

UJI KUALITATIF DAN PERHITUNGAN NILAI RF SENYAWA FLAVONOID DARI EKSTRAK DAUN GULMA SIAM

¹Yusnita Usman, ²Rahmatullah Muin

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nani Hasanuddin Makassar

Email : yusnita51mb4@gmail.com

ABSTRAK

Tumbuhan gulma siam merupakan tumbuhan pengganggu tetapi bermanfaat bagi kehidupan manusia. Dalam kesehatan berguna sebagai obat luka, diabetes, batuk maupun sebagai antioksidan. Diketahui bahwa senyawa yang dapat menyembuhkan luka dan aktivitas antioksidan adalah senyawa flavonoid. Telah dilakukan penelitian identifikasi senyawa flavonoid ekstrak daun gulma siam (*Chromolaena odorata L.*) dengan uji kualitatif dan perhitungan nilai retention factor (Rf) dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi ada tidaknya senyawa flavonoid yang terkandung pada ekstrak daun gulma siam (*Chromolaena odorata L.*). Daun gulma siam dilarutkan menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode maserasi yang bertujuan untuk menyari kandungan kimia yang terdapat didalam daun gulma siam. Penentuan senyawa menggunakan dua cara yaitu uji kualitatif (uji pereaksi) dan perhitungan nilai RF dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun gulma siam mengandung senyawa flavonoid yang ditandai dengan perubahan warna merah setelah dilakukan uji kualitatif (uji pereaksi). Sedangkan untuk kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan eluen etil asetat : n-hexan (1:1) ekstrak etanol dengan nilai Rf (0,3 cm, 0,55 cm), ekstrak N-Hexan dengan nilai Rf (0,27 cm, 0,36 cm) dan ekstrak H₂O dengan nilai Rf (0,61 cm, 0,67 cm) positif mengandung flavonoid yang ditandai dengan warna bercak biru dan hijau dan teridentifikasi dengan nilai Rf Flavonoid yaitu 0,2-0,75 cm.

Kata kunci : Daun Gulma Siam, Flavonoid, Retensi faktor.

PENDAHULUAN

Pada dasarnya, sejak dahulu bangsa Indonesia telah mengenal dan memanfaatkan tumbuhan berkhasiat obat sebagai salah satu upaya untuk menanggulangi masalah kesehatan. Tidak ada yang dapat memastikan sejak kapan tradisi memanfaatkan tumbuhan berkhasiat obat ini muncul di Indonesia. Pengetahuan tentang pemanfaatan tumbuhan herbal ini kemudian diwariskan secara turun temurun hingga generasi sekarang. Dengan warisan inilah sampai saat ini telah tercipta berbagai ramuan herbal yang merupakan ciri khas pengobatan tradisional Indonesia (Khoiril, 2010).

Pemanfaatan tumbuhan obat didukung dengan makin berkembangnya disiplin ilmu kedokteran yang mulai memberikan perhatian pada tanaman obat dan atau obat herbal. Selain mengandung air, tumbuhan juga mengandung senyawa kimia lain yang kebanyakan terdiri dari senyawa anorganik dan organik yakni metabolit primer dan metabolit sekunder. Kedua senyawa tersebut memiliki fungsi yang berbeda (Hanani, 2015).

Salah satu tumbuhan yang biasa digunakan sebagai bahan obat adalah tumbuhan gulma siam. Gulma siam merupakan tumbuhan pengganggu yang sangat merugikan tumbuhan disekitarnya, karena kompetitor dalam penyerapan air dan unsur hara. Tumbuhan ini menjadi salah satu penyebab turunnya hasil panen pada tanaman perkebunan, seperti cabai, tebu, kelapa, kelapa sawit dan lain-lain. Namun, di sisi lain tumbuhan gulma siam memiliki berbagai potensi bermanfaat bagi kehidupan manusia, di bidang pertanian dapat digunakan sebagai pupuk organik, biopestisida serta herbisida dan di bidang medis secara tradisional dapat digunakan sebagai obat luka, diabetes, batuk, menghentikan pendarahan serta mempunyai aktifitas antioksidan yang tinggi (Saputra, dkk. 2017).

Senyawa flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu dan biru dan sebagai zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Sejumlah tanaman obat yang mengandung flavonoid telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan,

Ekstrak etanol daun gulma siam positif mengandung senyawa metabolit sekunder, salah satunya adalah senyawa flavonoid. Maka dari itu melihat banyaknya khasiat dari tanaman gulma siam tersebut yang berguna bagi kesehatan khususnya sebagai antiinflamasi dilakukan kembali penelitian untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid pada daun gulma siam (*Chromolaena odorata* L.) yang diambil di kabupaten maros dimana Flavonoid ini berfungsi sebagai antiinflamasi (Fitrah dkk, 2017).

JENIS PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid pada ekstrak daun gulma siam (*Chromolaena odorata* L.) dengan uji kualitatif dan perhitungan nilai Rf menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT).

POPULASI DAN SAMPEL

Populasi pada penelitian ini adalah tumbuhan gulma siam yang berada pada satu tempat daun gulma siam.

Adapun sampel pada penelitian ini adalah 250 gr daun gulma siam yang diambil dari satu tempat merupakan daun yang masih segar.

ALAT DAN BAHAN

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah batang pengaduk, beker gelas, chamber, corong pisah, cawan porselin, gelas erlenmeyer, gelas ukur, kompor listrik, oven, pinset, pipet tetes, pipa kapiler, plat KLT silika gel GF 254, rotavapor, tabung reaksi, sinar UV dan toples untuk maserasi.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah air suling, aluminium foil, asam klorida pekat, etanol, etil asetat, magnesium, N-Hexan, kapas dan label.

PROSEDUR KERJA

a. Pengambilan sampel

Sampel daun gulma siam yang digunakan adalah daun yang masih segar, masih tampak hijau tua. Pengambilan sampel dipilih pada waktu pagi hari 07.00-09.00.

b. Pengolahan sampel

Daun gulma siam yang telah diambil dipisahkan dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing. Kemudian daun dicuci bersih menggunakan air mengalir, lalu dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan tidak terkena cahaya matahari langsung.

c. Ekstraksi sampel

Daun gulma siam ditimbang sebanyak 250 gram, dimasukkan kedalam bejana maserasi (kaca) dan dibasahi dengan etanol sebanyak ± 3 L atau sampai seluruh daun terendam etanol. Metode ini dilakukan selama

5 hari, terlindung dari sinar matahari dan diaduk selama beberapa menit dua kali dalam sehari. Ekstrak kemudian disaring dari ampasnya, kemudian diekstraksi kembali sebanyak tiga kali hingga simplisia terekstraksi sempurna. Dikatakan terekstraksi sempurna apabila warna dari cairan penyari sudah bening. Setelah terekstraksi sempurna, ekstrak etanol dikumpulkan dan diuapkan dalam rotavapor.

Partisi sampel dengan N-Hexan dan H₂O

Ekstrak etanol kental Daun gulma siam disuspensikan dengan air suling dan dimasukkan dalam corong pisah, selanjutnya diekstraksi dengan pelarut N-Hexan, dikocok hingga homogen dan didiamkan hingga nampak memisah. Setelah tampak memisah kran dibuka, lapisan air dan lapisan n-hexan ditampung dalam wadah yang terpisah. Ekstrak n-hexan dan H₂O yang diperoleh kemudian diuapkan dan dimasukkan kedalam vial.

d. Uji Kualitatif Flavonoid

Sampel ditambahkan dengan 5 ml etanol, kemudian dikocok dan dipanaskan. Hasil campuran disaring dan dimasukan ke tabung reaksi. Selanjutnya pada masing-masing filtrat kemudian ditambahkan Mg 0,2 g dan 3 tetes asam klorida. Flavonoid positif jika terjadi warna merah, kuning atau jingga pada lapisan etanol (Oktaviani, dkk. 2015., Adlhani, 2014).

e. Preparasi KLT

a. Penjenuhan Chamber

Cairan pengelusi yang telah dibuat dengan perbandingan tertentu dimasukkan ke dalam chamber. Kertas saring yang telah dipotong memanjang kemudian dimasukkan ke dalam chamber hingga menjulur keluar lalu chamber ditutup. Chamber dikatakan jenuh bila cairan pengelusi telah mencapai ujung dari kertas saring.

b. Proses Elusi Ekstrak Pada KLT

Dibuat garis lurus pada lempeng KLT kira-kira 1 cm (sebagai batas bawah) dan 0,5 cm (sebagai batas atas) dari masing-masing ujung lempeng. Ekstrak etanol dan ekstrak n-hexan ditotolkan pada batas bawah lempeng yang sebelumnya telah diaktifkan dengan cara pemanasan pada suhu 120°C selama 15 menit. Penotolan dilakukan dengan menggunakan pipet kapiler secara tegak lurus (90° dari permukaan lempeng), kemudian masing-masing lempeng yang sudah ditotolkan ekstrak tersebut dimasukkan kedalam masing-masing chamber berisi eluen yang telah dijenuhkan. Posisi lempeng berdiri dengan kemiringan 50° dari dinding chamber dan batas bawah tidak terendam. Chamber ditutup dan dibiarkan hingga cairan pengelusi mencapai batas atas lempeng.

c. Identifikasi Noda pada Lampu UV

Lempeng dikeluarkan dari chamber dan dibiarkan hingga kering. Selanjutnya noda yang terbentuk diamati dibawah sinar UV 366 nm. Noda yang tampak pada lempeng ditandai untuk kemudian dihitung jaraknya untuk menentukan nilai Rfnya.

d. Perhitungan Nilai Rf

harga Rf (Retention factor) yang dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa dari titik asal}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut dari titik asal}}$$

LANGKAH PENGOLAHAN DATA

Data yang diperoleh dilihat berdasarkan hasil KLT berupa noda atau bercak yang berpendar kuning, hijau ataupun biru dibawah sinar UV 366 dan teridentifikasi sebagai harga Rf (*Retention factor*) sesuai rumus Rf di atas.

HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Hasil Penimbangan Sampel Daun Gulma Siam (*Chromolaena odorata L.*)

Berat Sampel Daun Gulma Siam	Berat Ekstrak Kental Daun Gulma Siam	Rendamen
250 gram	21 gram	8,4 %

Tabel 2. Hasil Uji Senyawa Flavonoid dengan Uji Pereaksi Ekstrak Etanol Daun Gulma Siam (*Chromolaena odorata L.*)

No	Sampel	Pereaksi	Warna	Ket
1	Ekstrak Etanol	Serbuk Mg+HC l pekat	Merah	(+)

Tabel 3. Hasil Uji Senyawa Flavonoid dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Gulma Siam (*Chromolaena odorata L.*) dengan Eluen Etil Asetat-N-Hexan (1:1)

No	Warna noda	Nilai Rf
1	Biru	0,3
2	Hijau	0,55

Tabel 4. Hasil Uji Senyawa Flavonoid dengan Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak N- Hexan Daun Gulma Siam (*Chromolaena odorata L.*) dengan Eluen Etil Asetat-N- Hexan (1:1)

No	Warna noda	Nilai Rf
1	Biru	0,27
2	Hijau	0,36

Tabel 5. Hasil Uji Senyawa Flavonoid dengan Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak H₂O Daun Gulma Siam (*Chromolaena odorata L.*) dengan Eluen Etil Asetat-N- Hexan (1:1)

No	Warna noda	Nilai Rf
1	Biru	0,61
2	Hijau	0,67

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid pada ekstrak daun gulma siam (*Chromolaena odorata L.*). Untuk memperoleh ekstrak daun gulma siam, harus melewati beberapa tahap yang pertama yaitu sampel daun gulma siam yang sudah dikeringkan diekstraksi menggunakan metode maserasi karena merupakan metode sederhana yang sangat cocok untuk menyari bahan yang lembut atau tidak keras serta bahan yang tidak tahan atau rusak karena pemanasan. Pelarut yang digunakan adalah pelarut etanol karena merupakan pelarut yang dapat menarik komponen-komponen kimia baik yang bersifat polar maupun non polar. Tujuan dari ekstraksi ini adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada daun gulma siam tersebut.

Hasil ekstrak daun gulma siam (*Chromolaena odorata L.*) didapatkan ekstrak etanol sebanyak 21 gram dengan rendamen 8,4%. Untuk identifikasi senyawa flavonoid pada ekstrak daun gulma siam (*Chromolaena odorata L.*) dilakukan uji kualitatif atau uji pereaksi terlebih dahulu yang bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid dimana 1 g ekstrak gulma siam ditambahkan etanol sebanyak 5 ml dan dipanaskan lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pereaksi serbuk Mg dan HCl pekat. Menurut Nirwana, 2015 digunakan magnesium sebagai pereduksi, reduksi tersebut dilakukan dalam suasana asam dengan penambahan HCl. Reduksi dengan magnesium dan asam klorida pekat menghasilkan warna

kemerahan pada ekstrak tanaman uji. Hasil yang didapatkan terjadi perubahan warna yaitu berwarna merah sehingga ekstrak positif mengandung flavonoid.

Untuk identifikasi dengan kromatografi Lapis tipis dilakukan fraksinasi terlebih dahulu untuk memisahkan komponen yang bersifat polar dan non polar. Sebanyak 3 gram ekstrak kental etanol diekstraksi kembali dengan menambahkan H₂O dan n- hexan dengan menggunakan corong pisah. Dikocok dan didiamkan hingga terbentuk 2 lapisan. Lapisan bawah merupakan lapisan air karena mempunyai BJ yang lebih besar dari n-hexan. Air memiliki BJ 1 g sedangkan n-hexan 0,670-0,677 g. Ekstrak n-hexan dan Ekstrak H₂O kemudian dimasukkan kedalam vial yang berbeda untuk diidentifikasi.

Ekstrak etanol, N-Hexan dan H₂O selanjutnya dilakukan identifikasi senyawa secara kromatografi lapis tipis. Identifikasi KLT menggunakan silica gel 254 nm sebagai fase diam yang bersifat polar dimana lempeng dipotong dengan ukuran 7x1 cm kemudian diaktifkan dengan cara pemanasan di dalam oven 120°C selama 15 menit. Sedangkan untuk fase gerak digunakan bermacam-macam eluen yang memiliki sifat polaritas yang berbeda-beda. Ekstrak ditotolkan pada lempeng yang telah diaktifkan kemudian dimasukkan ke dalam chamber yang berisi eluen yang telah dijenuhkan. Tujuan dari penjenuhan chamber ini dimaksudkan agar proses elusi hanya berasal dari eluen dan tidak diganggu oleh uap air sehingga diperoleh hasil pemisahan yang baik dan memuaskan. Lempeng yang telah ditotolkan diidentifikasi dibawah sinar UV 366 nm setelah terelusi sempurna.

Menurut Anam, 2015 Mekanisme penampakan noda pada lampu UV 254 nm adalah lempeng akan berfluoresensi sedangkan noda akan tampak gelap karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan indikator fluoresensi yang terdapat pada lempeng. Sedangkan mekanisme penampakan noda pada lampu UV 366 nm adalah noda akan berfluoresensi sedangkan lempeng akan tampak gelap karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan kromofor yang terikat oleh auksokrom yang ada pada noda tersebut .

Berdasarkan Rachmawati, 2017 Hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis terhadap ekstrak etanol dengan menggunakan eluen Etil Asetat : N-Hexan (1:1) terdapat 2 noda yang berwarna biru dengan nilai Rf 0,3 dan hijau dengan nilai Rf 0,55. Menurut Hanani, 2015 flavonoid pada sinar UV 366 nm, terlihat fluoresensi warna kuning, biru atau hijau. Sedangkan senyawa flavonoid memiliki nilai Rf 0,2-0,75. Sehingga ekstrak etanol dengan uji kromatografi lapis tipis positif mengandung flavonoid.

Menurut Rachmawati, 2017 Hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis terhadap ekstrak N-Hexan dengan menggunakan eluen Etil Asetat : N-Hexan (1:1) terdapat 2 noda yang berwarna biru dengan nilai Rf 0,27 dan hijau dengan nilai Rf 0,36. Menurut Hanani,

2015 flavonoid pada sinar UV 366 nm, terlihat fluoresensi warna kuning, biru atau hijau. Sedangkan senyawa flavonoid memiliki nilai Rf 0,2-0,75 Sehingga ekstrak n-hexan dengan uji kromatografi lapis tipis positif mengandung flavonoid.

Hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis terhadap ekstrak H₂O dengan menggunakan eluen Etil Asetat : N-Hexan (1:1) terdapat 2 noda yang berwarna biru dengan nilai Rf 0,61 dan hijau dengan nilai Rf 0,67. Hanani, 2015 flavonoid pada sinar UV 366 nm, terlihat fluoresensi warna kuning, biru atau hijau. Sedangkan senyawa flavonoid memiliki nilai Rf 0,2-0,75 (Rachmawati, dkk. 2017). Sehingga ekstrak H₂O dengan uji kromatografi lapis tipis positif mengandung flavonoid.

Hasil penelitian dengan sampel yang sama bisa saja memberikan hasil yang berbeda yang dapat disebabkan oleh diantaranya ialah perbedaan daerah tempat tumbuh sampel, cara atau metode perlakuan, serta alat dan bahan yang digunakan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa identifikasi senyawa flavonoid dari tanaman gulma siam (*Chromolaena odorata L*) dengan uji pereaksi dan metode Kromatografi Lapis Tipis positif mengandung senyawa Flavonoid.

SARAN

Disarankan untuk penelitian selanjutnya agar dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai jenis-jenis senyawa lainnya yang terdapat pada daun gulma siam (*Chromolaena odorata L*).

DAFTAR PUSTAKA

- Adlhani, E., 2014. Penapisan Kandungan Fitokimia Pada Buah Labu Kuning (*Cucurbita moschata*). Teknologi Industri Pertanian, Politeknik Tanah Laut.
- Fitrah, M., Winarno, H., Simanjuntak, P., 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Kimia Zat Anti Kanker dari Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata L.*). Jurnal Farmasi UIN Alauddin, Makassar.
- Gandjar, G.I., & Rohman, A., 2012. Analisis Obat Secara Spektroskopi dan Kromatografi. Pustaka Pelajar, Yogyakarta
- Hanani, E., 2015. *Analisis Fitokimia*. EGC, Jakarta.
- Indranila., & Ulfah, M., 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Karika (*Carica pubescens*) Dengan Metode Dpph Beserta Identifikasi Senyawa Alkaloid, Fenol Dan Flavonoid. Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim, Semarang.
- Kusnadi., Devi, E.T., 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveoleus L.*) dengan Metode Refluks. Politeknik Harapan bersama, Tegal.
- Nirwana, A.P., Astirin, O.P., & Widiyani, T., 2015. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Benalu Kersen (*Dendrophthoe pentandra L. Miq.*). Mahasiswa Prodi Biosain Pascasarjana UNS.
- Oktaviani, E., Wibowo, M.A., & Idiawati, N., 2015. Penapisan Fraksi Antioksidan Daun Buas-Buas (*Premna serratifolia Linn*). Fakultas MIPA Universitas Tanjungpura,
- Putri, F.E., 2016. Uji Efek Sedasi Ekstrak Daun *Helianthus annuus L.* Dengan Ekstraksi Bertingkat Terhadap Mencit (*Mus musculus*) Galur BALB/C. Universitas Airlangga, Surabaya.
- Purwanto, N.B., 2016. *Obat Herbal Andalan Keluarga*. FlashBooks, Yogyakarta.
- Rachmawati, A., Suprihadi, A., & Kusdiyantini, E., 2017. Identifikasi Senyawa Bioaktif Pada Isolat Bakteri Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L.*) Sebagai Agensia Hayati *Xanthomonas Oryzae Pv. Oryzae*. Universitas Diponegoro Tembalang, Semarang.
- Restiani, A.R., Suarsini, E., & Indriwati, E.S., 2016. Uji Angka Kapang Simplisia Kulit Batang Salam Untuk Obat Tradisional Sebagai Bahan Sosialisasi Masyarakat Ekonomi Rendah Di Kabupaten Malang. Universitas Negeri Malang.
- Saputra, A., Gani, A., & Erlidawati, E., 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Daun Gulma Siam (*Chromolaena odorata L.*) Dengan Metode 1, 1-Difenil-2- Pikrilhidrazil.
- Syukrianto., 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Laruna (*Chromolaena odorata L.*) Dengan Metode DPPH (1,1- DIPHENYL- PICRYLHIDRAZIN). UIN, Makassar.
- Sukarti, S., Datulinggi, T., Lomo, M.P, & Pirda, P., 2018. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Polar Batang Nangka (*Artocarpus heterophylla Lamk*) Sebagai Pengawet Alami Sari Aren (*Arenga pinnata*). Universitas Cokroaminoto, Palopo.
- Sitorus, R.N., 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Sendok (*Plantago Major L.*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus*. Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara, Medan
- Wahyulianingsih., Handayani, S., Malik, A., 2016. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium Aromaticum (L.) Merr & Perry*). Universitas Muslim Indonesia.