

PROFILKROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT)
SENYAWA METABOLIT SEKUNDER AIR PERASAN
DAUN MIMBA (*Azadirachta indica*)

**THIN LAYER CHROMATOGRAPHY PROFILE (TLC) SECONDARY
METABOLITE COMPOUNDS OF NEEM LEAVES (*Azadirachta indica*).**

Muzemmila Arinda Putri, Sentot Joko Raharjo

Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang

ABSTRAK

Secara empiris air perasan daun tanaman mimba di Kepulauan Sapudi Madura digunakan sebagai terapi pengobatan, didalam air perasan daun mimba terdapat senyawa metabolit sekunder sehingga dilakukan pengkajian senyawa metabolit sekunder. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui profil KLT (Kromatografi Lapis Tipis) senyawa-senyawa metabolit sekunder air perasan daun mimba. Metode penelitian ini meliputi penentuan rendemen dan berat jenis ekstrak air perasan daun mimba, analisis skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder, dan uji profil KLT senyawa penyusun metabolit sekunder menggunakan fase diam silika gel 60 F254 dengan fase gerak yang sesuai dan reagen penampak noda yang spesifik dengan senyawanya. Hasil penelitian menunjukkan rendemen 7,5% dan berat jenis 1,001 g/ mL; hasil uji skrining fitokimia terdapat kandungan senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid ; dan uji metode KLT dengan menggunakan variasi eluen, pada uji saponin mendapatkan satu senyawa menggunakan eluen kloroform : metanol : air (13:7:2) dengan penampak noda penampak noda pereaksi *Lieberman Boucharadat* (LB), pada uji tanin mendapatkan satu senyawa menggunakan eluen etanol : etil asetat (3:2) dengan penampak noda FeCl₃, pada uji flavonoid menggunakan eluen metanol : aquadest (4:6) dengan penampak noda uap ammoniak, pada uji terpenoid menggunakan eluen etil asetat:metanol (6:4). Kesimpulan penelitian ini adalah profil KLT air perasan daun mimba menunjukkan adanya senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid.

Kata kunci: Air Perasan, Daun Mimba, Profil KLT

ABSTRACT

Empirically the juice of the leaves of the neem plants in the Sapudi Madura Islands is used as a therapeutic treatment, in the juice of the leaves of the neem leaves there are secondary metabolite compounds so a secondary metabolite compound study is conducted. The purpose of this study was to determine the profile of TLC (Thin Layer Chromatography) secondary metabolite compounds of neem leaf juice. The methods of this study include determining the yield and specific gravity of extracts of neem leaf juice, phytochemical screening analysis of secondary metabolites, and TLC profile testing of secondary metabolite constituents using silica gel 60 F254 stationary phase with an appropriate mobile phase and specific stain appearance reagents with their compounds . The results showed a yield of 7.5% and a specific gravity of 1,001 g / mL; phytochemical screening test results contained flavonoid compounds, saponins, tannins, and terpenoids; and TLC method test by using eluent variations, in the saponin test one compound was obtained using a chloroform eluent: methanol: water (13: 7: 2) with the appearance of a stain showing the appearance of a Lieberman Boucharadat (LB) reagent stain, in the tannin test obtaining one compound using ethanol eluent : ethyl acetate (3: 2) with FeCl₃ stain appearance, in the flavonoid test using methanol eluent: aquadest (4: 6) with ammoniac vapor stain appearance, in the terpenoid test using ethyl acetate eluent: methanol (6: 4). The conclusion of this research is the TLC profile of neem leaf juice showed the presence of flavonoid compounds, saponins, tannins, and terpenoids.

Keywords: Juice, Leaves of Mimba, Profile of KLT

PENDAHULUAN

Umumnya secara empiris, masyarakat Indonesia menggunakan daun mimba dengan tahapan merebusnya terlebih dahulu, sedangkan beberapa penelitian sebelumnya, menggunakan daun mimba yang sudah dikeringkan lalu dihaluskan menjadi serbuk dilanjutkan dengan dimaserasi dan diambil ekstrak pekatnya, namun berbeda pada daerah Kepulauan Madura, Khususnya di pulau Sapudi kebanyakan masyarakatnya menggunakan air perasan daun mimba sebagai bahan pendamping terapi pengobatan, salah satunya terapi diabetes, dengan cara mengambil beberapa helai daun mimba ditumbuk daun, kemudian disaring dan diperas, selanjutnya diminum. Setelah beberapa hari kemudian masyarakat pulau Sapudi mempercayai dengan air perasan daun mimba penyakit diabetes menurun, menurunnya diabetes tersebut karena terdapat zat aktif yang berkhasiat sebagai antidiabetes pada air perasan daun mimba. Perbedaan inilah yang bisa kita bandingkan lebih efektif mana penggunaan daun mimba dalam bentuk serbuk atau dalam bentuk air perasan dan sampai pada saat ini masih belum ada yang mengkaji penelitian tentang air perasan daun mimba. Faktor perbedaan inilah yang menjadi dasar dilakukan pengujian terhadap air perasan daun mimba sebagai obat antidiabetes dan mengetahui beberapa kandungan senyawa aktif yang terkandung didalam air perasan daun mimba yang dimanfaatkan sebagai obat terapi penyakit diabetes

Beberapa penelitian sebelumnya umumnya menggunakan daun mimba dalam bentuk ekstrak maserasi, namun dalam penelitian ini bahan yang digunakan air perasan daun mimba disesuaikan dengan kondisi pengalaman empiris di Pulau Sapudi sebagai antidiabetes. Selanjutnya identifikasi senyawa metabolit sekunder pada air perasan daun mimba, tidak hanya dilakukan skirining fitokimia, namun dilanjutkan dengan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Metode ini diharapkan untuk mendapatkan informasi sejumlah senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam air perasan daun mimba, sehingga tindak lanjutnya memperoleh profil KLT senyawa metabolit sekunder air perasan daun mimba, agar sebagai dasar penelitian selanjutnya untuk isolasi senyawa-senyawa metabolit sekunder pada air perasan daun dan efek terapinya.

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah deskriptif

Alat Dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah lesung, sarung tangan, saringan, gelas kimia, tabung reaksi, rak tabung, pipet tetes, timbangan digital, spatula, gelas kimia, penjepit kayu, lempeng KLT, beaker glass, gelas ukur, sendok tanduk, kertas saring, pipet tetes, pipa kapiler, aluminium foil.

Bahan

Bahan penelitian yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah : daun mimba, air perasan daun mimba dan aquadest

Prosedur Penelitian

1. Determinasi Tanaman Mimba
Melakukan determinasi sendiri lalu dicocokkan dengan hasil determinasi di UPT Material Medica Batu (MMB).
2. Rendeman Air Perasan Daun Mimba
Mengambil daun mimba yang sudah tua yang ditandai warna kehijauan pekat, dipisahkan dari rantingnya, dicuci bersih sampai tidak ada kotoran yang menempel, menimbang sebanyak 20 g sekitar 100-150 helai dipotong kecil-kecil, disiapkan lesung lalu masukkan daun mimba lalu dihaluskan, ditambahkan segelas air sekitar 120 mL, diperas di atas alat saring dan ditampung dalam gelas yang menghasilkan rendemen 7,5% air perasan daun mimba dan berat jenis 1,001 g/mL
3. Mengidentifikasi Senyawa
Proses identifikasi senyawa yang terkandung dalam air daun mimba (*Azadirachta indica*) dilakukan dengan menggunakan metode pewarnaan.
4. Melakukan pengujian KLT (Kromatografi Lapis Tipis)
Metode ini diharapkan untuk mendapatkan informasi sejumlah senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam air perasan daun mimba. Profil KLT senyawa penyusun metabolit sekunder menggunakan fasa diam silika gel 60 F254 dengan fasa gerak yang sesuai dan reagen penampak noda yang spesifik dengan senyawanya.

HASIL PENELITIAN

Penelitian telah dilaksanakan pada bulan Maret sampai dengan Juni 2019. Determinasi tanaman mimba dilakukan di UPT Material Medica Batu. Hasil Determinasi tanaman mimba berasal dari spesies *Azadirachta indica* A. Juss,

Hasil uji skrining fitokimia air perasan daun mimba meliputi: uji senyawa saponin, uji senyawa tanin, uji senyawa flavonoid dan uji senyawa terpenoid, Tabell

Senyawa	Pereaksi	Hasil Pengamatan	Tanda Positif	Kesimpulan
Flavonoid	Ammoniak encer dan Asam Sulfat Pekat	Terbentuknya Warna Menjadi Agak Kuning	Warna Menjadi Agak Kuning (Hanani, 2014)	Positif
Saponin	Aquadest+ HCl	Terbentuknya busa stabil	Busa stabil (Warditiani, 2013)	Positif
Tanin	FeCl ₃ 1 %	Terbentuknya warna coklat Kehijauan	Warna Cokelat Kehijauan(Hanani, 2014)	Positif
Terpenoid	Kloroform dan Asam Sulfat Pekat	Terbentuknya warna coklat kemerahan	Warna Coklat Kemerahan (Odeoga, 2005)	Positif

Tabel 1. Hasil Uji Skrining Fitokimia Air Perasan Daun Mimba

Hasil Kromatografi Lapis Tipis, pada penelitian ini pengujian senyawa didalam Air perasan Daun Mimba secara kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan berbagai Variasi eluen,. Pada penelitian ini

menggunakan berbagai variasi eluen untuk memperoleh bercak noda yang jelas (hasil KLT dengan variasi eluen ketiga dapatdilihat pada Tabel 2.)

Tabel 2. Hasil Kromatografi Lapis Tipis Air Perasan Daun Mimba

Senyawa	Jenis eluen	Jumlah noda	Jarak eluen	Jarak noda	Nilai Rf
Saponin	Kloroform : metanol : air (13:7:2)	1 noda	5,5	3,2	0,58
Flavonoid	Metanol : aquadet (4:6)	2 noda	5,5	2 3,5	0,36 0,63
Tanin	Etanol : etil asetat (3:2)	1 noda	5,5	3,5	0,63
Terpenoid	Etil asetat : metanol (6:4)	2 noda	5,5	3,5 4	0,63 0,72

PEMBAHASAN

Determinasi tanaman mimba dilakukan dilakukan di UPT Material Medica Batu. Hasil Determinasi tanaman mimba berasal dari spesies *Azadirachta indica* A. Juss.

Pada penelitian ini menggunakan daun mimba sebanyak 1 genggam tangan atau sekitar 20gram dan ditambahkan air sebanyak 120 mL. Daun mimba ini yang diambil dari daerah Kepulauan Sapudi, Kabupaten Sumenep, dibuat dengan menggunakan alat tumbuk untuk menghasilkan air perasan daun mimba sebanyak 150 mL atau rendemen 7,5% dengan berat jenis 1,001 g/ mL.

Pada penelitian ini pengujian skrining fitokimia air perasan daun mimba meliputi saponin, tanin, flavonoid, terpenoid. Pada skrining fitokimia flavonid didalam air perasan daun mimba digunakan dengan menambahkan ammonia encer dan asam sulfat pekat, dalam pengujian ini yang dilakukan menunjukkan hasil yang positif dengan terbentuknya warna kuning.

Dalam uji ini, 2mL ekstrak sampel ditambah 5 mL amonia encer. Terlihat perubahan warna larutan menjadi agak kuning. Hal ini terjadi karena flavonoid termasuk dari senyawa fenol. Bila fenol direaksikan dengan basa akan terbentuk warna yang disebabkan terjadinya sistem konjugasi dari gugus aromatik (Hanani, 2014). Hasil uji flavonoid secara kualitatif menunjukkan bahwa semua sampel air perasan daun mimba terdapat positif mengandung flavonoid.

Pada skrining Fitokimia saponin menunjukkan hasil positif setelah ditambahkan 5 ml aquadest kedalam 2 ml air perasan daun mimba dan dikocok kuat-kuat, kemudian ditambahkan beberapa tetes HCl. Hasil tersebut menunjukkan bukti positif karena terdapat busa yang bertahan selama 7 menit. Saponin pada saat dikocok terbentuk buih karena adanya gugus hidrofil yang berikatan dengan air sedangkan hidrofob akan berikatan dengan udara (Warditjanin, 2013).

Pada pengujian Skrining Fitokimia tanin hasil uji tanin dari semua sampel air perasan daun mimba dengan pereaksi FeCl_3 1 % menunjukkan uji positif yaitu warna larutan menjadi coklat kehijauan. Hal tersebut disebabkan karena tannin dapat larut dalam air, alcohol dan aseton. Perubahan warna tersebut terjadi karena adanya reaksi reduksi. Tanin merupakan golongan senyawa polifenol, polifenol mampu mereduksi besi (III) menjadi besi (II) (Hanani, 2014).

Pada pengujian skrining fitokimia terpenoid, hasil uji terpenoid pada air perasan daun mimba menunjukkan bahwa sampel air perasan daun mimba mengandung terpenoid. Pada uji ini, sampel air perasan dicampur dengan etanol, kemudian filtratnya ditambahkan kloroform dan asam sulfat pekat. Hasil yang teramati terbentuk warna coklat kemerahan pada antarmuka. Hal tersebut menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung senyawa terpenoid (Odeoga, 2005).

Hasil yang di dapat dari skrining fitokimia air perasan daun mimba dapat ditegaskan dengan uji kromatografi lapis tipis (KLT). Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah metode pemisahan fisikokimia yang didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen antara dua fase (fase gerak atau eluen dan fase diam atau adsorben) yang berbeda tingkat kepolarannya (Rahmawati, 2015). Teknik ini biasanya menggunakan fase diam dari bentuk plat silika gel dan fase geraknya disesuaikan dengan jenis sampel yang ingin dipisahkan. Fase diam yang digunakan dalam penelitian ini adalah silika gel GF₂₅₄. Silika gel

dipanaskan terlebih dahulu pada suhu 105⁰C selama 30 menit supaya kering agar yang terbawa hanya eluen. Fae gerak dalam penelitian ini meliputi beberapa variasi eluen. Dalam metode KLT ini diharapkan memperoleh sejumlah kelompok senyawa metabolit sekunder dari air perasan daun mimba, meliputi kelompok senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid, dimana analisisnya menggunakan penampak noda yang spesifik dari kelompok senyawa metaboilt sekunder tersebut.

Adapun tahapan dalam penelitian kromatografi lapis tipis (KLT) adalah disiapkan air perasan daun mimba kemudian ditotolkan pada plat silika gel dengan menggunakan pipa kapiler. Plat silika gel dimasukkan kedalam chamber yang berisi eluen. Untuk mengetahui kejenuhan eluen didalam chamber maka dimasukkan kertas saring. Chamber dikatakan jenuh apabila kertas saring sudah basah sampai bagian atas. Setelah jenuh dimasukkan plat silika gel yang sudah ditotolkan dengan air perasan daun mimba dan biarkan terelusi hingga batas atas, setelah eluen mencapai batas atas plat silika gel dikeluarkan dari chamber, kemudian dikeringkan dan diamati dibawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm, kemudian dihitung nilai Rf. Senyawa yang mempunyai Rf lebih besar berarti mempunyai kepolaran yang rendah, begitu juga sebaliknya (Amaliah, 2016)

Pada penelitian ini pengujian air perasan daun mimba menggunakan pelarut air, sehingga kemungkinan senyawa yang terbawa banyak yang mengandung polar dan semi polar lalu dilakukan pengujian secara Kromatografi dilakukan

menggunakan berbagai variasi eluen. Dalam uji KLT untuk pemisahan kelompok senyawa saponin secara kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan 2 kali dengan berbagai variasi eluen. Pada pengamatan pertama dengan menggunakan eluen kloroform : metanol : air (14:6:2) dan yang kedua dengan menggunakan variasi eluen kloroform : metanol : aquadest (13:7:2) dengan menggunakan penampak noda pereaksi *Lieberman Bouchardat* (LB). pada pengamatan yang kedua terbentuk bercak noda dengan jelas pada saat diamati secara visible dibawah sinar UV 254 nm yang menghasilkan satu bercak noda dengan Rf 0,58 hal ini dikarenakan fase diam yang digunakan bersifat polar dan fase gerak yang digunakan cenderung non polar sehingga noda yang terbawa bersifat non polar karena Rf yang dihasilkan tinggi. Dalam uji KLT untuk pemisahan kelompok senyawa flavonoid yang dilakukan pengulangan 3 kali menggunakan variasi eluen diantaranya, menggunakan eluen metanol : aquadest (13:10), metanol : aquadest (4:6) dan eluen metanol : aquadest (6:4) dengan penampak noda uap amoniak. Pada pengamatan pertama dan kedua noda yang tampak tidak jelas. lalu dilanjutkan pengamatan yang ketiga dengan mengubah variasi eluen yang kedua karena noda sudah mulai terbentuk namun belum terlalu jelas dengan mengubah menggunakan variasi eluen metanol : aquadest (4:6) dengan penampak noda uap amoniak terbentuk terbentuk bercak noda dengan jelas pada saat diamati secara visible dibawah sinar UV 254 nm yang menghasilkan 2 bercak noda dengan Rf 0,36 dan 0,63. Hal ini dikarenakan fase diam

yang digunakan bersifat polar dan fase gerak cenderung semi polar sehingga noda yang terbawa cenderung bersifat semi polar. Flavonoid mempunyai sifat fisika dan kimia antara lain adalah larut dalam air.

Dalam uji KLT untuk pemisahan kelompok senyawa tanin dengan melakukan 2 kali pengulangan menggunakan variasi eluan diantaranya, menggunakan eluen etanol : etil asetat (3:2) dan menggunakan eluen etanol : etil asetat (7:3) penampak noda $FeCl_3$. Pada pengamatan pertama dengan tidak terbentuk bercak noda dengan jelas, lalu dilanjutkan dengan pengamatan kedua menggunakan variasi eluen etanol: etil asetat (3:2) dengan penampak noda $FeCl_3$ sudah terbentuk bercak noda dengan jelas yang diamati dibawah sinar UV 254 nm yang menghasilkan 1 bercak noda dengan Rf 0,63 hal ini dikarenakan fase diam yang digunakan bersifat polar dan fase gerak cenderung semi polar sehingga noda yang terbawa cenderung bersifat semi polar. tanin memiliki sifat umum, yaitu memiliki gugus fenol yang bersifat koloid, karena itu didalam air bersifat koloid dan asam lemah, semua jenis tanin dapat larut dalam air, kelarutannya besar, akan bertambah besar apabila dilarutkan dalam air panas, begitu juga tanin akan larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton, dan pelarut organik lainnya.

Dalam uji KLT untuk pemisahan kelompok pemisahan senyawa terpenoid dengan dilakukan 2 kali pengulangan dengan variasi eluen diantaranya, menggunakan eluen etil asetat : metanol (8:2), dan menggunakan eluen etil asetat : metanol (6:4). Pada pengamatan

pertama tidak terbentuk bercak noda dengan jelas. Namun pada penelitian kedua dengan menggunakan variasi eluen etil asetat : metanol (6:4) terbentuk bercak dengan jelas dibawah sinar UV 254 nm yang menghasilkan dua bercak noda dengan Rf 0,63 dan 0,72. Hal ini dikarenakan fase diam yang digunakan bersifat polar dan fase gerak cenderung semi polar sehingga noda yang terbawa cenderung bersifat semi polar. Sifat kimia terpenoid dalam alkohol, persenyawaan terpen teroksidasi lebih mudah larut daripada yang mengandung terpen. Makin tinggi kandungan terpen makin rendah daya larutnya atau makin sukar larut, karena senyawa terpen tak teroksidasi merupakan senyawa non polar.

KESIMPULAN

Hasil penelitian dilakukan secara skrining fitokimia dapat disimpulkan bahwa didalam air perasan daun mimba terdapat kandungan senyawa flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid, dan uji profil kromatografi lapis tipis (KLT) air perasan daun mimba menunjukkan adanya 2 bercak noda senyawa flavonoid, satu bercak noda senyawa saponin, satu bercak noda senyawa tanin, dan satu bercak noda senyawa terpenoid.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yaitu dengan melakukan isolasi senyawa-senyawa metabolit sekunder pada air perasan daun mimba dan efek terapinya.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih dipersembahkan untuk Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang

DAFTAR RUJUKAN

- Amaliah, R. D. (2016). *Uji Aktivitas Alkaloid Lada (Piper nigrum L.) pada reseptor Histamin H₁ Otot Polos Ileum Marmut Terisolasi : Studi In Vitro Dan In Sulico*
- Chattopadhyay, R.R. and M. Bandyopadhyay, 2005, Effect of *Azadirachta indica* Leaf Extract on Serum Lipid Profile Changes in Normal and Streptozotocin Induced Diabetic Rats, *African Journal of Biomedical Research*, **8**, 101–104.
- Csurhes, S., 2008, *Pest plant risk assessment, Neem Tree (Azadirachta indica)*. Department of Primary Industries and Fisheries, Queensland, Australia.
- Fath, M. A. (2016), *Profil Kromatografi Lapis Tipis Etanol Biji Adas (Foeniculum vulgare Mill), Rimpang Kencur (Koempferia galanga L.), Rimpang Kunyit Putih (Curcuma zedoaria (Berg.) Roscoe), Herba Pegangan (Centella asiatica) Serta Ramuannya*, Malang.
- Hanani, E, 2014, Analisis Fitokima, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta
- Odeoga, H. O. Okwu, D. E. and Mbaebie, B. O. 2005 Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants, *African Journal of Biotechnology* Vol. 4(7), 685-688.
- Rahmawati, F. (2015). *Optimasi Penggunaan Kromatografi*

*Lapis Tipis Pada Pemisahan
Senyawa Alkaloid Daun Pulai*

Rahmawati, E. S., & Harahap, I.
(2017). *Isolasi dan
Karakterisasi Senyawa
Antifungi Isolat Cendawan
Endofit dari Tumbuhan*

Senduduk (Melastoma
malabathricum L.),

Warditiani, N. K. (2013). *Identifikasi
kandungan kimia ekstrak kulit
buah manggis* (Garcinia
mangostana L.). *Jurnal
Farmasi Univrsitas Udayana.*