

## IDENTIFIKASI FRAKSI TERPISAH SIMPLISIA DAUN KACAPIRING DENGAN THIN LAYER CHROMATOGRAPHY

*Identification of Separate Fractions on Kacapiring Leaf Simplisia  
by Thin Layer Chromatography*

**I.B. Ketut Widnyana Yoga\*<sup>1)</sup>, I Wayan Suarta<sup>1)</sup>, dan L.P. Wrsiati<sup>2)</sup>**

<sup>1)</sup>Laboratorium Analisis Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana,

<sup>2)</sup>Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana, Kampus Bukit Jimbaran, Bali-Indonesia

Diterima 10 Pebruari 2020 / Disetujui 26 Pebruari 2020

### ABSTRACT

*Identification compound of simplisia extract by Thin Layer Chromatography (TLC), is one way to obtain active component in Kacapiring leaf (Gardenia jasminoides Ellis). The purpose of this research were to get the best crude extract by organic solvent (ethanol, methanol, and ethyl acetate), and composition of the mobile phase to identify of the separate fractions by TLC. The separate fractions was calculated of Rf value and was scanned maximum wavelenght by spectrophotometer. The treatment was repeated three times, collected data was analysed by descriptive statistics. The result showed that the highest percent of extractive value to ethyl acetate (17,32 %) and the lowest was in ethanol (11,41 %). The best of mobile phase in ethanol crude extract was in mobile phase II (petroleum ether : acetone and 2-propanol 90 :10: 0,45) with 7 spots clearly, while methanol and ethyl acetate crude extract in mobile phase I (petroleum ether : acetone and 2-propanol 85:15:0,45), with separate respectively 8 and 9 spots. The identity average of compound showed that crude extract consist of chlorophyll a, chlorophyll b, lutein, feofitin,  $\beta$ -carotene, and some of spots still unknown identity. Ethyl acetate and mobile phase I were the best of solvent and mobile phase to extract and identify of Kacapiring simplisia.*

**Keywords :** *Simplisia, Kacapiring, Thin Layer Chromatography, Spectrophotometer*

### PENDAHULUAN

Penelitian tentang ekstrak bahan alam dan potensinya saat ini sedang populer bagi para peneliti, dengan beragam teknik yang tersedia telah dikembangkan dari konvensional hingga yang modern. Hal ini membuat perkembangan ekstrak bahan alam menjadi semakin mudah untuk dikaji dan diidentifikasi senyawa penyusunnya, salah satu teknik identifikasi yang dapat dilakukan pada ekstrak adalah *Thin Layer Chromatography* (TLC).

TLC merupakan teknik pemisahan senyawa dari ekstrak kasar pada sebidang plat yang berisi fase padat sebagai fase diam dan

beberapa pelarut organik mulai dengan tingkat kepolaran berbeda sebagai fase gerak yang dilakukan pada sebuah *chamber*. Keberhasilan pemisahan senyawa dengan TLC dipengaruhi oleh banyak faktor, salah satunya adalah jenis fase gerak dan komposisi kombinasi fase gerak yang digunakan, sesuai dengan tingkat kelarutan senyawa pada pelarut organik. Sifat *like dissolve like* menjadi kunci dalam keberhasilan pemisahan senyawa dengan teknik ini. Beberapa hasil penelitian pemisahan dengan TLC pada ekstrak aseton daun kacapiring menggunakan fase gerak petroleum eter-aseton-n-propanol dengan rasio 90 : 10 : 0,45, diperoleh hanya 5 fraksi yang terpisah

---

\*Korespondensi Penulis:

Email: anargya@gmail.com

pada plat TLC selulosa seperti klorofil b, klorofil a, lutein, feofitin dan  $\beta$ -karoten (Yoga, IBKW. 2008). Ekstrak etanol sayur gonda dengan fase gerak dan fase diam yang sama menghasilkan 9 fraksi yang teridentifikasi sebagai F1 (klorofilid b), F2 (klorofilid a), F3 (feoforbid b), F4 (feoforbid a), F5 (klorofil b), F6 (klorofil a), F7 (lutein), F8 (feofitin) dan F9 ( $\beta$ -karoten) (Yoga, IBKW. 2015). Penelitian Qalbi, BMAN. dkk. 2017, terhadap ekstrak kloroform daun tumbuhan iler, dengan TLC aluminium berlapis silika gel 60 GF<sub>254</sub> menggunakan fase gerak n-heksan : etil asetat, n-heksan : kloroform, dan etil asetat : kloroform pada berbagai perbandingan, menghasilkan kombinasi n-heksan : etil asetat, memberikan pola pemisahan yang lebih baik dan penampakan nodanya jelas, sehingga perlu dilakukan pemilihan jenis fase gerak dan pelarut organik dengan kombinasi yang tepat untuk memperoleh pemisahan fraksi dengan jelas pada ekstrak hasil maserasi.

Maserasi digunakan sebagai salah satu teknik ekstraksi oleh banyak peneliti untuk memperoleh sari tanaman yang akan diaplikasikan lebih lanjut. Yustiantara, PS. dkk. 2018, dalam penelitiannya tentang ekstrak daun sirih dengan pelarut alkohol, dan etil asetat. Maserasi dilakukan selama 24 jam pada suhu kamar serta dilakukan remaserasi kembali untuk mengoptimalkan ekstraksi dengan rendemen masing-masing 9,72% dan 7,0%. Muti'ah R, 2013, melakukan ekstraksi pada daun bunga matahari dengan maserasi menggunakan metanol selama 24 jam dengan bantuan shaker selama 3 jam dan didiamkan selama 24 jam sebelum sampel di filtrasi dan dievaporasi hingga diperoleh rendemen ekstrak kasar metanol 16,34%. Selain metanol, etanol dan etil asetat sering digunakan untuk ekstraksi bahan alam, selain sangat efektif juga memberikan daya guna yang cukup baik.

Kesavan, K. *et al.* (2018), melakukan ekstraksi maserasi pada daun kacapiring dengan rendemen pada kloroform (0,82%), heksan (0,34%), etil asetat (0,43%), serta kelarutan pada air (10,53%) dan etanol (9,70%). Hasil analisis fitokimia menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol mengandung saponin, tanin, flavonoid, alkaloid, glikosida dan fenol. Masing-masing pelarut memberikan karakter hasil ekstrak kasar dan komponen kimia yang mampu disarikan beragam, sehingga pemilihan pelarut yang tepat serta konsentrasi dan jenisnya sangat mempengaruhi keberhasilan ekstraksi (Voight R. 1994), dan dibuktikan dengan jumlah senyawa/ fraksi yang mampu disarikan dengan TLC.

Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan deteksi dan kajian lebih ilmiah terhadap simplisia daun kacapiring untuk memperoleh kualitas ekstrak terbaik berdasarkan kriteria rendemen dan fraksi yang mampu tersarikan, terutama komponen aktif yang memiliki banyak manfaat untuk dikembangkan sebagai *ingredient* pangan fungsional, produk *nutraceutical* dan bahan sediaan obat-obatan.

## METODE PENELITIAN

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah etanol 96% teknis, metanol teknis, dan etil asetat teknis (Brataco), petroleum eter (Merck), metanol 99% (Merck), 2-propanol (JT Baker), aseton (Merck).

Alat-alat yang digunakan seperti timbangan analitik (Sartorius), lemari pendingin (LG), plat TLC (merck), oven (Cole parmer), pipet mikro (Socorex), vortex (thermolyne), tabung reaksi (pyrex), evaporator (IKA), dan spektrofotometer (Biochrom S26).

### Rancangan Percobaan

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen, menggunakan rancangan acak lengkap 2 faktor dan 3 ulangan. Faktor I dengan 3 perlakuan (jenis pelarut organik) sehingga diperoleh 9 unit percobaan, selanjutnya difraksinasi dengan TLC, sebagai faktor II pada 3 perlakuan larutan fase gerak, yaitu petroleum eter-aseton-2-propanol dengan berbagai perbandingan, I. 85:15:0,45; II. 90:10:0,45; dan III. 95:5:0,45.

### Pelaksanaan Penelitian

Daun kacapiring dipetik pada posisi nomor 3,4,dan 5 dari pucuk, setelah dibersihkan dan dikeringanginkan 1 malam lalu dididieringkan pada oven suhu 50°C selama 24 jam, dihancurkan dengan blender dan diayak 40 mesh. Sebanyak masing-masing (10 g) diekstrak menggunakan etanol, metanol dan etil asetat (1:10), dimaserasi 24 jam sambil sesekali diaduk. Setelah 24 jam ekstrak disaring hingga diperoleh filtrat. Ampas diremaserasi dengan pelarut dengan jumlah yang sama, diremaserasi 24 jam dan filtrat digabung untuk dievaporasi pada suhu 40°C, kecepatan putar 100 rpm dan tekanan 50 mBar, sehingga diperoleh ekstrak kasar simplisia daun kacapiring pada pelarut etanol, metanol dan etil asetat.

### Pengamatan dan Analisis

Ekstrak kasar yang diperoleh selanjutnya dianalisis jumlah rendemen, kadar air, fraksinasi dengan TLC dan Identifikasi berdasarkan Rf, warna dan *scanning* panjang gelombang maksimum.

### Rendemen dan Kadar Air

Ekstrak kasar dikumpulkan dan ditimbang untuk mengetahui rendemen dan dianalisis kadar air dengan metode gravimetri (AOAC 1998). Sampel ditimbang dimasukkan ke dalam

cawan aluminium, selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C hingga berat konstan.

### Fraksinasi (Prangdimurti E. 2007)

Separasi dan identifikasi ekstrak menggunakan plat TLC selulosa. Plat TLC selulose terlebih dahulu diaktifkan dalam oven suhu 105°C selama minimal 45 menit. Ekstrak diaplikasikan pada plat sebanyak 20µl kemudian dimigrasi pada *chamber*, dengan fase gerak sesuai perlakuan. Fraksi ekstrak membentuk spot-spot terpisah pada plat TLC selulosa.

### Identifikasi Fraksi Terpisah

Identifikasi terhadap spot dilakukan dengan cara mengamati warna spot yang terbentuk dibawah cahaya biasa dan menghitung Rf masing-masing spot, kemudian membandingkannya dengan pustaka (Harborne, 1987), Bacon *et al.* (1967), Sytahl (1969), dalam Prangdimurti (2007). Spot-spot yang terpisah pada plat dikerok, kemudian diencerkan dengan metanol untuk dilakukan *scanning* pada panjang gelombang 350-750 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Spektrum yang dihasilkan, diamati panjang gelombang maksimumnya kemudian dibandingkan dengan pustaka (Harborne, 1987, Nollet, 2000).

### Analisis Data

Perlakuan diulang sebanyak 3 kali dan data yang telah dikumpulkan dianalisis secara statistik deskriptif dengan menampilkan tabel dan gambar.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kadar Air Daun Segar dan Simplisia

Kadar air merupakan salah satu parameter penting dalam analisis komponen kimia suatu

bahan, dimana kadar air akan menentukan besar kecilnya komponen yang terdapat pada bahan karena komponen utama dari bahan segar adalah air, dimana sisa dari air adalah berupa senyawa yang bersifat sebagai metabolit primer ataupun sekunder. Kadar air sampel terutama bahan alam adalah syarat mutlak yang harus dilakukan guna mengetahui jumlah proporsi air dari bahan dan senyawa non air pada padatan atau bahan kering. Daun kacapiring segar mengandung kadar air 66,23% bb dari daun pada posisi 3,4,5 setelah dari pucuk. Daun yang dibuat bubuk dengan partikel lolos ayakan 40 mesh, mengandung kadar air sebesar 7,89% bb. Hal ini menunjukkan bahwa bubuk simplisia daun kacapiring sudah memenuhi persyaratan kadar air simplisia kering, di bawah 10% sebagai persyaratan untuk bahan yang akan diekstraksi senyawa bioaktifnya, serta mampu memperpanjang umur simpan simplisia dan meminimalisir kontaminasi oleh mikroba. (BPOM, 2014).

### **Rendemen dan Kadar Air Ekstrak Kasar**

Rendemen merupakan hasil ekstrak kasar yang diperoleh dari proses penyarian dibandingkan dengan bubuk simplisia yang disarikan dengan tiga jenis pelarut organik yaitu etanol, metanol dan etil asetat. Data rendemen tertinggi diperoleh pada ekstrak kasar etil asetat yaitu 17,32% bb (Tabel 1), selanjutnya ekstrak kasar dengan metanol dan rendemen terendah pada ekstrak kasar dengan etanol 11,41% bb, hal ini kemungkinan disebabkan oleh jenis senyawa aktif dominan pada simplisia kacapiring bersifat semi polar, sehingga terekstrak lebih banyak pada etil asetat dibandingkan etanol. Ekstrak kasar setelah dihitung kadar airnya, diperoleh bahwa rata-rata ekstrak memiliki kadar air yang cukup tinggi meskipun pada proses evaporasi sudah menunjukkan tidak ada tetesan pelarut sehingga

proses evaporasi dihentikan. Hal ini disebabkan oleh adanya air pada pelarut yang tidak menguap pada kondisi evaporasi 40°C, tekanan 100 mbar dan kecepatan putar 100 rpm.

### **Hasil Pemisahan pada Plat TLC dengan perbandingan fase gerak I, II dan III**

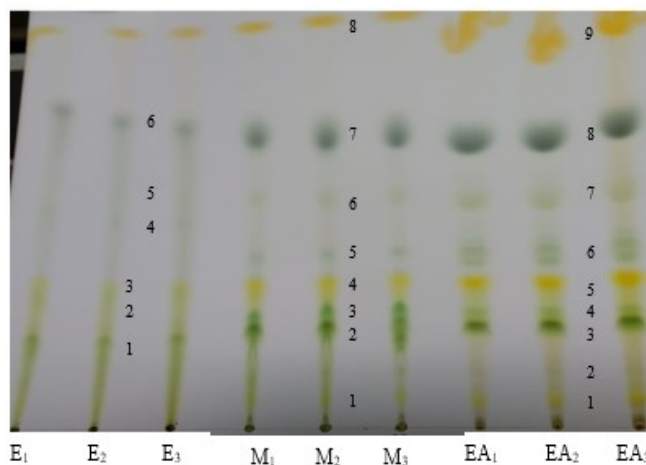
Ekstrak kasar yang difraksinasi dengan TLC menggunakan larutan fase gerak I, yaitu perbandingan petroleum ether : aseton dan 2-propanol (85 :15: 0,45) seperti pada Gambar 1. Perlakuan pada ekstrak kasar etanol menunjukkan pemisahan yang tidak begitu baik masih terdapat *tailing* senyawa yang tersebar tidak mengumpul dengan jelas, berbeda dengan ekstrak metanol dan etil asetat, tampak bahwa pemisahan terlihat cukup jelas, mengumpul dan memberikan warna berbeda. Hal ini disebabkan karena pengaruh kadar air yang paling tinggi pada ekstrak etanol, sehingga sebagian senyawa tertahan dan terelusi dengan lambat (Harborne, 1987).

Hasil pengamatan terhadap fraksi yang terpisah dengan fase gerak I, pada ekstrak etanol terdapat 7 spot yang bisa teramati meskipun belum murni dan masih tercampur, sedangkan pada ekstrak kasar metanol dan etil asetat terkoleksi 8 fraksi dan 9 fraksi. Hal ini dapat disampaikan bahwa etil asetat cukup bagus digunakan untuk ekstraksi dengan kemampuannya menyarikan senyawa aktif semi polar yang lebih banyak, meskipun pada metanol dan etanol mempunyai kemampuan melarutkan senyawa organik dan merupakan pelarut yang paling sering digunakan untuk menyarikan senyawa aktif pada bahan alam. Hasil pemisahan ekstrak pada fase gerak II, yaitu perbandingan petroleum ether : aseton dan 2-propanol (90: 10: 0,45), pada ekstrak metanol dan etil asetat sedikit berbeda perambatannya meski spot terpisah jumlahnya

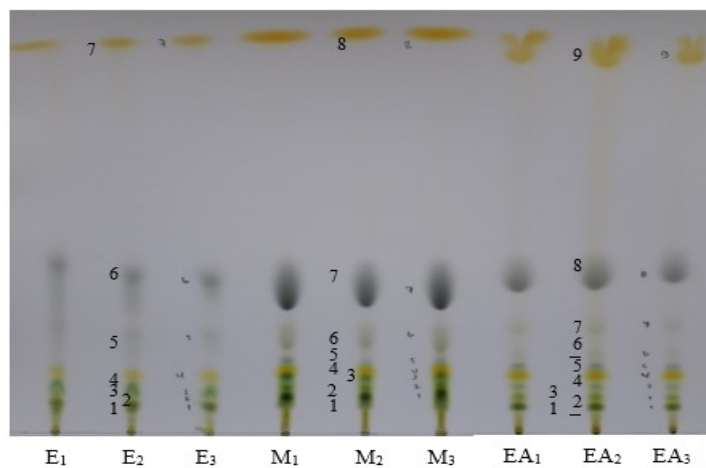
Tabel 1. Rendemen dan kadar air ekstrak

Sampel	Rendemen (%)	Kadar Air (% bb)
EKE	11,41 ± 0,11	65,56 ± 1,99
EKM	16,40 ± 0,44	60,73 ± 0,91
EKEA	17,32 ± 0,51	42,23 ± 1,35

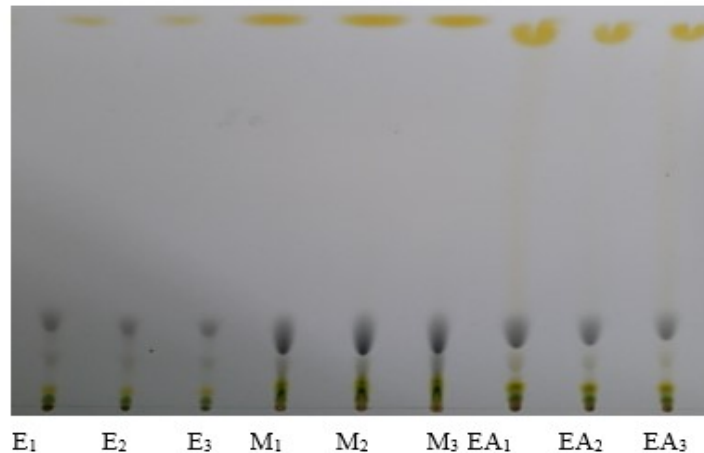
Keterangan : EKE = ekstrak kasar etanol, EKM=ekstrak kasar metanol, EKEA= ekstrak kasar etil asetat



Gambar 1. Hasil TLC pada fase gerak I yaitu (petroleum ether: aseton dan 2- propanol 85:15 dan 0,45 ml). E = ekstrak etanol, M= ekstrak metanol, EA= ekstrak etil asetat.



Gambar 2. Hasil TLC pada fase gerak II (petroleum eter: aseton dan 2 propanol 90:10 dan 0,45 ml). E = ekstrak etanol, M= ekstrak metanol, EA= ekstrak etil asetat.



Gambar 3. Hasil TLC pada fase gerak III (petroleum ether: aseton dan n propanol 90:10 dan 0,45 ml).  
E = ekstrak etanol, M= ekstrak metanol, EA= ekstrak etil asetat

sama (Gambar 2), namun pada ekstrak etanol terlihat pemisahan yang lebih jelas dibandingkan dengan fase gerak I. Pemisahan senyawa non polar yang terlihat sangat jelas karena proporsi larutan non polar lebih banyak dari fase gerak I sehingga fraksi yang larut senyawa non polar lebih jelas terpisah. Perhitungan nilai Rf masing-masing fraksi dapat dilihat pada Tabel 2, 3 dan 4. Perlakuan fase gerak III dengan proporsi petroleum eter : aseton dan n propanol (95: 5 dan 0,45), tidak memberikan gambaran pemisahan senyawa yang baik, dimana hanya senyawa yang bersifat non polar yang paling terpisah dengan jelas, sedangkan fraksi semi polar dan polar masih mengumpul dan tidak terpisah dengan sempurna (Gambar 3), sehingga pada perlakuan ini tidak dilakukan perhitungan nilai Rf dan identifikasi senyawa dengan melakukan *scanning* karena spot-spot senyawa menumpuk dan sangat sulit untuk dikoleksi.

Nilai Rf ketiga ekstrak pada kedua fase gerak memperlihatkan bahwa jumlah spot yang berhasil dipisahkan adalah sama, namun berbeda pada jarak elusi. Hal ini disebabkan karena perbedaan komposisi fase gerak, dimana pada fase gerak II, pelarut non polar yang lebih

dominan, sehingga memperlambat fraksi yang bersifat polar dan semi polar, hal ini berkaitan dengan *like dissolve like* senyawa pada pelarut. Berdasarkan nilai Rf senyawa klorofil dan turunannya menurut Harborne (1987) dengan fase gerak II, nilai Rf 2, 3, 7,18, 35, 60, 80, 93 berturut-turut adalah senyawa klorofilid b (hijau kuning), klorofilid a (hijau biru), feoforbid b (coklat kuning), feoforbid a (kelabu), klorofil b (hijau kuning), klorofil a (hijau biru), feofitin b (coklat kekuningan), feofitin a (kelabu). Bila dibandingkan dengan nilai tersebut, banyak spot yang tidak terdeteksi. Johnston *et al.* 2013. mengidentifikasi pigmen daun bayam dengan TLC menggunakan fase gerak heksan : aseton (60:40), teridentifikasi mengandung  $\beta$ -karoten (Rf 94-98), dengan warna kuning hingga orange, santofil (Rf 80-86) berwarna kuning dan klorofil a (Rf 43-48), dengan warna hijau kebiruan. Sehingga perlu dilanjutkan identifikasi dengan membandingkan warna serta melakukan *scanning* panjang gelombang maksimum.

Tabel 2. Perhitungan nilai Rf pada ekstrak etanol

No	Fase Gerak I		Fase Gerak II	
Fraksi	Jarak Elusi	Rf $\pm$ sd	Jarak Elusi	Rf $\pm$ sd
1	3,40	18,88 $\pm$ 0,00	1,18	6,57 $\pm$ 0,02
2	5,03	27,96 $\pm$ 0,05	1,51	8,40 $\pm$ 0,03
3	5,60	31,11 $\pm$ 0,00	1,81	10,09 $\pm$ 0,02
4	6,30	35,00 $\pm$ 0,00	2,40	13,33 $\pm$ 0,00
5	8,70	48,33 $\pm$ 0,00	4,00	22,22 $\pm$ 0,00
6	11,97	66,48 $\pm$ 0,28	6,30	35,00 $\pm$ 0,00
7	16,17	89,81 $\pm$ 0,05	16,40	91,11 $\pm$ 0,00

Tabel 3. Perhitungan nilai Rf pada ekstrak kasar methanol

No	Fase Gerak I		Fase Gerak II	
Fraksi	Jarak Elusi	Rf $\pm$ sd	Jarak Elusi	Rf $\pm$ sd
1	1,10	6,11 $\pm$ 0,00	1,90	10,56 $\pm$ 0,00
2	3,70	20,56 $\pm$ 0,00	2,37	13,15 $\pm$ 0,05
3	4,28	23,79 $\pm$ 0,02	2,60	14,44 $\pm$ 0,02
4	5,40	30,00 $\pm$ 0,00	2,90	16,11 $\pm$ 0,00
5	6,70	37,22 $\pm$ 0,00	3,80	21,11 $\pm$ 0,00
6	9,40	52,22 $\pm$ 0,00	4,30	23,89 $\pm$ 0,00
7	10,50	58,33 $\pm$ 0,00	6,10	33,89 $\pm$ 0,00
8	16,60	92,22 $\pm$ 0,00	16,60	92,22 $\pm$ 0,00

Tabel 4. Perhitungan nilai Rf pada ekstrak kasar etil asetat

No	Fase Gerak I		Fase Gerak II	
Fraksi	Jarak Elusi	Rf $\pm$ sd	Jarak Elusi	Rf $\pm$ sd
1	1,00	5,56 $\pm$ 0,00	1,150	6,39 $\pm$ 0,00
2	2,40	13,33 $\pm$ 0,00	1,500	8,33 $\pm$ 0,00
3	3,60	20,00 $\pm$ 0,02	1,950	10,83 $\pm$ 0,05
4	4,10	22,78 $\pm$ 0,00	2,400	13,33 $\pm$ 0,00
5	5,40	30,00 $\pm$ 0,00	2,800	15,56 $\pm$ 0,00
6	6,40	35,56 $\pm$ 0,00	3,383	18,80 $\pm$ 0,02
7	8,50	47,22 $\pm$ 0,00	4,550	25,28 $\pm$ 0,05
8	11,00	61,11 $\pm$ 0,00	6,483	36,02 $\pm$ 0,02
9	15,48	86,02 $\pm$ 0,00	15,8167	87,87 $\pm$ 0,02

### Identifikasi Berdasarkan Warna dan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum pada masing-masing spot ditampilkan seperti pada Tabel 5 sampai Tabel 10. Hasil identifikasi secara kualitatif dan semi kuantitatif yang dilakukan pada tiga ekstrak kasar, menunjukkan bahwa spot dengan klaim identitas senyawa pada semua perlakuan adalah klorofil a, klorofil b, lutein, feofitin dan  $\beta$ -karoten, sedangkan pada spot yang lainnya belum bisa diidentifikasi dengan pasti, baik dengan nilai RF, warna dan panjang gelombang maksimum.

Dibandingkan dengan ekstrak aseton daun suji (Prangdimurti, 2007), menggunakan fase gerak yang sama, memperoleh 5 fraksi yaitu klorofil a, klorofil b, lutein, feofitin dan  $\beta$ -karoten. Klorofil a dan klorofil b adalah turunan klorofil yang berperan memberikan warna hijau, sedangkan feofitin terbentuk karena lepasnya komponen Mg pada cincin tetra pirol yang digantikan oleh ion H, sehingga mudah larut. Lutein adalah kelompok pigmen karoten yang berperan melindungi kornea mata sebagai antioksidan (provitamin A). Ekstrak kental etanol daun mimba dengan eluen n-butanol: asam asetat : aquadest (6:1,5:6) diperoleh 6 fraksi (Prasetyo BF, dkk. 2011). Ekstrak etil asetat daun kacapiring memberikan hasil fraksinasi terbanyak (9 spot) yang sama dengan ekstrak daun gonda, hal ini menunjukkan bahwa etil asetat paling efektif dalam menyarikan senyawa aktif dari daun kacapiring dibandingkan metanol dan etanol. Sjurnes, BJ. *et. al.* 2015, meneliti ekstrak aseton dan campuran aseton dengan n-heksan daun bayam hijau menggunakan Normal-Phase TLC dengan fase gerak n-heksan : aseton (7:3) pada plat TLC silika gel 60, menjelaskan hasil pemisahan dengan hasil identifikasi yaitu santofil (kuning), kemungkinan besar lutein,

vioaloksantin dan neoksantin, klorofil b (hijau kekuningan), klorofil a (hijau kebiruan), feofitin (abu) dan  $\beta$ -karoten (orange/ kuning). Sharma, M. 2017 pada risetnya terhadap ekstrak kloroform dan etanol daun *Ficus carica*, dengan fase gerak etanol : kloroform (9:1) dan etanol : heksan (3:7). Pada ekstrak kloroform ditemukan 3 fraksi dengan Rf 59, 78 dan 94, sedangkan ada 6 spot pada ekstrak etanol dengan nilai Rf yaitu 0,5; 2,1; 3,4; 5,1; 6,5 dan 8,7. Yogeshwar, M. *et. al.* 2016, yang meneliti ekstrak metanol daun *Aegle marmelos*, dengan fase gerak terbaik yang mampu memisahkan 10 spot senyawa dengan Rf berbeda-beda yaitu petroleum eter dan etil asetat (2:1), 0,4; 0,7; 1,4; 1,8; 2,5; 3,5; 4,5; 6,1; 7,0; 8,4. tetapi tidak dilakukan identifikasi senyawa berdasarkan nilai Rf.

### KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa :

1. Pelarut terbaik dengan rendemen tertinggi pada ekstrak etil asetat, yaitu 17,32% bb.
2. Fase gerak I, adalah fase terbaik untuk ekstrak metanol (8 spot) dan etil asetat (9 spot), sedangkan fase gerak II untuk ekstrak etanol (7 spot), dan fase gerak III tidak menghasilkan pemisahan yang baik.
3. Hasil identifikasi berdasarkan warna spot dan panjang gelombang maksimum pada ketiga ekstrak adalah klorofil a, klorofil b, lutein, feofitin, dan  $\beta$ -karoten serta beberapa fraksi belum terdeteksi.

Saran yang dapat disampaikan adalah identifikasi lebih mendalam dapat dilakukan dengan fraksinasi cair-cair dan kromatografi kolom untuk pemurnian senyawa yang terpisah setelah diperoleh fase gerak yang baik.



Tabel 5. Hasil identifikasi ekstrak etanol pada fase gerak I

No Fraksi	Warna Spot	Identifikasi	$\lambda$ maksimum		Identifikasi
			(nm)		
1	kuning hijau	klorofil b	435	654	klorofil b
2	hijau biru	klorofil a	410	663	klorofil a
3	hijau kekuningan	ttd	410	660	ttd
4	kuning muda	lutein	410	621	lutein
5	abu muda	klorofil a bebas mg	410		ttd
6	abu	feofitin a		664	feofitin a
7	orange	$\beta$ -karoten	425		$\beta$ -karoten

Tabel 6. Hasil identifikasi ekstrak metanol pada fase gerak I

No Fraksi	Warna Spot	Identifikasi	$\lambda$ maksimum		Identifikasi
			(nm)		
1	kuning	klorofilid b	435		ttd
2	hijau biru	klorofilid a	455	648	klorofil b
3	hijau	klorofil b	435		ttd
4	kuning	lutein	472	660	lutein
5	hijau	ttd	435		ttd
6	hijau biru	klorofil a	436	655	ttd
7	abu	feofitin		665	feofitin
8	orange	$\beta$ -karoten	447		$\beta$ -karoten

Tabel 7. Hasil identifikasi ekstrak etil asetat pada fase gerak I

No Fraksi	Warna Spot	Identifikasi	$\lambda$ maksimum		Identifikasi
			(nm)		
1	kuning	klorofilid b	430	655	ttd
2	hijau biru	klorofilid a	400	655	ttd
3	kuning hijau	klorofil b	443	665	klorofil b
4	hijau biru	klorofil a	415	658	klorofil a
5	kuning	lutein	437		lutein
6	hijau muda	ttd	406	610	ttd
7	hijau kuning	ttd	410	612	ttd
8	abu	feofitin	663		feofitin
9	orange	$\beta$ -karoten	449		$\beta$ -karoten

Tabel 8. Hasil identifikasi ekstrak etanol pada fase gerak II

No Fraksi	Warna Spot	Identifikasi	$\lambda$ maksimum		Identifikasi
			nm		
1	hijau biru tua	klorofilid a	436	652	ttd
2	kuning muda	feoforbid b	434	658	ttd
3	hijau kuning	klorofil b	412	662	klorofil b
4	kuning	lutein	400		lutein
5	abu muda	klorofil a bebas mg	432		ttd
6	abu	feofitin a	665		feofitin a
7	orange	$\beta$ -karoten	400		$\beta$ -karoten

Tabel 9. Hasil identifikasi ekstrak metanol pada fase gerak II

No Fraksi	Warna Spot	Identifikasi	$\lambda$ maksimum		Identifikasi
			(nm)		
1	hijau gelap	klorofilid a	436	650	ttd
2	hijau muda	klorofil b	436	654	klorofil b
3	hijau	klorofil b	410	662	klorofil a
4	kuning	lutein	420		lutein
5	hijau gelap	ttd	430	660	ttd
6	abu muda	changed klorofil a-2 bebas mg	436		ttd
7	abu tua	feofitin a	410	664	feofitin
8	orange	$\beta$ -karoten	400		$\beta$ -karoten

Tabel 10. Hasil identifikasi ekstrak etil asetat pada fase gerak II

No Fraksi	Warna Spot	Identifikasi	$\lambda$ maksimum		Identifikasi
			(nm)		
1	hijau tua	klorofilid a	436		ttd
2	hijau muda	klorofil b	436	652	klorofil b
3	hijau biru	klorofil a	420	652	klorofil a
4	kuning	lutein	420		lutein
5	hijau biru	ttd	408	660	ttd
6	abu	changed klorofil a-2 bebas mg	414	660	ttd
7	abu muda	changed klorofil a-1 bebas mg	436	658	ttd
8	abu gelap	feofitin a	412	660	feofitin
9	orange	$\beta$ -karoten	400		$\beta$ -karoten

## UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih yang sebesar-besarnya peneliti sampaikan pada LPPM UNUD yang telah memberikan hibah Pranata Laboratorium dari dana DIPA dengan no kontrak 757-1/UN14.4.A/LT/2019, tanggal 10 April 2019.

## DAFTAR PUSTAKA

- BPOM 2014. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional, BPOM : Jakarta, hal 3, 11.
- Harborne B.J. 1987. Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. ITB. Bandung.
- Johnston A, Scaggs J, Mallory C, Haskett A, Warner D, Brown E, Hammond K, McCormick, Michael M, and McDougal O.M. 2013. A green approach to separate spinach pigments by column chromatography. [dx.doi.org/10.1021/ed300315z](https://doi.org/10.1021/ed300315z) J. Chem. Educ. 2013, 90, 796–798.
- Kesavan K, Gnanasekara J, Gurunagarajan S, Nayagam AAJ. 2018. Microscopic, physicochemical and phytochemical analysis of *Gardenia Jasminoides* (Ellis). Int J Pharm Pharm Sci, Vol 10, Issue 1, 97-102.
- Muti'ah R, Hayati E.K, Triastutik Y. 2013. Pemisahan dan identifikasi ekstrak kasar seskuiterpen daun bunga matahari (*Helianthus annuus L.*) dengan kromatografi lapis tipis. ALCHEMY, Vol. 2 No. 3 Oktober 2013, hal. 190 – 194.
- Prangdimurti, E. 2007. Kapasitas Antioksidan dan Daya Hipokolesterolemik Ekstrak Daun Suji (*Pleomele angustifolia* N.E. Brown). [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Prasetyo BF, Nashrianto H, Sauri S. 2011. Identifikasi senyawa golongan flavonoid ekstrak etanol daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) menggunakan kromatografi gas-spektrofotometri massa. Fitofarmaka, Vol. 1, No. 1. Bogor.
- Qalbi BMAN, Djangi J, Muhaedah. 2017. Isolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak kloroform daun tumbuhan iler (*Coleus scutellarioides*, Linn, Benth). Jurnal Chemica Vol. 18 Nomor 1 Juni 2017, 48 – 55.
- Sharma M, Abid R, Sajgotra M. 2017. Phytochemical screening and thin layer chromatography of *Ficus carica* leaves extract. UK Journal of Pharmaceutical and Biosciences Vol. 5(1), 18-23.
- Sjursnes BJ, Kvittingen L, Schmid R. 2015. Normal and reversed-phase thin layer chromatography of green leaf extracts. [dx.doi.org/10.1021/ed400519v](https://doi.org/10.1021/ed400519v) J. Chem. Educ. XXXX, XXX, XXX–XXX.
- Voight R. 1994. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Penerjemah Soendari, N, S. Yogyakarta: Gajahmada University Press.
- Yoga IBKW. 2015. Metode sederhana purifikasi ekstrak etanol sayur gonad (*Sphenoclea zeylanica* Gaertner) dengan *thin layer chromatography* (TLC). Prosiding Semnas PLP Universitas Trunojoyo Madura.
- Yoga IBKW. 2008. Identifikasi Komponen Pembentuk Gel (KPG) dan Potensi Antioksidan Daun Kacapiring (*Gardenia jasminoides* Ellis). [Tesis]. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Yogeshwar M, Gade RM, Shitole AV, and Wavare SH. 2016. Phytochemical investigation and thin layer chromatography of *Aegle marmelos* leaves methanolic extract. Advances in Life Sciences 5(15), Print : ISSN 2278-3849, 5685-5690.
- Yustiantara PS, Putra AAGRY, Putra AFF, Febriyana AAP. 2018. Pengaruh etanol,

etil asetat dan ekstrak etanol terpurifikasi terhadap hasil evaluasi sifat fisik sediaan patch mukoadhesif ekstrak daun sirih (*Piper Betle* L.). Jurnal Kimia 12 (1), Januari 2018: 43-49.