

IDENTIFIKASI SENYAWA SAPONIN EKSTRAK DAUN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia* S.) DENGAN KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS***Identification of Lime (*Citrus Aurantifolia* S.) Leaf Extract Compounds with Thin Layer Chromatography*****Evi Mustiqawati^{1*}, Sri Yolandari²**^{1,2}Politeknik Baubau**Korespondensi:** evi.mustiqawati02@gmail.com**ABSTRAK**

Daun jeruk nipis (*Citrus Aurantifolia* S) secara alami dapat dimanfaatkan sebagai obat batuk, disentri, diare, dan jerawat. Daun jeruk nipis akan dikembangkan dalam pengobatan tradisional. Tujuan dalam penelitian ini untuk mengetahui kandungan senyawa saponin dalam daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S.) dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis. Menggunakan bahan ekstrak methanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S.) dilakukan proses maserasi kemudian diekstraksi menggunakan pelarut metanol untuk menganalisis kandungan saponin yang terkandung dalam daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S.) dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa sampel daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S.) mengandung senyawa saponin dengan adanya busa. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) maka diperoleh nilai RF sebesar 0,86 cm.

Kata Kunci: Saponin, ekstrak daun jeruk (*Citrus aurantifolia* S.), KLT**ABSTRACT**

*Lime leaf (*Citrus Aurantifolia* S.) is naturally can be used as a cough medicine, dysentery, diarrhea, and acne. Lime leaves will be developed in traditional medicine. The purpose of this study was to determine the content of saponin compounds in lime leaves (*Citrus aurantifolia* S.) by using the thin layer chromatography method. Using methanol extract of lime leaf (*Citrus aurantifolia* S.) maceration process was carried out then extracted using methanol solvent to analyze the saponin content contained in lime leaf (*Citrus aurantifolia* S.) using thin layer chromatography method. From the results of research that has been done that samples of lime leaves (*Citrus aurantifolia* S.) contain saponin compounds in the presence of foam. The conclusion of this study is that by using the Thin Layer Chromatography (TLC) method, the RF value is 0.86 cm.*

Keywords: Saponins, orange leaf extract (*Citrus aurantifolia* S.), TLC

PENDAHULUAN

Citrus aurantifolia S adalah sejenis obat tradisional yang mengandung zat aktif dan bersifat sebagai anti bakteri. Dimana zat aktif yang terkandung dalam tumbuhan ini, terdiri dari alkaloid, polifenol, saponin, flavonoid, quinon dan steroid (Afrina *et al*, 2016). Saponin ialah glikosida yang mempunyai aglikon dalam bentuk sapogenin. Saponin dapat mengurangi tegangan permukaan air, hingga akan menghasilkan formasi busa pada permukaan air setelah dikocok (Nurzaman, 2018). Kromatografi lapisan tipis ialah metode mengidentifikasi komponen menggunakan fase diam, dalam bentuk plat dengan lapisan adsorben inert, KLT ialah alat jenis kromatografi analitik (Zainuddin, 2021).

Menurut Siregar (2020), perbandingan aktivitas daun jeruk nipis infus antibakteri (*Citrus aurantifolia*) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dalam penelitiannya yang telah dilakukan bahwa daun jeruk nipis tidak mengandung senyawa saponin. Berdasarkan latar belakang diatas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan tujuan mengetahui kandungan senyawa saponin dalam daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S.) dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis.

BAHAN DAN METODE

Jenis Penelitian

Penelitian ini termasuk jenis penelitian kualitatif eksperimental. Dalam penelitian ini menggunakan metode kromatografi lapisan tipis dengan uji senyawa saponin pada ekstrak daun jeruk nipis.

Waktu dan tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada September hingga oktober 2021. Diperoleh sampel daun jeruk nipis yaitu pada daerah, yaitu Pasarwajo, Kabupaten Buton. Penelitian dilakukan di di Laboratorium Farmasi Universitas Halu Oleo.

Alat Dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alumunium foil, blender serbuk, batang pengaduk, cawan porselen, corong gelas, chamber, erlenmeyer, gunting, hot plate, gelas ukur, gelas kimia, kertas saring, lampu UV 254nm dan UV 366nm, mistar, oven, pipet tetes, pipet mohr, pensil, pipa kapiler, penangas air, sudip, rak tabung, tabung reaksi, timbangan analitik, toples kaca serta rotary evaporator.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquadest, alcohol 95%, asam klorida 2 N, kloroform, metanol, lempeng alumunium silika gel GF254 Merck, pereaksi lieberman burchard (LB) serta sampel daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S).

Prosedur Kerja

Pengambilan dan Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan adalah daun jeruk nipis sebanyak 1,5 kg dari kecamatan pasarwajo. Dibersihkan dengan air mengalir dari kotoran yang menempel pada sampel daun jeruk nipis, ditiriskan lalu dirajang dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 3x24 jam hindari dari sinar matahari langsung, setelah sampel daun jeruk nipis kering kemudian diblender untuk menghasilkan serbuk simplisia.

Ekstraksi sampel

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Timbang simplisia daun jeruk nipis sebanyak 100 gram, masukkan kedalam erlenmeyer dan direndam dalam pelarut metanol 600 mL. Erlenmeyer ditutupi dengan aluminium foil selama 3 hari sesekali diaduk dengan batang pengaduk. Kemudian hasil ekstrak disaring untuk mendapatkan filtrat I, lalu diekstraksi lagi dengan pelarut metanol 400 mL dan dibiarkan selama 2 hari sesekali diaduk menggunakan batang pengaduk. Hasil ekstrak (filtrat II) dicampur dengan filtrat I, kemudian diuapkan dengan rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak kental.

Uji Busa

Simplisia sebanyak 0,5gram dimasukkan kedalam tabung reaksi yang mengandung 10 mL air panas, lalu didinginkan

dan dikocok dengan kuat selama 10 detik untuk membentuk busa dengan tinggi 1-3 cm, kemudian ditambahkan satu tetes larutan asam klorida 2 N, apabila busa tidak hilang berarti sampel mengandung saponin.

Uji Warna

Simplisia sebanyak 0,5gram dimasukkan dalam tabung reaksi yang terdiri dari kloroform 10 mL, kemudian dipanaskan selama 5 menit dalam penangas air sambil dikocok. Kemudian tambahkan beberapa tetes pereaksi lieberman burchard. Jika cincin coklat atau ungu terbentuk, itu menunjukkan saponin triterpenoid, sementara hijau atau biru menunjukkan saponin steroid (Pratama, dkk, 2012).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Lempeng silika GF254 Merck disiapkan dengan ukuran panjang 10 cm dan lebar 3 cm. Ekstrak kental yang dilarutkan dengan 95% alkohol ditotolkan menggunakan pipa kapiler pada lempeng tepi bawah dan diangin-anginkan untuk sementara waktu, kemudian masukkan lempeng kedalam chamber yang mengandung eluen, yang merupakan campuran lapisan homogen di bawah pelarut antara kloroform : metanol : aquadest (13 : 7 : 2). Setelah itu lempeng dibiarkan terelusi sampai eluen merambat pada tanda garis tepi atas lempeng kemudian dikeluarkan serta dikeringkan di udara. Pengamatan noda menggunakan lampu UV 254 dan 366 nm, lalu

plat disemprotkan dengan pereaksi lieberman burchard (LB) dan dipanaskan pada suhu 110^oC selama 10 menit, untuk memperjelas warna noda yang terbentuk serta di hitung nilai RF (Pratama, dkk, 2012).

Analisa Data

Retardation faktor (RF) ialah suatu parameter untuk menggambarkan migrasi senyawa pada KLT. Nilai RF adalah parameter yang menunjukkan posisi noda dalam fase diam setelah terpilih (Wulandari, 2011). Nilai RF dengan nilai ST (Saponin Standard) sebesar 0,565 (Rahmawati *et al.*, 2017).

Untuk pengamatan nilai RF pada senyawa saponin ekstrak metanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia S.*) dapat ditentukan dengan analisis kualitatif menggunakan metode kromatografi lapisan tipis dapat dihitung dengan rumus berikut:

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh senyawa}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut}} =$$

HASIL

Dalam penelitian ini, sampel memiliki berat 200 gram, lalu dilakukan proses maserasi dengan merendam sampel daun jeruk nipis menggunakan pelarut metanol selama 3 hari yang bertujuan untuk memaksimalkan proses pengambilan senyawa-senyawa kimia yang

terdapat pada sampel daun jeruk nipis. Setelah 3 hari sampel daun jeruk nipis disaring dan diuapkan dengan rotary evaporator hingga didapatkan ekstrak kental sebanyak 60 gram.

Setelah ekstrak kental diperoleh, dilakukan uji pendahuluan, sebab untuk memastikan bahwa ketiadaan kualitatif senyawa saponin yang terkandung dalam daun jeruk nipis. Dalam penelitian ini, terdapat dua uji pendahuluan, yakni uji busa dan uji warna (Jaya, 2010). Hasil uji busa dan uji warna dapat dilihat pada Tabel.1 di bawah ini:

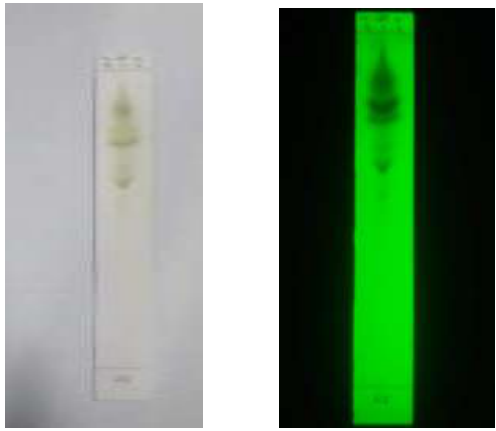
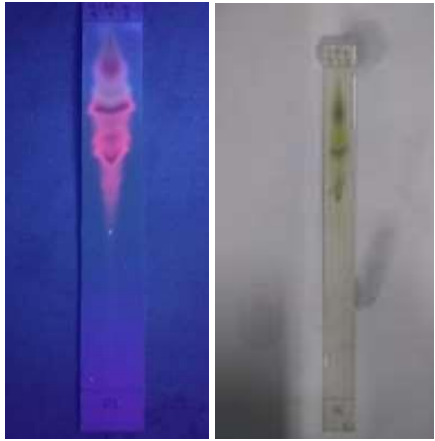
Tabel 1. Uji Pendahuluan Daun Jeruk Nipis
(*Citrus aurantifolia S.*)

Parameter	Hasil Pengamatan	Keterangan
Uji Busa	Terbentuk Busa	Positif mengandung Saponin
Uji Warna	Berwarna Hijau	Positif Mengandung Saponin

Sumber: Data Primer, 2021

Setelah mendapatkan hasil uji pendahuluan, kemudian sampel dilakukan uji saponin dalam daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia S.*), lalu menyemprotkan pereaksi Lieberman burchard pada plat GF254 yang bertujuan untuk memperjelas warna noda yang terbentuk, dapat ditunjukkan pada Tabel. 2 di bawah ini:

Tabel 2. Hasil Uji KLT (Kloroform: Metanol: Aquadest)

NO.	Gambar	Keterangan	Warna bercak noda
1	 <p>(A) (B)</p>	<p>(A): Plat KLT GF254 Merck belum menyemprotkan pereaksi LB dan belum diterangi dalam lampu UV 254nm dan 366 nm.</p> <p>(B): Plat KLT Merck GF254 yang telah menyemprotkan pereaksi LB dan telah diterangi dalam lampu UV 254nm.</p>	Hijau
2	 <p>(C) (D)</p>	<p>(C): Plat KLT Merck GF254 yang telah menyemprotkan pereaksi LB dan telah diterangi pada lampu UV 366 nm.</p> <p>(D): Plat KLT Merck GF254 yang telah menyemprotkan pereaksi LB dan telah diterangi dalam lampu UV 254 dan 366 nm.</p>	

Sumber: Data Primer, 2021

Setelah pengujian selesai menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT), kemudian dihitung nilai RF pada sampel daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S.). Perhitungan nilai RF dapat ditunjukkan pada Tabel. 3 di bawah ini:

Tabel 3. Nilai RF Isolat Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* S.) (Kloroform: Metanol: Aquades)

Jarak Noda	Jarak ditempuh Pelarut	Nilai RF
8,6 cm	10 cm	0,86 cm

Sumber: Data Primer, 2021

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa saponin dalam daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S.) menggunakan metode kromatografi lapisan tipis. Pelarut metanol dipilih sebagai pelarut, karena sifat kutubnya dan senyawa saponin yang merupakan senyawa aktif polar sehingga hasil ekstraksi yang diperoleh lebih banyak, sebab semakin halus sampel yang akan diekstraksi maka semakin mudah pelarut masuk ke sel untuk menarik zat-zat aktif.

Dalam uji busa diperoleh busa yang stabil, kemampuan saponin sebagai agen pembusa alami tidak terlepas dari gugus hidrofilik dan gugus hidrofobik yang dimiliki. Kombinasi penyusun saponin, berupa fragmen sapogenin nonpolar, dan rantai samping polar yang larut dalam air. Sedangkan uji warna diperoleh warna hijau menunjukkan bahwa positif mengandung saponin steroid. Uji busa dan warna dapat dilihat pada Tabel 1.

Pencahayaan UV berdasarkan prinsip yang panjang gelombang pendek atau 254 nm, plat memberikan fluoresensi sementara serta tampaknya warna gelap yang muncul sebab interaksi antara sinar UV dan indikator fluoresensi yang terkandung pada plat KLT, sementara panjang gelombang 366 nm memberi kondisi yang berlawanan ketika menyediakan fluoresensi dan plat berwarna gelap, noda yang tampaknya meningkat sebab kekuatan interaksi antara sinar UV dan kelompok.

Kromofor terkait dengan auksokrom dalam noda, lampu UV yang dipilih 254 dan 366 nm sebab kapasitas reaksi memiliki sifat oksidator yang merusak sampel kromaktif, disebabkan oleh berubahnya panjang gelombang ke arah yang lebih lama agar noda terlihat oleh mata.

Pengamatan noda setelah menyemprotkan pereaksi lieberman burchard dan telah diterangi oleh lampu UV 254 dan 366 nm ada eluen ekor dan terpisah, dimana ekor elue tidak sempurna secara terpisah. Terjadinya noda berekor disebabkan oleh eluen yang digunakan dalam senyawa non-kimia. Untuk melakukan ini, ulangi 3 kali dengan bantuan elue yang sama, sementara penampilan noda terpisah yang direalisasikan mendapatkan noda yang baik, karena terlihat pada hasil noda yang terlihat bagus di nilai RF sehingga nilai RF dapat dihitung (Fahruni *et al*, 2018).

Plat gel silika GF₂₅₄ ialah plat yang menghasilkan fluoresensi pada panjang gelombang 254 nm disebabkan oleh kelompok kromofor dinoda. Gugus kromofor ialah kelompok yang mampu menghasilkan warna. Plat GF₂₅₄ silika gel sebagai permukaan penjerap dan berfungsi sebagai penyangga untuk lapisan cair.

Sebagian besar gel silika bersifat asam, karena pelapisan penjerap sering berisi indikator fluoresensi yang ditambahkan untuk membantu menunjukkan noda warna pada lapisan yang dikembangkan. Indikator

fluoresensi ialah senyawa yang memancarkan radiasi 254 nm (Feladita *et al*, 2019).

Diantara hasil penelitian yang dilakukan bahwa nilai RF ialah sebesar 0,86 cm dapat dilihat pada Tabel 3. Nilai RF ditunjukkan adanya perbedaan selisih signifikan dengan noda standard saponin. Dimana nilai noda standar saponin ialah sebesar 0,565 (Rahmawati *et al.*, 2017).

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian dilakukan pada sampel daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia S.*), disimpulkan bahwa pada sampel daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia S*) positif mengandung senyawa saponin dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT), diperoleh bercak noda berwarna hijau pada plat gel silika dengan nilai RF sebesar 0,86cm.

Dapat dilanjutkan penelitian pada senyawa saponin daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia S.*) secara kuantitatif untuk menentukan tingkat atau formulasi persiapan dengan bahan aktif senyawa saponin.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrina, Chismirina S, Magistra YR. (2016). Konsentrasi Hambat Dan Bunuh Minimum Ekstrak Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Agregasi *bacteactinomycetemcomitans* Secara In Vitro. *Cakradonya Dent J* 8 (1): 1-76.
- Andasari SD, Indriyastuti, Arrosyid M. (2020). *Standarisasi Ekstrak Etil Asetat Daun Jeruk Nipis (Citrus Aurantifolia S)*. The 12 Th University Research Colloquium Universitas Aisyiyah: Surakarta.
- Ditjen POM. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Cetakan Pertama.
- Ditjen POM, (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Fahruni, Handayani R, Novaryatiin S. (2018). Potensi Tumbuhan Kelakai (*Stenochlaena Palustris (Burm.F.) Bedd.*) Asal Kalimantan Tengah Sebagai Afrodisiaka. *Jurnal Surya Medika* 3 (2).
- Feladita N, Agustin R, Oktaviantri DE. (2019). Identifikasi Hidrokuinon Dalam Sabun Pemutih Pembersih Pada Tiga Klinik Kecantikan Dibandar Lampung Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis Dan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Analisis Farmasi* 4(2). Hal. 91-97
- Gritter RJ, Bobbit JM, Schawarting AE. (1991). *Pengantar Kromatografi, ed.2, terjemahan Kosasi Padmawinata*. Bandung: Penerbit ITB.
- Hasma & Winda. (2019). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa Paradisiaca L*) Dengan Metode Klt. *Jurnal Kesehatan Manarang* 5 (2).
- Hasrianti, Nururahman, Nurasia. (2016). Pemanfaatan Ekstrak Bawang Merah Dan Asam Asetat Sebagai Pengawet Alami Bakso. *Jurnal Dinamika Vol.07(1 9)*: 9-30.
- Handayani V, Naid T, Umasangaji RF. (2020). Studi Komparasi Aktivitas Antioksidan Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix Dc*) Dan Daun Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia (Christm) Swingle*) Asal Kota Ternate Menggunakan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH. *Jurnal Farmasi* 12 (1): 57-63.
- Illing I, Safitri W, Erfina. (2017). Uji

- Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. *Jurnal Dinamika* 08 (1): 66-84.
- Jaya AM. (2010). Isolasi Dan Uji Efektifitas Antibakteri Senyawa Saponin Dari Akar Putri Malu (*Mimosa Pudica*) {Skripsi}. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim.
- Kiswandono AA. (2011). Skrining Senyawa Kimia Dan Pengaruh Metode Maserasi Dan Refluks Pada Biji Kelor (*Moringa Oleifera*, Lamk) Terhadap Rendemen Ekstrak Yang Dihasilkan. *Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa* 1(2): 126 – 134.
- Karima N, Pratiwi L, Apridamayanti P. (2019). Identifikais Senyawa Kuersetin Ekstrak Etil Asetat Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*. 4 (1).
- Novitasari A, Purwandari EP, Coastera F. (2018). Identifikasi Citra Daun Tanaman Jeruk Dengan Local Binary Pattern Dan Moment Invariant. *Jurnal Informatika Dan Komputer (Jiko)* 3 (2).
- Nurzaman F, Djajadisastra J, Elya B. (2018). Identification Of Saponin Content In Red Frangipani (*Plumeria Rubra* L.) Extract And Surfactant Potency In Cosmetic Preparations Fulka. *Jurnal Kefarmasian Indonesia* Vol.8 (2) :85-93.
- Pratama MA., Hosea JE, Jovie MD. (2012) Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Saponin Dari Ekstrak Metanol Batang Pisang Ambon (*Musa Paradisiaca* Var. *Sapientum* L.). *Pharmacon* 1 (2) : 86-92. E- Journal.
- Rahmawati BD, Santoso AM, Primandiri RP. (2017). *Profil Kadar Saponin Pada Beberapa Bagian Umbi (Akartalinum Paniculatum) Hasil Kultivasi Petanidi Daerah Plosoklaten Kediri*. Universitas Negeri Malang: Jalan Semarang.
- Rukmana R. (2003). *Jeruk Nipis*. Prospek Agribisnis Budidaya Dan Pasca Panen. Yogyakarta: Kanisius.
- Siregar S, Indriani, Rizky AV, Krisdianilo V, Marbun TAR. (2020). Perbandingan Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Dan Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Farmasi* 3 (1).
- Wulandari R. (2011). *Kromatografi Lapis Tipis*. Jember: PT. Taman Kampus Presindo.
- Zainuddin & Rohama. (2021). Identification Of Secondary Metabolite Compounds On The Extract Of Gayam Leaves (*Incarpus Fagifer Fosb*) Using TLC. *Jurnal Surya Medika (JSM)* 6 (2).