Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Terpurifikasi Daun Beluntas (*Pluchea indica* (L.)) Menggunakan Klt Dengan Perbedaan Eluen

Fita Sari^{1*}, Faisal Akhmal Muslikh, Fathul Hidayatul, Ulfathul Husniah, Panji Ratih Suci²,

- ¹ Fakultas Farmasi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata, Kediri, Indonesia
- ^{2.} Akademi Farmasi Mitra Sehat Mandiri, Sidoarjo, Indonesia e-mail: fita.sari@iik.ac.id

Article Info

Article history:

Submission November 2023 Review Januari 2024 Accepted Mei 2024

Abstrak

Indonesia merupaka negara terbesar ketujuh dengan jumlah spesies mencapai 20.000, di mana 40% di antaranya adalah tumbuhan endemik atau berasal dari Indonesia. Beluntas (Pluchea indica (L.)). merupakan tanaman yang umum tumbuh di sekitar pekarangan rumah dan mudah ditanam. Tanaman ini banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional yang dikonsumsi dalam bentuk lalapan atau rebusan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak terpurifikasi daun beluntas dengan KLT menggunakan perbedaan eluen. Proses ekstraksi menggunakan etanol 70% dan metode maserasi selama 3x24 jam. Purifikasi ekstrak dilakukan menggunakan pelarut nonpolar n-heksan untuk menghilangkan senyawa metabolit sekunder yang tidak diinginkan. Hasil identifikasi sekunder ekstrak etanol dan ekstrak terpurifikasi daun beluntas menggunakan beberapa jenis pelarut, ditemukan bahwa ketepatan antara R_f ETDB dan kuersetin menggunakan campuran eluen yang terdiri dari toluen:etil asetat (7:3) adalah sebesar 0.87.

Kata kunci: Beluntas, KLT, Kuersetin, Purifikasi, R_f

Ucapan terima kasih:

Abstract

Indonesia is the seventh-largest country, with a number of species reaching 20,000, of which 40% are endemic plants or originate from Indonesia. Beluntas (Pluchea indica (L.)). is a plant that commonly grows around home gardens and is easy to plant. This plant is widely used by the community as a traditional medicine that is consumed in the form of fresh vegetables or stew. This study aims to determine the results of identifying secondary metabolite compounds from purified extracts of beluntas leaves using TLC using different eluents. The extraction process uses 70% ethanol and a maceration method for 3x24 hours. The purification of the extract was carried out using the nonpolar solvent n-hexane to remove unwanted secondary metabolite compounds. In the results of secondary identification of ethanol extract and purified extract of beluntas leaves using several types of solvents, it was found that the accuracy between R_f ETDB and quercetin using an eluent mixture consisting of toluene: ethyl acetate (7:3) was 0.87.

Keyword: Beluntas, KLT, Quercetin, Purification, R_f

DOI

©2020Politeknik Harapan Bersama Tegal

Alamat korespondensi:

Prodi DIII Farmasi Politeknik Harapan Bersama Tegal

Gedung A Lt.3. Kampus 1

p-ISSN: 2089-5313 E-mail: parapemikir_poltek@yahoo.com e-ISSN: 2549-5062

A. Pendahuluan

Indonesia, sebagai negara kepulauan di kawasan tropis di antara dua benua (Asia dan Australia) dan dua samudra (Samudra Hindia dan Samudra Pasifik), memiliki wilayah seluas sekitar 9 juta km², terdiri dari 2 juta km² daratan dan 7 juta km² lautan. Meskipun luasnya hanya sekitar 1,3% dari total luas bumi, Indonesia dikenal dengan tingkat keberagaman kehidupan yang sangat tinggi [1,2].

Dalam konteks tumbuhan, Indonesia diperkirakan memiliki sekitar 25% dari seluruh spesies tumbuhan berbunga di dunia, menjadikannya negara terbesar ketujuh dengan jumlah spesies mencapai 20.000, di mana 40% di antaranya adalah tumbuhan endemik atau berasal dari Indonesia [1]. Keberagaman tumbuhan alam ini memberikan beragam jenis tanaman yang memiliki khasiat obat dan telah digunakan tradisional oleh masyarakat. Penggunaan obat tradisional ini telah berlangsung selama berabad-abad dan terus diwariskan turun temurun di Indonesia [3].

Meskipun keberagaman tumbuhan obat di Indonesia sangat kaya, penelitian ilmiah terhadap tumbuhan ini masih terbatas. Kajian ilmiah diperlukan untuk memvalidasi khasiatnya dan mengumpulkan data ilmiah mengenai komponen aktif tumbuhan tersebut [4]. Meskipun senyawa metabolit kimia tanaman obat telah terbukti secara empiris bermanfaat dalam mengobati berbagai jenis penyakit, masih diperlukan lebih banyak bukti ilmiah untuk mengukuhkan manfaatnya [5].

Sejumlah tanaman yang umum tumbuh di sekitar pekarangan rumah dan mudah ditanam adalah beluntas (Pluchea indica (L.)). Tanaman ini telah lama dijadikan konsumsi sebagai lalap tambahan saat makan atau diolah sebagai ramuan jamu [6]. Beluntas memberikan berbagai manfaat, termasuk meningkatkan nafsu makan, mengatasi bau badan, menurunkan demam, serta membantu meredakan rasa nyeri [7]. **Bioaktivitas** beluntas meliputi sifat antimikroba, antioksidan, antidiare, antituberkulosis, antiproliferasi sel kanker, dan antitusif [8].

Kandungan senyawa metabolit kimia dalam beluntas mencakup flavonoid, alkaloid, minyak atsiri, tanin, aluminium, kalium, natrium, kalsium, magnesium, dan fosfor [9]. Senyawa-senyawa ini diduga memiliki peran signifikan dalam penanggulangan berbagai gangguan penyakit. Penelitian ini menggunakan sampel ekstrak yang kemudian dipurifikasi yang bertujuan untuk menghilangkan zat pengganggu atau pengotor. Tujuan lain dari purifikasi adalah menjaga keaslian senyawa aktif agar tidak bercampur lebih banyak dengan senyawa lain yang tidak diinginkan [10].

Senyawa metabolit kimia yang dihasilkan melalui proses ekstraksi dan purifikasi kemudian diidentifikasi menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan menggunakan berbagai jenis eluen yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Metode ini merupakan analisis kualitatif sederhana yang digunakan untuk membuktikan keberadaan senyawa kimia dalam ekstrak. Pemilihan berbagai jenis eluen bertujuan untuk menentukan pemisahan senyawa metabolit kimia terbaik dari ekstrak daun beluntas yang telah terpurifikasi.

B. Metode

1. Alat dan Bahan

Timbangan analitik (AB-120), *waterbath*, mesh nomor 40, oven, *chamber*, mikropipet (Pipet-Lite LTS-Pipette L-300XLS+), plat KLT (TLC-*Silica Gel* 60 F₂₅₄).

Daun beluntas, etanol 70%, N-Heksana, HCL 2N, reagen Mayer, Wagner, Dragendorf, Kloroform p.a (Merck).

2. Pembuatan Simplisia dan Ekstrak Daun Beluntas

Tanaman beluntas telah menjalani proses determinasi di laboratorium Biologi Farmasi Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata dengan hasil terlampir dalam surat nomor 808/DA/PB/XII/2022. Daun beluntas yang telah melewati tahap pembersihan dan penyortiran, dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 60 °C untuk mendapatkan simplisia kering daun beluntas, dan dilakukan proses grinding untuk mendapatkan simplisia halus daun beluntas. Serbuk halus dari simplisia daun beluntas sebanyak 300 gram diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 1,5 liter dengan metode maserasi. Proses perendaman dilakukan selama 3x24 jam dengan sesekali pengadukan. Hasil ekstraksi kemudian disaring menggunakan kertas saring dan dipekatkan melalui waterbath

untuk mendapatkan ekstrak kental [10].

3. Pembuatan Ekstrak Terpurifikasi Daun Beluntas

Ekstrak yang dihasilkan dari proses maserasi menjalani tahap purifikasi dengan cara menimbang 50 gram ekstrak, kemudian dimasukkan dalam corong dan ditambahkan etanol 70% secukupnya. Campuran tersebut dikocok hingga terlarut. Selanjutnya, ditambahkan n-heksan sebanyak 100 ml dan dikocok sampai terlarut, menghasilkan dua lapisan, yakni lapisan etanol dan n-heksan. Lapisan vang diambil diasumsikan mengandung senyawa kimia metabolit dari tanaman, yaitu lapisan etanol. Hasil ini kemudian dipekatkan melalui waterbath hingga membentuk ekstrak kental, dan dilakukan perhitungan rendemen [11].

4. Identifikasi Ekstrak Terpurifikasi Daun Beluntas (ETDB) dengan Metode KLT

Plat KLT diaktivasi terlebih dahulu menggunakan oven pada suhu 110 °C selama 15 menit. Pada langkah berikutnya, plat KLT yang sudah diaktivasi diberikan batas atas sejauh 0,5 cm dan batas bawah sejauh 1,5 cm. Fase diam yang digunakan dalam metode ini adalah silica gel GF 254, sedangkan fase gerak terdiri dari n-heksan:Aseton (7:3), nheksan:Etil Asetat (7:3), dan Toluen:Etil Asetat (7:3). Setiap fase gerak dimasukkan ke dalam chamber yang berbeda dan disaring terlebih dahulu menggunakan kertas saring setelah dijenuhi. Setelah proses penjenuhan selesai, langkah berikutnya adalah menotolkan sampel dan standar kuersetin di tiga plat KLT tersebut. Plat KLT masingmasing dimasukkan ke dalam chamber yang telah diisi dengan fase gerak yang berbeda dan ditutup. Elusi dilakukan hingga mencapai batas atas plat KLT, kemudian diangkat dan dibiarkan sebentar untuk diangin-anginkan. Langkah selanjutnya adalah melihat hasil di bawah lampu UV 254 dan menandai bercak atau noda untuk kemudian dihitung nilai Retardation Factor (R_f).

5. Pengolahan dan Analisis Data

Hasil identifikasi dari penelitian ini berupa data kualitatif dan disajikan dalam bentuk tabulasi.

C. Hasil dan Pembahasan

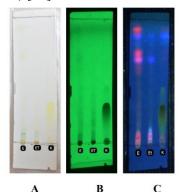
1. Pembuatan Ekstrak dan Ekstrak Terpurifikasi

Proses ekstraksi daun beluntas dengan maserasi dan pelarut etanol 70% menghasilkan 110 gram ekstrak kental, dengan rendemen sebesar 38,3%. Pemilihan metode maserasi dikarenakan memiliki beberapa keuntungan diantaranya tidak merusak senyawa metabolit sekunder akibat proses pemanasan saat ekstraksi [12].

Ekstrak kental kemudian dipurifikasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% dan n-heksan menggunakan metode corong pisah, sebagaimana dilakukan dalam penelitian oleh Sari dan Aryantini (2018) [11]. Hasil dari ekstrak terpurifikasi menunjukkan jumlah ekstrak kental sebanyak 33 gram, dengan tingkat rendemen mencapai 66%.

2. Identifikasi ETDB dengan Metode KLT

Uji KLT pada ekstrak etanol daun beluntas (EEDB) menggunakan fase gerak toluen:etil asetat (7:3) dan fase diam silica gel GF 254 menghasilkan nilai R_f sebesar 0.87 baik untuk ekstrak maupun ekstrak terpurifikasi. Penggunaan baku kuersetin dalam KLT penelitian ini menghasilkan nilai R_f sebesar 0,87. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak, ekstrak terpurifikasi, dan kuersetin memiliki golongan senyawa metabolit sekunder yang sama, yang diperkirakan sebagai flavonoid. Hasil KLT terlihat pada dengan warna bercak Gambar 1 berpendar merah keunguan, sesuai dengan temuan penelitian sebelumnya oleh Sari, dkk. (2022) [11].



Gambar 1. Hasil KLT dengan fase gerak toluen:etil asetat (7:3)

Keterangan:

A: Hasil KLT pengamatan langsung

B: Hasil KLT pengamatan sinar UV 254

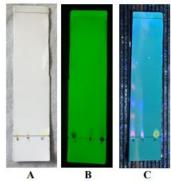
C: Hasil KLT pengamatan sinar Vis 366

E: ekstrak

ET: ekstrak terpurifikasi

K: kuersetin

Fase gerak kedua dengan menggunakan aseton:n-heksan (7:3), diperoleh nilai R_f yang berbeda antara ETDB dan kuersetin, yaitu 0,31 dan 0,06, secara berturut-turut tercantum pada **Gambar 2** di bawah ini.



Gambar 2. Hasil KLT dengan aseton:n-heksan (7:3) Keterangan :

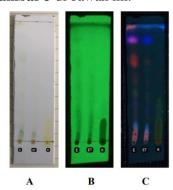
A: Hasil KLT pengamatan langsung B: Hasil KLT pengamatan sinar UV 254 C: Hasil KLT pengamatan sinar Vis 366

E: ekstrak

ET: ekstrak terpurifikasi

K: kuersetin

Proses KLT dengan fase gerak ketiga menggunakan n-heksan:etil asetat (7:3), dihasilkan nilai R_f sebesar 0,87 untuk ETDB dan 0,37 untuk kuersetin seperti pada **Gambar 3** di bawah ini.



Gambar 3. Hasil KLT n-heksan:etil asetat (7:3) Keterangan :

A: Hasil KLT pengamatan langsung

B: Hasil KLT pengamatan sinar UV 254

C: Hasil KLT pengamatan sinar Vis 366

E: ekstrak

ET : ekstrak terpurifikasi

K : kuersetin

Bentuk dan warna bercak yang dihasilkan oleh ekstrak, ekstrak terpurifikasi, dan kuersetin sangat jelas terlihat. Nilai $R_{\rm f}$ untuk ketiganya, yaitu ekstrak, ekstrak terpurifikasi, dan kuersetin, menunjukkan kemiripan dengan nilai sebesar 0,87. Oleh karena itu,

diperkirakan bahwa ekstrak terpurifikasi dari daun beluntas mengandung kuersetin, yang merupakan jenis flavonoid [13].

Kuersetin [2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4H-chromen-4-one] memiliki 2 cincin benzena (cincin A dan B) yang dihubungkan dengan rantai 3 karbon ke membentuk "closed pyran ring" [14]. Kuersetin diketahui digunakan pengobatan kanker, reaksi alergi, peradangan, arthritis, dan gangguan kardiovaskular [15,16]. Dilaporkan dapat menjadi kandidat terapi potensial terhadap epilepsy [17]. Kuersetin memiliki efek terapeutik yang menjanjikan pada komplikasi sepsis [18]. Selain kuersetin memiliki perlindungan neurofarmakologis terhadap gangguan otak neurodegeneratif seperti penyakit Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Huntington's disease, amyloid β peptide, multiple sclerosis, dan amyotrophic lateral sclerosis [19].

D. Simpulan

Hasil penelitian didapatkan pengidentifikasian ekstrak terpurifikasi dari daun beluntas menggunakan beberapa jenis pelarut, ditemukan bahwa ketepatan antara R_f ETDB dan kuersetin menggunakan campuran eluen yang terdiri dari toluen:etil asetat (7:3) adalah sebesar 0,87. Temuan mengindikasikan kemungkinan adanya kuersetin sebagai bagian dari senyawa golongan flavonoid dalam ETDB.

Pustaka

- [1]. Kusmana, C., & Hikmat, A. (2015). Keanekaragaman hayati flora di Indonesia. Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan (Journal of Natural Resources and Environmental Management), 5(2), 187-187.
- [2]. Lestari, A., & Atun, S. (2019). The Identification of Secondary Metabolite Compounds From Ethyl Acetate Fraction of Dendropthoe falcata. *Jurnal Penelitian Saintek*, 24(1), 13-20.
- [3]. Umar, A. H. (2016). Determinasi Dan Analisis Finger Print Tanaman Murbei (Morus alba Lour) Sebagai

- Bahan Baku Obat Tradisional Dengan Metode Spektroskopi FT-IR dan Kemometrik. *PHARMACON*, 5(1).
- [4]. Hanif, RMA., Kartika, R., & Simanjuntak, P. (2016). Isolasi dan identifikasi senyawa kimia dari ekstrak n-heksan batang benalu tanaman jeruk (dendrophtoe pentandra (l.) Miq.). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 14(1).
- [5]. Luginda, R. A., Sari, B. L., & Indriani, L. (2018). Pengaruh Variasi Konsentrasi Pelarut Etanol Terhadap Kadar Flavonoid Total Daun Beluntas (Pluchea indica (L.) Less) Dengan Metode Microwave—Assisted Extraction (MAE). Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Farmasi, 1(1).
- [6]. Palupi, В., Fachri, В. A., Rahmawati, I., & Rizkiana, M. F. Peningkatan **Kapasitas** (2021).Masyarakat di Desa Pujer Baru Pemanfaatan Dengan Tanaman Beluntas Sebagai Bahan Baku Essential Oil dan Turunannya. Warta Pengabdian, 15(1), 10-21.
- [7]. Pelu, D. A. (2017). Tanaman Beluntas (Pluchea indica L) Asal Maluku. Global health science, 2(4), 390-393.
- [8]. Safitri, I., Nuria, M. C., & Puspitasari, A. D. (2018). Perbandingan kadar flavonoid dan fenolik total ekstrak metanol daun beluntas (Pluchea indica L.) pada berbagai metode ekstraksi. Jurnal Inovasi Teknik Kimia, 3(1), 31-36
- [9]. Lestari, K. A. P., Pranoto, P. P., Sofiyah, Musyirah, M., Pratiwi, F. I. (2020). Antibacterial Activity of Beluntas (*Pluchea indica* L.) Leaves Extract Using Different Extraction Methods. Jurnal Riset Biologi Dan Aplikasinya 2(2):49.
- [10]. Erwiyani, A. R., Adawiyah, R., Rahman, R., & Dyahariesti, N. (2022). Aktivitas Antibakteri Krim

- Ekstrak Terpurifikasi Daun Beluntas (Pluchea indica L.) terhadap Staphylococcus epidermidis. Jurnal Farmasi Udayana, 11(1), 8-14.
- [11]. Sari, F., & Aryantini, D. (2018).

 Karakter Spesifik Dan Pengaruh
 Pemberian Oral Ekstrak
 Terpurifikasi Kelopak Rosella
 (Hibiscus Sabdariffa L.) Terhadap
 Makroskopis Organ Hepar Tikus
 Wistar. Jurnal Wiyata: Penelitian
 Sains dan Kesehatan, 5(1), 1-9.
- [12]. Vifta, R. L., & Advistasari, Y. D. (2018). Skrining Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (Medinilla speciosa B.). In Prosiding Seminar Nasional Unimus, 1, 8-14.
- [13]. Tobi, C. H. B., & Pratiwi, M. E. (2023).Identifikasi Senyawa Flavonoid dan Uii Aktivitas Antibakteri Ekstrak Terpurifikasi Daun Beluntas (Pluchea Indica L.) terhadap Staphylococcus aureus: Oualitative-Ouantitative Test of Flavonoid Compound and Antibacterial Activity of Beluntas Leaves Purified Extract against Staphylococcus Jurnal aureus. Sains dan Kesehatan, 5(5), 766-776.
- [14] Wang, G., Wang, Y., Yao, L., Gu, W., Zhao, S., Shen, Z., ... & Yan, T. (2022). Pharmacological activity of quercetin: an updated review. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2022.
- [15]. Zou, H., Ye, H., Kamaraj, R., Zhang, T., Zhang, J., & Pavek, P. (2021). A review on pharmacological activities and synergistic effect of quercetin with small molecule agents. *Phytomedicine*, 92, 153736.
- [16]. Nguyen, T. L. A., & Bhattacharya, D. (2022). Antimicrobial activity of quercetin: an approach to its mechanistic principle. *Molecules*,

- 27(8), 2494.
- [17]. Akyuz, E., Paudel, Y. N., Polat, A. K., Dundar, H. E., & Angelopoulou, E. (2021). Enlightening the neuroprotective effect of quercetin in epilepsy: From mechanism to therapeutic opportunities. *Epilepsy & Behavior*, 115, 107701.
- [18]. Karimi, A., Naeini, F., Azar, V. A., Hasanzadeh, M., Ostadrahimi, A., Niazkar, H. R., ... & Tutunchi, H. (2021). A comprehensive systematic review of the therapeutic effects and mechanisms of action of quercetin in sepsis. *Phytomedicine*, 86, 153567.
- [19]. Islam, M. S., Quispe, C., Hossain, R., Islam, M. T., Al-Harrasi, A., Al-Rawahi, A., ... & Sharifi-Rad, J. (2021). Neuropharmacological effects of quercetin: a literature-based review. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 665031.

Profil Penulis

Nama Lengkap : Fita Sari

Tempat Tanggal Lahir : Kediri, 24 Juni 1990

Pekerjaan : Dosen

Bidang penelitian : Biologi Farmasi Bidang pengabdian : Biologi Farmasi