

**PENGARUH KONSENTRASI ETANOL SEBAGAI PELARUT
PENGEKSTRAKSI TERHADAP KADAR NAFTOKINON DALAM
EKSTRAK DAUN PACAR KUKU (*Lawsonia inermis* L.)**

**CONCENTRATION EFFECT OF ETHANOL AS A SOLVENT
EXTRACTION ON NAPHTHOQUINONE CONTENT IN HENNA
LEAVES EXTRACT (*Lawsonia inermis* L.)**

Zainab

*Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta
Jl. Prof. Dr. Soepomo, Yogyakarta, Telp. (0274) 379418
Email : zzanisa@gmail.com*

Abstrak

Kualitas ekstrak dapat dipengaruhi oleh komponen dan kadar dari senyawa-senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak. Macam dan banyaknya senyawa kimia terlarut dalam proses ekstraksi sangat dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pelarut terhadap kadar naftokinon dalam sari daun Pacar Kuku. Penyarian dilakukan secara maserasi selama 1 jam dengan pelarut air, etanol 50%, 70%, 90% dan 95%v/v terhadap serbuk kering daun Pacar Kuku. Sari yang diperoleh dibuat konsentrasi 5%b/v dan ditotolkan masing-masing 5 µl pada lempeng silika gel F 254 dan dielusi dengan fase gerak campuran kloroform – metanol (17:3). Bercak yang terbentuk kemudian discanning spektra dan dihitung luas area dengan KLT densitometri pada panjang gelombang maksimum. Hasil kesamaan bercak menunjukkan pada Rf 0,31 mempunyai spektra yang mirip dengan standard naftokinon dan panjang gelombang maksimal yang sama yaitu pada 279 nm. Hasil optimasi menunjukkan pelarut yang paling banyak menyari naftokinon dari daun Pacar Kuku adalah etanol 50%v/v dengan kadar (1,43 ± 0,1942)%b/v.

Kata kunci : *Lawsonia inermis* L, naftokinon, KLT Densitometri.

Abstract

The extract quality can be affected by the components and concentration of chemical compounds contained in the extract. Type and quantities of chemical compounds that are dissolved in the extraction process is strongly influenced by the solvent extraction. The aim of this study is to determine the effect of concentration of ethanol as solvent extraction on naphthoquinone content in Henna leaves extract. The extraction method was done by maceration for one hours with water, ethanol 50 %, 70 %, 90 % and 95 % v/v solvens of the dried Henna leaves powder. Each macerate was made 5 % w/v concentration and than was spotted 5 μ L on plate of silica gel F 254 and eluted with mixture of chloroform - methanol (17:3 v/v) as mobile phase. The spots on chromatogram were scanning and measured the area under curve with TLC densitometer at maximum wave lenth. The results showed that spot at Rf 0.31 had similar spectra with naphthoquinone standard and same maximum wavelength at 279 nm. The result of solvent optimization indicated that the best solvent extraction for Henna leaves was ethanol 50 % v/v with the highest naphthoquinone contentat 1.43 ± 0.1942 % w/v .

Keywords: *Lawsonia inermis* L, naphthoquinone, TLC Densitometer

PENDAHULUAN

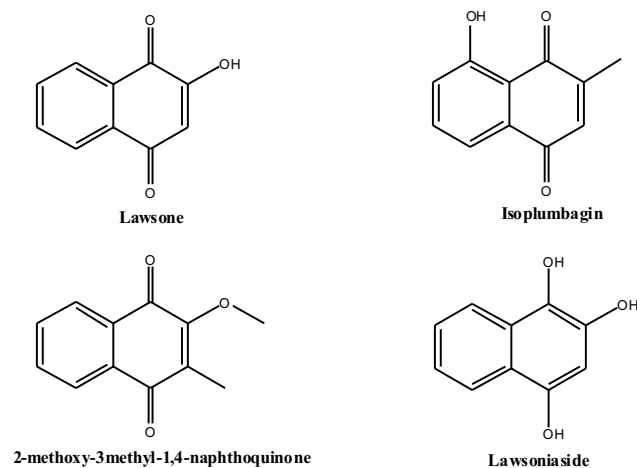
Selain digunakan sebagai pewarna *Lawsonia inermis* L. juga mempunyai banyak aktivitas biologi. Ekstrak air dan ekstrak metanol daun Pacar Kuku mempunyai potensi tinggi sebagai antioksidan dan secara simultan dapat menghambat toksisitas oksidatif sel MDA-MB-435S dan pBR322 DNA yang diinduksi Cr(VI) (Guha *et.al.*, 2009). Aktivitas antioksidan ekstrak metanol lebih tinggi daripada ekstrak air. Hal ini sebanding dengan total senyawa fenol yang terekstraksi dengan pelarut metanol lebih besar daripada ekstrak air yaitu 2,56 mg/g dan 1,45 mg/g dihitung sebagai tannin dengan metode Folin-Ciocalteu (Hosein & Zinab, 2007). Tanaman Pacar Kuku mempunyai aktivitas antimikroba yang luas termasuk di dalamnya sebagai antibakteri, antiviral, antimikotik dan antiparasit (Babu & Subhasree, 2009). Ekstrak kloroform dapat menghambat pertumbuhan *Malassezia* pada konsentrasi 3 dan 4 (v/v%), ekstrak metanol pada 0,25 dan 3 (v/v%) sedangkan ekstrak air pada 0,25 dan 0,5 (v/v%) (Berenji, *et.al.*, 2010).

Ekstrak metanol dan air dari daun Pacar Kuku mempunyai potensi aktivitas biologi yang tinggi, hal ini dikarenakan salah satunya adanya kandungan naftokinon dalam ekstrak tersebut. Maka untuk menghasilkan ekstrak daun Pacar Kuku yang berkualitas dilihat dari potensi aktivitas biologi yang ditimbulkan dapat digunakan parameter kadar naftokinon dalam ekstrak. Kualitas ekstrak yang dihasilkan sangat tergantung dari bahan tanaman, pemilihan pelarut dan metode ekstraksi (Anonim, 2000).

Ekstraksi menggunakan pelarut etanol atau metanol biasa digunakan untuk mengekstraksi kandungan kimia tanaman yang berupa komponen

aromatik atau komponen organik jenuh. Umumnya pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi komponen yang aktif sebagai antimikroba digunakan pelarut metanol, etanol dan air (Das, *et.al.*, 2010). Pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi simplisia pada industri obat tradisional menggunakan etanol, air atau campuran etanol-air.

Berdasarkan uraian di atas maka pada ekstraksi daun Pacar Kuku digunakan pelarut etanol dan campuran etanol-air untuk menghasilkan ekstrak dengan kandungan naftokinon yang tinggi. Data yang akan diungkap dari penelitian ini penting artinya untuk memberi landasan yang kuat dan rasional pada proses ekstraksi daun Pacar Kuku sebagai pewarna, antioksidan maupun sebagai antimikroba.



Gambar 1.. Struktur kimia senyawa-senyawa naftokinon dalam tanaman *Lawsonia inermis* L. (Chaudary *et.al.*, 2010)

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan untuk mengekstraksi daun Pacar Kuku adalah peralatan gelas, neraca, kompor listrik, blender, corong, pipet volume. Alat yang digunakan untuk penetapan kadar naftokinon adalah *chamber*, pipet volume, corong, labu takar, pipa kapiler, lampu UV₂₅₄ dan UV₃₆₆, kamera, *TLC scanner*.

Bahan

Bahan yang digunakan untuk proses ekstraksi daun Pacar Kuku adalah merupakan bahan-bahan berkualitas farmasetis, yaitu aqua destilata, etanol. Bahan yang digunakan untuk penetapan kadar naftokinon secara KLT densitometri menggunakan bahan yang berderajat proanalisis, yaitu: standar lawson (naftokinon) menggunakan merk Aldrich, etanol, kloroform, metanol. Lempong silika gel 60F₂₅₄ yang digunakan dari Merk, German.

Jalannya Penelitian

a. Determinasi tanaman.

Tanaman *Lawsonia inermis* L. yang digunakan dalam penelitian dideterminasi di Laboratorium Biologi, Bagian Biologi Fakultas MIPA UAD. Tanaman Pacar Kuku dideterminasi dengan pedoman buku *Flora of Java* (Becker dan Van de Brink, 1965 dalam Sangat, 2000).

b. Pengumpulan daun Pacar Kuku dan pembuatan simplisia

Daun Pacar Kuku yang diambil adalah daun tua, segar dan tidak terkena penyakit. Daun Pacar Kuku kemudian dicuci bersih dengan air mengalir dan ditiriskan. Pengeringan daun Pacar Kuku yang dilakukan dengan cara dioven pada suhu 45°C sampai didapatkan daun yang benar-benar kering. Daun yang telah kering ditandai dengan mudah dihancurkan dengan tangan.

c. Pembuatan larutan sampel

Sebanyak kurang lebih 250,0 mg serbuk daun Pacar Kuku ditimbang dengan seksama, dimaserasi menggunakan 5 ml pelarut yaitu: air, 50%, 70%, 90%, dan 95%v/v etanol sambil digojok selama 1 jam kemudian disaring dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh, kemudian dimasukkan dalam labu takar 5 ml. Volume ditepatkan sampai 5,0 ml dengan cara menambahkan pelarut lewat ampas.

e. Pembuatan larutan baku lawson 2 mg/ml

Sebanyak 10,0 mg standar lawson (naftokinon) dilarutkan dengan metanol pa hingga 5,0 ml. Seri kadar larutan baku lawson dibuat dengan cara dari larutan baku lawson 2,0 mg/ml dibuat pengenceran hingga diperoleh dengan konsentrasi 0,10 mg/ml; 0,25 mg/ml; 0,50 mg/ml; 1,0 mg/ml, dan 2,0 mg/ml.

f. Kromatografi Lapis Tipis

Larutan 5% b/v ekstrak sampel dan kurva baku larutan standard lawson ditotolkan pada lempeng kromatografi, silika gel 60 F₂₅₄ sebanyak 5 µl. Totolan dielusi dengan fase gerak kloroform : metanol (17:3). Lempeng kromatografi atau fase diam dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Bercak yang muncul dilihat pada sinar tampak (*visible*), di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 dan 366 nm.

g. Penetapan Kadar Lawson secara Densitometri

Bercak yang muncul pada fase diam dari larutan standard lawson dan ekstrak sampel pada R_f yang sama, kemudian *discanning* dengan densitometer pada panjang gelombang serapan maksimal sehingga bisa diketahui harga R_f sesungguhnya, luas area, dan persamaan regresi liniernya, sehingga kadar lawson diperoleh dengan memasukkan harga luas area sampel ke dalam persamaan regresi linier kurva baku (mg/ml) dan dikonversikan dalam satuan %.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Penyiapan bahan

Berdasarkan hasil determinasi, dapat diketahui bahwa tanaman yang dideterminasi dan akan dipakai dalam penelitian ini adalah benar spesies *Lawsonia inermis* L.

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun Pacar Kuku yang diambil pada tanggal 27 April 2012 di Celeban Baru, Umbulharjo, Yogyakarta. Bahan utama diambil dari tempat tertentu bertujuan untuk menghindari variasi kandungan kimia tanaman. Apabila tanaman diambil dari tempat yang berbeda-beda, maka karena pengaruh kondisi iklim dan lingkungan dapat menyebabkan variasi kadar senyawa aktif dalam tanaman.

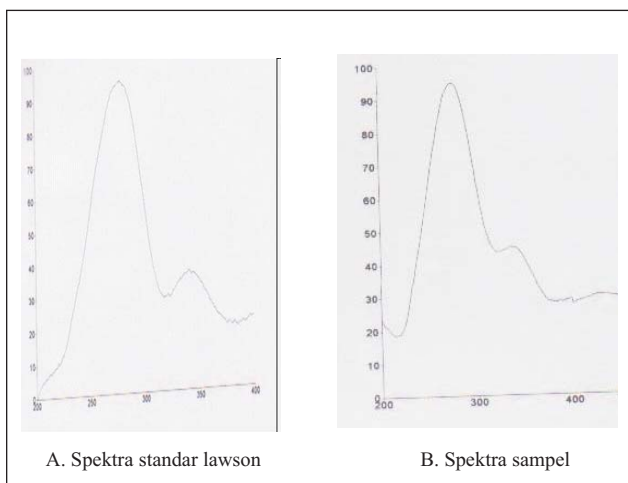
Daun Pacar Kuku disortasi untuk menghilangkan kotoran atau bahan asing dari tanaman. Daun yang sudah dicuci bersih, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 45°C. Hasil pengeringan bahan diperoleh 98,6 g dari 316,0 g daun segar, jadi rendemen yang diperoleh sebesar 31,20%.

2. Uji Kualitatif adanya senyawa naftokinon dalam daun Pacar Kuku

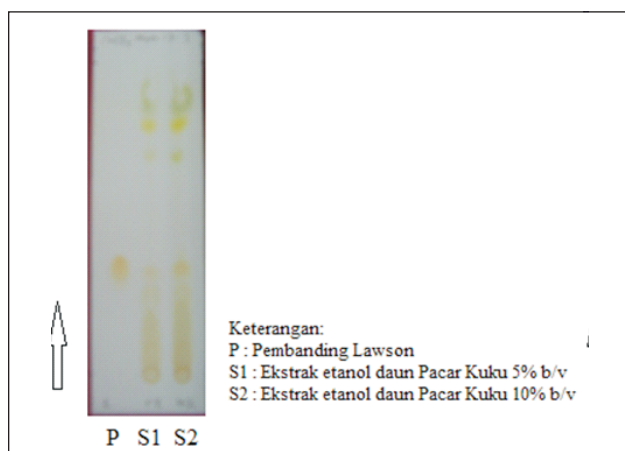
Hasil kesamaan spektra dapat dilihat pada Gambar 2 sedangkan untuk karakteristik bercak dapat dilihat pada Gambar 3. Pada Gambar 2 menunjukkan adanya kesamaan antara spektra standar lawson dan spektra bercak sampel dengan panjang gelombang maksimal 279 nm untuk standar lawson dan 280 nm untuk bercak sampel pada Rf yang sama dengan standar yaitu 0,31. Hal ini menunjukkan bahwa bercak sampel dengan Rf 0,31 adalah senyawa lawson.

Pembuatan seri larutan baku naftokinon (lawson)

Dari seri larutan standard, luas bercak yang dihasilkan diukur dengan densitometer. Semua luas area kromatografi dari hasil pengukuran densitometer dapat dilihat pada Tabel I.



Gambar 2. Spektra standar lawson dan spektra bercak sampel pada Rf 0,31 dengan fase diam silika gel F254 dan fase gerak Kloroform-Metanol (17:3)

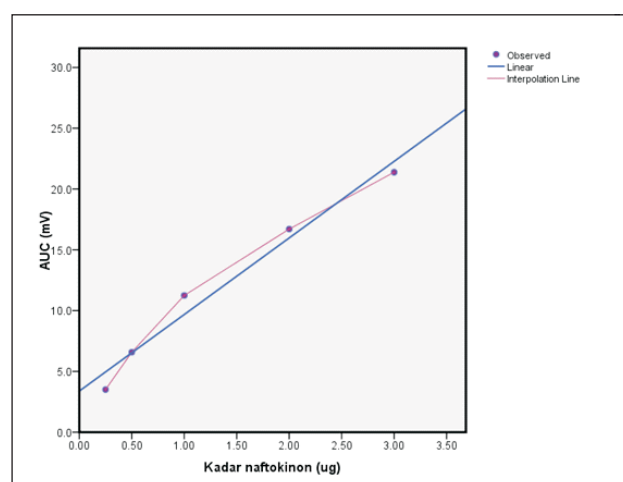


Gambar 3. Kromatogram standar lawson dan ekstrak etanol daun Pacar Kuku pada fase diam silika gel F254 dan fase gerak Kloroform-Metanol (17:3)

Tabel I. Hubungan kadar naftokinon vs luas area kromatogram untuk pembuatan kurva baku

Naftokinon (ug)	Luas Area Kromatogram (mV)
0,10	0,3216*
0,25	3,5080
0,50	6,5803
1,00	11,2482
2,00	16,7074
3,00	21,3802

Ket: * data ditolak



Gambar 4. Hubungan kadar naftokinon vs luas area kromatogram

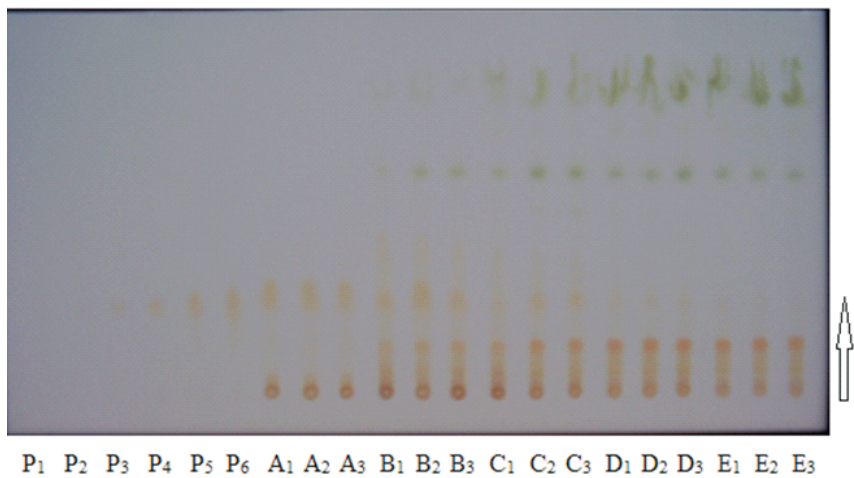
Pada Gambar 4 memperlihatkan grafik hubungan antara kadar naftokinon dengan luas area kromatogram. Hasil uji regresi linier antara kadar naftokinon dan luas area kromatogram dengan menggunakan metode SPSS 16.0, taraf kepercayaan 95% diperoleh persamaan kurva baku $Y = 6,2977X + 0,9869$ dengan nilai $R = 0,9860$. Nilai R ini lebih besar daripada nilai R tabel = 0,8783 sehingga dapat disimpulkan ada hubungan atau korelasi antara kadar naftokinon dengan luas area kromatogram.

Optimasi jenis cairan penyari

Pada penentuan cairan penyari yang paling optimal sebagai pelarut untuk menyari naftokinon dari simplisia dilakukan percobaan dengan 5 variasi jenis cairan penyari, yaitu air, etanol 50%, 70%, 90% dan 95%. Kromatogram hasil optimasi dapat dilihat pada Gambar 5 dan hasil penetapan pengukuran kadar naftokinon dapat dilihat pada Tabel II. Tabel II menunjukkan bahwa naftokinon lebih banyak tersari dalam etanol 50%.

Tabel II. Kadar naftokinon dalam daun Pacar Kukudengan cairan penyari air dan etanol pada berbagai kadar

Pelarut	Berat awal simplisia (mg)	Luas area kromatogram (mV)	Kadar (% b/b)	$\bar{X} \pm SD$ (% b/b)
Air	251,9	21,5220	1,29	1,36± 0,0648
	252,6	23,5863	1,42	
	252,5	22,8437	1,37	
Etanol 50%	251,5	21,4875	1,29	1,43± 0,1942
	251,8	27,1692	1,65	
	250,5	22,1207	1,34	
Etanol 70%	250,6	16,9627	1,01	1,10± 0,0770
	250,7	18,9115	1,14	
	250,8	19,2154	1,15	
Etanol 90%	250,9	13,0124	0,76	0,77± 0,0084
	250,6	13,2432	0,78	
	250,0	13,0062	0,76	
Etanol 95%	250,8	9,8514	0,56	0,51± 0,0500
	250,9	9,0347	0,51	
	250,1	8,2510	0,46	



Gambar 5. Kromatogram hasil optimasi penyarian dengan berbagai pelarut pada fase diam silika gel F 254 dan fase gerak Kloroform-Metanol (17:3)

Keterangan:	A ₁ : pelarut air	C ₃ : pelarut EtOH 70%
P ₁ : lawson 0,1 µg	A ₂ : pelarut air	D ₁ :pelarut EtOH 90%
P ₂ : lawson 0,25 µg	A ₃ : pelarut air	D ₂ :pelarut EtOH 90%
P ₃ : lawson 0,50 µg	B ₁ : pelarut EtOH 50%	D ₃ :pelarut EtOH 90%
P ₄ : lawson 1,00 µg	B ₂ : pelarut EtOH 50%	E ₁ :pelarut EtOH 95%
P ₅ : lawson 2,00 µg	B ₃ :pelarut EtOH 50%	E ₂ :pelarut EtOH 95%
P ₆ : lawson 3,00 µg	C ₁ : pelarut EtOH 70%	E ₃ : pelarut EtOH 95%
	C ₂ : pelarut EtOH 70%	

Kadar naftokinon yang tersari paling banyak pada pelarut etanol 50% yaitu 1,43 %, kemudian diikuti dengan pelarut air, etanol 70%, etanol 90% dan kadar naftokinon terendah terdapat pada sari dengan etanol 95%. Senyawa naftokinon (lawson) dalam daun Pacar Kuku merupakan senyawa yang lebih mudah tersari dalam etanol 50% karena dalam struktur lawson merupakan salah satu senyawa fenol yang kepolarannya termasuk semipolar. Sehingga senyawa tersebut akan lebih mudah larut dalam etanol 50% dibandingkan dengan pelarut air yang bersifat polar ataupun etanol dengan kadar tinggi yang bersifat lebih nonpolar.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan variasi pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi daun pacar kuku mempengaruhi kadar senyawa naftokinon dalam ekstrak daun pacar kuku. Pelarut etanol 50% b/v merupakan pelarut yang paling optimal dapat mengekstraksi naftokinon tertinggi dalam daun pacar kuku dengan kadar $(1,43 \pm 0,1942)\%$ b/v.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1986, *Sediaan Galenik*, DepKes RI, Jakarta, 5-26.
- Anonim, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, DepKes RI, Jakarta, 3-12.
- Backer, C.A., Van Den Brink Jr., R.C.B., 1965, *Flora of Java*, vol. 1, 251, 256, Published under The Auspices of The Rijksherbarium, Leyden.
- Berenji, F., Rakhshandeh, H., Ebrahimipour, H., 2010, *In vitro* study of the effects of henna extracts (*Lawsonia inermis*) on *Malassezia* species, *Jundishapur Journal of Microbiology*, 3(3): 125-128 <http://jjm.ajums.ac.ir>.
- 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 www.ijpsdr.com
- Das, K., Tiwan, R.K.S., Shrivastava, D.K., 2010, Technique for Evaluation of Medicinal Plant Products as Antimicrobial Agent: Current Methods and Future Trends, *Journal of Medicinal Plants Research*, Vol. 4(2), pp. 104-111, www.academicjournals.org/JMPR
- Guha, G., Rajkumar, V., and Mathew L., 2009, Antioxidant Activity of *Lawsonia inermis* Extract Inhibits Chromium (VI)-Induced Cellular and DNA Toxicity, *eCAM*, <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5>
- Heyne, K., 1987, *De Nuttige Planten Van Indonesia* (II), diterjemahkan Badan Litbang Departemen Kehutanan, Penerbit Yayasan Sarana Wana Jaya, Jakarta
- Hosein, H.K.M., and Zinab, D., 2007, Phenolic Compounds and AntiOxidant Activity of Henna Leaves Extracts (*Lawsonia inermis* L.), *World Journal of Dairy & Food Sciences* 2(1): 38-41, IDOSI Publications.
- Phirke, S.S., Saha, M., and Chandra, N., 2010, In Vitro Callus Induction from Leaf Explant of *Lawsonia inermis* L. Used as Herbal Dye, *Asian J.Exp.Biol. SCI. SPL. P* 118-120, www.ajebs.com
- Simpson, B.B., and Ogorzaly, M.C., 2001, *Economic Botany: Plants in Our World*, 3th edition, McGraw-Hill Book Co, Singapore, p 372.
- Van Steenis, C.G.E.J., 1997, *Flora untuk Sekolah di Indonesia*, terjemahan Maeso Soerjowinoto, Padya Paramita, Jakarta p 306.
- Wichtl, M., 1994, *Herbal drugs and Phytopharmaceuticals: A handbook for practis on a scientific basis*, edited and translated by Norman Grainger Bisset, Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart, CRC Press London p 261-262.