

UJI KUALITATIF SENYAWA POLIFENOL, TANIN, DAN ALKALOID PADA EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle L.*) MENGGUNAKAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS

Andini Daniswari; Lifya Aninda Fitri; Yolian Habsari Putri; Dr.Ir. Akida Mulyaningtyas, S.T., M.Sc.

Teknik Kimia, Teknik, Universitas Muhammadiyah Surakarta

Abstrak

Ekstrak daun sirih hijau mengandung senyawa polifenol, tanin, dan alkaloid. Senyawa tersebut berfungsi sebagai antibakteri. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui adanya kandungan senyawa polifenol, tanin dan alkaloid dari ekstrak daun sirih hijau. Tahapan penelitian dimulai dari pembuatan ekstrak dengan metode meserasi serta untuk pengujian kandungan senyawanya menggunakan metode uji kromatografi lapis tipis (KLT). Uji KLT dilakukan dengan pemilihan eluen terbaik dan menentukan larutan pereaksi. Pereaksi tersebut berfungsi untuk menunjukkan adanya noda yang berupa warna apabila dilakukan penyinaran dibawah lampu UV 254 nm dan UV 366 nm sebagai bukti adanya senyawa dalam ekstrak daun sirih hijau tersebut. Dalam penelitian ini menggunakan tiga variasi konsentrasi ekstrak yaitu konsentrasi ekstrak 10%, 30% dan konsentrasi ekstrak 70%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada konsentrasi ekstrak daun sirih hijau 10% tidak terdeteksi adanya senyawa tanin dan alkaloid, dan hanya mengandung senyawa polifenol. Tetapi untuk konsentrasi ekstrak daun sirih hijau 30% dan 70% positif mengandung senyawa polifenol, tanin, dan alkaloid. Nilai Rf dinyatakan hingga angka 1,0, dan untuk pemisahan yang cukup baik hasil nilai Rf nya berkisar antara 0,2-0,8. Hasil penelitian menunjukkan nilai Rf paling tinggi terdapat pada senyawa tanin dengan konsentrasi ekstrak 70% dengan nilai Rf sebesar 0,73.

Kata Kunci: polifenol, tanin, alkaloid, kromatografi lapis tipis (KLT), eluen.

Abstract

Alkaloids, tannins, and polyphenolic substances are all found in piper betle L. extract. The substance has antimicrobial properties. This investigation was done to find out how much polyphenolic substances, tannins, and alkaloids were present in the green betel leaf extract. Making extracts using the serating method and analyzing the results using the thin-layer chromatography (KLT) test method are the first steps in the research stage. By choosing the optimal eluent and figuring out the reagent solution, the KLT test is carried out. When exposed to UV 254 nm and UV 366 nm light, the reagent demonstrates stains in the form of color as proof of the presence of chemicals in the green betel leaf extract. In this research, three different extract concentrations were used extract concentration of 10%, 30% and extract concentration of 70%. the results of the research, green betel leaf extract only included polyphenolic chemicals at a concentration of 10% and did not contain any tannins or alkaloids. However, 30% and 70% of the Piper betle L extract is positive for contains polyphenolic substances, tannins, and alkaloids. The Rf value ranges from 0.2 to 0.8 for a very sufficient separation, and it can be expressed up to 1.0. The results found that tannins with an extract concentration of 70% and an Rf value of 0.73 had the highest Rf value.

Keywords: polyphenols, tannins, alkaloids, thin layer chromatography (TLC), eluents.

1. PENDAHULUAN

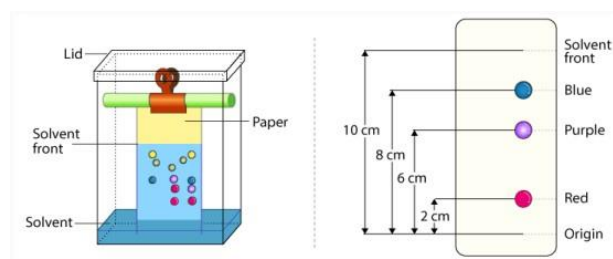
Daun sirih (*Piper betle* L.) diklasifikasikan dalam famili *Piperaceae* yang telah ditemukan memiliki lebih dari 100 varietas di seluruh dunia, diketahui sekitar 40 varietas diantaranya ditemukan di India, dalam bahasa Hindi disebut *paan* (Sarma et al., 2018). Sirih merupakan salah satu tanaman obat yang potensial dan diketahui memiliki khasiat dalam menyembuhkan berbagai penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri atau jamur, menghentikan pendarahan, gatal-gatal, dan sariawan (Sadih dkk., 2022). Pertumbuhan tanaman ini merambat pada media dengan bentuk batang berbuku-buku serta permukaan daun kasar dengan pola berwarna hijau saat muda dan coklat keputihan saat tua. Panjang daun sirih sekitar 8-14 cm dan lebar 5-11 cm. Bunga tanaman sirih berwarna hijau saat muda dan berwarna putih ketika tua. (Boangmanalu dan Zuhrotun, 2018). Senyawa fitokimia yang terkandung dalam daun sirih terdiri dari alkaloid, saponin, tanin, polifenol dan flavonoid (Windriyati dkk., 2011).

Secara alami polifenol ditemukan pada tanaman dengan keberadaan gugus hidroksil (-OH), serta mengandung 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin *benzene* dalam satu rantai linear. Sehingga memiliki struktur dasar $C_6-C_3-C_6$ yang terikat pada cincin aromatiknya. Dikelompokkan dalam senyawa fenolik (polifenol) meliputi fenol sederhana, asam fenolat, kumarin, tanin, dan flavonoid (Illing dkk., 2017). Polifenol berperan sebagai antioksidan yang memiliki sifat pereduksi berupa agen penyumbang hidrogen serta pemusnah radikal bebas. Adapun aktivitas lainnya seperti antimikroba, anti hipertensi, dan efek hipoglikemik. Pada bidang farmakologi & kosmetik kandungan tersebut dimanfaatkan sebagai pelindung dari radikal bebas (Lailatussifa dan Pereira, 2022).

Menurut Hidayah (2016), tanin merupakan salah satu golongan senyawa metabolit sekunder pada tanaman dan disintesis oleh tumbuhan. Senyawa tanin memiliki berat molekul 500-3000 di dalamnya mengandung sejumlah besar gugus hidroksi fenolik. Secara umum senyawa tanin terdiri dari dua jenis yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis, tetapi jenis yang paling dominan adalah tanin terkondensasi. Tanin memiliki beberapa khasiat diantaranya sebagai astringen, anti diare, antibakteri dan antioksidan (Fathurrahman dan Musfiroh, 2018). Tanin dapat bersifat racun terhadap bakteri, jamur dan juga dapat menunjukkan aktivitasnya sebagai antivirus. Tanin bekerja sebagai antibakteri dengan menghambat enzim ekstraseluler bakteri dan mengambil alih substrat yang dibutuhkan dalam pertumbuhan bakteri. Tanin dapat menyerang polipeptida dinding sel yang akhirnya menyebabkan kerusakan pada dinding sel (Sadih dkk., 2022).

Menurut Silla dkk (2020), alkaloid adalah suatu golongan senyawa yang tersebar luas hampir pada semua jenis tumbuhan yang mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang bersifat basa dan membentuk cincin heterosiklik. Alkaloid dapat ditemukan pada biji, daun, ranting, dan kulit kayu dari tumbuh-tumbuhan. Alkaloid merupakan bahan aktif yang berfungsi sebagai obat serta *activator* kuat bagi sel imun yang dapat menghancurkan bakteri, jamur, virus, dan sel kanker (Sadiah dkk., 2022). Mekanisme kerja dari alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Regina, 2020).

Kromatografi lapis tipis adalah kromatografi "adsorpsi padat-cair". Pada metode ini fasa diam merupakan zat adsorben padat yang dilapisi pada pelat kaca. Prinsip yang terlibat dalam kromatografi kertas dapat berupa kromatografi partisi atau adsorpsi. Untuk partisi, zat didistribusikan antara fase cair sedangkan adsorpsi melibatkan padat (kertas sebagai fase stasioner) dan fase cair (sebagai fase gerak). Mirip dengan prinsip kromatografi kertas, fase gerak bergerak ke atas dengan aksi kapiler melalui fase diam (plat tipis yang direndam dengan pelarut). Pembentukan warna yang terlihat dapat diamati di bawah cahaya ruangan atau sinar UV. Posisi setiap molekul dalam campuran dapat diukur dengan menghitung perbandingan antara jarak yang ditempuh molekul dengan pelarut. Nilai pengukuran ini disebut mobilitas relatif, dan dinyatakan dengan simbol R_f . Nilai R_f digunakan untuk deskripsi kualitatif molekul (Ebere et al., 2019).



Gambar 1. Prinsip kerja kromatografi kertas.

Untuk menentukan nilai posisi noda setiap zat terlarut pada plat kromatografi lapis tipis yaitu menggunakan perhitungan nilai R_f dengan rumus sebagai berikut :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh komponen (ekstrak)}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}} \quad (1)$$

Nilai R_f dapat dinyatakan hingga angka 1,0. Pada hasil pemisahan yang cukup baik dapat ditunjukkan pada nilai R_f yang berkisaran antara 0,2-0,8 (Kamar dkk., 2021).

Menurut Wardhani dan Sulistyani, (2012), uji identifikasi dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan untuk memastikan kandungan kimia yang terdapat di dalam sampel

ekstrak. Hasil ekstrak akar papaya diduga mengandung senyawa alkaloid (R_f : 0,53), dan tanin (R_f : 0,52 dan 0,88) (Zaini dan Sofia, 2020). Pada hasil identifikasi polifenol ekstrak daun binahong menggunakan kromatografi lapis tipis diperoleh bercak hijau kehitaman setelah disemprot $FeCl_3$ dengan nilai R_f sebesar 0,21 dan 0,47 sehingga disimpulkan positif mengandung senyawa polifenol (Wardhani dan Sulistyani, 2012).

Berdasarkan penelitian terdahulu dan berbagai manfaat yang terdapat dalam senyawa polifenol, tanin, dan alkaloid maka dilakukan penelitian untuk mengetahui ketiga senyawa tersebut pada ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) dengan variasi konsentrasi tertentu secara kualitatif melalui uji kromatografi lapis tipis.

2. METODE

2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini untuk proses ekstraksi maserasi daun sirih (*Piper betle L.*) memerlukan neraca analitik, ayakan batang pengaduk, blender, *stirrer*, *rotary evaporator*, cawan porselin, corong kaca, corong pisah, erlenmeyer, gelas beker, gelas ukur, *hot plate*, labu ukur, pipet ukur, pipet volume, statif dan klem. Sedangkan, untuk alat uji kromatografi lapis tipis (KLT) memerlukan *chamber* KLT, botol semprot, lampu UV 254 nm dan 366 nm.

Bahan-bahan yang digunakan untuk ekstraksi daun sirih hijau (*Piper betle L.*) terdiri dari simplisia daun sirih hijau, aquadest, dan etanol 96 %. Sedangkan, untuk bahan yang digunakan untuk uji kromatografi lapis tipis (KLT) adalah silika gel 60 F₂₅₄, kloroform, metanol, n-heksan, etil asetat, larutan pereaksi $FeCl_3$ dan larutan pereaksi Dragendroff.

2.2 Persiapan Sampel

Sebanyak 1 kg daun sirih hijau segar dicuci bersih menggunakan air mengalir. Dikeringkan dibawah paparan sinar matahari dengan ditutup kain hitam selama 7 – 10 hari. Daun sirih hijau kering digiling menggunakan blender lalu diayak hingga menjadi serbuk simplisia.

2.3 Ekstraksi

Metode yang digunakan dalam mengekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) adalah metode meserasi. Didalam metode meserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Serbuk daun sirih hijau sebanyak 50 gram direndam dalam 500 mL pelarut

etanol 70% dan didiamkan selama 3x24 jam terlindung dari cahaya dengan perlakuan tiap hari diaduk sebanyak 1 kali sehari selama 4 jam dengan kecepatan 900 rpm menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah hari ketiga sampel disaring dan dipisahkan ampas dan filtratnya dengan menggunakan corong kaca dan kertas saring. Hasil saringan diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary evaporator*. Kemudian dilakukan pemisahan menggunakan corong pisah dengan perbandingan ekstrak etanol daun sirih dan etil asetat yaitu 1:1, masing-masing sebanyak 75 mL, kemudian dikocok selama 15 menit dan didiamkan hingga terbentuk 2 lapisan yaitu fraksi etanol pada lapisan atas dan fraksi etil asetat pada lapisan bawah. Fraksi etil asetat yang telah didapat kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang didapatkan yaitu sebanyak 2,721 gram bebas dari pelarut. Ekstrak yang dihasilkan akan digunakan untuk pengujian selanjutnya.

2.4 Pembuatan Variasi Konsentrasi Ekstrak

Ekstrak etanol daun sirih hijau dibuat dalam 3 konsentrasi yaitu 10%, 30% , dan 70% ^{b/v}. Ditimbang masing-masing ekstrak daun sirih hijau sebanyak 0,1 g, 0,3 g, dan 0,7 g. Lalu dilarutkan dengan etanol 70 % pada masing-masing variasi konsentrasi sebanyak 1 mL.

2.5 Uji Kualitatif Senyawa Polifenol Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis

Uji KLT polifenol dilakukan dengan menggunakan fase diam berupa lempeng silika gel 60 F₂₅₄ dan fase gerak berupa kloroform : metanol (9:1) yang telah dijenuhkan dahulu. Masing-masing konsentrasi ditotolkan sebanyak 5 totolan pada lempeng dengan jarak elusi 8 cm menggunakan pipa kapiler. Setiap penotolan dilakukan setelah totolan sebelumnya kering. Lalu lempeng dimasukkan ke dalam *chamber* yang berisi fase gerak yang telah dijenuhkan. Ditunggu hingga totolan ekstrak terelusi oleh fase gerak hingga batas atas lempeng, di angin-anginkan, kemudian dideteksi penampak bercak dengan sinar UV 254 nm dan 366 nm. Setelah itu, penampak bercak pada lempeng KLT disemprotkan dengan pereaksi FeCl₃ 0,5%. Hasil positif ditandai dengan adanya bercak berwarna gelap (hitam, ungu, biru tua, atau coklat tua) pada UV 254 nm dan berfluorensi biru pada UV 366 nm. Kemudian dapat dihitung nilai R_f dari masing-masing sampel.

2.6 Uji Kualitatif Senyawa Tanin Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis

Uji KLT tanin dilakukan dengan menggunakan fase diam berupa lempeng silika gel 60 F₂₅₄ dan fase gerak berupa n-heksan : etil asetat (6:4) yang telah dijenuhkan

dahulu. Masing-masing konsentrasi ditotolkan sebanyak 5 totolan pada lempeng dengan jarak elusi 8 cm menggunakan pipa kapiler. Setiap penotolan dilakukan setelah totolan sebelumnya kering. Lalu lempeng dimasukkan ke dalam *chamber* yang berisi fase gerak yang telah dijenuhkan. Ditunggu hingga totolan ekstrak terelusi oleh fase gerak hingga batas atas lempeng, di angin-anginkan, kemudian dideteksi penampak bercak dengan sinar UV 254 nm dan 366 nm. Setelah itu, penampak bercak pada lempeng KLT disemprotkan dengan pereaksi FeCl_3 0,5%. Hasil positif ditandai dengan adanya bercak berwarna gelap hitam pada UV 254 nm dan berwarna ungu lembayung pada UV 366 nm. Kemudian dapat dihitung nilai R_f dari masing-masing sampel.

2.7 Uji Kualitatif Senyawa Alkaloid Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis

Uji KLT alkaloid dilakukan dengan menggunakan fase diam berupa lempeng silika gel 60 F_{254} dan fase gerak berupa n-heksan : etil asetat (7:3) yang telah dijenuhkan dahulu. Masing-masing konsentrasi ditotolkan sebanyak 5 totolan pada lempeng dengan jarak elusi 8 cm menggunakan pipa kapiler. Setiap penotolan dilakukan setelah totolan sebelumnya kering. Lalu lempeng dimasukkan ke dalam *chamber* yang berisi fase gerak yang telah dijenuhkan. Ditunggu hingga totolan ekstrak terelusi oleh fase gerak hingga batas atas lempeng, di angin-anginkan, kemudian dideteksi penampak bercak dengan sinar UV 254 nm dan 366 nm. Setelah itu, penampak bercak pada lempeng KLT disemprotkan dengan pereaksi Dragendroff. Hasil positif ditandai dengan adanya bercak berwarna biru cerah pada UV 254 nm dan berwarna biru gelap pada UV 366 nm. Kemudian dapat dihitung nilai R_f dari masing-masing sampel.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode meserasi, metode tersebut digunakan karena metode meserasi tidak membutuhkan pemanasan sehingga zat aktif yang terkandung dalam simplisia tidak rusak akibat pemanasan. Serbuk simplisia direndam menggunakan pelarut etanol 70%. Setelah proses meserasi selesai, hasil filtrat dievaporasi kemudian dilakukan pencucian dengan etil asetat, lalu dievaporasi kembali untuk memperoleh hasil ekstrak kental daun sirih hijau. Variasi konsentrasi ekstrak daun sirih hijau yang digunakan yaitu konsentrasi ekstrak 10%, 30% dan 70%.

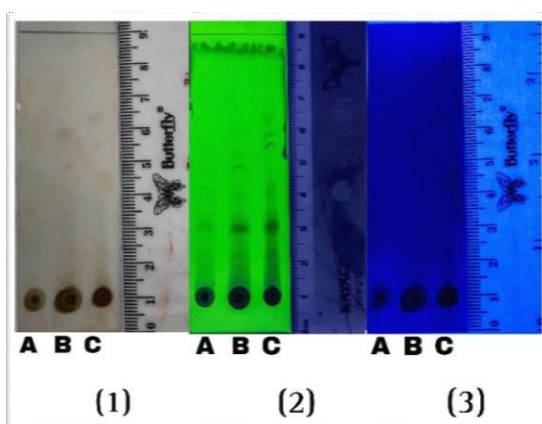
Uji senyawa polifenol, senyawa tanin, dan senyawa alkaloid dilakukan secara kualitatif dengan uji kromatografi lapis tipis (KLT). Pemisahan campuran didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen-komponen campuran tersebut diantara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam yang digunakan adalah lempeng silika gel 60 F₂₅₄. Fase gerak atau yang biasa disebut eluen merupakan komposisi dari perbandingan pelarut yang berfungsi sebagai pembawa kandungan aktif dari ekstrak dan terpisah menjadi noda (Artanti dan Lisnasari, 2018). Perbandingan eluen diperoleh melalui hasil orientasi. Dasar pemilihan komposisi eluen adalah melalui studi literatur. Noda yang tampak pada hasil uji KLT dibawah sinar UV 254 nm dan UV 366 nm menunjukkan adanya kandungan senyawa bioaktif dalam ekstrak daun sirih hijau. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil berikut ini :

Tabel 1. Hasil uji senyawa polifenol, tanin, alkaloid ekstrak daun sirih hijau dibawah sinar tampak, sinar UV 254 dan 366 nm.

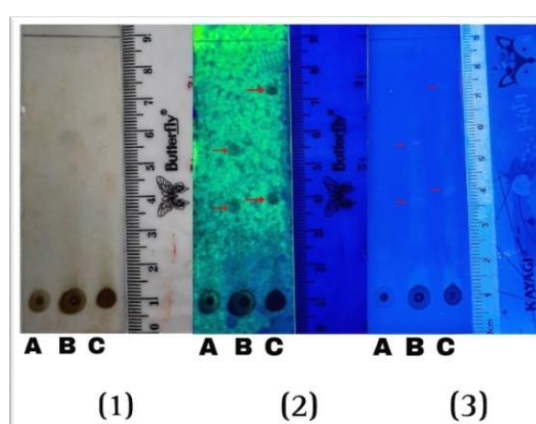
Konsentrasi			Warna Kromatografi Lapis Tipis			
Ekstrak Daun Sirih Hijau	Nilai Rf	Senyawa Bioaktif	Sinar Tampak	UV 254 nm	UV 366 nm	Kesimpulan
10%	-	Polifenol	-	-	-	-
30%	0,33 0,56		Bercak gelap	Coklat kehitaman	Fluoresensi biru	+
70%	0,38 0,79		Bercak gelap	Coklat kehitaman	Fluoresensi biru	+
10%	-	Tanin	-	-	-	-
30%	0,73		Bercak gelap	Hitam	Ungu (lembayung)	+
70%	0,75		Bercak gelap	Hitam	Ungu (lembayung)	+
10%	-	Alkaloid	-	-	-	-
30%	0,55		Bercak gelap	Biru cerah	Biru gelap	+
70%	0,59		Bercak gelap	Biru cerah	Biru gelap	+

3.1 Senyawa Polifenol

Polifenol ditemukan secara alami pada tumbuhan dengan beberapa gugus hidroksil (-OH) pada cincin aromatiknya. Termasuk dalam kelompok senyawa fenolik (polifenol) adalah fenol sederhana, asam fenolat, kumarin, tannin dan flavonoid. Ketika dianalisis dalam sinar UV menunjukkan serapan kuat pada spektrum UV pendek (λ_{maks} 254 nm) diamati sebagai bercak gelap dengan latar belakang berfluoresensi (Illing dkk., 2017).



Gambar 2. Hasil Uji KLT Senyawa Polifenol Sebelum Bereaksi dengan FeCl_3 .



Gambar 3. Hasil Uji KLT Senyawa Polifenol Setelah Bereaksi dengan FeCl_3 .

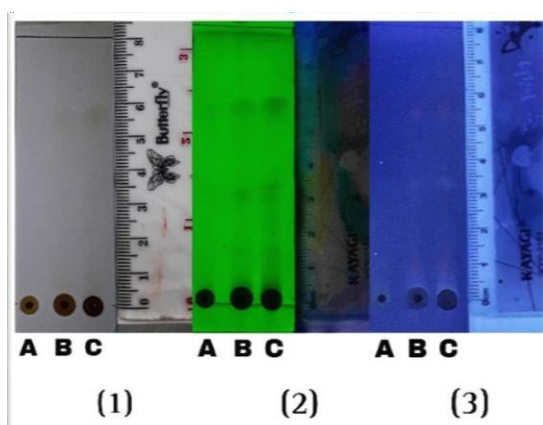
Eluen yang baik adalah eluen yang bisa memisahkan senyawa dalam jumlah yang banyak ditandai dengan munculnya noda. Noda yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara noda satu dengan noda yang lainnya jelas (Harborne, 1987). Menurut Wardhani dan Sulistyani (2012), eluen yang digunakan adalah kloroform : metanol (9:1) v/v , karena hasil pemisahan yang bercak yang diperoleh cukup baik. Pada pemeriksaan polifenol, bercak yang muncul setelah disemprotkan dengan menggunakan FeCl_3 menunjukkan warna hijau kehitaman akibat pembentukan kompleks antara gugus fenol dengan Fe yang terdapat pada pereaksi semprot FeCl_3 . Reaksi tersebut dianalogkan dengan reaksi antara gugus fenol pada flavonoid dengan senyawa AlCl_3 karena Fe juga merupakan logam.

Pengujian senyawa polifenol dengan metode kromatografi lapis tipis dilakukan pada variasi konsentrasi ekstrak daun sirih hijau 10 % (A), 30% (B), dan 70% (C), menggunakan fase diam silika gel 60 F₂₅₄, sedangkan untuk fase geraknya yaitu kloroform : metanol (9:1). Noda yang diperoleh dari masing-masing lempeng KLT dapat dideteksi menggunakan pereaksi semprot FeCl_3 0,5%. Hasil positif ditandai

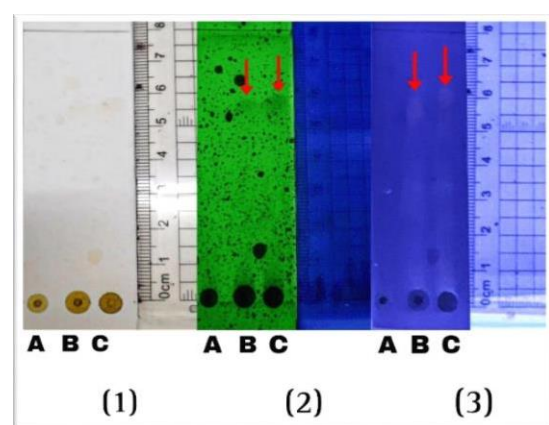
dengan adanya noda bercak gelap pada sinar tampak (1), noda hijau kehitaman pada UV 254 nm (2), dan noda yang berwarna fluoresensi biru pada UV 366 nm (3). Hal ini sesuai dengan pernyataan Suhaenah dan Nuryanti (2017), bahwa hasil ekstrak etanol positif mengandung polifenol ditandai dengan adanya spot/bercak berwarna gelap (hitam, ungu, biru tua, atau coklat tua) setelah disemprot dengan pereaksi FeCl_3 . Pada analisis kromatografi lapis tipis, dihitung pula nilai R_f pada setiap variasi konsentrasi pada noda yang terbentuk. Pada konsentrasi 10% tidak dapat dihitung nilai R_f -nya dikarenakan tidak terbentuk noda hijau kehitaman setelah disemprotkan pereaksi FeCl_3 . Sedangkan pada konsentrasi 30% didapatkan nilai R_f sebesar 0,33 dan 0,56, dan konsentrasi 70% didapatkan nilai R_f sebesar 0,38 dan 0,79 yang dihitung dari jarak noda hijau kehitaman yang terbentuk pada ekstrak dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Wardhani dan Sulistyani (2012), yang menyatakan bahwa pada uji kromatografi lapis tipis ekstrak daun binahong, bercak yang muncul berwarna hijau kehitaman setelah disemprot dengan menggunakan FeCl_3 pada nilai R_f 0,21. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pada konsentrasi 30%, dan 70% mengandung senyawa polifenol.

3.2 Senyawa Tanin

Senyawa tanin merupakan salah satu golongan senyawa metabolit sekunder pada tanaman dan disintesis oleh tanaman. Senyawa tanin mengandung sejumlah besar gugus hidroksi fenolik, gugus tersebut kemungkinan dapat membentuk ikatan silang yang efektif dengan protein dan molekul lain (Hidayah, 2016).



Gambar 4. Hasil Uji KLT Senyawa Tanin Sebelum Bereaksi dengan FeCl_3 .

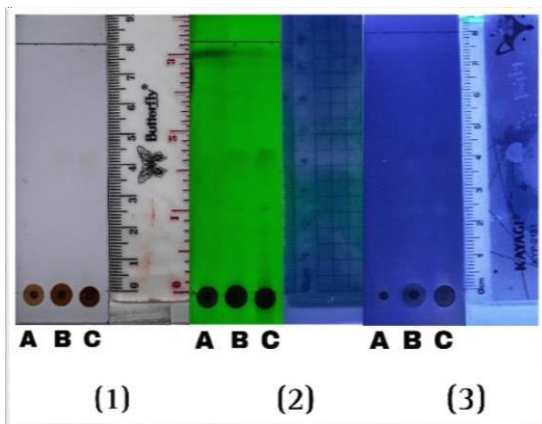


Gambar 5. Hasil Uji KLT Senyawa Tanin Setelah Bereaksi dengan FeCl_3 .

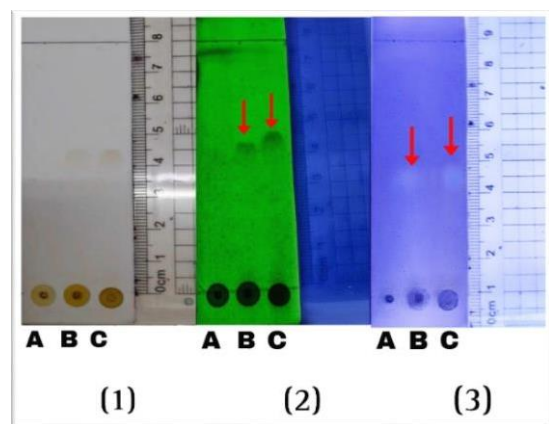
Variasi eluen pada pemisahan tanin dari berbagai penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya, diantaranya n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) , Etil asetat : kloroform : asam asetat 10 % (7:2:1) , Metanol : kloroform (4:1) , dan n-heksan : etil asetat (6:4). Dari berbagai variasi tersebut, Eluen n-heksan : etil asetat (6:4) merupakan eluen terbaik dan mampu menunjukkan noda yang merupakan senyawa tanin (Makatamba dkk, 2020). Eluen yang digunakan untuk memisahkan senyawa tanin pada uji KLT ini adalah n-heksan : etil asetat (6:4). Penambahan FeCl_3 bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin (Soamole dkk., 2018). Dari hasil pengujian mengakibatkan timbulnya warna hitam pada UV 254 nm dan warna ungu (lembayung) pada UV 366 nm dikarenakan adanya daya interaksi antara sinar UV dengan gugus ausokrom yang terikat pada kromofor yang ada pada noda yang menunjukkan adanya tanin yang memiliki gugus kromofor dan ausokrom (Makatamba dkk, 2020). Variasi konsentrasi ekstrak daun sirih hijau yang digunakan yaitu konsentrasi ekstrak 10 % (A), 30% (B), dan 70% (C) menggunakan fase diam silika gel 60 F₂₅₄. Pada konsentrasi ekstrak 10% tidak dapat dihitung nilai R_f-nya dikarenakan tidak terbentuk noda kehitaman pada UV 254 nm dan noda ungu lembayung pada UV 366 nm setelah disemprotkan pereaksi FeCl_3 . Untuk konsentrasi ekstrak 30% (R_f : 0,73) dan konsentrasi 70% (R_f : 0,75) dari hasil pengamatan didapatkan noda bercak gelap pada sinar tampak (1), untuk dibawah sinar UV 254 nm (2) terbentuk noda hitam sedangkan pada UV 366 nm (3) terbentuk noda yang berwarna ungu atau lembayung, Sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa pada konsentrasi ekstrak 30% dan 70% positif mengandung senyawa tanin.

3.3 Senyawa Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa yang mengandung atom nitrogen dan bersifat basa sehingga untuk mengekstraknya dibutuhkan penambahan asam klorida. Penambahan asam klorida bertujuan untuk mengekstrak alkaloid yang bersifat basa dengan menggunakan larutan asam (Sulistyarini dkk., 2020).



Gambar 6. Hasil Uji KLT Senyawa Alkaloid Sebelum Bereaksi dengan Dragendroff.



Gambar 7. Hasil Uji KLT Senyawa Alkaloid Setelah Bereaksi dengan Dragendroff.

Eluen yang digunakan untuk memisahkan senyawa alkaloid pada uji KLT ini adalah n-heksan : etil asetat (7:3). Eluen ini mampu memisahkan banyak noda dan terdapat noda yang menunjukkan adanya senyawa alkaloid. Menurut Robinson (1995), hasil KLT sampel positif mengandung alkaloid apabila bercak berwarna jingga sampai merah coklat pada pengamatan sinar tampak. Pengamatan pada UV 254 nm dan UV 365 nm menghasilkan bercak berwarna biru dan meredam. Pereaksi yang digunakan yaitu Dragendroff didapatkan hasil berwarna orange, warna tersebut terbentuk karena ikatan kovalen koordinat dalam ion K^+ dari kalium tetraiodobismutat membentuk kompleks kalium alkaloid (Ramadhan dan Hakim, 2023).

Variasi konsentrasi ekstrak daun sirih hijau yang digunakan yaitu konsentrasi ekstrak 10 % (A), 30% (B), dan 70% (C) menggunakan fase diam silika gel 60 F₂₅₄. Pada konsentrasi ekstrak 10% tidak dapat dihitung nilai R_f-nya dikarenakan tidak terbentuk noda bercak kecoklatan pada UV 254 nm dan noda biru cerah pada UV 366 nm setelah disemprotkan pereaksi Dragendroff sehingga hasilnya negatif. Untuk konsentrasi ekstrak 30% (R_f : 0,55) dan konsentrasi 70% (R_f : 0,59) dari hasil pengamatan didapatkan noda bercak kecoklatan pada sinar tampak (1), untuk dibawah sinar UV 254 nm (2) terbentuk noda biru cerah sedangkan pada UV 366 nm (3) terbentuk noda yang berwarna biru kegelapan, Sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa pada konsentrasi ekstrak 30% dan 70% positif mengandung senyawa alkaloid.

4. PENUTUP

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa konsentrasi ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle L.*) mempengaruhi keberadaan senyawa polifenol, tanin, dan alkaloid. Kerena semakin tinggi konsenstrasi ekstrak, maka noda yang dihasilkan semakin terlihat jelas dan lebih panjang. Pada senyawa polifenol dapat disimpulkan bahwa pada sinar tampak menghasilkan noda bercak gelap, UV 254 nm menghasilkan warna hijau kehitaman, dan untuk UV 366 nm berwarna biru pada konsentrasi 30% (Rf :0,33 dan 0,56), dan konsentrasi ekstrak 70% (Rf : 0,38 dan 0,79). Untuk senyawa tanin dapat disimpulkan bahwa pada sinar tampak menghasilkan noda bercak gelap, UV 254 nm menghasilkan warna hitam, dan untuk UV 366 nm menghasilkan warna ungu (lembayung) pada konsentrasi 30% (Rf : 0,73) dan konsentrasi ekstrak 70% (Rf : 0,75). Dan untuk senyawa alkaloid dapat disimpulkan bahwa pada sinar tampak menghasilkan noda coklat atau merah jingga, UV 254 nm menghasilkan warna biru cerah, dan untuk UV 366 nm menghasilkan warna gelap pada konsentrasi 30% (Rf : 0,55) dan konsetrasi ekstrak 70% (Rf : 0,59).

DAFTAR PUSTAKA

- Boangmanalu, R. K. and Zuhrotun, A. (2018). Review Artikel : Potensi Khasiat Obat Tanaman Marga Piper : *Piper nigrum L.*, *Piper retrofractum Vahl.*, *Piper betle Linn.*, *Piper cubeba L.*, dan *Piper crocatum Ruiz & Pav.* *Jurnal Farmaka*, 16(3), 204– 212.
- Ebere, E. C., Obinna I. B. and Wimkor, V. A. (2019). Applications of Column, Paper, Thin Layer and Ion Exchange Chromatography in Purifying Samples: Mini Review. *SF Journal of Pharmaceutical and Analytical Chemistry*, 2(2), 1–6.
- Fathurrahman, N. R., and Musfiroh, I. (2018). Artikel Tinjauan: Teknik Analisis Instrumentasi Senyawa Tanin. *Farmaka*, 16(1), 53–59. <http://doi.org/10.24198/jf.v16i2.17669>.
- Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. (p. 239). ITB: Bandung.
- Hidayah, N. (2016). Pemanfaatan Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman (Tanin dan Saponin) dalam Mengurangi Emisi Metan Ternak Ruminansia. 11(2), 89–98. <http://doi.org/10.311186/jspi.id.11.2.89-90>.

- Illing, I., Safiitri, W. and Erfiana. (2017). Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. *Jurnal Dinamika*, 8(1), 66–84.
- Kamar, I., Fazrina Zahara¹, D. Y. and Umairah, R. U. (2021). Identifikasi Parasetamol dalam Jamu Pegal Linu Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *Quimica : Jurnal Kimia Sains dan Terapan*, 3(1), 24-29. <http://doi.org/10.33059/jq.v3i1.3973>.
- Lailatussifa, R. and Pereira, M. M. (2022). Analisis Kandungan Senyawa Fenolik Ekstrak Alga *Sargassum polycystum* dari Pantai Selatan, Gunung Kidul, Yogyakarta. *Chanos Chanos*, 20(1), 215-225. <http://doi.org/10.15578/chanos.v20i1.10532>.
- Robinson, T. (1995). *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. (p. 191-196). ITB: Bandung.
- Sadiah, H. H., Cahyadi, A. I. and Windria, S. (2022). Kajian Potensi Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) sebagai Antibakteri. *Jurnal Sain Veteriner*, 40(2), 128–138. <http://doi.org/10.22146/jsv.58745>.
- Sarma, C. *et al.* (2018). Antioxidant and Antimicrobial Potential of Selected Varieties of *Piper betle* L. (Betel leaf). *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 90(4), 3871–3878. <http://doi.org/10.1590/0001-3765201820180285>.
- Silla, W., Hendrik, A. C. and Nitsae, M. (2021). Identifikasi dan Penapisan Alkaloid pada Jenis-Jenis Tumbuhan Paku (*Pteridophyta*) di Cagar Alam Gunung Mutis. *Indigenous Biologi : Jurnal Pendidikan dan Sains Biologi*, 3(3), 102–110. <http://doi.org/10.33323/indigenous.v3i3.129>.
- Soamole, H. H., Sanger, G., and Harikedua, S. D. (2018). Kandungan Fitokimia Ekstrak Etanol Rumput Laut Segar. *Jurnal Media teknologi Hasil Perikanan*, 6(3), 94-98. <http://doi.org/10.35800/mthp.6.3.2018.21259>.
- Sulistyarini, I., Sari, D. A. and Wicaksono, T. A. (2015). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 2(2), 56–62. <http://doi.org/10.3194/ce.v5i1.3322>.
- Tjandra, R. F., Fatimawali. and Datu, O.S. (2020). Analisis Senyawa Alkaloid dan Uji Daya Hambat Ekstrak Buah Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermik*. *eBiomedik*, 8(2), 173–179. <http://doi.org/10.35790/ebm.8.2.2020.28963>.
- Wardhani, L. K. and Sulistyani, N. (2012). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) terhadap *Shigella flexneri* Beserta Profil

Kromatografi Lapis Tipis. *Pharmaciana*, 2(1), 1-16.
<http://doi.org/10.12928/pharmaciana.v2i1.636>.

Windriyati, Y. N. Budiarti, A. and Syahida I. A. (2011). Aktivitas Mukolitik In Vitro Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocotum* Ruiz dan Pav.) pada Mukosa Usus Sapi dan Identifikasi Kandungan Kimianya. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 1(1), 36-44. <http://doi.org/10.31942/jiffk.v10i1.872>.

Zaini, M. and Shofia, V. (2020). Skrining Fitokimia Ekstrak Carica Papaya Radix, *Piper ornatum folium* dan *Nephelium lappaceum semen* Asal Kalimantan Selatan. *Jurnal Kajian Ilmiah Kesehatan dan Teknologi*, 2(1), 15-27.
<http://doi.org/10.52674/jkikt.v2i1.30>.