 0,50; 0,69 dan 0,81 menunjukkan pemadaman di bawah sinar UV 254 nm, berfluoresensi biru pada UV 365 nm, bila disemprot dengan FeCl₃ terdapat bercak berwarna hijau

kehitaman pada sinar tampak. Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa didalam ekstrak daun pacar kuku memiliki kandungan polifenol. Harga Rf menunjukkan bahwa terdapat senyawa polifenol pada uji KLT. Harga Rf ekstrak yang mendekati standar yaitu 0,50, jadi dapat disimpulkan bahwa di dalam ekstrak daun pacar kuku mengandung polifenol.

Tabel VI. Hasil identifikasi alkaloid secara KLT

Totolan	Deteksi				Keberadaan alkaloid
	Rf	UV 254	UV 365	Visibel + Dragendrof	
Ekstrak	0,13	Pemadaman	Biru	Coklat	-
	0,24	Pemadaman	Biru	Coklat	-
	0,39	Pemadaman	Biru	Coklat	-
	0,53	Pemadaman	Kuning	Coklat	-
	0,69	Pemadaman	Biru	Kuning	-
	0,84	Pemadaman	Biru	Orange	+
Piperin	0,84	Pemadaman	Biru	Orange	+

Pada Tabel VI terdapat 1 bercak standar piperin (Rf 0,84) dan 6 bercak sampel (Rf 0,13; 0,24; 0,39; 0,53; 0,69; 0,84). Pada bercak sampel ekstrak daun pacar kuku Rf 0,84 menunjukkan pemadaman di bawah sinar UV 254 nm, berwarna orange kecoklatan dan kuning muda pada sinar visibel serta berfluoresensi biru di bawah sinar UV 365 nm yang karakteristiknya sama dengan standar piperin. Berdasarkan hal tersebut maka dapat disimpulkan bahwa di dalam ekstrak daun pacar kuku terdapat kandungan alkaloid.

Hasil data Tabel VII bahwa terdapat 1 bercak standar dengan Rf 0,83, dan 6 bercak sampel dengan Rf 0,13; 0,24; 0,39; 0,54; 0,69; dan 0,81. Pada bercak sampel ekstrak daun pacar kuku menunjukkan warna kuning kecoklatan pada sinar tampak dan pemadaman di bawah sinar UV 254 nm dan bercak nomor 6 (Rf 0,81) menunjukkan fluoresensi biru intensif setelah disemprot KOH 10% di bawah sinar UV 365 nm. Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa di dalam ekstrak daun pacar kuku memiliki kandungan kumarin. Harga Rf ekstrak mendekati standar yaitu 0,81, jadi dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun pacar kuku mengandung kumarin.

Tabel VIII. Hasil identifikasi kumarin secara KLT

Totalan	Deteksi					Keberadaan kumarin
	Rf	UV 254	UV 365	UV 365+FeCl ₃	Visibel+ KOH 10%	
Ekstrak	0,13	Padam	Fluoresensi Biru	Biru	Kuning	-
	0,24	Padam	Fluoresensi Biru	Biru	Kuning	-
	0,39	Padam	Fluoresensi Biru	Biru	Kuning	-
	0,54	Padam	Fluoresensi Biru	Biru	Kuning	-
	0,69	Padam	Fluoresensi Biru	Biru	Kuning	-
	0,81	Padam	Fluoresensi Biru	Fluoresensi biru intensif	Kuning	+
Kumarin	0,83	Padam	Fluoresensi Biru	Fluoresensi biru intensif	Kuning	+

Tabel VIII. Hasil identifikasi flavonoid secara KLT

Totalan	Deteksi				Keberadaan flavonoid
	Rf	UV 254	UV 365	Visibel + AlCl ₃	
Ekstrak	0,13	Pemadaman	Biru	Kuning orange	-
	0,23	Pemadaman	Biru	Kuning orange	-
	0,39	Pemadaman	Biru	Kuning orange	-
	0,51	Pemadaman	Kuning	Kuning	+
	0,69	Pemadaman	Biru	-	-
	0,81	Pemadaman	Biru	-	-
Quersetin	0,51	Pemadaman	Kuning	Kuning	+

Hasil data Tabel VIII terdapat 1 bercak standar dengan Rf 0,51, dan 6 bercak sampel dengan Rf 0,13; 0,23; 0,39; 0,51; 0,69; dan 0,81. Bercak no 4 (Rf 0,51) menunjukkan pemadaman di bawah sinar UV 254 nm dengan latar belakang hijau, di bawah sinar UV 365 nm berfluoresensi kuning dan setelah disemprot dengan AlCl₃ berwarna kuning. Berdasarkan hal tersebut maka dapat disimpulkan ekstrak daun pacar kuku memiliki kandungan flavonoid.

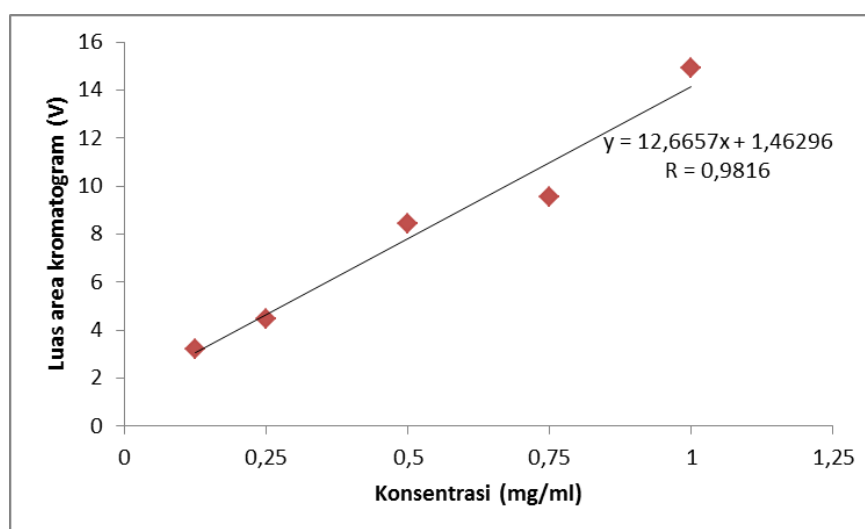
Berdasarkan hasil uji KLT menunjukkan bahwa dalam ekstrak daun pacar kuku mengandung naftokuinon, kumarin, flavonoid, polifenol, dan alkaloid, sedangkan hasil penelitian Jubaidah (2006) menyebutkan pada hasil hidrolisis infusa daun pacar kuku mengandung senyawa golongan naftokinon dan flavonoid.

H. Hasil Pengukuran Kadar Naftokuinon Total secara Densitometri

Data yang diperoleh yaitu panjang gelombang absorbansi maksimum untuk standar lawson adalah 268 nm sedangkan untuk panjang gelombang absorbansi maksimum untuk sampel ekstrak daun pacar kuku adalah 285 nm pada Rf sampel 0,38 dan Rf standar 0,39. Range panjang gelombang absorbansi maksimum untuk senyawa naftokuinon muncul pada 264-340 nm (Rene, 2005). Hal tersebut menunjukkan bahwa bercak sampel dengan Rf 0,38 adalah senyawa lawson. Data luas area kromatogram tersaji pada Tabel IX.

Tabel IX. Data luas area kromatogram untuk kurva baku

Konsentrasi (mg/mL)	Luas Area Kromatogram (V)	Persamaan garis
0,125	3,2201	
0,250	4,4792	
0,500	8,4343	$y = bx + a$
0,750	9,5271	$R = 0,9816$
1,000	14,9016	$y = 12,6657x + 14,6296$



Gambar 1. Persamaan regresi linier konsentrasi standar dan absorbansi

Berdasarkan teori untuk $n = 5$ dengan taraf kepercayaan 95% maka harga $r_{tabel} = 0,8783$, karena $r_{hitung} 0,9816 > r_{tabel} 0,8783$ maka ada korelasi atau hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi. Data pada Tabel X menunjukkan bahwa kadar rata-rata naftokuinon ekstrak daun pacar kuku yaitu 7,43%. Pada penelitian pendahuluan oleh Zainab (2010) diperoleh kadar naftokuinon serbuk simplisia daun pacar kuku sebesar 1,36% dengan metode maserasi menggunakan air. Perbedaan kadar naftokuinon yang diperoleh tersebut dapat disebabkan karena metode ekstraksi yang digunakan berbeda, dalam penelitian Zainab (2010) proses ekstraksi yang digunakan menggunakan air dingin, sedangkan dalam penelitian ini digunakan air panas, sehingga naftokuinon lebih banyak terekstrak dengan metode infundasi.

Tabel X. Data luas area kromatogram sampel dan kadar

Replikasi	Berat ekstrak (gram)	Luas Area Kromatogram (V)	Kadar naftokuinon % (b/b)
1	0,250	10,8679	7,43
2	0,250	11,0896	7,60
3	0,250	11,0365	7,56
4	0,250	11,1865	7,68
5	0,250	10,2012	6,90
	\bar{X} (%)		7,43
	CV (%)		4,20
	SD		0,31
	LE		0,28

KESIMPULAN

Parameter non spesifik ekstrak daun pacar kuku meliputi kadar air ($7,33 \pm 0,52\%$ v/b), kadar abu total ($6,43 \pm 0,25\%$), kadar abu tidak larut asam ($0,106 \pm 0,004\%$), dan uji cemaran mikroba ($8,5 \times 10^3$ CFU/g). Parameter spesifik ekstrak daun pacar kuku secara organoletik ekstrak adalah ekstrak kental yang berwarna coklat tua, berasa agak pahit dan bau khas daun pacar kuku. Ekstrak daun pacar kuku mengandung senyawa naftokuinon, kumarin, flavonoid, polifenol, dan alkaloid. Kadar naftokuinon ekstrak daun pacar kuku sebesar $7,43 \pm 0,29\%$.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada LPP UAD yang telah memberikan dukungan dana penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang memberikan dukungan hingga penelitian ini dapat terselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Edisi I, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Babu, D.P. and Subhasree R.S., 2009, Antimicrobial Activities of *Lawsonia inermis*, *Academic Journal of Plant Sciences*, **2** (4): 231-232.
- Backer, C.A. and Van Den Brink Jr., R.C.B., 1965, *Flora of Java*, Published under The Auspices of The Rijksherbarium, Leyden, **1**: 251-256.
- BPOM, 2006, *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat* Vol. 2, BPOM, Jakarta.
- Borade, A.S., Babasaheb, N., Kale and Shete, R.R.V., 2011, A Phytopharmacological review on *Lawsonia inermis* (Linn.), *International Journal of Pharmacy and Life Sciences*, **2** (1): 536-541.
- Chaundhary, G., Goyal, S., and Poonia, P., 2010, *Lawsonia inermis* Linnaeus: A Phytopharmacological Review, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, **2** (2): 91-98.
- Fatmawati A., 2015, Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Etil Asetat Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* L.) dengan Metode Fosfomolibdat, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.
- Guha, G., Rajkumar, V., and Mathew, L., 2009, Antioxidant Activity of *Lawsonia inermis* Extract Inhibits Chromium (VI) Induced Cellular and DNA Toxicity, *eCAM*.
- Harborne, J.B., 2006, *Metode Fitokimia Edisi ke-2*, Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Bandung : Penerbit ITB.
- Hariyati, S., 2005, Standardisasi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia, Salah Satu Tahapan Penting dalam Pengembangan Obat Asli Indonesia, *Info POM*, **6** (4): 1-5.

- Jain, V.C., Shah, D.P., Sonani, N.G., Dhakara, S. and Patel, N.M., 2010, Pharmacognostical and Preliminary Phytochemical Investigation of *Lawsonia inermis* L. Leaf, *Rom.J.Biol-Plant Biol.*, Bucharest, **55** (2): 127-133.
- Jubaidah, S., 2006, Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara *In Vitro* serta Profil Kromatogramnya, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.
- Rene, 2005, *Environmental Organic Chemistry*, Cetakan Kedua, Wiley, 620.
- Stahl, E., 1985, *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi*, Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro), Bandung: ITB Press.
- Wagner, H. and Blatt, S., 1996, *Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas*, 2nd ed., Spinger-Verlag Berlin Heidelberg, 6, 54, 126, 196, 275.
- Zainab, 2010, Pengaruh Konsentrasi Etanol sebagai Pelarut Pengekstraksi terhadap Kadar Naftokinon dalam Ekstrak Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* L.), *Pharmaciana*, **3** (2): 63-68.
- Zainab, 2013, TLC Screening for Antioxidant Activity of Henna (*Lawsonia inermis* L.) Leaf Extract, *International Proceeding of SMCCR*.