

Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Daun Kayu Putih

(*Melaleuca leucadendra* (L.))

Thin Layer Chromatography (TLC) Profile of White Wood Leaf Extract

(*Melaleuca leucadendra* (L.))

Rinda Binugraheni^{1*}, Ifandari¹, Tri Mulyowati², Tiara Khoirunnisaa¹, Nabilla Tri Oktaviyani¹

¹ D3 Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi

² D4 Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi

Corresponding Author: rinda.binugraheni@gmail.com

INTISARI

Kayu putih (*Melaleuca leucadendra* L.) termasuk dalam famili Myrtaceae yang diduga bermanfaat sebagai imunomodulator. Di Indonesia, pemanfaatan daun kayu putih bagi kesehatan belum dimanfaatkan secara maksimal, serta masih minimnya penelitian mengenai tanaman ini. Untuk dapat dikembangkan sebagai bahan obat tradisional, perlu diketahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak daun kayu putih. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak daun kayu putih menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. Ekstraksi daun kayu putih dilakukan menggunakan etanol 96% dengan cara maserasi. Ekstrak yang sudah didapatkan kemudian dilakukan skrining fitokimia menggunakan KLT. Pada uji KLT sampel ditotolkan, dielusi dan diidentifikasi secara langsung. Hasil uji Kromatografi Lapis Tipis menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kayu putih positif mengandung Polifenol, flavonoid, alkaloid, tanin dan steroid.

Kata kunci : KLT, daun kayu putih

ABSTRACT

Melaleuca leucadendra L. belongs to the Myrtaceae family which is thought to be useful as an immunomodulator. In Indonesia, the use of *Melaleuca leucadendra* L. for health has not been fully utilized, and there is still a lack of research on this plant. In order to be developed as a traditional medicinal ingredient, it is necessary to know the content of secondary metabolites found in eucalyptus leaf extract. This study aims to determine the profile of secondary metabolites contained in *Melaleuca leucadendra* L. extract using Thin Layer Chromatography. Extraction of *Melaleuca leucadendra* L. was carried out using 96% ethanol by maceration method. The extracts that have been obtained were then screened for phytochemicals using Thin Layer Chromatography. In the Thin Layer Chromatography test, the sample was spotted, eluted and identified directly. The results of the Thin Layer Chromatography test showed that the ethanol extract of *Melaleuca leucadendra* L. positively contained polyphenols, flavonoids, alkaloids, tannins and steroids.

Keywords: Thin Layer Chromatography, *Melaleuca leucadendra* L.



Penerbit: USB Press

Jl. Letjend. Sutoyo, Mojosongo, Surakarta 57127

Email: usbpresssolo@gmail.com

PENDAHULUAN

Pengobatan tradisional atau penggunaan obat bahan alam masih menjadi salah satu pilihan masyarakat Indonesia dalam upaya pemeliharaan kesehatan, pencegahan penyakit, dan perawatan kesehatan. Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik), atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan, dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat (Peraturan Pemerintah Republik Indonesia, 2014). Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (Riskesmas) dari tahun 2010 hingga 2018, masyarakat Indonesia yang menggunakan upaya kesehatan tradisional makin meningkat menjadi sebesar 44,3%, rata-rata jumlah penduduk yang memanfaatkan TOGA di Indonesia yaitu sebesar 24,6% (Riset Kesehatan Dasar, 2018).

Salah satu bahan alam yang dapat digunakan sebagai pengobatan tradisional adalah tanaman kayu putih (*Melaleuca leucadendron L.*). Kayu putih (*Melaleuca leucadendron L.*) merupakan salah satu bahan alam yang dikenal oleh masyarakat Indonesia sebagai obat herbal atau obat tradisional yang bisa digunakan untuk obat sakit kepala, aromaterapi, mengobati sinusitis non bakteri, menangani scabies, antivirus (Perdani & Hasibuan, 2021). Ekstrak daun kayu putih memiliki beberapa kandungan senyawa yaitu flavonoid, fenol, tanin dan terpenoid (Abd, et al., 2015). Minyak atsiri, flavonoid dan tannin telah diteliti sebelumnya dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Flavonoid (kaempferol) yang terdapat dalam daun tempuyung (*Sonchus oleraceus Linn.*) dapat bekerja terhadap limfokin (Interferon γ) yang dihasilkan oleh sel T sehingga akan merangsang sel-sel fagosit melakukan respon fagositosis serta dapat memacu proliferasi limfosit, meningkatkan jumlah sel T, dan meningkatkan sekresi terhadap IL-2 (Swarnalata, 2010). Kandungan senyawa kimia yang terdapat pada daun kayu putih diduga memiliki efek sebagai imunomodulator

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini ingin mengetahui profil senyawa metabolit sekunder yang terdapat didalam daun kayu putih menggunakan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai kandungan dalam senyawa ekstrak etanol daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron L.*) guna mengetahui potensi dari daun kayu putih sebagai obat tradisional yang aman.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan secara kualitatif dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Sampel yang digunakan bagian daun kayu putih, dilakukan maserasi dengan menggunakan etanol 96%, selanjutnya dilakukan uji KLT.

WAKTU DAN TEMPAT

Penelitian ini dilakukan di laboratorium fitokimia Universitas Setia Budi pada bulan Juli - Agustus 2022.

ALAT DAN BAHAN

Lampu UV 254 nm dan 366 nm, pipa kapiler, chamber, timbangan analitik, oven, gelas ukur, corong pisah, gelas kimia, pinset, penangas air, pipet tetes, bejana maserasi, pipet ukur, batang pengaduk, spatel besi, rotary evaporator, ayakan, penjepit tabung, rak tabung, corong kaca, tabung reaksi, botol semprot, pinset.

Daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron L.*), Etanol teknis, Plat KLT, aquadest, pereaksi dragendroff, ammonia, pereaksi Lieberman buchar, FeCl₃, n-heksan, asam formiat, etil asetat, toluene, kloroform, metanol dan aluminium foil, dan kertas saring.

PENGAMBILAN DAN PENGOLAHAN SAMPEL

Daun kayu putih diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu. Daun dikeringkan dengan menggunakan oven selama kurang lebih 24-48 jam sampai kering. Proses pengeringan daun ini dimaksudkan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, mengurangi kadar air sehingga mencegah terjadinya reaksi enzimatik dan mencegah terjadinya

penurunan mutu atau perusakan simplisia (Agoes, 2010). Daun kayu putih kemudian dihaluskan dengan mesin penggiling dan di ayak dengan ayakan nomor 40 mesh.

EKSTRAKSI DAUN KAYU PUTIH

Proses ekstraksi daun kayu putih dilakukan dengan cara maserasi. Pembuatan ekstrak ini dilakukan dengan dimasukkan satu bagian serbuk simplisia ditambah 10 bagian pelarut kedalam botol coklat (Pandey & Tripathi, 2013). Simplisia daun kayu putih sebanyak 400 g direndam dengan etanol 96% sebanyak 4 L dalam bejana maserasi yang ditutup rapat. Proses maserasi dilakukan selama 3 hari. Pengadukan dilakukan beberapa kali sehari agar tercapai keadaan jenuh yaitu pelarut mencapai konsentrasi tertentu sehingga tidak dapat menyari zat aktif dalam simplisia. Ekstrak disaring dengan kertas saring. Filtrat dipisahkan dengan alat vacuum rotary evaporator pada suhu 56 C sehingga diperoleh ekstrak yang kental.

UJI PROFIL GOLONGAN SENYAWA DENGAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT)

Uji profil golongan senyawa metabolit sekunder secara kualitatif menggunakan uji KLT. Metode dasar uji KLT ini sesuai dengan Harborne (1987) dengan modifikasi macam fase gerak. Lempeng alumina KLT disiapkan dan diaktifkan dengan dioven pada suhu 50 °C. Fraksi uji diencerkan dengan pelarut kemudian ditotolkan pada lempeng sampai kompak. Setelah itu lempeng dirunning pada *chamber* yang telah dijenuhkan dengan fase gerak. Fase gerak yang digunakan disesuaikan dengan golongan senyawa target dan dipilih yang mampu memisahkan ekstrak paling baik. *Running* dilakukan hingga fase gerak mencapai batas atas lempeng. Lempeng diambil dan dikering anginkan, kemudian dilihat dibawah sinar UV λ 254 dan 366 nm. Lempeng disemprot dengan reagen pendeteksi. Noda yang terbentuk dihitung jarak relatif antara sampel dan pelarut dinyatakan dalam nilai Rf. Nilai Rf diketahui dari rumus (Bele & Khale, 2011):

$$R_f = \frac{\text{Jarak titik tengah noda senyawa yang terpisah}}{\text{Jarak titik akhir fase gerak}}$$

Senyawa Flavonoid

Ekstrak etanol dilarutkan kemudian ditotolkan pada lempeng alumina KLT dan dielusi dengan menggunakan n-heksan : asam formiat : etil asetat dengan perbandingan volume 6 : 0,2 : 4. *Running* dilakukan hingga fase gerak mencapai batas atas lempeng. Lempeng diambil dan dikering anginkan, kemudian dilihat dibawah sinar UV λ 254 dan 366 nm. Lempeng disemprot dengan uap ammonia.

Senyawa Polifenol

Ekstrak etanol dilarutkan kemudian ditotolkan pada lempeng alumina KLT dan dielusi dengan menggunakan toluen : etil asetat dengan perbandingan volum 3:1. *Running* dilakukan hingga fase gerak mencapai batas atas lempeng. Lempeng dikeringkan dan disemprot dengan pereaksi FeCl₃. Hasil positif ditandai dengan adanya spot/bercak berwarna gelap (hitam, ungu, biru tua atau coklat tua).

Senyawa Alkaloid

Ekstrak etanol dilarutkan kemudian ditotolkan pada lempeng alumina KLT dan dielusi dengan menggunakan kloroform: metanol dengan perbandingan volum 1:1. *Running* dilakukan hingga fase gerak mencapai batas atas lempeng. Lempeng dikeringkan dan disemprot dengan dragendorf.

Senyawa Steroid

Ekstrak etanol dilarutkan kemudian ditotolkan pada lempeng alumina KLT dan dielusi dengan menggunakan n-heksan : etil asetat dengan perbandingan volum 7:3. *Running* dilakukan hingga fase gerak mencapai batas atas lempeng. Lempeng dikeringkan dan disemprot dengan Lieberman buncard.

Senyawa Tanin

Ekstrak etanol dilarutkan kemudian ditotolkan pada lempeng alumina KLT dan dielusi dengan menggunakan kloroform : methanol dengan perbandingan volum 9:1. *Running* dilakukan hingga fase gerak mencapai batas atas lempeng. Lempeng dikeringkan dan disemprot dengan pereaksi FeCl₃.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Hasil Ekstraksi Daun Kayu putih

Ekstraksi daun kayu putih dilakukan dengan maserasi. Simplisia daun kayu putih sebanyak 400 g direndam dengan etanol 96% sebanyak 4 L. Hasil ekstraksi didapatkan ekstrak sebesar 118 g.

Hasil Analisis Kromatografi Lapis Tipis

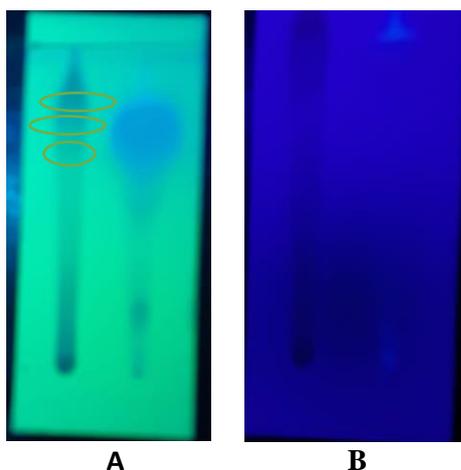
Tabel 1. Kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak daun kayu putih berdasarkan kromatografi lapis tipis

No	Nama senyawa	Visualisasi pada UV		Vis Reagen semprot	Reagen semprot	Kesimpulan
		λ 254	λ 366			
1.	Polifenol	biru kehitaman	merah muda fluorescent	kuning kemerahan	FeCl ₃	+
2.	Steroid	biru kehitaman	biru fluorescent	tdk terlihat	Lieberman buncard	+
3.	Flavanoid	kuning kehijauan dan biru	merah muda fluorescent	coklat	uap amoniak	+
4.	Alkaloid	biru kehitaman	biru gelap	kuning agak hitam	Dragendrof	+
5.	Tanin	Hitam	merah muda dan biru	hitam dan coklat	FeCl ₃	+

Tabel 2. Nilai Rf Hasil Elusi Ekstrak Etanol Daun Kayu Putih

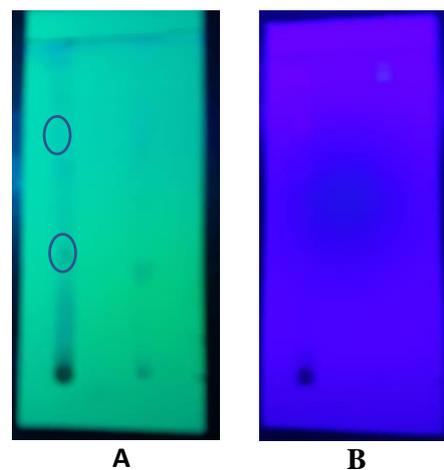
Senyawa	Isolat	Rf 254 nm
Alkaloid	1	0,68
	2	0,75
	3	0,97
Flavanoid	1	0,38
	2	0,58
	3	0,77
	4	0,85
	5	0,92
Steroid	1	0,20
	2	0,49
	3	0,68
Polifenol	1	0,32
	2	0,60
Tanin	1	0,49
	2	0,61
	3	0,70
	4	0,80
	5	0,92

Senyawa Alkaloid



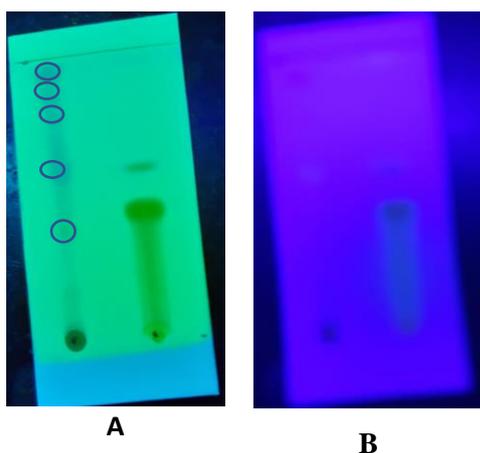
Gambar 1. Hasil uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis) untuk uji senyawa Alkaloid (A) UV 254 (B) UV 366

Senyawa Polifenol



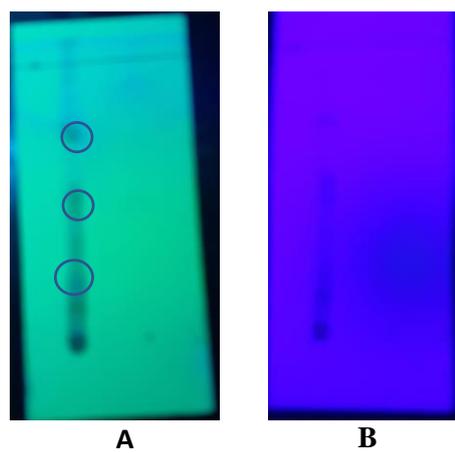
Gambar 2. Hasil uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis) untuk uji senyawa Alkaloid (A) UV 254 (B) UV 366

Senyawa Flavonoid



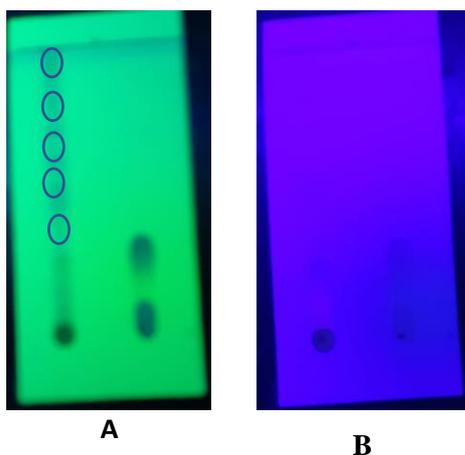
Gambar 3. Hasil uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis) untuk uji senyawa Flavonoid (A) UV 254 (B) UV 366

Senyawa Steroid



Gambar 4. Hasil uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis) untuk uji senyawa Steroid (A) UV 254 (B) UV 366

Senyawa Tanin



Gambar 5. Hasil uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis) untuk uji senyawa Tanin (A) UV 254 (B) UV 366

Pembahasan

Pembuatan ekstrak etanol daun kayu putih dilakukan dengan cara maserasi. Metode maserasi ini memiliki kelebihan antara lain sederhana dalam peralatan dan prosesnya, tanpa pemanasan (Azwanida, 2015). Metode ini juga cocok untuk pengekstrakan senyawa aktif yang sifatnya umum, maka metode maserasi paling cocok digunakan karena tidak memakai pemanasan sehingga senyawa volatile tidak hilang (Pandey & Tripathi, 2013). Menurut Koirewoa, *et al.*, (2012), metode maserasi ini memiliki keuntungan proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena selain murah dan mudah dilakukan, dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pembuatan ekstrak ini dilakukan dengan dimasukkan satu bagian serbuk simplisia ditambah 10 bagian pelarut kedalam botol coklat (Pandey & Tripathi, 2013). Simplisia daun kayu putih sebanyak 400 g direndam dengan etanol 96% sebanyak 4 L dalam bejana maserasi yang ditutup rapat. Proses maserasi dilakukan selama 3 hari. Pengadukan dilakukan beberapa kali sehari agar tercapai keadaan jenuh yaitu pelarut mencapai konsentrasi tertentu sehingga tidak dapat menyari zat aktif dalam simplisia. Ekstrak disaring dengan kertas saring. Filtrat dipekatkan dengan alat vacuum rotary evaporator pada suhu 56 C sampai di dapatkan ekstrak yang pekat.

Kromatografi lapis tipis adalah metode pemisahan senyawa bioaktif secara kimia fisika berdasarkan perbedaan kecepatan migrasi atau ratio distribusi dari komponen campuran fase diam dan fase gerak (Kusumaningtyas *et al.*, 2008). Identifikasi senyawa bioaktif dengan kromatografi lapis tipis ditandai dengan menggunakan pereaksi semprot. Hasil Penelitian (tabel 1) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kayu putih mengandung senyawa dari kelompok alkaloid, polifenol, flavonoid, steroid dan tannin. Keberadaan senyawa tersebut dapat teramati pada sinar UV dengan panjang gelombang λ 254 nm dan λ 366 nm. Bentuk respon golongan senyawa pada dua sinar tersebut beragam, ada yang memendarkan sinar

fluorescent ada yang memadamkan sinar fluorescent. Golongan polifenol tampak adanya bercak biru kehitaman pada 254 nm dan tampak fluorescent merah muda pada 366nm. Golongan steroid tampak adanya bercak biru kehitaman pada 254 nm dan pada biru fluorescent pada 366 nm. Pendaran bercak noda kelompok senyawa flavonoid pada 254 nm tampak adanya warna kuning kehijauan dan tampak bercak merah muda fluorescent pada 366 nm. Kenampakan golongan Alkaloid pada sinar UV 254 nm adalah biru kehitaman dan pada 366 nm tampak biru gelap. Tanin yang merupakan anggota dari golongan polifenol tampak adanya bercak hitam pada 254 nm dan pada 366 nm tampak merah muda dan biru. Kromatografi lapis tipis ditujukan untuk memberikan ketegasan adanya kandungan senyawa kimia. Prinsip kromatografi lapis tipis berdasar pada adsorpsi dan partisi. Senyawa yang terdeteksi sesuai dengan fase geraknya akan muncul sebagai bercak dengan kepolaran fase gerak yang digunakan (Harbone, 2006).

Proses identifikasi dengan menggunakan KLT bertujuan untuk melihat pemisahan sampel berupa pola kromatogram yang khas pada ekstrak berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dengan pelarut (eluen), serta memberikan gambaran awal komposisi kandungan kimia berdasarkan pola kromatogram (Depkes RI, 2000). Berdasarkan hasil pemisahan senyawa dengan KLT, didapatkan nilai Rf dari masing-masing golongan senyawa. Kelompok senyawa yang memiliki isolate senyawa yang cukup kompleks adalah senyawa flavonoid dan tanin. Hal ini dilihat dari jumlah isolate yang terpisah mencapai 5 isolat. Senyawa alkaloid, steroid dan polifenol lebih sederhana dibandingkan flavonoid dan tannin. Hal ini kemungkinan karena jumlah isolate senyawa memang sedikit atau karena kompatibilitas fase gerak yang belum sesuai sehingga tidak mampu memisahkan.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak etanol daun kayu putih berdasarkan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) positif mengandung senyawa polifenol, flavonoid, alkaloid, tanin dan steroid.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi yang telah mendanai pelaksanaan hibah Penelitian Dosen Pemula tahun 2022 dengan Nomor kontrak 128/SPK/D4/PPK.01.APTV/VI/2022

DAFTAR PUSTAKA

- Abd NM, Nor ZM, Mansor M, Azhar F, Hasan MS, Kassim M. Antioxidant.(2015). Antibacterial Activity and Phytochemical Characterization of Melaleuca cajuputi Extract. *Journal of BMC Complementary and Alternative Medicine*. 15:385.
- Agoes, A. 2010. *Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Salemba Medika.
- Azwanida NN.(2015). A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Med Aromat Plants*. 4:3 DOI: 10.4172/2167-0412.1000196
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia.(2000).*Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan.
- Kusumaningtyas E., Astuti E.,& Darmono. (2008). Sensitivitas Metode Bioautografi Kontak dan Agar Overlay Dalam Penentuan Senyawa Antikapang. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, September. 6 (2) :75-79

- Koirewoa, Y. A., Fatimawali, W. I. Wiyono. 2012. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.). *Pharmacobon*. 1(1):47-52.
- Harbone, JB, 1987. Metode Fitokimia Cara Modern Menganalisis Tumbuhan diterjemahkan oleh Padmawinata K. Bandung: ITB.
- Pandey, A. & Tripathi, S.M. (2014). Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug.
- Perdani MS, Hasibuan AK.(2021). Analisis Informasi Tanaman Herbal melalui Media Sosial ditengah Masyarakat pada Pandemi Covid-19: Sebuah Tinjauan Literatur. *Bencoolen Journal of Pharmacy*.
- Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 103. (2014). Pelayanan Kesehatan Tradisional. Jakarta: Kemenkumham RI.
- Riset Kesehatan Dasar. Badan penelitian dan pengembangan kesehatan kementerian RI.(2018). Jakarta: Kemenkes RI; 2018.
- Swarnalata.(2014). Cytokine mediate immunomodulatory properties kaempferol-5-o- β -d glucopyranoside from methanol extract of aerial part of indigofera aspala-thoides Vahl ex DC. *Int. J. RsPharm. Sci.* 5:73.78.