
PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS SENYAWA FLAVONOID DENGAN BERBAGAI MACAM ELUEN PADA EKSTRAK ETANOL DAUN GALAM (*Melaleuca cajuputi*)

Thin Layer Chromatography Profile Of Flavonoid Compounds With Various Eluents In Ethanol Extract Of Galam Leaves (Melaleuca cajuputi)

Delia Arum Rohmadha Noor¹, Yuliana Salman^{1*}, Muhammad Zaini¹

¹Program Studi Studi D-III Farmasi

Politeknik Unggulan Kalimantan, Banjarmasin

*Email: salmanyuliana86@gmail.com

ABSTRACT

Galam plant (Melaleuca cajuputi) has active compounds of galam plant that have anticancer, anti-inflammatory, antibacterial, hepatoprotective, anthelmintic activities. This research aims to find out the thin layer chromatography profile of flavonoid compounds in the ethanol extract of galam leaves. This research is a quantitative research with a laboratory experimental research design by analyzing the thin layer chromatography (TLC) profile of flavonoid compounds with various types of eluents, namely: Eluent n-Hexane: Ethyl acetate (8:2), Eluent n-Hexane: Dichloromethane (8:2) and Ethyl acetate: Dichloromethane (9:1) with quercetin as a comparator. The best eluent is expressed from the R_f value of the compound that is close to the R_f value of quercetin. The result of KLT of flavonoid compound with ethyl acetate:n-Hexane (8:2) eluent, quercetin showed an R_f value of 0.46 and 1 spot that is close to the R_f value of quercetin, namely A2 (0.47). In eluent n-Hexane: Dichloromethane (8:2) shows R_f value of quercetin 0.36 and R_f A1 value: 0.32 and in eluent Ethyl acetate: Dichloromethane (9:1) R_f value of quercetin is 0.76 and there are no spots close to the R_f value of Quercetin. The conclusion of the best eluent in the thin layer chromatography profile of the flavonoid compound of galam leaf extract is ethyl acetate:n-Hexane (8:2).

Keywords: *Galam leaf extract, Eluent, Flavonoids, Thin layer chromatography profile*

ABSTRAK

Tanaman galam (*Melaleuca cajuputi*) memiliki senyawa aktif tanaman galam mempunyai aktivitas sebagai antikanker, antiinflamasi, antibakteri, hepatoprotektif, antelmintik. Penelitian ini bertujuan mengetahui profil kromatografi lapis tipis senyawa flavonoid pada ekstrak etanol daun galam. Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan rancangan penelitian eksperimental laboratorium dengan melakukan analisis profil kromatografi lapis tipis (KLT) senyawa flavonoid dengan berbagai jenis eluen, yaitu: Eluen n-Heksan: Etil asetat (8:2), Eluen n-Heksan: Diklorometana (8:2) dan Etil asetat: Diklorometana (9:1) dengan kuersetin sebagai pembanding. Eluen terbaik dinyatakan dari nilai R_f senyawa yang mendekati nilai R_f kuersetin. Hasil KLT senyawa flavonoid dengan eluen etil asetat:n-Heksan (8:2), kuersetin memperlihatkan nilai R_f 0,46 dan 1 bercak yang mendekati nilai R_f kuersetin yaitu A2 (0,47). Pada eluen n-Heksan : Diklorometana (8:2) menunjukkan nilai R_f kuersetin 0,6 dan nilai R_f A1: 0,32 dan pada eluen Etil asetat : Diklorometana (9:1) nilai R_f kuersetin 0,76 dan tidak terdapat

bercak yang mendekati nilai R_f kuersetin. Kesimpulan eluen terbaik pada profil kromatografi lapis tipis senyawa flavonoid ekstrak daun galem adalah etil asetat:n-Heksan (8:2).

Kata kunci: *Ekstrak daun galem, Eluen, Flavonoid, Profil kromatografi lapis tipis*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara dengan keragaman obat yang besar di dunia. Kawasan hutan hujan tropis tropika Indonesia memiliki keanekaragaman hayati tertinggi kedua di dunia, setelah Brazil. Tumbuhan diseluruh dunia mencapai 40.000 spesies, 30.000 diantaranya terdapat di Indonesia dan 940 jenis diantaranya memiliki khasiat sebagai obat dan telah digunakan dalam pengobatan tradisional oleh berbagai suku bangsa Indonesia secara turun-temurun. Tumbuhan obat tersebut berjumlah sekitar 90% dari total jumlah tumbuhan obat yang terdapat di Kawasan Asia (Nuryadin et al., 2018).

Salah satu pulau di Indonesia yang memiliki banyak sumber bahan alam yang belum di manfaatkan sepenuhnya yaitu pulau Kalimantan. Pulau kalimantan merupakan pulau yang dikenal memiliki daerah rawa yang luas salah satunya di provinsi Kalimantan Selatan menghasilkan beraneka ragam sumber hayati hewani dan lainnya. Salah satu sumber hayati yang tumbuh di rawa yaitu tanaman galem (Wardani, 2018)

Tanaman galem (*Melaleuca cajuputi*) merupakan tumbuhan yang berasal dari famili Myrtaceae. hampir seluruh bagian dari tumbuhan ini dapat dimanfaatkan sebagai obat. tanaman galem mempunyai aktivitas sebagai antikanker, antiinflamasi, antibakteri, hepatoprotektif, antelmintik. tanaman tradisional yang berkhasiat dan hampir seluruh bagian dari tumbuhan galem dapat dimanfaatkan sebagai obat (Isnaini et al., 2023)

Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang terkandung dalam tumbuhan, Secara umum kerangka dasar flavonoid adalah senyawa polar karena memiliki gugus -OH yang membentuk ikatan hidrogen (Satria et al., 2022). Beberapa proses isolasi pengambilan senyawa flavonoid dapat dilakukan seperti melalui maserasi, fraksinasi maupun metode isolasi lainnya. Setelah melalui serangkaian tahapan isolasi pada senyawa isolat selanjutnya adalah pengidentifikasian jenis isolat senyawa yang didapat. Pada beberapa metode identifikasi isolat dapat dilakukan dengan menggunakan instrumen berupa kromatografi dan dengan spektrometer UV-VIS. Hasil yang menjadi parameter identifikasi dengan kromatografi adalah angka R_f yang dihasilkan (Annisa et al., 2021).

Metode KLT (Kromatografi lapis tipis) merupakan metode untuk mengkonfirmasi lebih lanjut hasil dari skrining fitokimia. KLT digunakan untuk menganalisis sejumlah kecil zat organik, termasuk menentukan jumlah partikel metabolit sekunder. KLT merupakan metode kromatografi cair yang terdiri dari dua fase yaitu fase diam dan fase gerak atau eluen (Jawa La et al., 2020). Dalam proses pemisahan senyawa flavonoid menggunakan kromatografi lapis tipis eluen memiliki peranan penting dalam menentukan keberhasilan pemisahan senyawa. Eluen awal yang di rencanakan mengacu pada referensi (Astuti & Budi, 2023) yang menggunakan variasi eluen yang bersifat non polar dengan perbandingan pelarut n-Heksan: Diklorometana (8:12), n-Heksan : Etil asetat (8:12), dan Etil asetat: Diklorometana (10:10), sebagai sistem pelarut untuk pemisahan senyawa flavonoid.

Berdasarkan penelitian sebelumnya tentang “ skrinning fitokimia aktivitas antioksidan, dan kadar total fenol-flavonoid ekstrak daun buah galem rawa gambut (*Melaleuca cajuputi* ROXB)” terungkap bahwa ekstrak etanol daun galem positif mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, alkaloid, folifenol dan saponin. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian profil kromatografi lapis tipis untuk mengetahui fase gerak atau eluen terbaik dalam pemisahan senyawa

flavonoid yang terdapat pada daun galem agar dapat lebih dimanfaatkan khususnya sebagai obat alami atau herbal (Roro et al., 2018).

METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah pisau, timbangan, blender, toples plastik, toples kaca, gelas kimia, gelas ukur, batang pengaduk, cawan porselen, sendok besi, pipet tetes, *chamber*, *waterbath*, *rotary evaporator*, corong pisah, silika gel, pipa kapiler, sinar UV-vis, kertas saring, handscoon. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun galem, etanol 96%, n-heksan, diklorometana, kuersetin, etil asetat, amonia. Sampel penelitian ini diperoleh di halaman Kampus Politeknik Unggulan Kalimantan

Pembuatan Simplisia

Proses pembuatan simplisia mengacu pada prosedur yang digunakan oleh (Kumalasari & Andiarna, 2020) dengan beberapa modifikasi Pengumpulan sampel daun galem. Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan daun galem dari kotoran atau benda lain. Pencucian daun galem dilakukan dengan air bersih yang mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun galem. Perajangan daun galem yaitu daun galem dipotong kecil-kecil menggunakan pisau atau gunting untuk memudahkan proses pengeringan. Pengeringan pada daun galem di bawah sinar matahari dan ditutup dengan menggunakan kain berwarna hitam. Sortasi kering daun galem untuk memisahkan dari kotoran yang masih tertinggal pada saat proses pengeringan. Menghaluskan simplisia daun galem menggunakan blender sampai menjadi serbuk simplisia. Simpan serbuk simplisia dan galem pada wadah yang tertutup rapat.

Pembuatan Ekstrak

Proses pembuatan ekstrak etanol daun galem mengacu pada prosedur yang digunakan oleh (Puspitasari & Prayogo, 2017). Perendaman, timbang serbuk simplisia daun galem sebanyak 250 gram yang sudah dihaluskan kemudian dimaserasi dengan cara dimasukkan kedalam toples kaca lalu di rendam dengan menggunakan pelarut etanol 96% sampai seluruh sampel terendam kemudian tutup toples dengan menggunakan alumunium foil dan diamkan selama 3 x 24 jam kemudian sesekali diaduk dengan menggunakan batang pengaduk. Penyaringan, setelah didiamkan selama 3 x 24 jam pisahkan residu dengan filtratnya yang sudah di maserasi menggunakan kertas saring. Penguapan ekstrak yang diperoleh diuapkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 50°C untuk mendapatkan ekstrak kental. Setelah itu, ekstrak di uapkan kembali dengan menggunakan waterbath pada suhu 45°C sampai terbentuk ekstrak kental daun galem kemudian dihitung nilai % rendeman ekstrak.

Pembuatan Eluen

Dalam proses pemisahan senyawa flavonoid menggunakan kromatografi lapis tipis eluen memiliki peranan penting dalam menentukan keberhasilan pemisahan senyawa. Eluen awal yang di rencanakan mengacu pada referensi (Puspita astuti et al, 2023) yang menggunakan variasi eluen yang bersifat non polar dengan perbandingan pelarut n-Heksan: Diklorometana (8:12), n-Heksan : Etil asetat (8:12), dan Etil asetat:

Diklorometana (10:10). Sebagai sistem pelarut untuk pemisahan senyawa flavonoid. Berdasarkan referensi tersebut, dilakukan modifikasi dengan beberapa membuat variasi perbandingan pelarut untuk memperoleh eluen yang terbaik dalam memisahkan senyawa flavonoid pada penelitian ini. Adapun variasi eluen yang akan digunakan pada penelitian ini yaitu, n-Heksan : Diklorometana (8:2), n-Heksan : Etil asetat (8:2), dan Etil asetat : Diklorometana (9:1). Modifikasi tersebut didasarkan pada pertimbangan bahwa perubahan rasio pelarut akan menghasilkan perubahan kekuatan elusi (elution strength) dan polaritas fase gerak, sehingga dapat digunakan untuk mengeksplorasi kondisi pemisahan yang lebih sesuai dengan karakteristik senyawa flavonoid dalam sampel penelitian.

Uji Kromatografi Lapis Tipis Senyawa Flavonoid

Ekstrak kental daun galam diencerkan sebanyak 10 gram dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Potong plat KLT dengan ukuran panjang dan lebar 8 x 2 cm tandai batas bawah 1 cm dan batas atas 1 cm. Persiapkan chamber kemudian masukkan variasi eluen yang telah di tentukan. Jenuhkan eluen dengan cara meletakkan kertas saring ke dalam chamber, kemudian chamber ditutup. Totolkan sampel daun galam dan baku pembanding pada plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler. Masukkan plat KLT ke dalam chamber yang sudah dijenuhkan dengan eluen. Biarkan eluen bergerak naik hingga jarak elusi Angkat plat KLT dan biarkan mengering. Amati noda pada plat KLT di bawah sinar UV 254 dan 366 nm. Semprot plat KLT dengan menggunakan pereaksi amonia untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid. Jika positif flavonoid warna noda yang di hasilkan yaitu kuning.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Profil Simplisia dan Ekstrak Daun Galam

Hasil dari serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun galam (*Melaleuca cajuputi*) terlihat pada tabel berikut:

Tabel 1.1 Profil Simplisia dan Ekstrak Daun Galam

No	Gambar	Deskripsi
1.		• Warna: Hijau Tua • Aroma: Khas Galam • Tekstur: Halus • Bentuk: Serbuk • Berat Serbuk simplisia: 250gram

Gambar Serbuk simplisia daun galam (Melaleuca cajuputi)

2.



Gambar Ekstrak kental daun galam (*Melaleuca cajuputi*)

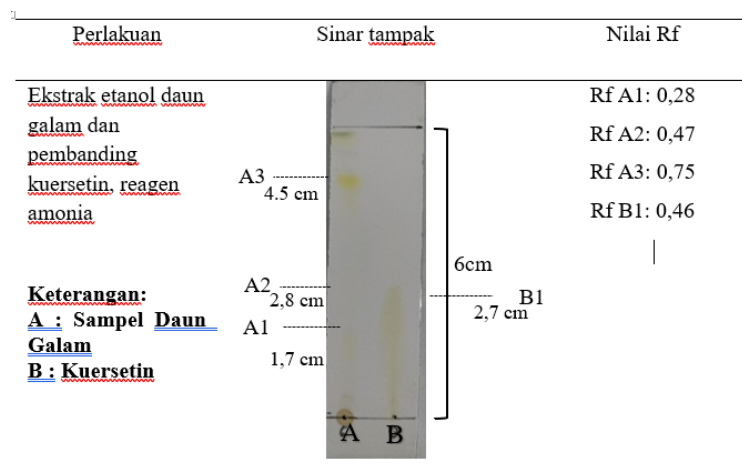
- Warna: Hijau kecoklatan
- Aroma: Khas Galam
- Tekstur: Kental
- Berat Ekstrak Kental: 70,75 gram
- Rendeman: 28,3%

Hasil penelitian yang didapatkan pada profil simplisia dan ekstrak daun galam (*Melaleuca cajuputi*) yaitu, pada serbuk simplisia di dapatkan warna Hijau Tua, aroma khas, tekstur halus, bentuk serbuk dan berat simplisia 250 gram. Sedangkan ekstrak etanol daun galam didapatkan tekstur kental, warna ekstrak hijau kecoklatan, aroma khas, dan berat ekstrak kental 70, 75 gram dengan hasil rendeman 28,3%.

2. Profil Kromatografi Lapis Tipis

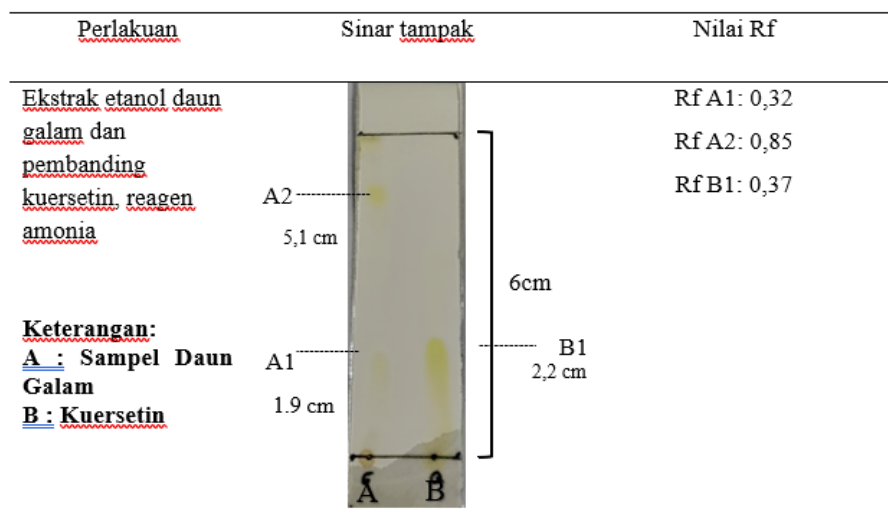
Kromatografi lapis tipis merupakan suatu metode pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Dalam penelitian ini uji KLT digunakan untuk mendeteksi keberadaan senyawa flavonoid dalam ekstrak daun galam (*Melaleuca cajuputi*). Pada penelitian ini, dilakukan analisis kromatografi lapis tipis terhadap ekstrak etanol daun galam untuk mengetahui adanya senyawa flavonoid.

Kuersetin adalah senyawa kelompok flavonol terbesar, kuersetin dan glikosidanya berada dalam jumlah sekitar 60-75% dari flavonoid. Ketika flavonol kuersetin bereaksi dengan radikal bebas, kuersetin mendonorkan protonnya dan menjadi senyawa radikal. Kuersetin seringkali terdapat dalam jumlah substansial dalam jaringan tanaman, sebagai antioksidan kuat, penghelat logam, peredam radikal, dan mencegah oksidasi dari lipoprotein densitas rendah (Salmia, 2016).



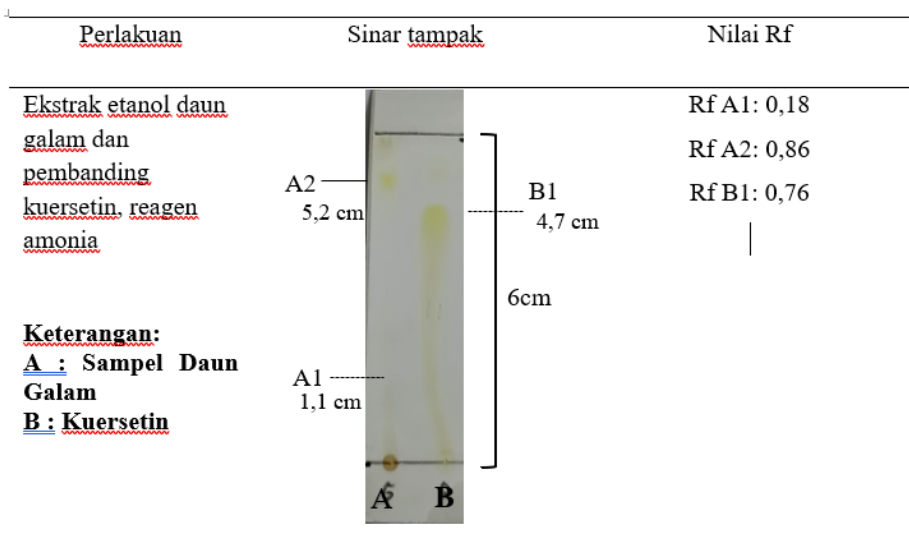
Gambar 1. Profil kromatografi lapis tipis senyawa flavonoid dengan eluen etil asetat:n-Heksan (8:2)

Hasil nilai Rf dari ekstrak menunjukkan bahwa eluen n-Heksan : Etil asetat (8:2) menghasilkan bercak dengan nilai Rf 0,47 yang mendekati nilai Rf kuersetin yaitu 0,46 menunjukkan adanya senyawa flavonoid. Hasil ini sejalan dengan penelitian (Astuti & Budi, 2023) bahwa eluen terbaik untuk pemisahan senyawa flavonoid pada metode kromatografi lapis tipis yaitu eluen n-Heksan : etil asetat.



Gambar 2. Profil kromatografi lapis tipis senyawa flavonoid dengan eluen n-Heksan : Diklorometana (8:2)

Profil KLT Flavonoid pada eluen n-Heksan : Diklorometana (8:2) terdapat 2 bercak noda dengan nilai Rf A1: 0,33 A2: 0,85 dan tidak mendekati nilai Rf Kuersetin 0,37.



Gambar 3. Profil kromatografi lapis tipis senyawa flavonoid dengan eluen Etil asetat : Diklorometana (9:1)

Profil KLT Flavonoid pada eluen Etil asetat : Diklorometana (9:1) terdapat 2 bercak noda dengan nilai Rf A1: 0,18 A2: 0,86 dan tidak mendekati nilai Rf Kuersetin 0,76.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka diperoleh, eluen terbaik pada profil kromatografi lapis tipis senyawa flavonoid dengan perbandingan 3 eluen pada ekstrak etanol daun galam (*Melaleuca cajuputi*) adalah n-Heksan:Etil asetat (8:2) dengan standar kuersetin dan pereaksi amonia yang memperlihatkan 1 bercak noda berwarna kuning pada ekstrak dengan nilai Rf 0,47 yang mendekati nilai Rf dari standar kuersetin yaitu 0,46.

DAFTAR PUSTAKA

- Annisa, B. N., Tama, A. P., Sa'adah, C. N., & Sary, N. V. (2021). Metode Isolasi Flavonoid pada Tumbuhan di Indonesia. *PharmaCine: Journal of Pharmacy, Medical and Health Science*, 2(1), 22–35.
- Astuti, P., & Budi, S. (2023). PROFIL KROMATOGRafi DAN PENENTUAN KADAR FLAVONOID TOTAL FRAKSI N-HEKSAN DAUN KALANGKALA (*Litsea angulata* BI) MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS. *Journal of Pharmaceutical Care and Sciences*, 3(2), 30–41.
- Isnaini, Joharman, Ananda, A. N., Ridho, A. R., & Makati, A. C. (2023). Uji Toksisitas Ekstrak Metanol Daun Galam Dengan Metode BSLT. *Lambung Mangkurat Medical Seminar*, 4(1), 177–182.
- Jawa La, E. O., Sawiji, R. T., & N., A. (2020). *Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah*. 03, 45–58.
- Kumalasari, & Andiarna. (2020). Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum Basilicum* L). *Journal For Health Sciences*, 4(1), 39.
- Nuryadin, Y., Naid, T., Dahlia, A. A., & Dali, S. (2018). Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Serai Dapur dan Daun Alang-Alang Menggunakan Spektrofotometri UV-VIS. *Window of Health: Jurnal Kesehatan*, 337–345.
- Puspitasari, A. D., & Prayogo, L. S. (2017). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi terhadap Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 1(2), 1–8.
- Roro, R., Alicia, A., Wardhani, K., & Akhyar, O. (2018). *SKRINING FITOKIMIA , AKTIVITAS ANTIOKSIDAN , DAN BUAH TANAMAN GALAM RAWA GAMBUT (Melaleuca cajuputi ROXB) Screening of Phytochemical , Antioxidant Activity and Total Phenolic- Flavonoid of Leaves and Fruit Extract of Galam Rawa Gambut (Melaleuca cajupu*. 9(2), 133–143.
- Salmia, S. (2016). *Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Kulit Batang Kedondong Bangkok (Spondias dulcis) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis*.
- Satria, R., Hakim, A. R., & Darsono, P. V. (2022). Penetapan Kadar Flavonoid Total dari Fraksi nHeksana Ekstrak Daun Gelinggang dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Journal of Engineering, Technology, and Applied Science*, 4(1), 33–46.
- Wardani, Y. A. (2018). *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Asal Jejunum Kelinci (Oryctolagus cuniculus) Sebagai Kandidat Probiotik*. <http://repository.ub.ac.id/161467/>