

PHYTOCHEMICAL SCREENINGS AND THIN LAYER CHROMATOGRAPHY ANALYSIS OF ETHANOL EXTRACT JERUJU LEAF (*HYDROLEA SPINOSA* L.)

Dyera Forestryana¹, Arnida²

¹Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Lestari Banjarbaru
Jl. Kelapa Sawit 8 Bumi Berkas Banjarbaru, Kalimantan Selatan

²Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat
Jl. Brigjen H. Hasan Basri, Banjarmasin Utara, Kota Banjarmasin,
Kalimantan Selatan

Corresponding Author: Dyera Forestryana (dyeraforestryana21@gmail.com)

ARTICLE HISTORY

| Received: 16 May 2020

| Revised: 21 July 2020

| Accepted: 27 July 2020

Abstract

Jeruju (*Hydrolea spinosa* L.) is a South Borneo wetland endemic plant that is believed by the local community as a medicinal plant for antipyretic. This study aims to identify the chemical compounds contained in Jeruju leaf extract. Extraction was carried out by maceration method using 96% ethanol solvent, then phytochemical screening and affirmation tests using thin-layer chromatography (TLC) using the mobile phase of chloroform: ethanol: aquades (20:1:0.5; 25:1:0.5; 27:1:0.5; 15:2:1; 8:2:1 and 6:2:1) and n-hexane: ethyl acetate in the ratio of 8:2; 7:3 and 6:4, the appearance of stains was carried out at UV 254 nm, 366 nm and with 10% H₂SO₄ spraying. The TLC analysis of Jeruju leaf extract shows that the ethanol extract of Jeruju leaf contains tannins, alkaloids, flavonoids, steroids, and saponins.

Key words: *Hydrolea spinosa* L., jeruju, maceration, thin layer chromatography (TLC)

SKRINING FITOKIMIA DAN ANALISIS KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS EKSTRAK ETANOL DAUN JERUJU (*HYDROLEA SPINOSA* L.)

Abstrak

Jeruju (*Hydrolea spinosa* L.) merupakan tumbuhan endemic lahan basah Kalimantan Selatan yang dipercaya masyarakat setempat sebagai tumbuhan berkhasiat obat yang digunakan sebagai penurun demam. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa kimia yang terkandung pada ekstrak daun jeruju. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, kemudian dilakukan skrining fitokimia dan uji penegasan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan fase gerak kloroform : etanol : aquades (20:1:0,5; 25:1:0,5; 27:1:0,5; 15:2:1; 8:2:1 dan 6:2:1) dan n-heksan : etil asetat dengan perbandingan 8:2; 7:3 dan 6:4, penampakan noda dilakukan pada UV 254 nm, 366 nm dan dengan penyemprotan H₂SO₄ 10%. Analisa KLT ekstrak daun Jeruju menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jeruju mengandung tanin, alkaloid, flavonoid, steroid dan saponin.

Kata kunci: Jeruju, *Hydrolea spinosa* L., maserasi, kromatografi lapis tipis (KLT)

Pendahuluan

Indonesia terkenal dengan banyaknya tumbuhan yang memiliki khasiat sebagai obat. Sayangnya, belum banyak yang menggali dan meneliti tumbuhan obat tersebut. Penggunaan tumbuhan obat oleh masyarakat pun terbilang tidak sedikit, masih banyak masyarakat kita yang beralih pada pengobatan tradisional menggunakan tumbuhan obat. Tanaman digunakan sebagai obat karena mengandung senyawa kimia yang bermanfaat dan kebanyakan belum diketahui kandungan senyawanya. Senyawa tersebut dapat berfungsi secara mandiri atau bersama-sama dengan senyawa lain untuk menimbulkan efek secara fisiologis dan psikologis terhadap manusia¹.

Kalimantan Selatan sebagai salah satu provinsi di Indonesia, merupakan salah satu tempat yang banyak ditumbuhi oleh tumbuhan obat. Sebagian besar lahan Kalimantan Selatan merupakan daerah berair (rawa) yang memiliki banyak spesies tumbuhan dan hanya sedikit tumbuhan yang telah diteliti khasiatnya. Tumbuhan rawa yang diyakini memiliki khasiat obat adalah jeruju. Jeruju merupakan salah satu tumbuhan rawa yang dikenal oleh masyarakat setempat sebagai obat antimalaria dan antipiretik. Namun, masih belum banyak dilakukan pengujian terhadap senyawa kimia yang terkandung pada tumbuhan jeruju. Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan suatu analisis sederhana yang dapat digunakan untuk melakukan penegasan terhadap senyawa kimia yang terkandung pada tumbuhan disamping skrining fitokimia. Nilai Rf dan warna noda yang diperoleh pada KLT dapat memberikan identitas senyawa yang terkandung².

Profil kromatogram suatu tanaman obat perlu dilakukan untuk mengumpulkan data mengenai profil kromatogram berbagai tanaman yang berpotensi sebagai obat sehingga dapat digunakan sebagai standardisasi dan pengawasan mutu obat bahan alam. Selain itu, setiap tanaman memiliki profil kromatogram yang khas dan berbeda dengan tanaman lain. Hal ini dapat digunakan sebagai acuan untuk mengetahui keberadaan dan kebenaran suatu tanaman dalam obat bahan alam sehingga dapat mencegah terjadinya pemalsuan dan penambahan bahan kimia obat (BKO). Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk melakukan identifikasi senyawa kimia dengan kromatografi lapis tipis yang terdapat pada ekstrak etanol daun jeruju.

Metode

Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah neraca analitik (Ohaus Explorer Pro dan GF-3000), vacuum rotary evaporator (Ika-Werke), seperangkat alat maserasi, waterbath (Mammert), oven (Mammert), lampu UV 254 nm dan 366 nm, bejana kromatografi.

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah serbuk daun jeruju, aquades (H_2O), n-heksan (C_6H_{14}) pa, kloroform ($CHCl_3$) pa (Merck), etanol (C_2H_5OH) 96% teknis, silika gel Merck Kieselgel 60 F₂₅₄, asam sulfat (H_2SO_4) 10% v/v, asam klorida (HCl) 10% v/v.

Prosedur

Ekstraksi maserasi daun jeruju

Ekstraksi daun jeruju dilakukan dengan cara maserasi. Serbuk daun jeruju ditimbang sebanyak 157,2 gram, kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol 96%. Sampel tersebut direndam selama 3 kali 24 jam sambil dilakukan pengadukan. Ekstrak cair yang diperoleh tersebut diuapkan menggunakan *rotary evaporator* kemudian dilanjutkan menggunakan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental daun jeruju.

Identifikasi kimia ekstrak etanol daun jeruju

Identifikasi alkaloid. Sebanyak 0.1 gram ditambahkan 10 mL kloroform dan ditambahkan beberapa tetes amonia. Fraksi kloroform dipisahkan dan diasamkan dengan beberapa tetes H_2SO_4 pekat. Fraksi asam diambil dan dibagi menjadi 3 tabung, kemudian ditambahkan pereaksi Dragendorf, Meyer, dan Wagner. Keberadaan alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada pereaksi Meyer, endapan merah pada pereaksi Dragendorf, dan endapan coklat pada endapan pereaksi Wagner³.

Identifikasi tanin. Sebanyak 0,1 g ekstrak kental dilarutkan ke dalam metanol, selanjutnya ditambahkan 2-3 tetes larutan $FeCl_3$ 1%. Sampel dinyatakan positif mengandung tanin jika terbentuk warna hijau gelap atau biru kehitaman⁴.

Identifikasi saponin. Ekstrak daun jeruju ditambahkan 5 mL air, kocok dalam tabung reaksi, terbentuk busa stabil (busa setinggi 1 cm dan stabil selama 30 menit)⁵.

Identifikasi flavanoid. Ekstrak sebanyak 2 mL dipanaskan, kemudian ditambahkan etanol. Ke dalam larutan ditambahkan serbuk magnesium dan ditambahkan HCl. Terbentuk larutan berwarna merah jingga menunjukkan adanya flavonoid⁶.

Identifikasi steroid. Identifikasi steroid dilakukan dengan menggunakan pereaksi Libermann-Burchard yaitu sampel (5 gram) diekstraksi dengan pelarut n-heksan (\pm 10 mL), kemudian disaring. Ekstrak yang diperoleh diambil sedikit dan dikeringkan di atas papan noda test, ditambahkan tiga tetes anhidrida asetat dan kemudian satu tetes asam sulfat (H_2SO_4) pekat, adanya senyawa golongan steroid ditandai dengan munculnya warna biru hijau⁷.

Identifikasi ekstrak etanol daun jeruju dengan metode KLT

Ekstrak etanol Jeruju ditotolkan pada jarak \pm 1 cm dari tepi bawah plat dengan pipa kapiler kemudian dielusi dengan fase gerak berupa:

1. -heksan : etil asetat dibuat dalam perbandingan 8:2; 7:3 dan 6:4.
2. kloroform : etanol : aquades dibuat dalam perbandingan 20:1:0,5; 25:1:0,5 dan 27:1:0,5

Noda yang terbentuk diamati di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 dan 366 nm.

Hasil

Tabel I. Hasil uji identifikasi senyawa kimia daun jeruju

No	Uji	Hasil	Keterangan
1.	Alkaloid	(+) (+) (+)	(Mayer) Ada endapan putih kekuning-kuningan (Wagner) Ada endapan coklat kemerahan (Dragendorf) Ada endapan jingga
2.	Tanin	(+)	Mengandung tanin, larutan berwarna biru kehitaman
3.	Saponin	(+)	Terdapat busa bertahan 5 menit
4.	Flavanoid	(+)	Mengandung flavanoid, larutan berwarna merah jingga
5.	Steroid	(+)	Warna biru kehijauan

Tabel 2. Hasil KLT ekstrak etanol daun jeruju dengan fase gerak non polar (*n*-heksan: etil asetat)

Penampak Bercak	<i>n</i> -heksan : etil asetat									
	Fase Gerak	6:4			7:3			8:2		
		Noda	Warna	Rf	Noda	Warna	Rf	Noda	Warna	Rf
$\lambda = 254 \text{ nm}$	1	K	0,98	1	H	0,90	1	K	0,72	
	2	HT	0,90	2	HT	0,87	2	H	0,69	
	3	K	0,80	3	H	0,76	3	K	0,53	
				4	K	0,72	4	H	0,38	
				5	HT	0,54	5	K	0,27	
				6	K	0,36				
$\lambda = 366 \text{ nm}$	1	K	0,90	1	H	0,90	1	U	0,69	
	2	K	0,84	2	K	0,78	2	K	0,54	
	3	K	0,54	3	H	0,54	3	H	0,36	
				4	K	0,42	4	K	0,29	
H ₂ SO ₄ *	1	U	0,96	1	U	0,90	1	J	0,98	
	2	MM	0,90	2	H	0,87	2	MM	0,85	
	3	H	0,81	3	U	0,76	3	J	0,80	
	4	MM	0,64	4	J	0,69	4	H	0,71	
	5	MM	0,40	5	MM	0,54	5	U	0,67	
	6	MM	0,33	6	H	0,53	6	J	0,58	
	7	MM	0,18	7	U	0,13	7	H	0,54	
	8	H	0,09				8	MM	0,42	
						9	H	0,36		
						10	H	0,29		

Keterangan : *) Noda disemprot menggunakan H₂SO₄ 10 % dengan pemanasan
 U = Ungu, H = Hijau, J = Jingga, HT = Hijau Tua, K = Kuning, MM = Merah Magenta

Tabel 3. Hasil KLT ekstrak etanol daun jeruju dengan fase gerak polar (kloroform: etanol: aquades)

Penampak Bercak	kloroform: etanol: aquades									
	Fase Gerak	20:1:0,5			25:1:0,5			27:1:0,5		
		Noda	Warna	Rf	Noda	Warna	Rf	Noda	Warna	Rf
$\lambda = 254 \text{ nm}$	1	H	0,98	1	H	0,98	1	H	0,98	
	2	K	0,96	2	K	0,76	2	H	0,94	
	3	K	0,76	3	H	0,51	3	K	0,54	
	4	K	0,71	4	H	0,05	4	H	0,14	
	5	H	0,24							
$\lambda = 366 \text{ nm}$	1	H	0,98	1	H	0,98	1	H	0,98	
	2	**K	0,78	2	**K	0,76	2	H	0,94	
	3	J	0,24	3	H	0,51	3	J	0,78	
				4	H	0,05	4	**K	0,54	
							5	H	0,14	
H ₂ SO ₄ *	1	J	0,94	1	H	0,90	1	H	0,90	
	2	U	0,90	2	MM	0,82	2	H	0,87	
	3	MM	0,85	3	U	0,76	3	J	0,76	
	4	MM	0,76	4	HM	0,73	4	U	0,67	
	5	J	0,67	5	J	0,64	5	J	0,62	
	6	MM	0,60	6	MM	0,45	6	MM	0,45	

7	J	0,49	7	U	0,20	7	J	0,40
8	U	0,36	8	MM	0,09	8	J	0,32
9	MM	0,25				9	U	0,09
10	U	0,20						
11	MM	0,13						
12	J	0,09						

Keterangan : *) Noda disemprot menggunakan H₂SO₄ 10 % dengan pemanasan

**) Fluoresensi

U = Ungu, H = Hijau, J = Jingga, HM = Hijau Muda, K = Kuning, MM = Merah Magenta

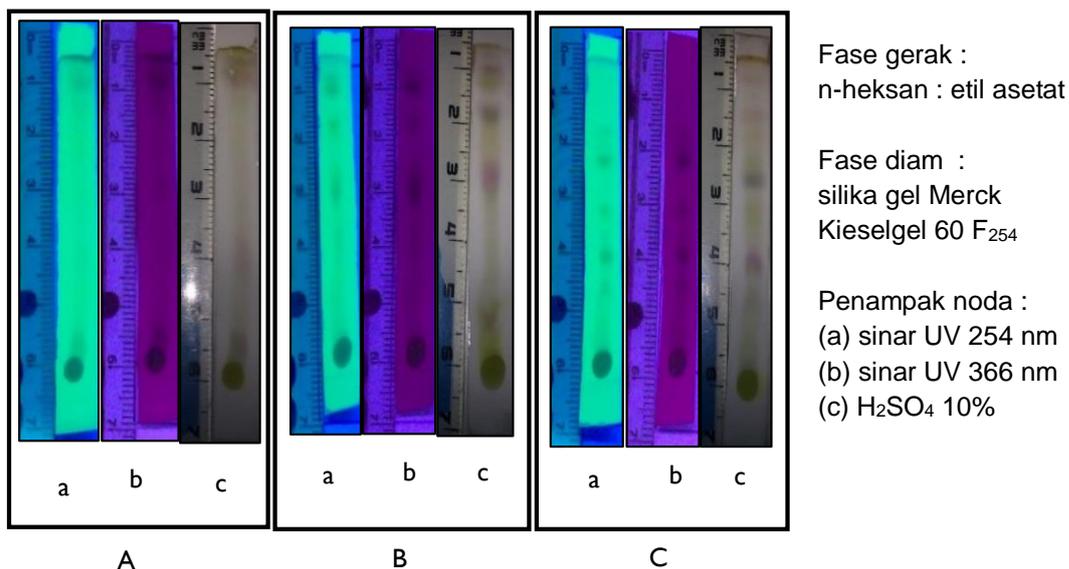
Tabel 4. Hasil KLT ekstrak etanol daun jeruju dengan fase gerak polar (kloroform: etanol: aquades)

Penampak Bercak	kloroform: etanol: aquades								
	15:2:1			8:2:1			6:2:1		
	Fase Gerak	Noda	Warna	Rf	Noda	Warna	Rf	Noda	Warna
$\lambda = 254 \text{ nm}$	1	H	0,96	1	H	0,98	1	H	0,98
	2	K	0,90	2	K	0,84	2	K	0,94
	3	K	0,84	3	H	0,69			
	4	H	0,64						
$\lambda = 366 \text{ nm}$	1	H	0,96	1	H	0,98	1	H	0,98
	2	K	0,90	2	K	0,96	2	**J	0,96
	3	**J	0,84	3	**J	0,82	3	**J	0,33
	4	H	0,64	4	H	0,69			
H ₂ SO ₄ *	1	H	0,98	1	H	0,98	1	U	0,90
	2	U	0,89	2	U	0,90	2	U	0,73
	3	MM	0,85	3	MM	0,85	3	U	0,67
	4	U	0,84	4	U	0,82	4	U	0,49
	5	K	0,82	5	J	0,80	5	J	0,42
	6	J	0,73	6	U	0,67	6	U	0,20
	7	H	0,64	7	U	0,64			
	8	U	0,62	8	H	0,60			
	9	U	0,54	9	U	0,54			
	10	U	0,45	10	U	0,49			
	11	U	0,33	11	U	0,40			
	12	U	0,20	12	U	0,25			
	13	U	0,25	13	U	0,13			
				14	U	0,09			

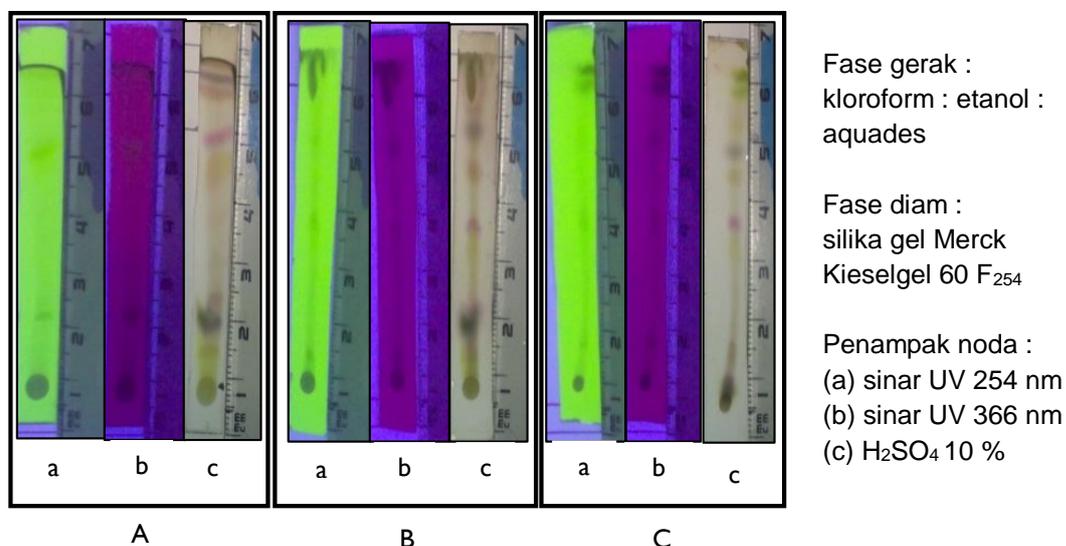
Keterangan : *) Noda disemprot menggunakan H₂SO₄ 10 % dengan pemanasan

**) Fluoresensi

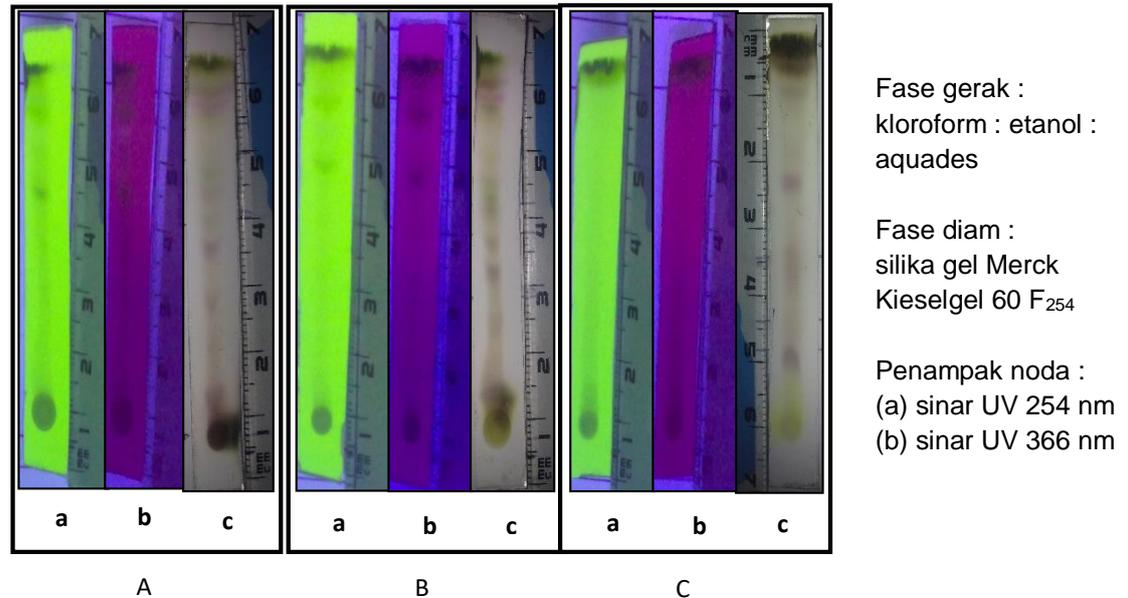
U = Ungu, H = Hijau, J = Jingga, K = Kuning, MM = Merah Magenta



Gambar 1. Kromatogram dengan fase gerak = n-heksan : etil asetat (6:4) (A); n-heksan : etil asetat (7:3) (B); n-heksan : etil asetat 8:2 (C).



Gambar 2. Kromatogram dengan fase gerak = kloroform : etanol : aquades (20:1:0,5) (A); kloroform : etanol : aquades (25:1:0,5) (B); kloroform : etanol : aquades (27:1:0,5) (C)



Gambar 3. Kromatogram dengan fase gerak = kloroform : etanol : aquades (15:2:1) (A); kloroform : etanol : aquades (8:2:1) (B); kloroform : etanol : aquades (6:2:1) (C)

Pembahasan

Berdasarkan skrining senyawa kimia yang dilakukan dengan reaksi warna dapat diketahui bahwa ekstrak etanol daun jeruju mengandung senyawa tanin, alkaloid, flavonoid, steroid dan saponin (Tabel 1). Terbentuknya endapan pada uji Mayer, Wagner dan Dragendorff berarti dalam ekstrak etanol jeruju terdapat alkaloid. Tujuan penambahan H_2SO_4 adalah karena alkaloid bersifat basa sehingga biasanya diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam⁸. Pada pengujian menggunakan pereaksi Mayer akan terbentuk endapan putih, karena ada pembentukan ikatan kompleks antara kalium-alkaloid. Pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomercurat(II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap⁹. Sedangkan dengan pereaksi Wagner, ditandai dengan perubahan warna dari coklat ke kuning sedangkan pada pereaksi Dragendorff ditandai dengan adanya endapan berwarna jingga¹⁰. Secara organoleptik, daun yang memiliki rasa yang pahit dan sepat terbukti mengandung alkaloid dan ini sesuai dengan rasa pahit daun jeruju.

Pada pengujian saponin, dilakukan dengan uji busa untuk membuktikan adanya saponin dengan adanya busa yang stabil di air. Saponin merupakan glikosida yang banyak terdapat di tumbuhan¹¹. Busa yang dihasilkan pada uji saponin disebabkan karena adanya glikosida yang dapat membentuk busa dalam air dan terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya¹². Pemeriksaan steroid dilakukan dengan pereaksi Liebermann-Burchard memberikan hasil positif berwarna biru. Hal ini didasari oleh kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid membentuk warna oleh H_2SO_4 dalam pelarut asam asetat anhidrid. Perbedaan warna yang dihasilkan oleh triterpenoid dan steroid disebabkan perbedaan gugus pada atom C-4¹³.

Flavonoid dan tanin merupakan bagian dari senyawa fenolik. Flavonoid mempunyai tipe yang beragam dan terdapat dalam bentuk bebas (aglikon) maupun

terikat sebagai glikosida. Aglikon polimetoksi bersifat non polar, aglikon polihidroksi bersifat semi polar, sedangkan glikosida flavonoid bersifat polar karena mengandung sejumlah gugus hidroksil dan gula^{8,14}. Oleh karena itu golongan flavonoid dapat tertarik dalam pelarut metanol yang bersifat universal. Tanin ditunjukkan dari adanya perubahan warna setelah penambahan FeCl_3 yang dapat bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil pada senyawa tanin. Penambahan FeCl_3 menghasilkan warna hijau kehitaman yang menunjukkan adanya tanin terkondensasi¹⁵. Senyawa FeCl_3 dalam air akan terionisasi menghasilkan Fe^{3+} dan Cl^- . Kation Fe^{3+} akan membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan atom O dari gugus hidroksi, menghasilkan senyawa kompleks berwarna. Hal ini didukung dengan adanya perubahan warna pada larutan sampel menjadi hijau kehitaman¹⁵.

Uji penegasan dilakukan untuk memastikan kandungan senyawa pada daun jeruju dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Data yang diperoleh adalah berupa nilai R_f dan warna noda pada kromatogram sebagai hasil dari elusi lempeng KLT yang akan memberikan informasi mengenai senyawa yang diduga terkandung pada ekstrak etanol daun jeruju. Nilai R_f yang diperoleh menunjukkan perbedaan sifat senyawa dan dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa¹⁶. Senyawa yang mempunyai R_f lebih besar berarti mempunyai kepolaran yang rendah, begitu juga sebaliknya. Hal tersebut dikarenakan fasa diam bersifat polar. Senyawa yang lebih polar akan tertahan kuat pada fasa diam, sehingga menghasilkan nilai R_f yang rendah. Pemisahan pada KLT terjadi karena persaingan antara fase diam dan fase gerak untuk mengikat komponen yang terdapat pada campuran yang akan dipisahkan. Persaingan tersebut disebabkan oleh polaritas yang dimiliki oleh fase diam dan komponen cairan. Komponen yang memiliki polaritas yang sama dengan fase diam akan berinteraksi lebih kuat dan akibatnya komponen tersebut akan terjerap oleh fase diam¹⁶.

Deteksi bercak dilakukan dibawah lampu UV dengan panjang gelombang pendek (254 nm) dan panjang gelombang panjang (366 nm) dan sebagai penampak noda digunakan larutan asam sulfat (H_2SO_4) 10%. Pengamatan pada lampu UV didasarkan pada prinsip dimana pada gelombang pendek 254 nm, lempeng memberikan fluoresensi sedangkan sampel berwarna gelap, noda yang tampak timbul karena adanya interaksi antara sinar UV dengan indikator fluoresensi yang terdapat pada lempeng KLT. Gelombang panjang 366 nm memberikan keadaan yang sebaliknya dimana noda memberikan fluoresensi dan lempeng berwarna gelap, noda yang tampak timbul karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh auksokrom yang ada pada noda¹⁷. Penggunaan penampak noda H_2SO_4 10% didasarkan pada kemampuan asam sulfat yang memiliki sifat oksidator untuk merusak gugus kromofor zat aktif sampel yang menyebabkan panjang gelombang berubah ke arah yang lebih panjang sehingga noda menjadi tampak oleh mata.

Kromatografi lapis tipis ekstrak etanol daun jeruju dilakukan dengan menggunakan fase gerak non polar n-heksan : etil asetat (6:4; 7:3 dan 8:2), fase gerak polar digunakan kloroform : etanol : aquades (20: 1: 0,5; 25: 1: 0,5, 27: 1: 0,5, 15: 2: 1, 8: 2: 1 dan 6: 2: 1). Pemilihan fase gerak didasarkan pada kemampuan fase gerak untuk mengelusi senyawa. Nilai R_f masing-masing fase gerak non polar dapat dilihat pada Tabel 2. Eluen n-heksan dan etil asetat memiliki sifat kepolaran yang berbeda. N-heksan adalah eluen yang bersifat non polar dan etil asetat bersifat polar. Berdasarkan gambar kromatogram pelarut non polar n-heksan : etil asetat dengan tingkat kepolaran yang berbeda (Gambar 1), diperoleh pemisahan yang baik dikarenakan noda memisah dengan jelas dengan semakin non polarnya sifat eluen. Terlihat pada eluen dengan perbandingan 8 : 2 noda memisah dengan baik. Noda yang diperoleh akan semakin banyak sebanding dengan sifat ke non polaran dari eluen yang digunakan. Pemilihan n-heksan : etil asetat karena dapat memisahkan

senyawa non polar, semipolar maupun polar, sehingga bercak hasil elusi dapat diidentifikasi golongan senyawanya. Eluen yang baik ialah eluen yang bisa memisahkan senyawa dalam jumlah yang banyak yang ditandai dengan munculnya noda¹⁶.

Pada Gambar 1, noda yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara noda satu dengan yang lainnya jelas. Pada UV 254 nm, 366 nm dan penyemprotan dengan menggunakan H₂SO₄ 10 % diperoleh noda dengan jumlah yang hampir sama banyak jika dibandingkan pada dengan eluen polar. Pada perbandingan 6 : 4, senyawa diduga flavonoid nampak berwarna kuning pada 254 nm dengan nilai adalah Rf 0,98 dan 0,8 dan berwarna kuning pada 366 nm pada Rf 0,84 dan 0,54. Pada reaksi semprot diperoleh warna ungu dengan Rf 0,96, merah magenta dengan Rf 0,9; 0,64; 0,4; 0,33 dan 0,18. Pada perbandingan 7 : 3 senyawa flavonoid ditandai dengan noda berwarna kuning pada 254 nm dengan nilai Rf 0,72 dan 0,36, pada 366 nm dengan Rf 0,42 berwarna kuning dan dengan reaksi semprot berwarna ungu dengan Rf 0,76 dan jingga pada Rf 0,69, sedangkan pada perbandingan 8 : 2 diperoleh noda berwarna kuning pada Rf 0,72 dan setelah disemprot dengan H₂SO₄ 10% diperoleh noda berwarna merah magenta pada Rf 0,85 dan hijau dengan Rf 0,42. Hal ini sesuai dengan yang disebutkan oleh Markham (1988), dimana senyawa flavonoid menunjukkan kuning. Perbandingan yang biasa digunakan untuk menentukan nilai Rf suatu flavonoid adalah senyawa quersetin karena merupakan senyawa yang banyak terdapat pada daun tumbuhan yang memberikan warna kuning dengan nilai Rf 0.64¹⁸. Warna yang timbul akibat reaksi semprot ini kemungkinan mengandung golongan flavonoid seperti khalkon, auron, flavanon dan katekin¹⁹.

Uji penegasan pada senyawa tanin dengan eluen n-heksan dan etil asetat tidak begitu banyak memberikan noda, hanya pada eluen dengan perbandingan 8 : 2 pada 254 nm dengan noda berwarna hijau dengan Rf 0,38 dan pada 366 nm dengan Rf 0,36 sedangkan dengan reaksi semprot diperoleh nilai Rf 0,36 dan 0,29 dengan noda berwarna hijau, hal ini dikarenakan karena pada senyawa tanin terdapat banyak gugus OH sehingga menyebabkan sifatnya polar, sehingga akan mudah terelusi pada eluen yang sifatnya polar²⁰. Adanya senyawa saponin pada perbandingan 6 : 4 ditandai dengan noda berwarna hijau pada Rf 0,9 dan kuning pada 366 nm, sedangkan pada perbandingan 7 : 3 diperoleh nilai Rf 0,87 dan 0,76 pada 254 nm dengan noda berwarna hijau dan noda berwarna kuning pada 366 nm dengan Rf 0,78 sedangkan pada perbandingan 8 : 2 tidak ditemukan adanya saponin. Senyawa steroid pada eluen dengan perbandingan 7 : 3 berwarna hijau dengan Rf 0,9 pada 254 nm dan pada 366 nm serta berwarna ungu dengan menggunakan reaksi semprot. Pada perbandingan 8 : 2, senyawa steroid ditandai dengan noda berwarna hijau pada Rf 0,69 dan pada reaksi semprot berwarna ungu dan hijau dengan nilai Rf berturut-turut 0,67 dan 0,71. Pereaksi H₂SO₄ dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan steroid. Terbentuknya noda berwarna ungu-dan warna biru-hijau pada plat KLT menandakan bahwa ekstrak tersebut mengandung steroid. Senyawa alkaloid pada eluen dengan perbandingan 8 : 2 diperoleh noda berwarna kuning dengan Rf 0,53 pada 254 nm dan Rf 0,53 pada 366 nm, sedangkan pada reaksi semprot diperoleh noda warna jingga dengan Rf berturut-turut adalah 0,98; 0,8; 0,54 dan 0,58. Pelarut n-heksan dikenal efektif terhadap alkaloid selain itu alkaloid dapat juga larut dalam pelarut semi polar (etil asetat) dan polar (metanol)⁸. Alkaloid sukar larut dalam air tetapi larut dalam kloroform, etil asetat, aseton dan alkohol. Alkaloid dalam tumbuh-tumbuhan pada umumnya berada dalam bentuk garamnya sehingga hanya larut dalam pelarut anorganik (kloroform, etil asetat, aseton, benzena, alkohol, etanol dan metanol).

Berdasarkan kepolaran pelarut yang digunakan, yaitu n-heksan dan etil asetat, etil asetat mampu menarik senyawa steroid, alkaloid, glikosida dan aglikon,

sedangkan n-heksan mampu menarik senyawa seperti sterol, terpenoid, aglikon, dan lignin²¹. Hal ini tentunya sesuai dengan beberapa warna yang dihasilkan pada eluen n-heksan dan etil asetat yaitu mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan steroid. Noda terlihat jelas memisah pada eluen n-heksan : etil asetat dengan perbandingan 8 : 2, karena perbandingan antara eluen n-heksan dan eluen etil asetat lebih besar sehingga campuran kedua eluen ini bersifat kurang polar (Gambar 1). Pada eluen n-heksan dan etil asetat (8:2) setelah penyemprotan dengan H₂SO₄ 10%, noda akan memperlihatkan warnanya, hal ini mengindikasikan bahwa senyawa yang terkandung di dalam ekstrak etanol daun jeruju sangatlah beragam. Penyemprotan menggunakan H₂SO₄ akan memberikan informasi terkait jenis flavonoid yang terdapat pada ekstrak etanol daun jeruju. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa komponen senyawa yang terkandung pada tumbuhan adalah bersifat polar²¹. Senyawa seperti antosianin, karoten, katekin, tanin, diterpen, flavan, polimer flavan, fenol, prosianidin, steroid, dan triterpen merupakan senyawa-senyawa yang dapat larut dalam pelarut polar hingga non-polar⁸.

Pemisahan pada eluen polar kloroform : etanol : air dapat dilihat pada Gambar 2 dan Gambar 3. Noda tidak memisah dengan baik karena masih terdapat noda yang berekor dimana penyebab noda yang berekor dapat disebabkan oleh konsistensi ekstrak yang ditotolkan pada lempengan agak cair. Data nilai Rf untuk eluen polar kloroform : etanol : air dapat dilihat pada Tabel 3 dan 4. Pada perbandingan 20 : 1 : 0,5, adanya senyawa alkaloid ditandai dengan noda berwarna kuning pada 254 nm dengan Rf 0,96 dan berwarna jingga setelah disemprot H₂SO₄ dengan Rf secara berturut-turut adalah 0,09;0,49;0,67 dan 0,94. Sedangkan pada perbandingan 25 : 1 : 0,5, diperoleh noda berwarna jingga pada Rf 0,64 dengan pereaksi semprot. Sedangkan pada perbandingan 27 : 1 : 0,5, pada 366 nm diperoleh noda berwarna jingga dengan Rf 0,78 dan Rf 0,32; 0,40; 0,62 dan 0,76 pada deteksi dengan reaksi semprot. Pada perbandingan 15 : 2 : 1, diperoleh noda berwarna kuning dengan dengan Rf 0,84 di 254 nm, dan berflouresensi jingga pada 366 nm pada Rf 0,84 dan pada reaksi semprot menggunakan H₂SO₄ diperoleh noda berwarna ungu, kuning dan jingga dengan Rf berturut turut adalah dengan Rf 0,84; 0,82 dan 0,73. Pada perbandingan 8 : 2 : 1 dan 6 : 2 : 1, alkaloid menunjukkan noda berwarna kuning pada 254 nm dan berflouresensi jingga pada 366 nm, sedangkan dengan pereaksi semprot berwarna jingga.

Pada perbandingan 20 : 1 : 0,5; 25 : 1 : 0,5, senyawa yang diduga flavonoid pada 254 nm menunjukkan noda berwarna kuning pada 254 nm pada Rf 0,76, sedangkan pada perbandingan 27 : 1 : 0,5, diperoleh nilai Rf 0,54. Pada 366 nm, senyawa flavonoid berflouresensi kuning dengan Rf 0,76; 0,78 dan 0,54 pada masing-masing perbandingan yang menandakan adanya golongan flavonoid flavon dan flavanon. Pada reaksi semprot diperoleh noda berwarna merah magenta dan ungu yang merupakan flavonoid golongan auron dan khalkon. Pada perbandingan 15 : 2 : 1, senyawa flavonoid memberikan noda berwarna kuning pada 254 nm dan 366 dan noda berwarna merah magenta dan ungu setelah disemprot dengan H₂SO₄. Sedangkan pada perbandingan 8 : 2 : 1 dan 6 : 2 : 1, senyawa flavonoid hanya terdeteksi setelah disemprot dengan menggunakan H₂SO₄ dengan noda berwarna merah magenta dan ungu.

Uji penegasan senyawa tanin pada perbandingan 20 : 1 : 0,5, diperoleh noda berwarna hijau pada 254 nm dan noda berwarna hijau dan ungu setelah disemprot dengan H₂SO₄, sedangkan pada perbandingan 25 : 1 : 0,5, senyawa tanin berwarna hijau di 254 nm dan 366 nm dan berwarna hijau kekuningan pada reaksi semprot. Pada perbandingan 27 : 1 : 0,5 diperoleh noda berwarna hijau pada 254 nm dan dengan pereaksi semprot, tetapi tidak ada noda yang terlihat pada 366 nm untuk semua perbandingan eluen polar. Sedangkan pada perbandingan 15 : 2 : 1; 6 : 2 : 1 dan 6 : 2 : 1 diperoleh noda berwarna hijau pada 254 nm dan 366 nm dan

berwarna hijau dan ungu pada reaksi semprot. Senyawa steroid dan saponin tidak ditemukan pada eluen polar ini. Senyawa steroid merupakan senyawa yang memiliki sifat non polar, sehingga pada eluen polar senyawa steroid ini tidak terelusi. Sedangkan senyawa saponin tidak terdeteksi pada eluen polar dan hanya terdeteksi pada eluen non polar, diduga senyawa saponin yang terelusi adalah saponin yang sifatnya non polar karena memiliki gugus hidrofob yaitu aglikon (sapogenin).

Nilai Rf yang kecil pada eluen polar dan non polar menunjukkan bahwa senyawa pada noda tersebut semakin kuat diserap oleh silika gel sehingga noda akan berada di bagian bawah, hal ini menunjukkan bahwa noda tersebut memiliki kepolaran yang lebih besar dikarenakan adanya ikatan hidrogen antara senyawa dengan silika gel tersebut, sehingga ketika senyawa diserap oleh silika maka untuk sementara pengelusan terhenti dan eluen bergerak tanpa adanya noda. Hal inilah yang menyebabkan nilai Rf yang diperoleh kecil, sedangkan untuk noda yang bersifat non polar akan terus naik sampai batas atas. Prinsip ini sama halnya dengan hukum "like dissolved like" dimana senyawa akan cenderung mudah larut pada pelarut yang memiliki kepolaran yang relatif sama. Senyawa non polar akan bergerak lebih cepat daripada yang polar menurut prinsip "like dissolved like". Hasil pengamatan profil KLT menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jeruju mengandung beragam senyawa yang dapat dilihat dari noda-noda berwarna pada lempengan yang diperoleh dari hasil pengelusan dengan nilai Rf yang beragam. Noda tersebut menunjukkan bahwa pada noda tersebut terdapat senyawa aktif, dimana satu noda bisa mengandung banyak senyawa aktif sedangkan satu senyawa terdapat dalam satu noda. Deteksi noda menggunakan sinar UV 254 nm dan 366 nm memperlihatkan bahwa noda tidak banyak muncul dibandingkan dengan penyemprotan pereaksi kimia yaitu H₂SO₄ 10%, ini berarti bahwa noda baru banyak muncul karena reaksi yang terjadi antara senyawa yang terkandung pada noda dengan H₂SO₄ 10%.

Kesimpulan

Senyawa yang terkandung pada ekstrak daun jeruju adalah senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, steroid dan saponin.

Daftar Pustaka

1. Bawa, I. G. A. G. Isolasi dan Identifikasi golongan senyawa toksik dari daging buah pare (*Momordica charantia* L.). Jurnal Kimia [serial online]. 2009; 3(2), 117-124.
2. Saifudin, A, Rahayu, Viesa., Teruna, HD. Standarisasi Bahan Obat Alam. Edisi pertama. Yogyakarta : Graha Ilmu; 2011.
3. Syafitri, NE, Maria B, Syamsul F. Kandungan fitokimia, total fenol, dan total flavonoid ekstrak buah harendong (*Melastoma affine* D. Don). Current Biochemistry [serial online]. 2014; 1(3); 105-115. DOI: <https://doi.org/10.29244/cb.1.3.%25p>.
4. Tjitda PJP, Febri OB. Skrining fitokimia ekstrak metanol, kloroform dan n-heksan daun flamboyan (*Delonix regia*. Raf) asal Kupang. Sains dan Terapan Kimia [serial online]. 2019; 13(2); 70-79. DOI: 10.20527/jstk.v13i2.5949.
5. Putri, WS, Warditiani, NK, Larasanty, LPF. Skrining fitokimia ekstrak etil asetat kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.I). Jurnal Farmasi Udayana [serial online]. 2013; 2(4); 56-60.
6. Zaini M, Vivi S. Skrining fitokimia ekstrak carica papaya radix, piper ornatum folium dan nephelium lappaceum semen asal Kalimantan Selatan. Jurnal Kajian Ilmiah Kesehatan dan Teknologi [serial online]. 2020; 2(1); 15-28.

7. Hidayah, WW, Dewi K, Enny F. Isolasi, identifikasi senyawa steroid dari daun getih-getihan (*Rivina humilis* L.) dan uji aktivitas sebagai antibakteri. Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi [serial online]. 2016; 19(1); 32-37. DOI: <https://doi.org/10.14710/jksa.19.1.32-37>.
8. Harborne. Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Edisi II. Diterjemahkan oleh Padmawinata, K. Dan Soediro, I. Bandung: ITB; 1996.
9. Ergina, E., Nuryanti, S., Pursitasari, I. D. Uji kualitatif senyawa metabolit sekunder pada daun palado (*Agave angustifolia*) yang diekstraksi dengan pelarut air dan etanol. Jurnal Akademika Kimia [serial online]. 2014; 3(3), 165-172.
10. Marlina, SD, Venty, S, Suyono. Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia buah labu siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam ekstrak etanol. Biofarmasi [serial online]. 2005; 3(1); 26-31. DOI: 10.13057/biofar/f030106.
11. Nurwidayati A. The phytochemical screening and thin layer chromatography results of *Jatropha gossypifolia* seeds. Health Science Journal of Indonesia [serial online]. 2012; 3(2); 27-31. DOI: 10.22435/hsji.v3i2 Des.3075.99-103.
12. Ningsih D., Zufahair, Dwi K. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri. Molekul [serial online]. 2016; 11(1): 101-111. DOI
13. Marlina SD, Saleh C. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Fraksi nHeksana, Etil asetat, dan Metanol dari Buah Labu Air (*Lagenari Siceraria* (*Morliana*)). J. Kimia Mulawarman [serial online]. 2011; 8(2); 39-63.
14. Markham, K.R. Cara mengidentifikasi flavonoid. Diterjemahkan oleh Padmawinata, K. Bandung : ITB; 1988.
15. Astarina NWG,; Astuti KW, Warditiani NK. Skrining fitokimia ekstrak metanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). Jurnal Farmasi Udayana [serial online]. 2013; 2(4); 1-7.
16. Gandjar, Ibnu G, Abdul R. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar; 2007.
17. Maulana, M. Profil kromatografi lapis tipis (KLT) ekstrak daun bidara arab (*Ziziphus spina cristi*, L.) berdasarkan variasi pelarut. [Skripsi]. Malang.: Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim; 2018.
18. Roviqowati, F, Yuli W, Samanhudi, Ahmad Y. Total flavonoid content analysis four iler accessions (*Coleus Atropurpureus* [L] Benth) on lowland Karanganyar, Central Java, Indonesia. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research [serial online]. 2019; 12 (7); 167-170. DOI: <http://dx.doi.org/10.22159/ajpcr.2019.v12i7.32513>.
19. Venkataraman, 1962, Method for determining the structure of flavonoid compound, in Geissman, T.A. (ed.), The Chemistry of Flavonoid Compound, 70.
20. Romadanu, Siti H R, Shanti D L. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak bunga lotus (*Nelumbo nucifera*). FISHTECH [serial online]. 2014; 3(1); 1-6. DOI: <https://doi.org/10.36706/fishtech.v3i1.3523>.
21. Widyawati, PS, Tarsisius DWB, Fenny AK, Evelyn LW. Difference of solvent polarity to phytochemical content and antioxidant activity of pluchea indicia less leaves extracts. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research [serial online]; 2014; 6(4); 850-855.