ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER KULIT BATANG KEMIRI *(ALEURITUS MALUCCANUS)* MENGGUNAKAN METODE SPEKTROFTOMETER UV-VIS

Zulfahmi Hamka[1], Musdalifah[2], Ummu Aidah[3], Khairunnisa Tajuddin[4], Alya Salsabillah Manangin[5], Andi Alisa Alsa[6]

[1,2,3,4,5,6]*Universitas Muhammadiyah Makassar*
E-mail : ummuaidamutmainnah@gmail.com

ABSTRACT

Contain Various secondary metabolites that may possess biological activity. This study aimed to isolate, identify, and determine the total flavonoid content of an ethanol extract of candlenut bark (Aleurites moluccanus L.) using chromatography and UV-Vis spectrophotometry. The extract was obtained via the reflux method and then fractionated using n-hexane and ethyl acetate. Identification was performed through phytochemical screening, thin-layer chromatography (TLC), column chromatography, preparative TLC, and two-dimensional TLC, while the total flavonoid content was determined using the aluminum chloride ($AlCl_3$) method with quercetin as the standard. The results showed an extract yield of 84%. Phytochemical screening revealed the presence of saponins, while TLC analysis indicated the presence of flavonoids with Rf values of 0.40 and 0.66. Column chromatography yielded 21 fractions, while preparative TLC and two-dimensional TLC showed that the isolated fractions had good purity levels. UV-Vis spectrophotometric analysis revealed a total flavonoid content of 473.92 mg QE/g or 4.72%. The results of this study indicate that candlenut bark has the potential to serve as a source of flavonoids that can be developed as a raw material for natural medicines.

Keywords : *Metabolit, Spektroftometer, biological activity*

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki kekayaan hayati yang sangat beragam, sehingga terdapat berbagai tanaman obat yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan dan dimanfaatkan secara efektif dalam biadang tanaman obat, Indonesia dikenala sebagai salah satu negara yang memiliki keanekaragaman hayati terbesar kedua stelah brasil sehingga sangat potensial dalam mengembangkan tanaman obat yang berbasis pada tanaman obat kita sendiri (Hastuari, 2023).

Kemiri Merupakan Tanaman yang tergolong kedalam famili *Euphorbiaceae*, Genus *Aleurites*, dan Spesies *Aleurites moluccana* L. Tanaman kemiri memiliki tinggi 25–40 m dengan batang berkayu keras dan kulit kasar. Tunas mudanya berbulu keabu-abuan, daunnya berlekuk saat muda dan membulat meruncing saat tua. Bunganya majemuk berwarna putih, sedangkan buahnya keras berdiameter ±5 cm berisi satu atau dua biji bertempurung kasar (Sahib & Raatnaningsih, 2021). Kemiri *(Aleurites moluccana* L.*)* mengandung berbagai senyawa bioaktif, antara lain flavonoid, polifenol, vitamin, folat, protein, karbohidrat, tanin, alkaloid, saponin, steroid, dan terpenoid. Tanaman ini telah dimanfaatkan secara tradisional oleh masyarakat untuk berbagai keperluan pengobatan, seperti menumbuhkan rambut, menyembuhkan luka pada kulit, mengatasi ulser, diare, asma, serta meningkatkan efek analgesik. Selain itu, kulit batang kemiri *(Aleurites moluccana* L.*)* memiliki kandungan tanin, saponin, dan flavonoid, yang secara tradisional digunakan sebagai obat disentri (Anaba *et al.*, 2021).

Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan bahwa aktivitas farmakologis tanaman obat berkaitan erat dengan keberadaan senyawa metabolit sekunder, khususnya senyawa flavonoid, saponin, dan tanin. Senyawa-senyawa tersebut diketahui berperan penting dalam memberikan berbagai aktivitas biologis (Maulida, 2020). Namun demikian, informasi mengenai profil metabolit sekunder pada kulit batang kemiri *(Aleurites moluccanus* L.*)* masih terbatas, sehingga diperlukan kajian lebih lanjut sebagai bagian dari upaya standarisasi bahan alam yang berkhasiat sebagai obat. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder pada kulit batang kemiri *(Aleurites moluccanus* L.*)* melalui metode ekstraksi refluks, dengan kromatografi lapis tipis (KLT) sebagai metode analisis awal dalam mendukung pengembangan kulit batang kemiri sebagai sumber bahan aktif alami

METODE

Alat dan Bahan

Bahan dan alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Kulit kemiri *(Aleurites moluccanus* L.*)* yang diperoleh dari laut Desa Kupa, Kecamatan Mallusetasi, Kabupaten Barru, Provinsi Sulawesi Selatan. Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah aluminium klorida 5%, aquadest, asam asetat, etanol 96%, etil asetat, besi III klorida ($FeCl_3$) 1%, gelatin 1%, asam sulfat pekat, asam klorida (HCl) 0,1%, 1%, dan HCl pekat, kapas, kertas saring, kloroform, lempeng KLT, N-heksan, natrium klorida (NaCl) 10%, plastik wrap, Reagen Lieberman–Bouchardat, Mayer, Wagner, serbuk magnesium, silica gel, timbal asetat, tissu, dan vaselin. Adapun alat yang digunakan yaitu, batang pengaduk *(*Glass Stirring Rod®*)*, bunsen (Rofa®), vial, perkolator (Farberware®), chamber (Hyperbaric chambaer®), cawan porselin, corong pisah (Pyrex®*)*, corong, kaca arloji, gelas kimia (Iwaki®), gelas ukur (Iwaki®), gegep kayu, hotplate (Thermo Scientific®), infus set (OneMed®), kolom, oven (Memmert®), penggaris, pipet skala (Iwaki), pipet tetes (Iwaki), rak tabung, sendok tanduk, spatel besi, tabung reaksi (Iwaki®),

timbangan analitik (Mettler Toledo®), wadah, dan alat-alat gelas yang umum digunakan di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia, Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Makassar. Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah sinar UV (Ultraviolet) 254 nm dan 366 nm. Penelitian ini memiliki beberapa tahao diantaranya yaitu sebagai berikut:

Ekstraksi

Proses ekstraki sampel kulit kemiri *(Aleurites moluccana* L.*)* menggunakan metode refluks. Sebanyak 50 gram kulit kemiri *(Aleurites moluccana* L.*)* dimasukkan ke dalam labu alas bulat, lalu ditambahkan 500 mL pelarut serta beberapa butir batu didih. Proses pemanasan dilakukan selama 3–4 jam pada suhu tidak melebihi 90°C. Pergantian pelarut dilakukan sebanyak tiga kali guna meningkatkan hasil ekstraksi. Hasil ekstrak yang dihasilkan kemudian disaring dan diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang dihasilan ditimbang untuk menentukan persentase rendamen (Supaya, 2022).

$$\% \text{ Rendamen} = \frac{Bobot\ Ekstrak\ Kental}{Bobot\ Simplisia}$$

Fraksinasi Cair-cair

Ekstrak kental 1 gram dilarutkan dalam 30 mL n-heksan, kemudian dilakukan fraksinasi menggunakan corong pisah. Lapisan yang tidak larut selanjutnya ditambahkan 10 mL aquadest, dikocok perlahan, dan dibiarkan hingga terbentuk dua fase. Fase n-heksan dipisahkan dan proses fraksinasi diulang sampai fraksi yang diperoleh tampak hampir tidak berwarna. Fraksi n-heksan kemudian diuapkan dan ditimbang. Fase lapisan air selanjutnya difraksinasi kembali menggunakan 30 mL etil asetat secara berulang hingga diperoleh fraksi etil asetat yang hampir tidak berwarna (Pratiwi *et al*., 2016).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak etanol untuk mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder meliputi flavanoid, saponin dan tanin dengan cara kerja sebagai berikut:

a. Flavonoid

Sampel ekstrak etanol 0,5 gram dilarutkan dalam 10 mL air, dipanaskan dan disaring. Filtrat ditambahkan serbuk Mg, HCl pekat, dan amil alkohol, lalu dikocok. Warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid (Rosalina *et al.*, 2025).

b. Saponin

Sampel ekstrak etanol 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL air panas, lalu dikocok ± 1 menit. Saponin positif jika terbentuk busa yang stabil tidak kurang dari 10 menit setinggi 1 sampai 10 cm dan dengan penambahan 1 tetes HCl 2 N buih tidak hilang (Suleman *et al*., 2022).

c. Tanin

Sampel ekstrak etanol 0,5 g dilarutkan dalam 10 mL air, dipanaskan dan disaring. Filtrat ditambahkan $FeCl_3$ 1% hingga terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman, kemudian ditambahkan gelatin 1% yang menghasilkan endapan putih, menandakan adanya tanin (Rosalina *et al*., 2025).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi senyawa metabolit sekunder diawali dengan diaktivasi lempeng KLT dalam oven pada suhu 110 °C selama ±10 menit. Chamber KLT dijenuhkan menggunakan fase gerak n-

heksan : etil asetat dengan perbandingan 6:3. Sampel fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat ditotolkan pada lempeng KLT, kemudian dielusi hingga fase gerak mencapai batas yang ditentukan. Plat KLT selanjutnya dikeringkan dan diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, kemudian disemprot dengan pereaksi penampak bercak. Nilai Rf *(Retention factor)* dihitung sebagai dasar identifikasi golongan senyawa (Rosalina *et al.*, 2025).

$$\text{Rf} = \frac{Jarak\ yang\ ditempuh\ analit}{Jarak\ yang\ ditempu\ eluen}$$

Kromotografi Kolom

Kolom kromatografi disiapkan dengan memasang kapas pada bagian dasar kolom. Fase diam berupa silika gel dibuat menjadi bubur (slurry) menggunakan pelarut awal, kemudian dimasukkan ke dalam kolom dengan metode basah hingga terbentuk lapisan yang padat dan homogen tanpa gelembung udara. Setelah silika mengendap sempurna dan permukaannya diratakan. Sampel diadsorpsikan terlebih dahulu pada silika gel hingga berbentuk serbuk kering (dry loading). Selanjutnya dimasukkan secara perlahan ke bagian atas kolom tanpa mengganggu permukaan fase diam. Elusi dimulai menggunakan n-heksan sebanyak 40 mL, kemudian dilanjutkan dengan campuran n-heksan asetat berturut-turut 32:8 mL (8:2), 24:16 mL (6:4), 20:20 mL (5:5), 16:24 mL (4:6), 8:32 mL (2:8), dan diakhiri menggunakan etil asetat murni sebanyak 40 mLEluen dijaga tetap mengalir secara konstan selama proses pemisahan berlangsung. Fraksi yang keluar dari kolom ditampung secara berurutan dalam tabung reaksi atau vial dengan volume yang sama untuk setiap fraksi. Selanjutnya, masing-masing fraksi dianalisis menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT).

Krotomgrafi Lapis Tipis Preparatif

Fraksi hasil kromatografi kolom yang dipilih berdasarkan hasil analisis KLT terlebih dahulu dilarutkan dalam pelarut yang sesuai hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi yang cukup pekat. Larutan sampel kemudian ditotolkan atau diaplikasikan secara memanjang (garis lurus) pada bagian bawah lempeng silika gel GF_{254} preparatif dengan jarak sekitar 1,5–2 cm dari tepi bawah lempeng. Penotolan dilakukan secara bertahap hingga seluruh sampel teradsorpsi dengan baik, kemudian dikeringkan. Lempeng preparatif selanjutnya dimasukkan ke dalam bejana pengembang yang telah dijenuhkan dengan fase gerak yang sesuai. Proses pengembangan dilakukan hingga front pelarut mencapai sekitar 80–90% panjang lempeng. Setelah itu, lempeng dikeluarkan dari bejana, batas front pelarut segera diberi tanda, kemudian dikeringkan pada suhu ruang. Bercak hasil pemisahan diamati di bawah sinar ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan/atau 366 nm. Pita yang terpisah dengan baik ditandai, kemudian silika pada pita tersebut dikerok secara hati-hati menggunakan spatula**.**

Kromotografi Lapis Tipis Dua Dimensi

Fraksi hasil kromatografi kolom yang dipilih berdasarkan hasil analisis KLT terlebih dahulu dilarutkan dalam pelarut yang sesuai hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi yang cukup pekat. Larutan sampel kemudian ditotolkan atau diaplikasikan secara memanjang (garis lurus) pada bagian bawah lempeng silika gel GF_{254} preparatif dengan jarak sekitar 1,5–2 cm dari tepi bawah lempeng. Penotolan dilakukan secara bertahap hingga seluruh sampel teradsorpsi dengan baik, kemudian dikeringkan. Lempeng preparatif selanjutnya dimasukkan ke dalam bejana pengembang yang telah dijenuhkan dengan fase gerak yang sesuai. Proses pengembangan dilakukan hingga front pelarut mencapai sekitar 90% panjang lempeng. Setelah itu, lempeng dikeluarkan dari bejana, batas front pelarut segera diberi tanda, kemudian dikeringkan pada suhu ruang. Bercak hasil pemisahan diamati di bawah sinar ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm

dan/atau 366 nm. Pita yang terpisah dengan baik ditandai menggunakan pensil, kemudian silika pada pita tersebut dikerok secara hati-hati menggunakan spatula. Serbuk silika yang mengandung senyawa hasil pemisahan selanjutnya diekstraksi menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian disaring untuk memisahkan silika dari larutan. Filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan rotary evaporator atau penguapan pada suhu rendah hingga pelarut menguap sempurna, sehingga diperoleh isolat yang selanjutnya digunakan untuk analisis atau pengujian lanjutan.

Spektrofotometer Uv-Vis

Pada analisis spektrofotometer uv-vis dilakukan terlebih dahulu dibuat larutan induk kuersetin 1000 ppm dibuat dengan menimbang 10 mg kuersetin, kemudian dilarutkan dalam 10 mL etanol p.a. di dalam gelas kimia. Larutan selanjutnya dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dicukupkan volumenya hingga tanda batas menggunakan etanol p.a. Dari larutan induk tersebut dibuat larutan seri standar dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm dengan memipet masing-masing 10, 20, 30, 40, dan 50 µL ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan 1 mL larutan $AlCl_3$ dan 1 mL asam asetat, selanjutnya dicukupkan hingga tanda batas menggunakan etanol p.a. Larutan blanko dibuat dengan memasukkan masing-masing 1 mL larutan $AlCl_3$ dan 1 mL asam asetat ke dalam labu ukur 5 mL, kemudian dicukupkan dengan etanol p.a. hingga tanda batas. Penetapan kurva kalibrasi dilakukan dengan memipet 0,5 mL masing-masing larutan standar ke dalam labu ukur, kemudian ditambahkan 1 mL $AlCl_3$ dan ,1 mL asam asetat dan dicukupkan hingga tanda atas dengan etanol p.a. Campuran dikocok hingga homogen, diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak kulit kemiri *(Aleurites moluccanus)* dilakukan dengan menimbang 0,5 g ekstrak, kemudian dilarutkan dengan sedikit etanol dan dipindahkan ke dalam labu ukur 5 mL. Selanjutnya ditambahkan masing-masing 1 mL larutan $AlCl_3$ dan asam asetat, kemudian dicukupkan hingga tanda batas menggunakan etanol p.a. sehingga diperoleh larutan berkonsentrasi 100.000 ppm. Larutan tersebut kemudian diencerkan dengan memipet 500 µL ke dalam labu ukur 5 mL dan dicukupkan hingga tanda batas menggunakan etanol p.a. sehingga diperoleh larutan berkonsentrasi 10.000 ppm. Larutan dihomogenkan, diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 421 nm.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil Ekstraksi Kulit batang kemiri *(Aleurites moluccana* L*)* menggunakan metode refluks, dengan massa pelarut 2,5 liter, dan 50 gram simplisia, diperoleh ekstrak kental sebanyak 42 gram dengan persen rendamen sebesar 84%. Menurut (FHI, 2014) persyaratan rendamen ekstrak tidak kurang dari 10%, sehingga hasil yang diperoleh telah memenuhi standar yang ditetapkan dan sejalan dengan literatur**.**

Tabel 1. Hasil perhitungan rendamen esktrak Kulit batang kemiri *(Aleurites moluccana* L.

Sampel	Massa Pelarut	Massa Simplisia	Massa Ekstrak kental	Persen Rendamen
Kulit kemiri *(Alauritus maluccanus L.)*	2,5 L	50 gram	42 gram	84 %

Hasil fraksinasi menunjukkan bahwa fraksi etil asetat sebesar 31,9 gram, dan fraksi n-heksan sebesar 7,9 gram. Sehingga diperoleh Persentase rendamen fraksi etil asetat sebesar 760% dan fraksi n-heksan sebesar 790%. Menurut (FHI, 2014) rendamen fraksi dinyatakan memenuhi syarat apabila tidak kurang dari 10%, sehingga hasil fraksinasi pada penelitian ini telah memenuhi persyaratan. (Lawani *et al*., 2021).

Tabel 2. Hasil perhitungan fraksi kulit batang kemiri *(Aleurites Moluccana* L.*)*

Berat Ekstrak	Barat Fraksi Etil Asetat	Barat Fraksi N-Heksan	Rendamen Esktrak Etil Asetat	Rendamen Esktrak N-Heksan
1 gram	31, 9 gram	7,9 gam	760%	790%

Pada hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder pada sampel ekstrak etanol kulit batang kemiri *(Aleurites moluccana* L.*)* diperoleh hasil Identifikasi saponin menunjukkan terbentuknya buih atau busa stabil setinggi 1 cm. Hasil ini sesuai dengan literatur (Maulida, 2020) yang menyatakan bahwa reaksi positif saponin ditandai dengan terbentuknya setinggi 1 cm dan kurang dari 10 menit tidak hilang**.**

Tabel 3. Hasil uji skrining fitokimia kulit batang kemiri (*Aleurites Moluccanus* L.)

Sampel	Golongan Senyawa	Pereaksi	Hasil
Kulit kemiri *(Alauritus maluccanus)*	Flavonoid	Aluminium klorida 5%	-
	Saponin	Air suling	+
	Tanin	$FeCl_3$ 1%	-
		Gelatin 1%	-

Identifikasi senyawa sampel kulit batang kemiri (*Aleurites moluccanus* L.) menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) menunjukkan nilai Rf pada fraksi n-heksa pada pengamatan UV 254 n menghasilkan nilai Rf sebesar 0,4 dan pada pengamatan sinar UV 366 nm menunjukan nilai Rf 0,4 berada dalam rentang nilai Rf yang baik (0,2-0,8) sehingga memenuhi syarat yang telah ditentukan. Pada hasil fraksi etil asetat nilai Rf yang diperoleh pada UV 254 nm cenderung rendah yaitu 0,1 sehingga tidak berada dalam rentang nilai Rf yang baik. Sebaliknya pada UV 366 nm menunjukkan nilai Rf 0,66 berada dalam rentang nilai Rf yang baik (0,2-0,8) (Darmansyah, 2023).

Berdasaarkan hasil Identifikasi senyawa metabolit sekunder kulit batang kemiri (*Aleurites moluccanus* L.) menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) menunjukkan bahwa pada identifikasi Flavonoid dengan pelarut n-heksan pada panjang gelombang 254 nm terlihat bercak jingga, sedangkan pada panjang gelombang 366 nm tidak terlihat bercak. Pada pelarut etil asetat tidak ditemukan bercak flavonoid pada kedua panjang gelombang. Hasil positif flavonoid ditandai dengan noda jingga pada plat silika setelah penyemprotan pereaksi. Dengan demikian, hasil identifikasi flavonoid menggunakan pelarut n-heksan pada panjang gelombang 254 nm sejalan dengan literatur (Ferdinan & Natasa, 2024).

Tabel 4. Hasil Identifkasi metabolit sekunder dengan KLT Kulit batang kemiri *(Aleurites moluccana* L.)

No	Nama Sampel	Hasil		Keterangan
		UV 254	UV 366	
1.	 Kulit Kemiri *(Aleuritus maluccanus)*	 z N-Heksan	 N-Heksan	**UV 254** Rf $= \frac{2\ cm}{5\ cm} = 0{,}4$ **UV 366** Rf = $\frac{0{,}2\ cm}{5\ cm}$ = 0,4
		 Etil Asetat	 Etil Asetat	**UV 254** Rf = $\frac{0{,}5\ cm}{5\ cm}$ = 0,1 **UV 366** Rf = $\frac{0{,}3\ cm}{5\ cm}$ = 0,66

Pada proses kromatografi kolom diperoleh sebanyak 21 fraksi yang ditampung dalam 21 vial. Hasil pemisahan menunjukkan adanya perbedaan warna yang cukup jelas pada setiap fraksi seiring dengan peningkatan kepolaran eluen. Fraksi yang dielusi menggunakan campuran n-heksan asetat (8:2**)** menghasilkan warna kuning pekat, yang mengindikasikan masih banyaknya senyawa nonpolar hingga semipolar yang terelusi. Pada eluen n-heksan asetat (6:4), fraksi yang diperoleh masih berwarna kuning, namun intensitasnya mulai berkurang dan tampak lebih jernih. Selanjutnya, pada penggunaan eluen n-heksan asetat (5:5), (4:6), dan (2:8), seluruh fraksi yang diperoleh berwarna bening. Perubahan warna tersebut menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa berwarna telah terelusi pada eluen dengan kepolaran lebih rendah, sedangkan fraksi yang diperoleh pada eluen yang lebih polar didominasi oleh senyawa yang tidak memberikan warna atau hanya mengandung sedikit senyawa berpigmen

Tabel 5. Hasil Kromotografi Kolom

Sampel	Gambar
Kulit Batang Kemiri *(Aleuritus maluccanus)*	 N-Heksan

Kulit Batang Kemiri *(Aleuritus maluccanus)*		8:2, 6:4, 5:5

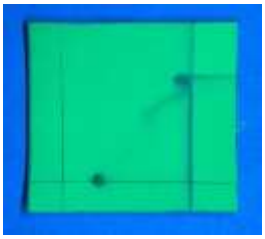
Hasil pemisahan secara KLT-prepartif dari fraksi kulit batang kemiri *(Aleuritus maluccanus)* pada perbandingan 8:2 menghasilkaan satu pita yag terlihat cukup jelas pada lempeng silica dengan uv 254 nm. Munculnya noda tersebut menunujukan bahwa sisten dari eluen memiliki afinitas yang tinggi sehingga mengalami migrasi keatas. Selain dari itu, tidak terdapat pta yang lain yang berarti pemisahan belum memisahkan seluruh senyawa komponen dalam sampel secara sempurna.

Tabel 6. Hasil KLT-Preparatid fraksi 8:2 ekstrak etanol kulit batang kemiri *(Aleuritus maluccanus)*

Fraksi	Warna bercak
Kulit Batang Kemiri *(Aleuritus maluccanus)*	

Berdasarkan hasil pengamatan pada gambar, di bawah sinar UV 254 nm tampak satu noda utama yang berada pada bagian kanan atas lempeng. Noda terlihat sebagai bercak gelap pada latar belakang hijau fluoresen silika GF254. Sementara itu, pada pengamatan menggunakan UV 366 nm, noda yang sama tampak berfluoresensi lemah tanpa muncul noda tambahan yang jelas. Tidak ditemukannya noda lain setelah proses elusi pada dua arah menunjukkan bahwa komponen yang dianalisis memiliki perilaku kromatografi yang konsisten pada kedua arah pemisahan. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa fraksi hasil isolasi diduga telah memiliki tingkat kemurnian yang baik, karena hanya menghasilkan satu noda setelah dilakukan pemisahan dua dimensi.

Tabel 7. Hasil Kromotografi Lapis Tipis Dua Dimensi

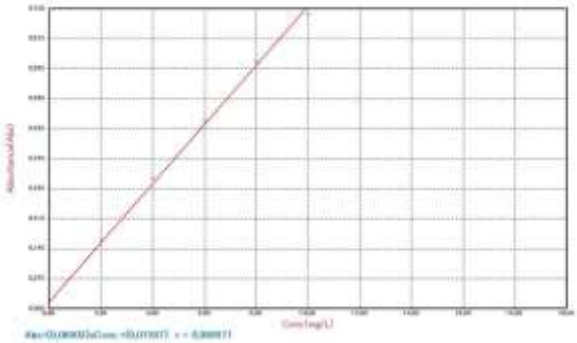
Sampel	Lampu UV 254 nm	Lampu UV 366 nm
Kulit Batang Kemiri *(Aleuritus maluccanus)*		

Kurva baku dibuat menggunakan larutan standar kuersetin dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang maksimum 421,0 nm. Berdasarkan hasil pengukuran diperoleh nilai absorbansi berturut-turut sebesar 0,160; 0,305; 0,437; 0,577; dan 0,687. Data tersebut menghasilkan persamaan regresi linear y = 14,487x − 0,22993, yang menunjukkan hubungan linear antara konsentrasi dan absorbansi. Nilai koefisien korelasi yang mendekati satu menunjukkan bahwa kurva standar memiliki linearitas yang sangat baik sehingga memenuhi Hukum Lambert-Beer, yaitu absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi larutan pada panjang gelombang tertentu.

Sebelum dilakukan pengukuran, sampel kulit batang kemiri dipreparasi dengan menimbang sebanyak 0,5 g ekstrak kemudian dilarutkan dalam 5 mL pelarut sehingga diperoleh konsentrasi awal sebesar 100.000 ppm. Konsentrasi tersebut terlalu tinggi untuk diukur secara langsung karena dapat menghasilkan absorbansi di luar daerah linear kurva baku dan menyebabkan penyimpangan terhadap Hukum Lambert-Beer. Oleh karena itu, dilakukan pengenceran dengan memipet 0,5 mL (500 µL) larutan sampel ke dalam labu ukur, kemudian ditambahkan pelarut hingga tanda batas sehingga diperoleh larutan berkonsentrasi 10.000 ppm. Pengenceran ini bertujuan agar nilai absorbansi sampel berada dalam rentang linear kurva standar sehingga hasil analisis menjadi lebih akurat dan valid.

Berdasarkan hasil pengukuran spektrofotometri UV-Vis, ekstrak kulit batang kemiri (Aleurites moluccanus) memiliki nilai absorbansi sebesar 0,343 pada panjang gelombang 421,0 nm. Pada persamaan regresi kurva baku diperoleh konsentrasi flavonoid sebesar 4,7392 mg/L ekuivalen kuersetin (QE). Setelah memperhitungkan faktor pengenceran 10 kali dan berat sampel 0,5 g, diperoleh kadar flavonoid total sebesar 473,92 mg QE/g dengan persentase kadar sebesar 4,72%.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa kulit batang kemiri mengandung senyawa flavonoid dalam jumlah yang cukup tinggi. Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan alami, yaitu mampu menangkap radikal bebas melalui mekanisme donor atom hidrogen atau elektron sehingga dapat menghambat terjadinya stres oksidatif. Selain itu, flavonoid juga berfungsi sebagai sistem pertahanan tanaman terhadap serangan patogen, radiasi ultraviolet, serta berbagai cekaman lingkungan.



Gambar 1. Hasil Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Tempuyung (Sonchus arvensis) Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Tabel 9. Hasil Pengukuran Standar Kuersetin
Koefisien: K1 = 14,487 ; K0 = -0,22993

No.	Nama	Abs (421,0)	Conc (mg/L)
1	Blanko	0,000	0,0000
2	Kuersetin	0,160	2,0000
3	Kuersetin	0,305	4,0000
4	Kuersetin	0,437	6,0000
5	Kuersetin	0,577	8,0000
6	Kuersetin	0,687	10,0000

Tabel 10. Hasil Pengukuran Pembanding Kuersetin

No.	Nama	Abs (421,0)	Conc (mg/L)	Faktor	Result (mg/L)	Test Time
1	-	0,480	6,8529	1	6,8529	2026-07-01 12:32
2	Alga Merah	0,222	2,9863	1	2,9863	2026-07-09 12:53
3	Kulit Kemiri	0,343	4,7392	1	4,7392	2026-07-09 12:48
4	Batang Kayu Jawa	0,385	5,3477	1	5,3477	2026-07-09 12:48
5	Buah Loa	0,656	9,2738	1	9,2738	2026-07-09 12:53
6	Jamblang	0,161	2,3923	1	2,3923	2026-07-09 12:29

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak etanol kulit batang kemiri (*Aleurites moluccanus* L.) yang diperoleh melalui metode refluks menghasilkan rendemen sebesar 84% dan berhasil dipisahkan melalui fraksinasi cair–cair menjadi fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat. Skrining fitokimia menunjukkan adanya golongan senyawa saponin, sedangkan identifikasi menggunakan kromatografi lapis tipis mengindikasikan keberadaan senyawa flavonoid dengan nilai Rf 0,40 pada fraksi n-heksan dan 0,66 pada fraksi etil asetat yang memenuhi rentang nilai Rf yang baik. Pemisahan lanjutan menggunakan kromatografi kolom menghasilkan 21 fraksi, sementara analisis KLT preparatif dan KLT dua dimensi menunjukkan fraksi hasil isolasi memiliki tingkat kemurnian yang baik karena hanya menghasilkan satu noda utama. Penetapan kadar flavonoid total menggunakan spektrofotometri UV-Vis menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit batang kemiri mengandung flavonoid sebesar 473,92 mg QE/g atau 4,72%. Secara keseluruhan, kulit batang kemiri memiliki potensi sebagai sumber senyawa flavonoid yang dapat dikembangkan lebih lanjut melalui penelitian mengenai isolasi senyawa murni serta pengujian aktivitas biologinya.

DAFTAR PUSTAKA

Anaba, F., Mayasari, N. L. P. I., & Andriyanto. (2021). Potensi Infusa Kemiri (Aleurites Moluccana) Sebagai Analgesik Dan Stimulator Stamina. *Acta Veterinaria Indonesiana*, *9*(1), 14–20.

Andira, M., Shina, I., Wardani, T. S., & Siwi, K. (2024). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak , Fraksi Air , Fraksi Etil Asetat , Fraksi N- Heksan Daun Petai Cina (Leucaena Leucocephala) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Atcc 25923 Universitas Duta Bangsa , Indonesia*. *6*.

Arsy, Y., Setyaningrum, E., Handayani, K., & Nukmal, N. (2021). *Analisis Senyawa Bioaktif Ekstrak Metabolit Sekunder Serratia Marcescens Strain Mbc1*. *04*(02), 64–71. Https://Doi.Org/10.20885/Ijca.Vol4.Iss2.Art3

Darmansyah, A. (2023). Pemisahan Senyawa Terpenoid Ekstrak N-Heksan Daun Kaembu-Embu (Blumea Balsamifera) Menggunakan Kromatografi Kolom Gravitasi. *Urnal Kimia Dan Pendidikan Kimia*, *12*.

Ferdinan, A., & Natasa, E. (2024). Identifikasi Senyawa Flavanoid Ekstrak Etanol Akar Bajakah. *Jurnal Farmasi Ikfa*, *3*.

Hastuari, F. A. (2023). Konserfasi Tanaman Obat Keluarga Unggulan Sebagai Bahan Jamu Tradisional. *Jurnal Pemberdayaan Masyarakat*, *2*.

Herwin, Baita, M., Ririn, & Ayyub, H. N. (2021). Analisis Komponen Aktif Isolat Daun Colcisa Esculenta Idk01 Secara Spektrofotometer Infra Merah. *As-Syifa Jurnal Farmasi*, *1*.

Maulida, S. (2020). Analisis Kadar Tanin Ekstrak Etanol Kulit Batang Kemiri (Aleuritus Maluccanus) Dengan Metode Titrimetri. *Journal Of Pharmaciteucal Care And Science Vol*, *1*.

Novinta, D., Samudra, Agung Giri, & Susanti, Nopri. (2020). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Jati Dan Infusa Daun Jati (Tectona Grandis L.S) Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (Klt). *Jurnal Ilmiah Farmacy*, *7*.

Pratiwi, L., Fudholi, A., Martien, R., & Pramono, S. (2016). *Ethanol Extract , Ethyl Acetate Extract , Ethyl Acetate Fraction , And N-Heksan Fraction Mangosteen Peels (Garcinia Mangostana L .) As Source Of Bioactive Substance Free-Radical Scavengers Ekstrak Etanol , Ekstrak Etil Asetat , Fraksi Etil Asetat , Dan Fraksi N-Heksan Kulit Manggis (Garcinia Mangostana L .) Sebagai Sumber Zat Bioaktif Penangkal Radikal Bebas*. 71–82.

Rosalina, V., Malaysiana, Y., & Ayuningtya, Suryana. (2025). Skrining Fitokimia Dan Kromatografi Lapis Tipis Flavonoid Dengan Fase Gerak N-Heksan: Etil Asetat Pada Ekstrak Etanol 70% Buah Ranti Hitam. *Jurnal Pengembangan Ilmu Dan Praktik Kesehatan*, *4*.

Sahib, A., & Raatnaningsih, Y. (2021). Potensi Dan Pemanfaatan Hasil Hutan Bukan Kayu Kemiri (Aleurites Moluccana) Dikawasan Bkph Tambora Kabupaten Bima. *Jurnal Of Foresty And Plant Science*, *4*(1), 39–44.

Saidi, N., Ginting, B., Murniana, & Mustanir. (2018). *Analisis Metabolit Sekunder*. Syiah Kuala Unifersty.

Suleman, Sulltjiwati, R., & Manteu, H. (2022). Identifikasi Senyawa Saponin Dan Antioksidan Ekstrak Daun Lamun. *Jurnal Fish Prosccesing*, *7*.

Supaya. (2022). Refdes Kombinasi Alat Refluks Dan Distilasi, Upaya Efisiensi Proses Refluks Dan Distilasi Untuk Praktikum Kimia Organik. *Indonesian Journal Of Laboratory I*, *2*(1),

41–46.

Syamsul, E. S. (2021). Perbandingan Ekstrak Lampur Aquilaria Malaccenis Dengan Metode Maserasi Dan Refluks. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, *2*.

Syarifuddin, K., & Yusriyani. (2021). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavanoid Esktrak N-Butanol Dan Tempuyung Secara Spektrofotometri Infra Merah. *Fito Medicine : Jurnal Phmarmcy And Scine*, *12*(2).

Triyanti, S. B., Lestari, F. P., Anisa, P., Fitriana, N., & Rostiana, H. R. (2025). *Pengaruh Metode Ekstraksi Maserasi , Sonikasi , Dan Sokletasi Terhadap Nilai Rendemen Sampel Kulit Buah Naga (Hylocereus Polyrhizus)*. *8*(1), 71–78.

Widyaningrum, N. R., & Ningrum, A. N. (2021). *Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis Dan Aktivitas Antipiretik Ekstrak Etanol Daun Ipomoea Carnea Jacq Melalui Induksi Pepton Pada Mencit Jantan*. *4*(2), 91–106.