

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA TANIN PADA DAUN TEKELAN (*Chromolaena odorata* (L) R.M.KING) ASAL MAMUJU SECARA KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS 2 DIMENSI

Endah Dwijayanti¹, Sri Widyastuti²

¹⁾ Fakultas MIPA, Universitas Islam Makassar

²⁾ Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia Timur

email: dije_zhafira88@gmail.com

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian isolasi dan Identifikasi komponen kimia tanin daun tekelan (*Chromolaena odorata* (L) R.M.KING) yang berasal dari Mamuju. Daun tekelan merupakan tanaman yang digunakan oleh masyarakat Mamuju yang dipercaya secara empiris berkhasiat sebagai anti koagulan pada luka. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia tanin dari ekstrak daun tekelan mulai dari uji pendahuluan sampai pada Kromatografi Lapis Tipis. Proses isolasi senyawa kimia meliputi ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol, fraksinasi dengan n-butanol, isolasi dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif serta uji kemurnian. Isolasi fraksi n-butanol ekstrak daun tekelan *Chromolaena odorata* (L) R.M.KING) menggunakan eluen N-heksan-etil asetat (7 : 3) menghasilkan 4 isolat yang dinamakan isolat A, B, C, dan D, isolat dilanjutkan proses pemisahan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis dua dimensi. Hasil kromatografi lapis tipis preparatif dan dua dimensi berupa isolat C memberikan penampakan noda yang tunggal pada uji kemurnian sehingga dapat dikatakan merupakan noda murni yang merupakan ciri dari senyawa tanin.

Kata kunci : Daun Tekelan (*Chromolaena odorata* (L) R.M.KING), Identifikasi, Tanin, Kromatografi Lapis Tipis.

PENDAHULUAN

Secara historis, bahan alam telah menjadi dasar pengobatan. Sejumlah teori telah diusulkan tentang mengapa senyawa-senyawa ini diproduksi dalam tumbuhan yang kemungkinan besar bahwa bahan alam tersebut diproduksi sebagai bagian dari sistem pertahanan kimia untuk melindungi tumbuhan dari serangan mikro organisme atau serangga.

Pengetahuan tentang kandungan komponen tumbuhan berkembang dengan sangat pesat karena perkembangannya metode ekstraksi, isolasi dan karakterisasi menggunakan jenis kromatografi berdasarkan perbedaan kecepatan kelarutan. Hal ini mendorong berkembangnya bidang kemotaksonomi atau sistematik kimia yang mengarah ke pembagian kandungan tumbuhan berdasarkan taksa tumbuhan, dengan kata lain isi dari kandungan tumbuhan dianggap sebagai tanda bagi evolusi dan

klasifikasi tumbuhan (Wiryowidagdo, 2007)

Umumnya tumbuhan mengandung senyawa aktif dalam bentuk metabolit sekunder seperti terpenoid, steroid flavanoid, alkaloid dan tannin. Salah satu dari tumbuhan yang mengandung senyawa kimia adalah tanaman tekelan (*Chromolaena odorata* (L) R.M.KING) yang merupakan tumbuhan dari famili *astereceae* (Depkes, 2000).

Daun tekelan (*Chromolaena odorata* (L) R.M.KING) banyak digunakan sebagai obat dalam penyembuhan luka, obat kumur untuk pengobatan sakit pada tenggorokan, obat batuk, obat malaria, antimikroba, sakit kepala, antidiare, astrigen, antispasmodic, antihipertensi, anti inflamasi dan diuretic (Latief., A, 2012).

Salah satu kandungan senyawa kimia yang diduga terkandung dalam tanaman tekelan (*Chromolaena odorata* (L) R.M.KING) yang sangat bermanfaat

untuk pengobatan yaitu *tanin*. Tanin merupakan senyawa polifenol larut air, yang dapat memiliki bobot molekul tinggi dan memiliki sifat utama yaitu kemampuannya yang dapat berikatan dengan protein (Heinrich, *etc.*, 2009).

Berdasarkan uraian diatas maka permasalahan yang timbul dalam penelitian ini adalah apakah ekstrak tanaman daun tekelan (*Chromolaena odorata* (L) R.M.KING) dari Mamuju mengandung senyawa kimia golongan tanin yang diidentifikasi menggunakan kromatografi lapis tipis yang dikembangkan secara dua dimensi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa kimia tanin yang terkandung dalam ekstrak tanaman daun tekelan (*Chromolaena odorata* (L) R.M.KING) secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Dua Dimensi, sehingga diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai bahan informasi mengenai kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam daun tanaman tekelan *Chromolaena odorata* (L) R.M.KING) khususnya dari golongan tanin.

METODE KERJA

A. Alat dan Bahan yang digunakan

Alat yang digunakan adalah peralatan laboratorium berupa batang pengaduk, Chamber dan kaca penutup, corong gelas, corong pisah, erlenmeyer, gelas kimia 100 mL, 250 mL, 500 mL, gelas ukur, kertas saring, lampu ultraviolet, lempeng kaca, oven, pemanas listrik, penangas air, botol semprot, rotavapor, seperangkat alat maserasi, silika gel G₆₀F₂₅₄ nm. Bahan yang digunakan diantaranya akuades, aluminium foil, Daun Tekelan (*chromolaena odorata* (L) R.M. KING), etanol (96%), n-hexan, etil asetat, dietil eter, n-butanol.

B. Pengolahan sampel

Daun Tekelan dibersihkan dari kotoran yang melekat, disortasi basah dengan air yang mengalir hingga bersih, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan diluar pengaruh cahaya matahari langsung, selanjutnya dipotong-potong kecil sekitar 1-2 cm persegi.

C. Ekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol (96%)

Simplisia dimasukkan kedalam wadah maserasi, lalu ditambahkan pelarut etanol kira-kira dua bagian dari sampel kemudian ditutup dengan aluminium foil pada temperatur kamar selama 5 hari. Filtrat dan endapan dipisahkan, filtrat diambil dan diuapkan hingga kering atau kental.

D. Estraksi dengan pelarut dietil eter

Estrak etanol kering yang diperoleh disuspensikan dengan pelarut dietil eter dan air, kemudian disentrifugasi sebanyak tiga kali, dan diperoleh dua lapisan yaitu lapisan air dan dietil eter. Sampel ditampung dalam wadah berbeda.

E. Ekstraksi dengan pelarut n-butanol

Lapisan air yang diperoleh disuspensikan dengan pelarut n-butanol dan air, kemudian disentrifugasi sebanyak tiga kali dan diperoleh dua lapisan yaitu lapisan air dan ekstrak n-butanol. Sampel ditampung dalam wadah berbeda. Lapisan n-butanol kemudian diuapkan sampai diperoleh ekstrak n-butanol kental, kemudian dilanjutkan dengan KLT.

F. Uji pendahuluan

Ekstrak n-butanol daun Tekelan (*Chromolaena Odorata* (L) R.M. KING) dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan pereaksi FeCl₃ kemudian dikocok. Selanjutnya mengamati perubahan warna yang terjadi yang ditandai dengan terbentuknya warna coklat yang menunjukkan positif adanya tanin

G. Pemisahan Komponen Kimia Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak n-butanol dimasukkan ke dalam vial lalu dilarutkan dengan pelarut kemudian ditotolkan ke lempeng GF₂₅₄ nm dan dielusi dengan cairan pengelusi n-hexan-etil asetat (7:3) kemudian diamati dibawah sinar lampu UV 366 nm,. Lempeng selanjutnya disemprot dengan FeCl₃ 1% v/v, diangin-anginkan hingga diperoleh warna noda.

Isolasi dengan KLT preparative

Ekstrak yang diperoleh ditotolkan secara tegak lurus pada permukaan lempeng yang telah dibuat parit menggunakan pipa kapiler, dimasukkan dalam chamber yang berisi eluen n-hexan-etil asetat (7:3), yang telah dijenuhkan dengan posisi berdiri (diusahakan tempat penotolan tidak kontak dengan eluen yang digunakan) kemudian chamber ditutup dan lempeng dibiarkan terelusi, setelah itu lempeng dikeluarkan dan di angin-anginkan sampai kering, lalu diamati penampakan nodanya pada lampu UV 366 nm. Pita-pita yang terbentuk dikeruk dari plat kaca dan ditampung kedalam vial sesuai dengan fraksinya.

Kromatografi lapis tipis 2 dimensi

KLT 2 dimensi dilakukan terhadap fraksi noda tunggal dengan dua jenis eluen yang berbeda dengan maksud untuk membuktikan bahwa fraksi tersebut adalah senyawa murni yaitu dengan dengan fraksi tunggal diperoleh yang ditotolkan pada lempeng silica gel GF₂₅₄ ukuran 10x10 cm dengan cairan pengelusi n-hexan-etil asetat (7:3) untuk arah pertama, setelah terelusi, dikeringkan kemudian dideteksi penampakan noda dengan sinar UV, selanjutnya lempeng diputar 90° dan dilakukan pengerjaan seperti sebelumnya. Fraksi yang diperoleh dinyatakan sebagai senyawa tunggal atau murni jika dari kedua arah elusi memperlihatkan satu noda.

Pengamatan dilakukan dengan melihat jumlah noda yang diperoleh dari hasil kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi lapis tipis preparative (KLTP).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Sampel di ekstrak dengan etanol kemudian dilakukan uji pendahuluan (Tabel 1 dan Gambar 1) dan sebagian dilakukan pemisahan dan permurnian tanin yaitu dengan KLT preparatif menggunakan pengembang n-hexan-etil asetat (7:3) yang terlihat pada Tabel 2.

Untuk mengetahui pita yang positif mengandung tanin, dilakukan

penyemprotan dengan penampak bercak asam sulfat 10 % pada pinggir pelat. Pita yang positif Tanin dikeruk dan dilarutkan dalam etanol kemudian disaring.

Tabel 1. Uji pendahuluan senyawa Tanin

N o	Sampel	Pereaksi	Hasil	Ket
1	Ekstrak n-butanol tekelan	+FeCl ₃ Ungu	Coklat ke-hitaman	(+)



Gambar 1. Hasil uji pendahuluan ekstrak n-butanol daun Tekelan (*Chromolaena Odorata* (L) R.M. KING)

Tabel 2. Identifikasi KLTP ekstrak daun Tekelan Fraksi n-butanol dengan Cairan Pengelusi n-hexan-etil asetat (7:3)

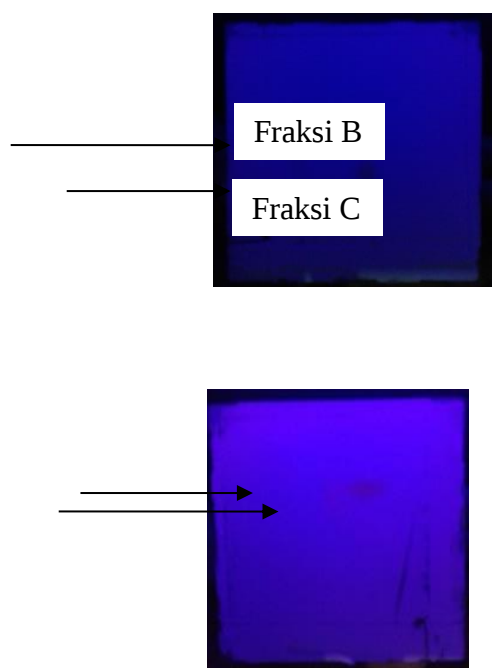
Fraksi	Warna Pita Noda Hasil KLTP ada Penampak Noda Lampu UV 254 nm
A	Kehitaman
B	Coklat kehijauan
C	Ungu kehitama
D	Coklat

Filtrat yang diperoleh dari hasil penyemprotan kemudian diperiksa dengan kromatografi lapis tipis dua dimensi dari fraksi yang positif menggunakan pengembang n-hexan-etil asetat (7:3) terlihat pada Tabel 3 dan diperiksa menggunakan lampu ultraviolet (UV) pada panjang gelombang 254 nm (Gambar 2).

Tabel 3. Hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis Dua Dimensi dari Fraksi B dan C dengan Cairan Pengelusi n-hexan-etil asetat (7:3)

Fraksi	Arah Elusi	Warna bercak pada UV 254 nm
--------	------------	-----------------------------

B	(Arah I) (Arah II)	Hijau tua Hijau tua
C	(Arah I) (Arah II)	Coklat kemerahan Coklat kemerahan



Gambar 2 : Kromatografi Lapis Tipis Dua Dimensi (Arah I (a) dan Arah II (b)) Fraksi B Dan C Menggunakan Cairan Pengelusi N-Hexan – Etil Asetat (7;3)

Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia pada daun tekelan (*Chromolaena Odorata* (L) R.M. KING) berupa senyawa tanin dengan metode kromatografi. Penelitian terlebih dahulu dilakukan dengan pengambilan sampel daun tekelan (*Chromolaena Odorata* (L) R.M. KING) dari Mamuju, Sulawesi Barat.

Prinsip kromatografi adalah pemisahan berdasarkan kecepatan zat-zat terlarut yang berbegark bersama-sama dengan pelarutnya (Hahn-Deinstrop, *etc.*, 2007). Cara ini umum dilakukan pada pemisahan zat berwarna seperti tanin.

Tanin merupakan komponen zat organik derivat polimer glikosida yang terdapat dalam bermacam-macam

tumbuhan, terutama tumbuhan berkeping dua (dikotil). Ekstrak tanin terdiri dari campuran senyawa polifenol yang sangat kompleks dan biasanya bergabung dengan karbohidrat rendah (Khanbabaee and Teunis, 2001).

Hasil identifikasi isolasi ekstrak n-butanol dari daun tekelan (*Chromolaena Odorata* (L) R.M. KING) secara kromatografi lapis tipis preparatif diperoleh 4 isolat yaitu A, B, C dan D. setelah dilakukan pemurnian dengan KLT 2 dimensi (Tabel 2).

Penggunaan kromatografi lapis tipis 2 dimensi dilakukan untuk lebih memperjelas dan mempertegas penampakan noda pada sampel (Roman, A., 2007). Selain itu, 2 sistem fase gerak sangat berbeda dalam hal ini penggunaan pengelusi, dapat digunakan secara berurutan sehingga memungkinkan untuk melakukan pemisahan analit yang mempunyai tingkat kepolaran yang berbeda (Hahn-Deinstrop, *etc.*, 2007), sehingga dapat menguatkan dugaan peneliti bahwa noda yang muncul tersebut adalah senyawa yang diidentifikasi.

Berdasarkan dari Tabel 1 dan 2 dapat di lihat bahwa dari setiap langkah tersebut dilakukan pemantauan di setiap perubahan warna pada sampel uji daun tekelan (*Chromolaena Odorata* (L) R.M. KING) baik secara kualitatif dengan menggunakan pereaksi maupun dengan identifikasi menggunakan kromatografi lapis tipis menggunakan fase gerak yang sesuai. Hasil identifikasi secara kualitatif diperoleh hasil positif pada penambahan pereaksi FeCl_3 yaitu berwarna coklat yang dapat dilihat pada Gambar 1 yang menunjukkan adanya kandungan senyawa kimia tanin.

Kromatografi lapis tipis dua dimensi dilakukan untuk mengetahui isolat tersebut sudah murni atau tidak yang ditandai dengan adanya noda tunggal (Harborne, 1987). Hasil pengujian.....menunjukkan terbentuknya 1 noda yang menunjukkan senyawa yang diperoleh merupakan senyawa murni pada pengamatan di bawa lampu UV 254 nm pada isolat hasil kromatografi lapis tipis preparatif fraksi C.

Penampakan noda pada 254 nm adalah karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan indikator fluoresensi yang terdapat pada lempeng. Fluoresensi yang tampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika electron tereksitasi dari tingkat energy dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula sambil melepaskan energi (Wall, P.E., 2005).

Berdasarkan hasil pengamatan KLT 2 dimensi pada Gambar 2 juga dapat di duga bahwa fraksi C mengandung senyawa kimia tanin jenis non-polar yang ditandai dengan penampakan noda berwarna coklat kemerahan untuk arah I dan begitupun penampakan noda pada arah II yaitu coklat kemerahan, hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Hayati, *etc.*, (2010) dan Nurhalimah, (2015) yang menyatakan bahwa noda hasil KLT yang diduga senyawa tanin berwarna coklat kemerahan. juga yang di jelaskan dalam literatur bahwa ciri khas senyawa kimia tanin yaitu coklat, ungu dan hitam.

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil identifikasi isolasi ekstrak n-butanol secara kromatografi lapis tipis preparatif diperoleh 4 isolat yaitu A, B, C dan D. setelah dilakukan pemurnian dengan KLT 2 dimensi, fraksi C dapat diduga mengandung senyawa kimia tanin yang ditandai dengan noda tunggal berwarna coklat kemerahan. Selanjutnya disarankan agar dilakukan identifikasi senyawa lainnya serta bagian tanaman lain dari tanaman Tekelan (*Chromolaena odorata* (L) R.M. KING) berasal dari Mamuju dengan menggunakan Spektrofotometer Infra merah.

DAFTAR PUSTAKA

Departemen kesehatan dan kesejahteraan social RI, 2000. *Inventaris tanaman obat Indonesia*, Jilid I

- Hahn-Deinstrop, Elke, 2007. *Applied Thin-Layer Chromatography, Best Practice and Avoidance of Mistakes. Second, Revised and Enlarge Edition*. Jerman; WILEY-VCH
- Harborne, 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Edisi II*. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung; ITB
- Hayati Kamilah Elok, A. Fasyah Ghana'im, Sa'adah Lailis, 2010. *Fraksinasi Dan Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa Bilimbi L.)*. J. Kimia vol.4 No.2.
- Heinrich Michael, Gibbons Simon, Barmes Joanne, Williamson Elisabeth 2009. *Farmakognosi dan Fitoterapi*, Jakarta; EGC.
- Khanbabaee, Karamali and van Ree, Teunis. Tannins: Classification and Definition. *J. Nat. Prod. Rep.*, 18, 641–649.
- Latief Abdul., 2012. *Obat Tradisional*, Jakarta; EGC.
- Nurhalimah, 2015. *Aktivitas Penyembuhan Luka Dari Ekstrak Etanol Daun Tekelan (Chromolaena Odorata (L.) R.M.King.) Yang Diformulasi dalam Sediaan Gel Pada Mencit Diabetes*. Diakses pada Maret 2016.
- Roman Abdul, 2007. *Kimia Farmasi Analisis*, Yogyakarta; Pustaka Pelajar.
- Wall, Peter E., 2005. *Thin-Layer Chromatography, A Modern Practical Approach*. UK ; RS.C7.
- Wiryowidagdo sumali, 2007. *Kimia dan Farmakologi Bahan Alam, Edisi 2*. Jakarta: EGC

