

## PROFIL KROMATOGRAFI EKSTRAK ETANOL KELOPAK BUNGA MAMBROS HIJAU

Eka Wuri Handayani

Dosen Program Studi Farmasi STIKes Muhammadiyah Gombong  
[stikesmuhgombong@yahoo.com](mailto:stikesmuhgombong@yahoo.com)

---

### Abstract

*Key word :*

*Ethanol extract of green mambambos flower, tube test, chromatography*

*Green patchouli or rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) has many properties and traditionally the flower petals can be used to treat diseases. Based on this, this study aims to identify the chemical content of ethanol extract chromatography from green mrambos flower petals (*Hibiscus sabdariffa* L.). This research was carried out with the extraction of green mrambos flower petals using maceration method with ethenol 96% solvent. Identification of chemical components was done by tube test and paper chromatography and thin layer chromatography. The results showed that the results of tube test and ethanol extract chromatography from green mrambos flower petals (*Hibiscus sabdariffa* L.) obtained the presence of flavonoid compounds, polyphenols and saponins which these three compounds could be efficacious as antifungi.*

---

### PENDAHULUAN

Kemajuan teknologi dan ilmu pengetahuan ternyata tidak mampu begitu saja menghilangkan arti obat tradisional. Dewasa ini pengobatan dengan cara-cara tradisional semakin populer. Masyarakat Indonesia pada umumnya menggunakan obat tradisional dengan memanfaatkan kekayaan alam Indonesia. Penggunaan tumbuhan obat secara tradisional disukai karena relatif lebih kecil efek sampingnya dibanding obat modern apabila memenuhi dasar-dasar pemakaian obat atau terapi obat.

Salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai pengobatan adalah mrambos hijau atau yang lebih dikenal sebagai rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Tanaman mrambos hijau sering digunakan masyarakat sebagai bahan makanan dan minuman dengan cara dibuat sari buah, teh herbal, sirup, selai, campuran salad, pudding dan asinan, sedangkan bagian tanaman mrambos hijau yang dapat digunakan untuk pengobatan adalah kelopak bunga, biji dan daunnya. Secara tradisional, mrambos hijau (*H. sabdariffa* L.) berkhasiat sebagai obat

berbagai macam penyakit seperti antispasmodik, diuretik, antihipertensi, antelmintik, antiseptic, sedative, dan antibakteri (Morton, 1987). Kandungan kimia pada mrambos hijau ini antara lain flavonoid, polifenol dan saponin yang terdapat pada daun dan buah (Samsuhidayat, 2001). sedangkan pada kelopak bunganya mengandung antosianin, hibisin dan flavonoid (Bajaj, 1993) .

Maserasi adalah proses penyarian yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan. Pada metode maserasi, cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan kadar antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel, maka larutan yang pekat akan didesak keluar. Peristiwa tersebut terjadi secara berulang-ulang sehingga terjadi keseimbangan kadar antara larutan di dalam sel dan di luar sel (Anonim, 1986).

Teknik kromatografi terbagi menjadi berbagai jenis. Di antara berbagai jenis teknik tersebut kromatografi lapis tipis

adalah yang paling cocok untuk analisis. Metode ini hanya memerlukan waktu yang singkat untuk menyelesaikan analisa dan memerlukan jumlah cuplikan yang sangat sedikit. Selain itu, kebutuhan ruang minimum dan penanganannya sederhana (Stahl, 1985). Satu keuntungan utama dari kromatografi kertas ialah kemudahan dan kesederhanaannya pada pelaksanaan pemisahan, yaitu hanya pada lembaran kertas saring yang berlaku sebagai medium pemisahan dan juga sebagai penyangga (Harborne, 1996).

## METODE

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol kelopak bunga mrambos hijau. Penelitian dilakukan dengan penyarian serbuk kelopak bunga mrambos hijau menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Identifikasi komponen kimia dilakukan dengan uji tabung dan kromatografi kertas serta kromatografi lapis tipis

### Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan yaitu blender, timbangan kasar (cariba), timbangan analitik, kertas saring, gelas ukur, *beaker glass*, pengaduk elektrik, batang pengaduk dari kaca, corong *buchner*, rotary evaporator, almari es, cawan porselin, kipas angin, penangas air, mikropipet, pipet ukur, propipet, tabung reaksi, rak, pipet tetes, pipet volum, alat-alat gelas, labu takar, Pipa kapiler, bejana pengembang, lampu UV, seperangkat alat-alat penyemprot, penangas air, dan kompor listrik. Adapaun bahan yang digunakan yaitu kelopak bunga mrambos hijau (*Hibiscus sabdariffa* L.), etanol dengan mutu teknis (96%), aquadest steril dan NaCl fisiologis 0,9% steril.

### Prosedur Penelitian

1. Determinasi tanaman  
Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Jogjakarta.
2. Pengambilan bahan

Bahan diambil di kelurahan Mlipak, Wonosobo.

### 3. Pembuatan ekstrak

Serbuk kelopak bunga mrambos hijau seberat 300 gram dimasukkan ke dalam gelas beker 1000 ml, ditambahkan 600 ml etanol 96% setelah itu dimaserasi. Jumlah cairan penyari yang ditambahkan disesuaikan dengan jumlah serbuk yaitu sampai seluruh serbuk dapat terendam atau dua kali jumlah berat serbuk. Pengadukan dilakukan dengan elektrik stirer. Ekstraksi dilakukan sebanyak 3 kali dan direndam selama 24 jam pada suhu kamar. Maksud penyarian dilakukan 3 kali adalah agar zat yang diduga memiliki aktivitas antifungi dapat tertarik sebanyak-banyaknya, dimana makin banyak cairan penyari yang digunakan akan semakin banyak zat terlarut yang diperoleh (Voight, 1995). Hasil penyarian yang berupa maserat etanol kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga di dapat ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh, dipindahkan ke dalam cawan porselin kemudian diuapkan di atas *waterbath* untuk mempercepat proses penguapan, ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang.

### 4. Skrining Fitokimia.

#### a. Pemeriksaan pendahuluan

Serbuk kelopak bunga mrambos hijau dimasukkan dalam tabung reaksi dengan ditambahkan aquadest 10 ml kemudian dipanaskan selama 30 menit di atas penangas sampai mendidih, larutan yang terjadi kemudian disaring. Larutan yang dihasilkan akan berwarna kuning sampai merah yang menunjukkan adanya senyawa yang mengandung gugus kromofor (flavonoid, antrakinon, tanin, alkaloid dan saponin).

#### b. Pemeriksaan Flavonoid

Larutan ekstrak diteteskan beberapa tetes pada kertas saring dan diuapi dengan uap ammonia akan memberikan warna kekuningan.

c. Pemeriksaan saponin

Ekstrak kelopak bunga mrambos hijau ditambahkan aquadest 10 ml dan dikocok kuat-kuat selama 30 detik sampai muncul busa setinggi 3 cm dalam tabung reaksi. Letakkan tabung reaksi dalam posisi tegak selama 30 menit. Apabila masih terdapat busa, maka kemungkinan mengandung saponin untuk memastikan bahwa busa yang terbentuk berasal dari saponin dan bukan berasal dari tumbuhan maka teteskan larutan asam sebanyak 3 tetes. Bila busa masih tetap stabil maka dipastikan terdapat saponin.

d. Pemeriksaan Polivenol

Ekstrak etanol kelopak bunga mrambos hijau sebanyak 100 mg ditambahkan aquades 10 ml dan dipanaskan di atas penangas air mendidih, kemudian disaring panas-panas. Adanya warna hijau-biru terbentuk setelah penambahan 3 tetes  $\text{FeCl}_3$  dalam larutan yang telah dingin menunjukkan adanya polifenol.

e. Analisis Kromatografi

Bercak yang timbul sebelum disemprot dapat dilihat di bawah UV 254 dan 366 nm warna yang timbul nantinya dapat diamati. Selanjutnya plate disemprot dengan penyemprot yang sesuai. Warna dan  $R_f$  bercak dibandingkan dengan literatur.

## HASIL

### A. Determinasi

Determinasi dilakukan di laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Jogjakarta. Dari hasil determinasi tanaman di atas terbukti bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelopak bunga tanaman mrambos hijau (*H. sabdariffa* L.) Buku acuan yang digunakan adalah Flora of Java untuk anak sekolah di Indonesia (Steenis,

1958). Hasil determinasi tanaman adalah sebagai berikut :

1b - 2b - 3b - 4b - 6b - 7b - 9b - 10b - 11b - 12b - 13b - 14a - 15b - 109b - 119b - 120b - 128b - 129b - 135b - 136b - 139b - 140b - 142b - 143b - 144a Malvaceae  
1a-2b- 3b Hibiscus  
1b-2b-4a *Hibiscus sabdriffa* L (Steenis, 1958).

### B. Hasil Pembuatan Ekstrak

Penelitian ini menggunakan metode penyarian maserasi yang mana merupakan proses penyarian berdasarkan pada keseimbangan antara konsentrasi zat terlarut di dalam sel dengan zat terlarut di dalam cairan penyari. Ekstraksi dengan menggunakan cairan penyari etanol 96%. Pemilihan penyarian ini karena etanol 96% bersifat semi polar dan diharapkan zat-zat yang memiliki aktivitas antifungi dapat tertarik kedalamnya (flavonoid, polifenol dan saponin) selain itu pelarut etanol juga memiliki nilai ekonomis tinggi (lebih murah). Saponin sangat cocok diekstraksi dengan pelarut etanol dan metanol (Robinson, 1995). Dari hasil penyarian diperoleh ekstrak kental, yang mana akan digunakan untuk uji aktivitas antifungi. Ekstrak kental yang diperoleh berwarna merah bata dengan berat 5,46 gram, dengan rendemen sebesar 1,82% b/v.

### C. Skrining Fitokimia

1. Hasil skrining fitokimia dengan metode tabung

Hasil uji pendahuluan dengan uji tabung diperoleh larutan uji yang berwarna kemerahan dan jika ditambahkan KOH warna larutan menjadi lebih intensif. Hal ini menunjukkan bahwa infusa kelopak bunga mrambos hijau mengandung gugus kromofor.

Uji keberadaan golongan flavonoid dilakukan dengan cara ekstrak etanol kelopak bunga mrambos hijau diteteskan di atas kertas saring dan kemudian

dilewatkan pada uap amonia timbul warna kuning pada kertas yang diteteskan tadi

Pada uji polifenol dihasilkan warna biru kehitaman, ini menunjukkan bahwa Kelopak bunga mrambos hijau mengandung polifenol. Cara untuk mendeteksi senyawa fenol sederhana ialah dengan menambahkan larutan besi (III) klorida 1% dalam air atau etanol pada larutan cuplikan, yang menimbulkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat.

Uji saponin dilakukan dengan metode *Froth* atau metode buih yaitu dengan menggojok ekstrak etanol kelopak bunga mrambos hijau dalam air suling dan dibiarkan lalu diamati tinggi buih yang dihasilkan. Hasil dinyatakan positif bila hasil penggojokan menghasilkan buih kurang lebih 3 cm dari permukaan dan bersifat stabil setelah ditambah asam. Hasil yang diperoleh untuk uji saponin adalah positif karena setelah ditambahkan asam buihnya stabil. Dari hasil skrining fitokimia dengan metode tabung yang menghasilkan uji positif dilanjutkan dengan kromatografi.

## 2. Uji kualitatif secara kromatografi

Uji kualitatif secara kromatografi dilakukan untuk mempertegas uji tabung pada skrining fitokimia

### a. Pemeriksaan Flavonoid

Senyawa golongan flavonoid di dalam ekstrak etanol kelopak bunga mrambos hijau diperiksa dengan kromatografi kertas menggunakan fase gerak n-butanol : asam asetat glacial : air (4:1:5) v/v fase atas, sedangkan fase diamnya adalah kertas Whatmann dengan jarak perambatan 10 cm. Cuplikan dibuat dengan konsentrasi 2,5% dan ditotolkan sebanyak 3 totolan dengan menggunakan pipa kapiler. Setiap penotolan dilakukan setelah

totalan sebelumnya kering. Jumlah penotolan harus optimum, disebabkan karena apabila penotolan terlalu banyak maka penotolan akan terlalu pekat sehingga susah digerakkan oleh cairan pengembang atau fase gerak, sedangkan apabila penotolan terlalu sedikit maka bercak yang dihasilkan samar (Gritter dkk, 1991). Dari hasil kromatografi sebelum diberi pereaksi semprot pada UV254 bercak berwarna kuning pucat sedangkan UV<sub>366</sub> nm berwarna biru muda dibandingkan dengan rutin yang berwarna coklat gelap. Hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan ekstrak etanol kelopak bunga mrambos hijau mengandung senyawa flavonoid. Setelah diberi pereaksi uap amonia pada sinar tampak kromatogram yang dihasilkan terlihat bercak berwarna kuning. Hal ini disebabkan dengan penambahan ammonia (basa) akan menyebabkan gugus hidroksil terionisasi, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang yang diserap dan terbentuk warna kuning yang lebih intensif (Harborne, 1996). Flavonoid akan membentuk kompleks dengan protein membran sel jamur dan pembentukan kompleks tersebut menyebabkan rusaknya membran sel karena hilangnya kandungan isi sel di dalam sitoplasma. Flavonoid juga dapat menyebabkan koagulasi protein, sehingga sel mengalami lisis karena perubahan permeabilitas membran sel jamur (Nogrady, 1992).

### b. Pemeriksaan polivenol

Adanya senyawa fenol dapat ditunjukkan dengan pereaksi besi III klorida yang memberikan bercak warna biru kehitaman, hijau atau biru kehijauan. Menurut Robinson (1995) menyatakan bahwa reaksi dengan besi III klorida digunakan secara luas untuk mengidentifikasi

senyawa fenol, tetapi tidak dapat dipakai untuk membedakan macam-macam golongan. Pada kromatogram, didapatkan bercak yang berwarna biru setelah disemprot dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$ . Bercak tersebut menunjukkan adanya polifenol dalam ekstrak etanol kelopak bunga mrambos hijau.

#### c. Pemeriksaan Saponin

Glikosida saponin jika dideteksi dengan menggunakan pereaksi semprot vanilin asam sulfat atau anisaldehyd asam sulfat akan memberikan warna biru sampai biru violet terkadang berupa bercak berwarna merah atau berupa kuning-coklat. Saponin tidak terdeteksi dalam UV 254 nm dan UV 366 nm (Wagner, 1984). Menurut Harborne (1996) adanya senyawa saponin ditunjukkan dengan warna bercak biru, violet biru atau kadang-kadang kekuningan setelah disemprot dengan pereaksi vanilin-asam sulfat yang kemudian dipanaskan pada suhu  $110^\circ \text{C}$  selama 10 menit. Pemeriksaan senyawa saponin dalam ekstrak etanol kelopak bunga mrambos hijau menggunakan fase gerak kloroform:metanol:air dengan perbandingan (1,5:3:1)  $\text{v/v}$ . Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 F 254 dengan jarak perambatan 8 cm. Maksud dari fase diam silika gel 60 F 254 ini adalah silika gel yang ditambah fluoresen yang berfluoresensi pada 254 nm.

Dari hasil kromatografi lapis tipis diketahui bahwa ekstrak etanol kelopak bunga mrambos hijau kemungkinan mengandung senyawa saponin, hal ini dapat dilihat dari adanya bercak warna biru yang terlihat setelah disemprot dengan vanillin asam sulfat sedangkan pada UV 254 nm dan UV 366 nm tidak ditemukan adanya bercak. Hasil dari skrining fitokimia diatas baik dengan

uji tabung ataupun dengan kromatografi menunjukkan bahwa ekstrak etanol kelopak bunga mrambos hijau mengandung positif flavonoid, polifenol dan saponin. Secara umum flavonoid merupakan senyawa polifenol Senyawa fenol akan mendenaturasi protein sel dan mengerutkan dinding sel sehingga dapat melisis dinding sel fungi. Senyawa fenol juga dapat merusak membran sel sehingga terjadi perubahan permeabilitas sel yang akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel. Sedangkan untuk senyawa saponin adalah suatu senyawa aktif permukaan yang kuat yang dapat menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba (Robinson, 1995).

Saponin salah satu komponennya adalah senyawa terpenoid. Senyawa terpenoid ini memiliki mekanisme kerja sebagai antifungi dengan cara merusak dinding sel fungi dan menghambat sintesis dinding sel fungi. Saponin dengan inti steroidnya juga akan mengganggu proses sintesis asam nukleat dan sintesis protein dimana steroid membentuk kompleks dengan protein fungi dimana terjadinya penghambatan sintesa protein dan asam nukleat dengan menstimulasi transkripsi RNA.

## SIMPULAN

Pemeriksaan kromatografi kertas menunjukkan bahwa ekstrak etanol kelopak bunga mrambos hijau mengandung golongan senyawa flavonoid dan polifenol. Sedangkan pada pemeriksaan kromatografi lapis tipis dengan silika gel 60 F 254 mengandung senyawa saponin.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan bagian tanaman yang lain pada tanaman mrambos hijau. Selain itu perlu juga dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui khasiat kelopak bunga mrambos hijau misalnya uji antihipertensi, antiseptik, antiviral dan sebagainya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alexopoulos, 1970, *Introductory Mycology*, 2<sup>nd</sup> edition, Jhon Willey and Sons, Inc, New York, page 409-410.
- Ansel, H.C., 1989, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, edisi ke-4, Universitas Indonesia Press, Jakarta, hal 411-418.
- Backer, C.A., Van den Brink, R.C.B., 1968, *Flora of Java*, II, Walters-Noodhoff N.V., Gronigen the Nederlan. Hal 3-5, 58-61, 82-83, 88-89.
- Bajaj, Y.P.S., 1993, *Biotechnology in Agriculture and Forestry Vol 24, Medicinal and Aromatic Plants V*, page 218, Springer Verlag Berlin Heidelberg
- Gritter, R.J., Bobbit, J., M., Schwarting, A., E., 1991, *Pengantar Kromatografi*, Edisi Kedua, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawita, Penerbit ITB, Bandung, hal 108,110,147
- Harborne, J.B. 1996, *Metode Fitokimia*, Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan, terbitan kedua, Penerbit ITB, Bandung, hal 47, 49, 102-103, 155-156.
- Marlina, Heni, 2007, Uji Aktivitas Antibakteri Infus Kelopak Bunga Mrambos Hijau terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* Serta Profil Kromatogramnya, *Skripsi*, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.
- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, p 21-25, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, ITB, Bandung hal 397-398.
- Morton, J., 1987, *Roselle (Fruits of warm climates)*, p 281-286  
<http://www.hort.purdue.edu/newcorp/morton/Roselle.html>
- Nurani, Laela Hayu, 2006, Sskrining Fitokimia dalam Anonim, *Petunjuk Praktikum Analisa Obat Tradisional*, Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, hal 14-16.
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik tumbuhan tinggi*, edisi keenam, Departement of Biochemistry University of Massachussetts, diterjemahkan oleh kosasih, P., Penerbit ITB, Bandung.
- Sastrohamidjojo, H., 1991, *Kromatografi*, Edisi 2, Liberty, Yogyakarta. Hal 1, 5.
- Stahl, E., 1985, *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi*, Penerbit ITB Bandung, hal 6-10,12-17
- Steenis, Van. C.E.Ej., 1958, *Flora Untuk Sekolah di Indonesia*, Penerbit Pradya Paramita, Jakarta. Hal 261-262.
- Syamsuhidayat, S.S., dan Hutapea, I. R., 2001, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (II)*, Pusat Penelitian Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta. Hal 163-164.
- Voigt, Rudolf, 1986, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Diterjemahkan oleh Soendani Noerono Soewardhi dan Matilda B. Widiyanto, edisi V, Penerbit Gadjah Mada Press, Yogyakarta, 564-574.
- Wagner, H., S. Bladt and EM. Zaganiski, 1984, *Plant Drug Analysis.*, Spinger Verlag., Berlin. Hal 225-227.