LUMBUNG FARMASI ; Jurnal Ilmu Kefarmasian ,Vol 6 No 2, Juli 2025
P-ISSN : 2715-5943
E-ISSN : 2715-5277

Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder pada Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Widayatul Khairi [a, 1*], Gunawan Pamudji Widodo [b, 2], Nuraini Harmastuti [b, 3], Safwan [a, 4], Abdul Rahman Wahid [a, 5], Irmatika Hendriyani [a, 6]

[a] Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Mataram, Jl. KH. Ahmad Dahlan No.1 Pegesangan, Mataram, Indonesia
[b] Farmasi Sains, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Jl. Letjen Sutoyo Mojosongo, Surakarta, Indonesia
[1]widayatul@ummat.ac.id*; [2]gunawanpamudji@yahoo.com; [3]nuraini_harmastuti@yahoo.co.id; [4]safwan@ummat.ac.id; [5]rahman_apt@yahoo.co.id; [6]irmatika.hendriyani@ummat.ac.id
*korespondensi penulis

INFO ARTIKEL

Sejarah artikel:
Diterima :
01-06-2025
Revisi :
3-06-2025
Disetujui :
20-06-2025

Kata kunci:
Moringa oleifera
Kromatografi Lapis Tipis
Senyawa metabolit sekunder

ABSTRAK

Moringa oleifera yang dikenal di Indonesia dengan nama kelor dan dikatakan sebagai "the miracle tree" atau pohon ajaib karena secara alamiah sebagai sumber gizi dan obat. Komponen ekstrak daun kelor yang ditemukan memiliki golongan flavonoid. Sebagai antioksidan, antidiabetes, antiinflamasi, dan antimikroba, senyawa ini memiliki gugus -OH yang terikat pada cincin benzena. Tujuannya adalah untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder pada daun kelor. Ini akan dilakukan dengan menggunakan teknik kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil ekstrak dan fraksi daun kelor, termasuk air, etil asetat, dan n-heksan, terdapat senyawa flavonoid, tanin, dan alkaloid, pada fraksi etil asetat sedangkan pada ekstrak dan fraksi air terdapat senyawa tanin, pada fraksi n-heksan terdapat senyawa steroid. Kesimpulan terdapat senyawa metabolit sekunder pada daun kelor (*Moringa oleifera*).

Key word:
Moringa oleifera
Thin Layer Chromatography
Secondary metabolite compounds

ABSTRACT

Moringa oleifera, known in Indonesia as "kelor," is referred to as "the miracle tree" due to its natural nutritional and medicinal properties. The components found in the Moringa leaf extract belong to the flavonoid group. As antioxidants, antidiabetic, anti-inflammatory, and antimicrobial agents, these compounds contain -OH groups attached to a benzene ring. The aim is to identify the secondary metabolites present in Moringa leaves using thin-layer chromatography (TLC) techniques. The study includes extracts and fractions of Moringa leaves, specifically water, ethyl acetate, and n-hexane, showed the presence of flavonoids, tannins, and alkaloids, in the ethyl acetate fraction, while tannins were found in both the extract and water fraction. Additionally, steroids were detected in the n-hexane fraction. In conclusion, *Moringa oleifera* leaves contain secondary metabolites.

This is an open access article under the CC–BY-SA license.

Pendahuluan

Penggunaan tanaman obat telah menjadi bagian integral dari tradisi pengobatan di banyak budaya selama berabad-abad. Sebagai tanaman yang banyak digunakan, kelor memiliki potensi pengobatan herbal yang luar biasa karena kandungan nutrisi dan senyawa bioaktifnya. Penelitian menunjukkan bahwa daun kelor mengandung banyak senyawa metabolit sekunder yang bertindak sebagai antioksidan, antidiabetes, antiinflamasi, dan antimikroba. (Wandira *et al.*, 2023; Zulfiah *et al.*, 2020). Senyawa-senyawa ini dapat diekstraksi menggunakan berbagai metode, dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menjadi pilihan yang populer karena kesederhanaan dan efisiensinya dalam pemisahan komponen, dengan menggunakan KLT, peneliti dapat dengan mudah memvisualisasikan dan mengidentifikasi senyawa berdasarkan nilai Retardation Factor (RF) yang dihasilkan selama proses pemisahan. Metode dapat memungkinkan peneliti untuk melakukan analisis kuantitatif terhadap kandungan senyawa dalam ekstrak daun kelor (Liwar & Bessi, 2022).

Kromatografi Lapis Tipis tidak hanya memberikan informasi tentang keberadaan senyawa tertentu tetapi juga membantu dalam memahami potensi terapeutik dari tanaman tersebut. Kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak dan fraksi daun kelor ditemukan melalui penggunaan KLT dalam penelitian ini (Khairi *et al.*, 2023), memberikan wawasan lebih lanjut tentang komposisi kimia dan manfaat medisnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi lebih dalam mengenai profil kimia dari daun kelor serta menegaskan pentingnya penelitian lebih lanjut mengenai manfaat kesehatan dari senyawa-senyawa tersebut (Syafitri *et al.*, 2020).

Metode

1. Alat dan Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi asam asetat (CH_3COOH) (Merck), aseton (PT. Brataco), amonia (NH_3) (Merck), amonium hidroksida (NH_4OH) (Merck), akuades (PT. Brataco), kloroform ($CHCl_3$) (PT. Brataco), reagen Dragendorff, etanol (C_2H_6O) (PT. Brataco), etil asetat ($C_4H_8O_2$) (PT. Brataco), fraksi etil asetat dari ekstrak daun kelor, feri klorida ($FeCl_3$), asam format (HCOOH), asam galat (Sigma), reagen Lieberman-Burchard, dan metanol (CH_3OH) (PT. Brataco). Bubuk daun kelor diperoleh dari PT. Moringa Organik Indonesia (MOI). Selain itu, digunakan juga n-butanol (Merck), n-heksana (C_6H_{14}) (PT. Brataco), fraksi n-heksana dari ekstrak daun kelor, lempeng KLT silika gel 60 F254 (Merck KGaA, Darmstadt, Jerman), piperin (Sigma), dan kuersetin (Sigma), stigmasterol (Sigma).

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi neraca analitik (OHAUS PJ1003), chamber, peralatan gelas (Vyrex), mikrohematokrit (Nris-Vitrex Medical), rotary evaporator (Laborota 4000).

2. Jalannya Penelitiian

2.1 Prosedur Ekstraksi

Sebanyak 625 gram serbuk daun kelor yang telah dihaluskan dicampur dengan etanol 70% dengan perbandingan 1:10 g/v dan dimasukkan ke dalam bejana maserasi. Selama enam jam pertama, simplisia direndam dan diaduk sesekali. Setelah itu, delapan belas jam telah berlalu. Penyaringan memisahkan maserasi. Selanjutnya, proses maserasi ulang dilakukan dengan menggunakan jenis pelarut yang sama sebanyak setengah volume ekstraksi pertama. Setelah semua maserasi dikumpulkan, rotary evaporator digunakan untuk menguapkannya hingga menghasilkan ekstrak kental. Persentase rendemen (b/b) dihitung dengan memastikan bahwa ekstrak memenuhi persyaratan minimum yang ditentukan dalam setiap monografi ekstrak (Kemenkes, 2017).

2.2 Prosedur Fraksinasi

Fraksi disiapkan dengan menimbang 10 g ekstrak kental dan melarutkannya dalam etanol dan air pada rasio 1:9, dengan volume total 25 ml. Kemudian, menggunakan corong pemisah, campuran tersebut dipisahkan dari satu sama lain. Fraksi n-heksana dibuang, dan fase air dikumpulkan. Fraksi air selanjutnya difraksinasi menggunakan etil asetat dalam rasio yang sama (1:1). Fase air disisihkan sementara fraksi etil asetat dikumpulkan. Fraksinasi untuk setiap pelarut dilakukan dalam porsi 25 ml dan diulang hingga larutan menjadi bening. Fraksi yang diperoleh diuapkan untuk menghasilkan fraksi kental.

2.3 Identifikasi Kandungan Kimia dalam Fraksi Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi n-heksana, etil asetat, dan fraksi air dilakukan dengan menggunakan pelat KLT silika gel 60 F_{254} (5,5 × 7 cm). Jarak bercak ditetapkan pada 1 cm dari tepi bawah dan 1 cm dari tepi atas pelat. Pelat dibiarkan mengering sebelum dikembangkan menggunakan campuran eluen pelarut. Sebelum digunakan, 50 ml eluen dijenuhkan dengan kertas saring, sedangkan pelat gel silika diaktifkan dengan memanaskannya dalam oven pada suhu 110° C. Setelah itu, fraksi-fraksi tersebut ditotolkan pada gel silika yang diaktifkan Setelah itu, dimasukkan ke dalam kamar dengan eluen jenuh dan dielusi hingga tanda batas atas. Selanjutnya, bercak-bercak yang berbeda diamati pada panjang gelombang sinar ultraviolet yang sesuai dengan senyawa yang ditemukan.

2.3.1 Flavonoid

Flavonoid diidentifikasi menggunakan fase gerak kloroform:aseton:asam format (7:3:0,4) dengan kuersetin sebagai senyawa pembanding. Pengamatan dilakukan pada rentang sinar ultraviolet pada 254 dan 366 nm. Setelah semprotan amonia digunakan untuk divisualisasikan bercak, reagen sitroborat ditambahkan dan bercak dipanaskan selama lima menit pada suhu 100° C. Keberadaan flavonoid ditunjukkan oleh bercak hijau, yang tampak kekuningan di bawah fluoresensi cahaya tampak (Khairi *et al.*, 2023).

2.3.2 Tanin

Fase gerak n-butanol:asam asetat:air (4:1:5) digunakan untuk menemukan tanin. Asam galat digunakan sebagai pembanding. Pengamatan dilakukan di bawah sinar ultraviolet 254 nm dan 366 nm. Setelah disemprot dengan $FeCl_3$, bercak-bercak tersebut divisualisasikan di bawah sinar ultraviolet 366 nm. Keberadaan tanin ditunjukkan dengan munculnya bercak berwarna coklat atau hitam (Khairi *et al.*, 2023).

2.3.3 Alkaloid

Alkaloid diidentifikasi menggunakan fase gerak metanol:amonium hidroksida (100:3) dengan piperin

sebagai senyawa pembanding. Pengamatan dilakukan di bawah sinar ultraviolet pada 254 nm dan 366 nm. Untuk divisualisasikan bercak, reagen Dragendorff disemburkan. Keberadaan alkaloid ditunjukkan dengan bercak jingga-merah (Khairi *et al.*, 2023).

2.3.4 Steroid

Fase gerak n-heksana:etil asetat (18:2), bersama dengan stigmasterol, digunakan untuk mengidentifikasi steroid. Setelah pengamatan di bawah sinar ultraviolet pada 254 nm dan 366 nm, reagen Liebermann-Burchard disuntikkan. Bercak biru menunjukkan steroid (Khairi *et al.*, 2023).

Hasil dan Pembahasan

Tabel 1. Hasil Ekstrak *Moringa oleifera*

Berat sampel (g)	Berat ekstrak (g)	Hasil Ekstraksi (%)
250	74	29,6
250	78	31,2
125	37,5	30
Rata-rata ± SD		30,2± 0,7

Rata-rata rendemen ekstrak etanol daun kelor sebagaimana Tabel 2 adalah sebesar 30,2%, melebihi ketentuan minimal yaitu 9,2%, sehingga memenuhi standar produksi ekstrak (Kemenkes, 2017).

Tabel 2. Hasil Fraksi *Moringa oleifera*

Pelarut	Berat ekstrak (g)	Berat fraksi (g)	Hasil fraksi (%)
n-Heksan	180	7,29	4,05
Etil asetat	180	11,95	6,64
Air	180	154,06	85,59

Hasil rendemen menunjukkan bahwa fraksi ekstrak daun kelor yang memiliki persentase tertinggi adalah fraksi air sebesar 85,59%, diikuti oleh fraksi etil asetat sebesar 6,64% dan fraksi n-heksana sebesar 4,05%. Persentase rendemen bergantung pada perbedaan kandungan dan komposisi senyawa terlarut. Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Elfahmi, 2018). Pada hasil isolasi senyawa penanda pada ekstrak air daun kelor, fraksi air menghasilkan rendemen 85,46%, sedangkan fraksi etil asetat menghasilkan rendemen 4,19%. Hasil penelitian juga menunjukkan adanya senyawa flavonoid, diduga flavonol, pada fraksi etil asetat, tetapi tidak terjadi pemisahan pada fraksi air.

Ekstrak dan fraksi ekstrak *Moringa oleifera* diidentifikasi menggunakan metode KLT. Metabolit sekunder yang teridentifikasi dalam daun kelor meliputi flavonoid, tanin (fenolik), alkaloid, saponin, dan steroid. Hasil identifikasi metabolit sekunder dalam ekstrak dan fraksinya ekstrak daun *Moringa oleifera* pada Gambar 1.

Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) daun Kelor menunjukkan terdapat beberapa senyawa kimia, termasuk flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, dan steroid. Temuan ini didukung oleh penelitian sebelumnya, yang menunjukkan bahwa daun Kelor mengandung beragam senyawa kimia yang diidentifikasi melalui berbagai metode analisis. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa daun Kelor mengandung banyak senyawa kimia yang diidentifikasi melalui berbagai teknik analisis, mendukung temuan ini. Hasil positif untuk fraksi etil asetat ekstrak daun Kelor, yang ditandai dengan bercak fluoresensi di bawah sinar ultraviolet 366 nm setelah disemprot dengan reagen sitroborat, mirip dengan standar quercetin dengan nilai Rf 0,64. Penyemprotan dengan sitroborat menghasilkan fluoresensi kuning, yang menunjukkan ada flavonoid dengan tulang punggung flavonol yang mengandung 3-OH bebas, 5-OH, atau gugus orto-dihidroksi (Challice, 1984).

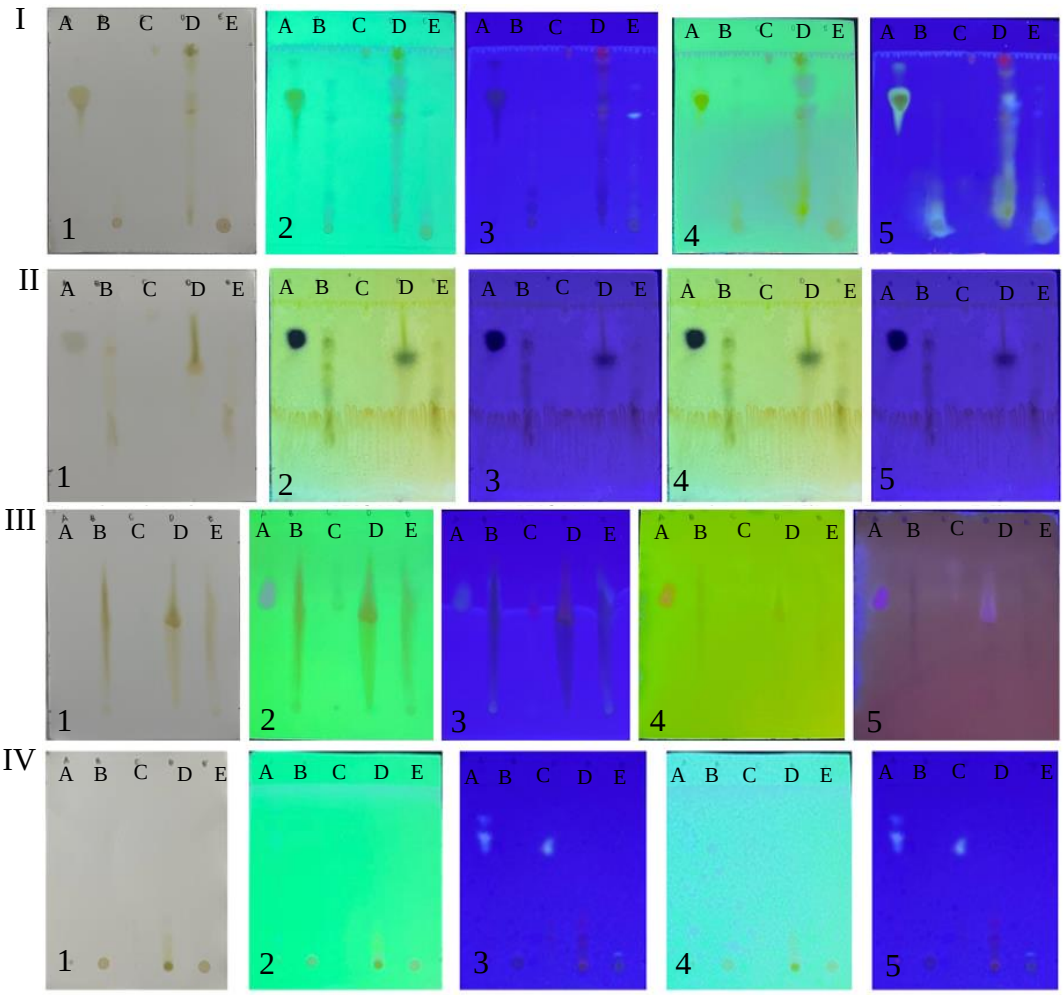
Flavonoid berkisar dari senyawa nonpolar hingga polar. Perwakilan flavonoid yang paling melimpah dalam daun kelor adalah flavon dan flavonol. Quercetin adalah salah satu flavonol yang paling menonjol, yang umumnya ditemukan dalam bentuk glikosida. Identitas kimia quercetin dalam sampel daun kelor dikonfirmasi, dengan rumus molekul $C_{15}H_{10}O_7$ (Arifin & Ibrahim, 2018).

Tanin adalah senyawa fenolik yang dapat bereaksi dan mengendapkan protein dan senyawa organik yang mengandung asam amino dan alkaloid. Tanin terhidrolisis oleh asam atau enzim menghasilkan asam galat, yang bereaksi dengan $FeCl_3$ membentuk warna biru atau hitam. (Julianto, 2019). Studi identifikasi fitokimia telah mengonfirmasi keberadaan tanin dalam daun Kelor, positif tanin dalam sampel ekstrak, Setelah disemprot dengan reagen $FeCl_3$, fraksi etil asetat dan air ekstrak daun kelor ditandai dengan bintik-bintik fluoresensi di bawah sinar ultraviolet 366 nm. Hasilnya cocok dengan standar referensi asam galat dengan nilai Rf 0,68. Nilai Rf sampel ekstrak (tiga bintik berturut-turut pada 0,44, 0,6, dan 0,68), fraksi etil asetat (0,68), dan fraksi air (0,44) konsisten dengan identifikasi ini. Variasi ini dikaitkan dengan ikatan rangkap terkonjugasi senyawa fenolik sebelum penyemprotan $FeCl_3$. Setelah penyemprotan, terjadi pembelahan ikatan, membentuk kompleks dengan ion Fe^{3+}, yang menyebabkan pergeseran panjang gelombang (Al-Maliki, 2011).

Alkaloid merupakan golongan metabolit sekunder yang memiliki sifat basa, mengandung atom nitrogen aktif dalam cincin heterosiklik. Salah satu

alkaloid yang tergolong dalam biosintesis adalah piperin (Julianto, 2019). Piperin digunakan sebagai standar, menunjukkan hasil alkaloid positif (piperin) dalam fraksi etil asetat ekstrak daun kelor. Setelah disemprot dengan reagen Dragendorff, bercak fluoresensi di bawah sinar ultraviolet 366 nm menunjukkan nilai Rf 0,58, yang hampir sama dengan nilai standar acuan 0,64. Studi oleh (Izza *et al.*, 2019) menggunakan KLT untuk identifikasi alkaloid pada daun kelor didapatkan nilai Rf sebesar 0,8. Kisaran Rf untuk 12 alkaloid yang paling umum adalah 0,07-0,62 (Harborne, 1987). Perubahan warna jingga setelah penyemprotan reagen Dragendorff dipengaruhi oleh elektron pasangan tunggal N4, yang bervariasi berdasarkan jenis alkaloid (Phillipson & Hemingway, 1975).

Steroid adalah terpenoid berbasis lipid dan diklasifikasikan sebagai sintetis atau alami. Salah satu Steroid adalah terpenoid berbasis lipid dan diklasifikasikan sebagai sintetis atau alami. Salah satu steroid alami yang paling terkenal adalah stigmasterol. Jadi, stigmasterol digunakan sebagai standar untuk identifikasi steroid berbasis KLT. Setelah disemprot dengan reagen Liebermann-Burchard, bercak fluoresensi di bawah sinar ultraviolet 366 nm menunjukkan steroid positif dalam fraksi n-heksana ekstrak daun Kelor. Nilai Rf stigmasterol identik dengan fraksi n-heksana ekstrak daun Kelor pada 0,6. Reagen Liebermann-Burchard mengandung $(CH_3CO)_2O$, yang memulai asetilasi gugus -OH, diikuti oleh pelepasan gugus asetil, yang menghasilkan pembentukan ikatan rangkap. Pelepasan hidrogen berikutnya, bersama dengan elektronnya, menyebabkan pergeseran konjugasi, yang mengarah pada perkembangan warna (Dewi, 2018).



Gambar 1. Hasil KLT senyawa I. flavonoid, II. tanin, III. alkaloid, IV. Steroid; 1. pada sinar putih, 2. sinar UV λ 254, 3. sinar UV λ 366, 4. Sinar UV λ 254 semprot, 5. sinar UV λ 366 semprot (A=standar, B=ekstrak, C= fraksi air, D= fraksi etil asetat, E= fraksi n-heksan)

Simpulan dan Saran

Identifikasi senyawa dalam daun kelor menggunakan KLT menunjukkan adanya flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin dalam fraksi etil asetat. Sementara itu, tanin terdeteksi dalam ekstrak dan fraksi air, dan steroid ditemukan dalam fraksi n-heksana. Perlu dilakukan pengujian aktivitas ekstrak dan fraksi ekstrak untuk tingkat fertilitas pada tikus betina.

Ucapan Terima Kasih (*optional)*

Terima kasih kepada semua orang yang telah berkontribusi pada penelitian ini.

Daftar Pustaka

Al-Maliki, A. D. M. (2011). Isolation and identification of phenolic compounds from Elettaria cardamomum seeds and study of their medicinal activity against pathogenic bacteria of prostate gland. Journal of Missan researches, 8(15), 1-11.

Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, bioaktivitas dan antioksidan flavonoid. Jurnal zarah, 6(1), 21-29.

Challice, J. (1984). Markham, ur: Techniques of Flavonoid Identification. Academic Press, London 1982. Pp. xii+ 113.£ 9.40 (boards). In: Springer.

Dewi, N. L. A. (2018). Pemisahan, isolasi, dan identifikasi senyawa saponin dari herba pegagan (Centella asiatica L. Urban). Jurnal Farmasi Udayana, 7(2), 68-76.

Elfahmi, I., M.I. and Yuniarti, S. (2018). Isolasi Senyawa Marker dari Ekstrak Air Daun Kelor (Moringa Oleifera Lamk.). Acta Pharmaceutica Indonesia, 43(1), 7-14.

Harborne, J. B. (1987). Metode fitokimia. Bandung: Penerbit ITB, 102, 111-147.

Izza, N., Kadang, Y., & Permatasari, A. (2019). Uji identifikasi senyawa alkaloid ekstrak metanol daun kelor (Moringa oleifera Lamk) dari Kab. Ende Nusa Tenggara Timur secara kromatografi lapis tipis. Jurnal Farmasi Sandi Karsa, 5(1), 52-56.

Julianto, T. S. (2019). Fitokimia tinjauan metabolit sekunder dan skrining fitokimia. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.

Kemenkes, R. (2017). Farmakope Herbal Indonesia.

Khairi, W., Harmastuti, N., & Pamudji Widodo, G. (2023). In vivo Evaluation of Extracted and Fraction of Moringa oleifera leaves against Testosterone-Induced PCOS Model in Rattus Norvegicus.

Liwar, R., & Bessi, M. I. T. (2022). Perbandingan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Kelor (Moringa Oleifera L.) Berdasarkan Perbedaan Cara Pengeringan Poltekkes Kemenkes Kupang].

Phillipson, J., & Hemingway, S. R. (1975). Chromatographic and spectroscopic methods for the identification of alkaloids from herbarium samples of the genus Uncaria. Journal of Chromatography A, 105(1), 163-178.

Syafitri, E., Andriani, L., & Yulianis. (2020). Analisis Kadar Beta Karoten Ekstrak Daun Kelor Menggunakan Teknik Kromatografi Lapis Tipis dan Spektrofotometri UV-Vis. JURNAL FARMASI GALENIKA, 7(1), 23-29.

Wandira, E., Sari, D. A. I. P., & Artini, K. S. (2023). Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera lam) dan Daun Katuk (Sauropus androgynus (L) Merr) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus Universitas Duta Bangsa Surakarta].

Zulfiah, Z., Herman, H., Megawati, M., Hasyim, M. F., Murniati, M., Lau, S. H. A., Roosevelt, A., kadang, Y., Izza, N., & Patandung, G. (2020). Uji Identifikasi Senyawa Alkaloid Ekstrak Metanol Daun Kelor (Moringa oleifera Lamk) Menggunakan Metode Metode Kromatografi Lapis Tipis. Jurnal Farmasi Sandi Karsa, 6(2), 83-87.