

**PENETAPAN KADAR KUERSETIN PADA EKSTRAK
ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam)
DENGAN METODE KLT DENSITOMETRI**

SKRIPSI



Oleh :

AZZAHRA NURUL AROFA

NIM : 2020112028

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2024**

ABSTRAK

Daun kelor merupakan tumbuhan obat yang kaya dengan komponen fitokimia bioaktif salah satunya kuersetin. Pada penelitian ini dilakukan kadar kuersetin dalam ekstrak daun kelor menggunakan metode KLT-Densitometri. Ekstrak daun kelor diperoleh melalui metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Kadar kuersetin ditentukan dengan KLT Densitometri pada panjang gelombang serapan maksimum 318,5 nm. Berdasarkan hasil penelitian kuersetin diperoleh ekstrak daun kelor sebanyak 29,52g (11,81%) dengan karakteristik organoleptis berwarna hijau-kehitaman, bau khas, rasa pahit, susut pengeringan 9,99%, kadar abu 5,28% dan mengandung flavonoid, fenolik, saponin dan terpenoid. Pada pemeriksaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), ekstrak daun kelor teridentifikasi mengandung kuersetin dengan nilai R_f 0,41 pada eluen B Kloroform : Etil Asetat : Asam Formiat (8 : 1,5 : 0,5). Kadar kuersetin dalam ekstrak daun kelor yang ditentukan dengan KLT-Densitometri pada panjang gelombang serapan maksimum 318,5 nm diperoleh sebesar 0,310 %b/b(3,10 mg/g). Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kuersetin dapat diidentifikasi dan ditetapkan kadarnya dalam ekstrak daun kelor dengan metode KLT-Densitometri.

Kata kunci : Daun kelor , KLT-Densitometri, Kuersetin.

ABSTRACT

Moringa leaf is a plant rich in bioactive phytochemical components, one of which is quercetin. At This study was conducted to determine the level of quercetin in moringa leaf extract using the KLT-Densitometry method. Moringa leaf extract was obtained through maceration method using 96% ethanol solvent using 96% ethanol solvent. Quercetin levels were determined by KLT Densitometry at a maximum absorption wavelength of 318.5 nm. Based on the results of quercetin research obtained as much as 29.52 g (11.81%) of moringa leaf extract with the following characteristics organoleptic green-black color, distinctive odor, bitter taste, drying shrinkage of 9.99%, ash content of 5.28% and contains flavonoids, phenolics, saponins and terpenoids. In the chromatography examination Thin Layer Chromatography (KLT), the moringa leaf extract was identified as containing quercetin with an *R_f* value of 0.41 on eluent B Chloroform: Ethyl Acetate: Formic acid (8:1,5 :0,5). Quercetin content in moringa leaf extract determined by KLT-Densitometry at the maximum absorption wavelength of 318.5 nm was obtained as 0,310 %b/b (3,106 mg/g). From the results of the study, it can be concluded that quercetin can be identified and determined.and determine its level in moringa leaf extract by KLT-Densitometry method.

Keywords: Leaves *Moringa oleifera Lam*, KLT-Densitometry, Quercetin

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki ragam tumbuhan yang dapat dijadikan sebagai sumber nutrisi dan telah diteliti memiliki khasiat obat. Berbagai macam penyakit dengan terapi obat sintetis dapat menyebabkan efek samping, sehingga pengobatan bahan alam menjadi alternatif terapi. Salah satu tumbuhan yang banyak digunakan sebagai alternatif terapi tradisional adalah daun kelor (*Moringa oleifera* L.) (Annisa dkk, 2021). Keberadaan tumbuhan kelor di Indonesia dan khususnya Sumatera Barat sangat berlimpah, sehingga daun kelor ini dikonsumsi sebagai sayuran. Walaupun di Indonesia kelor tumbuh dan tersebar luas, namun pemanfaatannya masih terbatas sebagai pakan ternak. Berbeda dengan di Eropa, daun kelor diteliti secara mendalam diketahui sangat berguna untuk memelihara dan meningkatkan kesehatan sehingga disebut "*miracle tree*". (Badan Pengawasan Obat dan Makanan, 2016).

Kelor dapat tumbuh di daerah subtropis pada semua jenis tanah dan tahan terhadap musim kemarau dalam waktu enam bulan. Daun kelor banyak dimanfaatkan masyarakat sebagai obat tradisional, sayuran, kecantikan dan makanan sehat. Salah satu manfaat daun kelor untuk kecantikan adalah sebagai *antiaging* (penuaan dini), melembabkan dan mengatasi kulit kering. Ekstrak daun kelor juga telah diteliti memiliki aktivitas antidiabetes, penghambat tirosinase, antibakteri, antioksidan, anti inflamasi dan anti arthritis (Annisa dkk, 2021). Beragam khasiat farmakologi yang ditunjukkan oleh daun kelor tidak terlepas dari kandungan metabolit sekunder yang terdapat di dalamnya. Kelor dilaporkan

mengandung komponen kimia sumber senyawa polifenol seperti flavonoid dan asam fenolik. Flavonoid utama yang ditemukan pada daun kelor adalah myricetin, quercetin, leutin dan kaempferol (Vergara-Jimenez M. A., 2017). Daun kelor juga kaya akan pro vitamin A, C, E terutama betakaroten yang akan diubah menjadi vitamin A didalam tubuh dan berpengaruh signifikan terhadap hepatoprotektor.

Salah satu aktivitas biologis kuersetin yang paling potensial adalah aktivitasnya sebagai antioksidan, sehingga dapat digunakan sebagai pencegah kanker yang poten dan menjadi penghambat kuat pada pertumbuhan sel kanker. Senyawa kuersetin bertindak sebagai antioksidan dikarenakan memiliki gugus hidroksil yang dapat mendonorkan atom hidrogen pada senyawa radikal bebas dan menstabilkan senyawa oksigen reaktif (ROS) (Hardianti, 2015). Data dari Natural Product Alert (1999) dalam (Syofyan L. H., 2008) dan publikasi lainnya menunjukkan bahwa aktivitas kuersetin sangat luas diantaranya dapat beraktifitas sebagai antioksidan, antibakteri, antiedema, *antifungal*, antiinflamasi, antitumor antikanker, anti ulcer, antiviral dan lain sebagainya sehingga bioaktif kuersetin ini memberikan harapan sebagai bahan baku obat yang sangat potensial untuk dikembangkan.

Beberapa penelitian telah melakukan penetapan kadar kuersetin dalam daun kelor yaitu menggunakan metode HPLC dan LC-MS. Berdasarkan hasil review penelitian dari (Amaglo, et al., 2010) dan (Coppin, et al., 2013) yang menyatakan data kadar kuersetin dan daun kelor dari beberapa negara diperoleh kadar dengan rentang 0,46 mg/g–16,64 mg/g.

Penetapan kadar kuersetin juga dapat dilakukan dengan metode lainnya yaitu KLT Densitometri. Contohnya penelitian dari Sofia Adelima, (2016) tentang penetapan kadar kuersetin pada ekstrak daun sirsak dengan metode KLT Densitometri dan diperoleh nilai sebesar 1,288% b/b. Penelitian lain oleh (Etty Sulistyowati, (2021) dengan metode yang sama juga dilakukan terhadap kuersetin pada Fraksi Etil Asetat Daun Kenikir (*Cosmos caudatur* H.B.K) secara Densitometri dengan perolehan sebesar $2,884 \pm 0,0306$ mg/g.

Kelebihan dari metode KLT-Densitometri adalah spesifisitas yang tinggi dan dapat dipercaya, pengerjaan yang cepat dan mudah, biaya pengoperasian yang murah, jumlah pelarut dan polaritas yang mudah diatur dan jumlah pelarut yang dibutuhkan sedikit (Khopkar, 1990). Metode ini juga memberikan ruang untuk bebas memilih fase gerak dan juga memiliki cara optimasi pemisahan yang bervariasi (Rahman, 2009). Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti ingin melakukan penelitian identifikasi dan penetapan kadar yaitu kuersetin dari ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan menggunakan metode KLT-Densitometri.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah kuersetin dapat teridentifikasi di dalam ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan metode Kromatografi Lapis Tipis?
2. Apakah kadar kuersetin dalam ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dapat ditentukan dengan metoda KLT-Densitometri?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengidentifikasi kuersetin di dalam ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan metode Kromatografi Lapis Tipis.
2. Untuk mengetahui kadar kuersetin dalam ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan metoda KLT-Densitometri.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi Peneliti

Dapat mengetahui penetapan kadar kuersetin dalam ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan menggunakan metode KLT Densitometri.

2. Bagi Masyarakat

Penelitian ini mampu memberikan informasi serta menambah ilmu pengetahuan bagi masyarakat di bidang kesehatan dan potensi penetapan kadar kuersetin dari ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.).

3. Bagi Peneliti lain

Penelitian ini mampu dijadikan dasar dalam penelitian selanjutnya untuk pencarian penetapan kadar terhadap kuersetin dan sumber informasi yang dapat menjadikan bahan pertimbangan dalam penelitian selanjutnya.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Botani Tumbuhan Kelor

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan Kelor (*Moringa oleifera* L.)

Klasifikasi tumbuhan kelor (*Moringa oleifera* L.) menurut (USDA, 2013).

Kingdom	: Plantae
Sub kingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Dilleniidae
Famili	: Moringaceae
Genus	: Moringa
Spesies	: <i>Moringa oleifera</i> L.



Gambar 1. Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) (Berawi, 2019)

2.1.2 Sinonim

Moringa pterygosperma Gaertn, *Guilandina moringa* L. (BPOM, 2016).

2.1.3 Nama Daerah

Pada dasarnya beberapa daerah di Indonesia tumbuhan kelor (*Moringa oleifera* L.) mempunyai nama yang berbeda-beda seperti misalnya marunggai (Minangkabau), kilor (Lampung), kèlor (Sunda), kèlor (Jawa), maronggi (Madura), kèlor (Kangean), kèlor, cèlor (Bali) dan banyak daerah lainnya (BPOM, 2016).

2.1.4 Morfologi Tumbuhan

Daun kelor termasuk ke dalam famili *moringaceae* dengan morfologi daunnya berbentuk bulat telur dengan ukuran relatif kecil, helai daun memiliki warna hijau muda, daun majemuk dan tersusun berselang-seling dan beranak daun gasal (Berawi, 2019) seperti yang ditunjukkan pada gambar 1. Daun kelor mengandung vitamin A, vitamin C, vitamin B, kalsium, kalium, besi dan protein dalam jumlah sangat tinggi yang mudah dicerna dan diasimilasi oleh tubuh manusia (Yulianti, 2016).

Tumbuhan kelor berupa pohon yang tingginya dapat mencapai 10 meter, berumur panjang (*perennial*), tegak, berwarna putih kotor, kulit tipis, permukaan kasar. Percabangan tumbuhan jarang dan tumbuh memanjang. Daun kelor merupakan daun majemuk, bertangkai panjang, tersusun berseling (*alternate*), beranak daun gasal (*imparipinnatus*), helai daun saat muda berwarna hijau muda, setelah dewasa hijau tua, bentuk helai daun bulat telur, panjang 1-2 cm, lebar 1-2 cm, tipis lemas, ujung dan pangkal tumpul (*obtusus*), tepi rata, susunan pertulangan menyirip (*pinnate*), permukaan atas dan bawah halus. Bunga muncul di ketiak daun (*axillaris*), bertangkai panjang, kelopak berwarna putih agak krem, menebar aroma khas. Buah kelor berbentuk panjang bersegi tiga, panjang 20-60 cm, buah muda berwarna hijau setelah tua menjadi coklat, bentuk biji bulat berwarna coklat

kehitaman, berbuah setelah berumur 12-18 bulan. Akar tunggang, berwarna putih, membesar seperti lobak. Perbanyakan bisa secara generatif (biji) maupun vegetatif (stek batang) (Krisnadi, 2015).

2.1.5 Manfaat dan Aktivitas Farmakologi Tumbuhan Kelor

Tumbuhan kelor secara tradisional sudah banyak digunakan dalam mengobati berbagai penyakit. Bagian akar dari tumbuhan kelor sering digunakan dalam mengobati berbagai penyakit sebagai stimulan dan diuretik, kardiotonik dan antiepilepsi. Rebusan biji kelor dipercaya berkhasiat sebagai antiinflamasi, antispasmodik dan diuretik. Kulit kayunya digunakan sebagai *abortifacient* (keguguran), *antifungi*, dan antibakteri. Bunganya digunakan sebagai stimulan, kardiotonik, diuretik dan hipoglikemik (Mishra, 2011). Seluruh bagian dari tumbuhan kelor biasa digunakan untuk berbagai tujuan pengobatan tradisional (Mishra, 2011), tetapi yang paling sering digunakan oleh masyarakat adalah bagian daunnya.

Daun kelor kaya akan protein, mineral, beta-karoten dan antioksidan yang sering digunakan untuk mengobati malaria, demam typhoid, arthritis, penyakit kulit, penyakit saluran kemih, hipertensi dan diabetes. Masyarakat Tripura, India biasa mengkonsumsi campuran pasta daun dan akar kelor setelah selesai masa menstruasi sebagai metode kontrasepsi (Das *et al*, 2014). Selain itu, secara tradisional daun kelor juga digunakan untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh (untuk mengobati gejala terkait HIV/AIDS) dan stimulan jantung (Leone, 2015).

Berbagai penelitian sudah banyak dilakukan terhadap aktivitas tumbuhan kelor secara farmakologi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tumbuhan kelor memiliki aktivitas sebagai antipiretik, antiinflamasi, analgesik, hipokolesterolemik,

penyembuh luka, antitiroid, antimikroba, antispasmodik, antihiperglikemik, antitumor, antiplasmodial, antifertilitas, antioksidan, diuretik, antihipertensi dan antikanker ((Pandey, 2012) dan (Mishra, 2011).

2.2 Kandungan Kimia

Kelor diketahui mengandung lebih dari 90 jenis nutrisi berupa vitamin esensial, mineral, asam amino, karbohidrat dan protein. Selain kaya akan nutrisi tanaman kelor juga mengandung berbagai komponen fitokimia yang dapat dilihat pada tabel berikut ini.

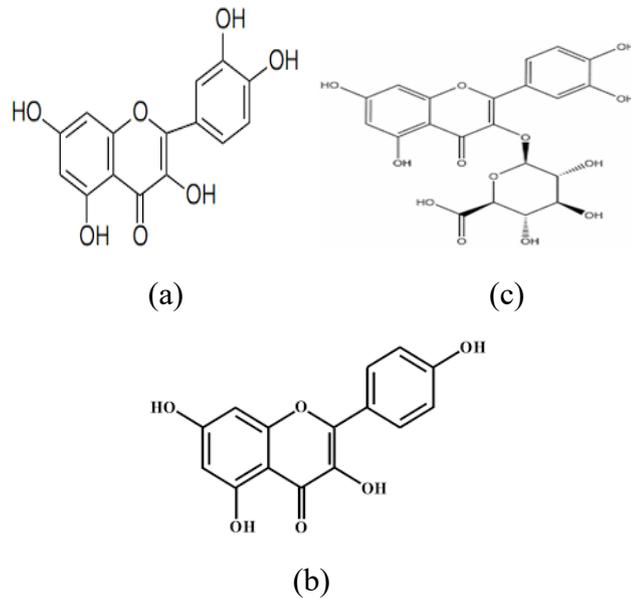
Berikut beberapa kandungan kimia pada berbagai tubuh tumbuhan kelor :

Tabel 1. Kandungan kimia *Moringa oleifera* Lam (Sing GP, 2012) & (Kesharwani S, 2014).

Bagian	Kandungan Kimia
Daun	Dua glikosida nitril niazirin, niazirin, tiga mustard oil glycosides, 4-[(4'-O-acetyl- α -L-rhamnosyloxy)benzyl] isothiocyanate, niaziminin. A and B, α -senyawa L-rhamnosidase of 4-hydroxy-benzyl dengan nitrile, carbamate and thiocarbamate. Groups flavonoids (kaempferol, quercetin, rutin, asam askorbat dan karotenoid).
Batang	4-hydroxy mellein, vanillin, β -testosterone, octadecanoic acid dan β -sitosterol.
Kulit kayu	4-(α -L-rhamnopyranosyloxy)-benzylglucosinolate
Eksudat gum	L-arabinosa, D-galaktosa, asam D-glukonat, L-rhamnose, D-manosa, D-xylosa dan leukoantosianin

Akar	4-(α -L-rhamnopyranosyloxy)-benzyl glucosinolate benzyl glucosinolate`1
Bunga yang Matang	Sugars, D-mannose and D-glucose , G-galactose and D-glucuronic acid
Keseluruhan Biji	Nitriles, an isothiocyanate and Thicarbamates and O-[2'-hydroxy-3'-(2''-ethenyloxy)]-propyldecane dan O-ethyl-4-[(α -l-rhamnosyl oxy)-benzyl] carbamate
Minyak biji	Vitamin A, β -karoten, prekursor vitamin A

Berikut ini contoh struktur dari beberapa senyawa yang terkandung dalam daun kelor.



Gambar 2. a) Struktur kuersetin, (b) Struktur Kaempferol (c) Struktur Kuersetin-3-O- β -glukosida (Leone, 2015).

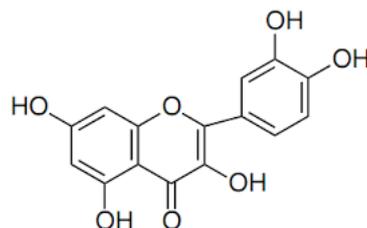
2.3 Kuersetin

2.3.1 Monografi Kuersetin

Kuersetin adalah flavonol yang dapat ditemui dalam berbagai buah, sayur dan daun. Kuersetin dapat digunakan sebagai bahan suplemen, minuman, atau makanan.

Rumus	: $C_{15}H_{10}O_7$
Massa molar	: 302,236 g/mol
Rumus kimia	: $C_{15}H_{10}O_7$
Titik lebur	: 316 °C
Klasifikasi	: Flavonoid
Densitas	: 1.799 g/cm ³
Kelarutan dalam air	: Tidak larut dalam air; larut dalam larutan alkalin encer.

Kuersetin termasuk salah satu senyawa flavonoid, di mana digolongkan ke dalam subkelas flavonol. Flavonoid flavonol mempunyai ciri khas, yaitu mempunyai gugus hidroksil pada atom C nomor 3,5,7, serta 4' pada struktur dasar flavonoid *2-phenyl-chromane*. Kuersetin termasuk salah satu senyawa flavonoid, di mana digolongkan ke dalam subkelas flavonol. Flavonoid flavonol mempunyai ciri khas, yaitu mempunyai gugus hidroksil pada atom C nomor 3,5,7, serta 4' pada kerangka dasar flavonoid *2-phenyl-chromane*.



Gambar 3. Struktur Kuersetin

Kuersetin merupakan senyawa antioksidan kuat yang terdapat pada daun kelor dimana kekuatannya 4-5 kali lebih tinggi dibandingkan dengan vitamin C dan vitamin E (Jusnita, 2019). Kuersetin memiliki berbagai aktivitas seperti antioksidan, anti kanker, anti inflamasi, hepatoprotektor dan menurunkan tekanan darah. Kuersetin juga dapat digunakan sebagai pencegah kanker poten yaitu dengan menghambat pertumbuhan sel kanker payudara, usus, paru-paru dan ovarium (Kakran & Lin, 2011).

Potensi kuersetin di dalam dunia kesehatan sangat banyak. Untuk dapat mengembangkan potensi kuersetin dari senyawa alam salah satunya tumbuhan kelor yang terdapat berlimpah di Indonesia, maka perlu dilakukan ekstraksi.

Ekstraksi kuersetin dari tumbuhan dapat dilakukan dengan berbagai metode. Pada penelitian ini ekstraksi kuersetin dari daun kelor dilakukan dengan menggunakan metode yang berbeda yaitu maserasi, sokhletasi, dan refluks.

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan pengambilan senyawa kimia yang terkandung dalam tumbuhan dengan menggunakan pelarut cair sehingga didapatkan suatu ekstrak yang larut dan dapat memisahkan dari komponen yang tidak larut. Proses ekstraksi dapat dilakukan dengan cara maserasi dan perkolasi.

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Harbone, 1987).

1. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi sederhana dengan cara merendam bahan alam atau tumbuhan dalam pelarut dan waktu tertentu dengan beberapa kali pengocokan dan pengadukan pada suhu kamar. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan.

2. Perlokasi

Perkolasi adalah proses ekstraksi dengan cara melewatkan pelarut secara lambat pada simplisia dalam suatu alat perkolator pada suhu kamar. Proses ini terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan atau penampungan ekstrak) terus-menerus sampai diperoleh ekstrak atau perkolat yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

3. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada suhu titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

4. Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

5. Digestasi

Digestasi adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada suhu yang lebih tinggi dari suhu kamar yaitu secara umum dilakukan pada suhu 40-50°C. Cara ini dilakukan untuk simplisia yang pada suhu kamar tidak terekstrak dengan baik.

6. Infusa

Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan ekstraksi simplisia nabati dengan air pada suhu 96-98°C selama waktu tertentu (15-20 menit).

7. Dekokta

Dekokta adalah suatu proses ekstraksi yang hampir sama dengan infusa, tetapi dekokta dipanaskan selama 30 menit sampai dengan 90°C. Cara ini dapat dilakukan untuk simplisia yang tidak mengandung minyak atsiri atau simplisia yang mengandung bahan yang tahan terhadap pemanasan.

2.4.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi adalah suatu metode pemisahan zat terlarut dengan proses perpindahan dinamis yang melibatkan dua fase, salah satu fasenya bergerak dengan arah tertentu dan didalamnya senyawa tersebut menunjukkan perbedaan sehingga dapat diidentifikasi senyawa-senyawa tersebut. Fase gerak yang pada umumnya berbentuk cair atau gas, membawa zat terlarut melalui media sehingga terpisah dari zat terlarut lainnya. Sedangkan, fase diam bertindak sebagai pengikat atau penangkap zat terlarut yang terpisah tersebut sehingga fase yang biasanya menggunakan suatu penyangga yang inert ini dapat mengidentifikasi senyawa yang terpisah dari zat terlarut lainnya ((Depkes) RI, 2009).

Fase diam yang digunakan memiliki perbedaan sifat yang ditentukan dari struktur, ukuran, kemurnian, maupun zat pengikat yang digunakan. Beberapa fase diam yang biasa digunakan adalah silika gel, alumina dan selulosa. Masing-masing fase diam yang digunakan memiliki sifat yang berbeda sehingga kegunaannya pun berbeda. Misalnya, pada silika gel yang identik dengan penggunaannya pada KLT, alumina yang memiliki aktivitas tinggi dan dapat diatur pH nya sehingga bisa memiliki sifat basa, netral, atau asam, selulosa yang biasanya digunakan senyawa yang bersifat polar (Hansen, 2012).

Fase gerak yang biasanya digunakan dalam kromatografi adalah pelarut organik yang bisa digunakan sebagai pelarut tunggal maupun campuran. Pemilihan pelarut organik digunakan sebagai dasar dari pemisahan senyawa yang akan dilakukan sehingga sangat penting dilakukan pemilihan pelarut organik dengan pendekatan polaritas (Hansen, 2012).

Jenis-jenis kromatografi yang digunakan dalam penelitian untuk menganalisis secara kualitatif dan kuantitatif yang digunakan untuk penetapan kadar dan pengujian dalam tumbuhan biasanya menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Gas (KG), dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Pada KLT biasanya digunakan lempeng kaca, plastik, atau logam yang dilapisi dengan serbuk halus fase diam. Pada umumnya, lapisan tipis pada KLT berupa serbuk penukar ion sehingga efektif untuk memisahkan senyawa polar ((Depkes) RI, 2009).

Kromatografi lapis tipis adalah suatu kromatografi adsorpsi dan adsorben yang berperan sebagai fase stasioner. Empat macam adsorben yang sering

digunakan atau umum dipakai adalah silika gel (asam silikat), selulosa, kieshelguhr (*diatomaceous earth*) dan alumina (*aluminium oxide*). (Adnan, 1997).

Kelebihan penggunaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dibandingkan dengan Kromatografi Kertas (KK) yakni bisa menghasilkan pemisahan yang lebih sempurna, kepekaan yang tinggi dan bisa dilaksanakan dengan waktu yang lebih cepat (Adnan, 1997).

Pada KLT, pemisahan senyawa dalam suatu cuplikan analit dapat dievaluasi secara kualitatif dengan menentukan harga *Rf* (*Retention factor*). Harga *Rf* merupakan perbandingan antara jarak senyawa dari titik awal dan jarak antar muka pelarut dari titik awal.

$$Rf = \frac{\text{Jarak dari titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{Jarak garis depan dari titik awal}}$$

Menurut (Gritter R. , 1997) harga *Rf* dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pelarut, bahan pengembang, jenis dan ketebalan lapisan, suhu, kejenuhan ruangan akan pelarut, kelembaban udara, konsentrasi senyawa asing dan pencemaran pelarut. Penetapan letak bercak yang dihasilkan pada KLT dapat dilihat dengan pengamatan langsung jika senyawanya tampak pada cahaya tampak atau pada sinar ultraviolet atau dengan pengamatan setelah disemprotkan dengan larutan penampak bercak ((Depkes) RI, 2009).

2.4.2 KLT-Densitometri

KLT-densitometri merupakan metode analisis instrumental yang didasarkan pada interaksi radiasi elektromagnetik dengan analit yang merupakan bercak pada kromatografi lapis tipis (Rohman, 2009). Prinsip KLT-Densitometri adalah bercak noda pada plat disinari dengan cahaya UV dalam λ maks senyawa uji (analit), sebagian sinar akan diabsorpsi analit dan sebagian lain akan direfleksikan dan

mengenai detektor. Mekanisme lainnya, sinar diserap oleh analit yang mengakibatkan molekul tereksitasi, namun kemudian kembali ke keadaan semula/dasar dengan mengemisikan energi/cahaya yang ditangkap oleh detektor. Tangkapan detektor akan diterjemahkan dalam bentuk grafik/kromatogram yang menggambarkan karakteristik zat yang diukur.

Teknik pengukuran dapat didasarkan atas pengukuran intensitas sinar yang diserap (absorbansi), intensitas sinar yang dipantulkan (reflektansi) atau intensitas sinar yang di fluoresensikan (Ganjar, 2007). Metode KLT Densitometri ini memiliki beberapa kelebihan yaitu spesifisitas yang tinggi, dapat dipercaya, pengerjaan relatif mudah dan cepat, biaya pengoperasian relatif murah, polaritas pelarut atau pelarut campuran dapat diubah dalam waktu singkat dan jumlah pelarut yang digunakan sedikit (Rohman, 2009).

Komponen penting dari densitometer antara lain sebagai sumber radiasi (*Source*), pengatur panjang gelombang (λ *selector*), beam splitter, thin layer plate (*end view*), detector phototube (*transmittance position*). Sumber radiasi ada 3 macam tergantung rentang panjang gelombang dan prinsip penentuan. Pada umumnya densitometri memberikan rentang gelombang penentuan 200-630 nm. Lampu Deuterium (D2) dipakai untuk pengukuran pada daerah cahaya tampak. Sama seperti pada spektrofotometri, pada densitometri juga dilakukan penentuan transmisi atau adsorpsi dan refleksi pada panjang gelombang maksimal. Monokromator dengan fungsi yang sama seperti pada spektrofotometri UV-Vis yang diperlukan pada densitometer. Biasanya dipakai monokromator kisi difraksi 1200 garis/mm.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan 6 bulan (Desember 2024-Mei 2024) di Laboratorium Kimia Bahan Alam Farmasi Universitas Perintis Indonesia (UPERTIS) dan Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Andalas (UNAND) Padang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat rotary evaporator, alat, kertas saring, toples kaca, blender, neraca analitik (OHAUS Carat Series PAJ1003), Seperangkat alat analisis KLT-KT Densitometer (CAMAG TLC Scanner 3 CAT. No. 027.6485 SER. No. 160602), Bejana kromatografi, Chamber, lempeng KLT silika gel 60 GF 25 4.(E, Merck), pipet mikro 1 μ L, Spektrofotometri uv-vis (Single Beam) dan alat-alat gelas yang biasa digunakan dalam laboratorium.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah baku kuersetin, etanol 96%, toluene, etil asetat, asam formiat, plat KLT, silika gel 60F₂₅₄, kloroform P-metanol, daun kelor (*Moringa oleifera* Lam), aquades yang disaring yang diperoleh dari laboratorium Farmasi Universitas Perintis Indonesia.

3.3 Prosedur Kerja

3.3.1 Persiapan Sampel

Sampel yang digunakan adalah daun kelor yang diperoleh di daerah Pasaman Barat, Sumatera Barat.

3.3.2 Identifikasi Daun Kelor

Identifikasi daun kelor dilakukan di Herbarium ANDA Jurusan Biologi Fakultas FMIPA Universitas Andalas (UNAND) Padang.

3.3.3 Pembuatan Simplisia Daun Kelor

Sampel segar yang disediakan sebanyak 2,5 kg daun kelor lalu ambil daun segar lalu dibersihkan dengan air mengalir kemudian sampel yang sudah bersih dikeringkan dengan cara diangin-anginkan \pm selama 5-7 hari pada suhu ruang sampai menjadi simplisia kering. Setelah menjadi simplisia kering sampel di haluskan dengan menggunakan blender dan agar serbuk simplisia yang akan di gunakan benar benar halus (Susanty, 2019).

3.3.4 Ekstraksi Daun Kelor dengan Metode Maserasi

Serbuk simplisia kering daun kelor ditimbang sebanyak 250 gram neraca analitik dan ditambahkan etanol 96% pada botol kaca besar berwarna gelap sebagai wadah maserasi. Pelarut pengestraksi yang ditambahkan menggunakan perbandingan 1:10 sehingga digunakan 2,5 L ke etanol. Pelarut dituang ke dalam wadah yang telah berisi serbuk daun kelor dan disimpan selama 3 hari dengan diaduk 2 kali sehari. Selanjutnya disaring dengan menggunakan kertas saring dan corong saringan. Kemudian diuapkan secara vakum dengan menggunakan *rotary evaporator* (suhu 50°C, kecepatan 90 rpm) hingga tidak ada uap etanol yang menetes pada labu alas bulat penampung kaca *rotary evaporator*. Prosedur ekstraksi di ulangi sebanyak 3 kali. Filtrat kental yang diperoleh digabungkan dan diuapkan hingga kental.

3.3.5 Parameter Spesifik

3.3.5.1 Pengujian Organoleptis

Penentuan organoleptis dengan mengamati penampakan fisik daun kelor dimaksudkan sebagai pengenalan awal untuk mendeskripsikan bentuk, warna, bau dan rasa menggunakan panca indra (Utami, 2016).

3.3.5.2 Penentuan Rendemen Ekstrak Daun Kelor

Pemeriksaan rendemen ekstrak etanol dapat dilakukan dengan membandingkan berat ekstrak daun kelor yang didapat dengan berat sampel awal dan dihitung hasilnya (Depkes RI., 2000).

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

3.3.6 Pemeriksaan Parameter Non Spesifik Daun Kelor

3.3.6.1 Penetapan Susut Pengeringan

Ekstrak daun kelor ditimbang sebanyak 1-2 gram kemudian dimasukkan kedalam krus yang telah ditera, dan dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 60 menit. Setelah itu, ditimbang krus porselen yang didalamnya terdapat sampel yang telah dipanaskan. Lalu dihitung susut pengeringan dalam persen terhadap bobot sampel yang dipakai. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali dan catat hasil dalam bentuk persen (Depkes RI, 2000).

$$\% \text{ Susut Pengeringan} = \frac{(B-A)-(C-A)}{(B-A)} \times 100\%$$

Keterangan:

A = Berat Krus Kosong (g)

B = Berat Krus + Sampel Sebelum Pengeringan (g)

C = Berat Krus + Sampel Setelah Pengeringan (g)

3.3.6.2 Penetapan Kadar Abu

Sebanyak 2-3 gram ekstrak daun kelor ditimbang seksama dan dimasukkan kedalam krus porselen yang telah dipijarkan dan ditera, kemudian ekstrak diratakan. Kemudian dipijarkan perlahan sampai terbentuknya arang, didinginkan dan ditimbang. Krus dimasukkan ke dalam furnace dengan suhu $\pm 600^{\circ}\text{C}$ sampai karbon kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang berat abu. Kadar abu ditentukan dalam persen terhadap berat sampel yang digunakan (Depkes RI D. K., 2000).

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{(C-A)}{(B-A)} \times 100\%$$

Keterangan:

A = Berat Krus Kosong (g)

B = Berat Krus + Sampel Sebelum Pemijaran (g)

C = Berat Krus + Sampel Setelah Pemijaran (g)

3.3.7 Evaluasi Ekstrak

3.3.7.1 Skrining Fitokimia Daun Kelor

Skrining fitokimia dari ekstrak etanol daun kelor yang dilakukan meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, fenolik dan terpenoid. Sebanyak 0,5 mg ekstrak etanol daun kelor ditambah 5 mL aquadest dan 5 mL kloroform asetat di dalam tabung reaksi. Selanjutnya dipisahkan menggunakan corong pisah, dibiarkan hingga terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan air dan lapisan kloroform. Lapisan kloroform terdapat di bagian bawah yang dipakai untuk memeriksa senyawa alkaloid, terpenoid serta steroid. Pada lapisan air yang terlihat pada bagian atas digunakan untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid, serta saponin (Harborne, 1897).

1. Uji Alkaloid (Metode “Culvenor – Fitzgerald”)

Diambil 1 mL lapisan kloroform, ditambahkan 1 mL kloroform, amoniak 0,05 N, diaduk perlahan, ditambahkan 10 tetes H_2SO_4 2N, dikocok perlahan, dibiarkan memisah. Lapisan asam ditambahkan beberapa tetes pereaksi Mayer, reaksi positif alkaloid ditandai adanya endapan putih hingga gumpalan putih (Harborne, 1987).

2. Uji Flavonoid (Metode “Sianidin Test”)

Diambil lapisan air 1 – 2 tetes lalu diteteskan pada plat tetes ditambahkan serbuk Mg dan $HCl_{(p)}$, terbentuknya warna merah menandakan adanya flavonoid (Harborne, 1987).

3. Uji Fenolik

Diambil lapisan air 1-2 tetes, diteteskan pada plat tetes dan ditambahkan $FeCl_3$, terbentuknya warna biru menandakan adanya kandungan fenolik (Harborne, 1987).

4. Uji Saponin

Diambil lapisan air, dimasukkan dalam tabung reaksi lalu tabung reaksi dikocok kuat – kuat, terbentuknya busa permanen (\pm 15 menit) menandakan adanya saponin (Harbone, 1987).

5. Uji Terpenoid dan Steroid (Metode “Simes”)

Diambil sedikit lapisan kloroform dan saring melalui pipet yang didalamnya sudah terdapat kapas norit, hingga diperoleh filtrat jernih tidak berwarna. Teteskan filtrat pada 3 lobang plat tetes, biarkan kering, kemudian lobang pertama ditambahkan asam asetat anhidrat, lobang kedua ditambahkan $H_2SO_{4(p)}$, lobang ketiga ditambahkan asam asetat anhidrat dan $H_2SO_{4(p)}$,

terbentuknya warna biru atau hijau menandakan adanya steroid sedangkan bila terbentuk warna merah menunjukkan adanya terpenoid (Harborne, 1987).

3.3.8 Pemilihan eluen KLT-Densitometri

a. Penyiapan plat KLT

Plat yang digunakan adalah plat silika gel 60 GF₂₅₄. Sebelum digunakan plat KLT dipanaskan terlebih dahulu di dalam oven selama 15 menit. Pada suhu 105°C. Plat KLT kemudian dipotong dengan ukuran 3 x 7 cm dan diberi garis dengan pensil yaitu 1 cm dari bawah (batas bawah) dan 0,5 cm dari atas (batas atas).

b. Pembuatan eluen KLT-Densitometri

Eluen yang digunakan merupakan campuran dari beberapa pelarut dengan perbandingan tertentu untuk memperoleh indeks polaritas yang berbeda.

Kombinasi eluen yaitu :

Tabel 2. Indeks polaritas eluen (Gritter R. b., 1991) :

Pelarut	Indeks polaritas
Kloroform	4,1
Etil Asetat	4,4
Asam formiat	6
Metanol	5,1
Toluen	2,4

- a. Kloroform : metanol (9 : 1)
- b. Kloroform : etil asetat : asam formiat (8: 1,5 : 0,5)
- c. Toluena : etil asetat : asam formiat (5 : 4 : 1)

➤ Perhitungan Indeks Polaritas

1. Indeks polaritas eluen 1 (metanol dalam kloroform sebanyak 10 ml larutan)

$$\begin{aligned}
 &= \left(\frac{9}{10} \times 4,1\right) + \left(\frac{1}{10} \times 5,1\right) \\
 &= 3,69 + 0,51 \\
 &= 4,2
 \end{aligned}$$

2. Indeks polaritas eluen 2 (asam formiat dan etil asetat dalam kloroform sebanyak 10 ml larutan)

$$\begin{aligned}
 &= \left(\frac{8}{10} \times 4,1\right) + \left(\frac{1,5}{10} \times 4,4\right) + \left(\frac{0,5}{10} \times 6\right) \\
 &= 3,28 + 0,66 + 0,3 \\
 &= 4,24
 \end{aligned}$$

3. Indeks polaritas eluen 3 (asam formiat dan etil asetat dalam 10 ml larutan)

$$\begin{aligned}
 &= \left(\frac{5}{10} \times 2,4\right) + \left(\frac{4}{10} \times 4,4\right) + \left(\frac{1}{10} \times 6\right) \\
 &= 1,2 + 1,76 + 0,6 \\
 &= 3,56
 \end{aligned}$$

Setiap eluen dibuat dalam volume 10 ml menggunakan gelas ukur.

c. Penjenuhan chamber KLT

Chamber kromatografi dijenuhkan dengan eluen yang akan digunakan.

Eluen dimasukkan ke dalam chamber dengan ketinggian volume eluen

sekitar 0,5 cm. Kemudian dimasukkan kertas saring ukuran tinggi chamber. Chamber ditutup dan eluen dibiarkan merambat pada kertas saring hingga membasahi seluruh kertas saring tersebut. Setelah kertas saring basah oleh eluen maka dapat dianggap seluruh ruangan KLT telah jenuh dan siap untuk digunakan. Kertas saring dikeluarkan dari chamber.

d. Uji KLT ekstrak daun kelor

Ekstrak daun kelor dan senyawa pembanding (kuersetin) ditotolkan berdampingan pada plat KLT dengan jarak antar noda 0,5 cm. Plat tersebut dimasukkan dalam chamber KLT yang telah berisi masing masing eluen dengan posisi lempeng berdiri pada kemiringan 50° dan dinding chamber. Setelah eluen merambat hingga mencapai batas atas maka plat dikeluarkan dari chamber dan dikering anginkan sebentar. Untuk menentukan titik noda pada plat KLT diamati dibawah lampu UV 366 nm dan dilihat titik noda pada plat dan diberi tanda menggunakan pensil pada bagian tengah bercak noda dan setelah itu diukur menggunakan penggaris untuk perhitungan *R_f*. Pada eluen yang memberikan pemisahan noda yang baik dan jelas serta menunjukkan nilai *R_f* yang sesuai dengan pembanding, dipilih untuk dilanjutkan pada tahap uji kuantitatif dengan KLT-Densitometri.

3.3.9 Analisis Kuantitatif

3.3.9.1 Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri

a. Pembuatan Larutan Standar

Dibuat larutan standar masing-masing dari kuersetin dalam etanol pa dengan konsentrasi 1000 ppm dengan menimbang 25 mg zat kuersetin

dilarutkan dengan etanol sampai tanda batas dalam labu ukur 25 ml. Diperoleh larutan standar dengan konsentrasi 1000 ppm. Labu ditutup dengan aluminium foil karena kuersetin mudah teroksidasi dan tidak stabil apabila terkena cahaya. Selanjutnya dipipet 1,5 mL, 2 mL, 2,5 mL, 3 mL, dan 3,5 mL dimasukkan dalam labu ukur 10 ml, dan cukupkan dengan etanol sampai tanda batas, sehingga diperoleh konsentrasi 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm, 300 ppm, dan 350 ppm.

a. Penentuan Panjang Gelombang Serapan λ max Kuersetin

Larutan standar kuersetin pada konsentrasi 250 ppm ditentukan panjang gelombang serapan maksimumnya dengan running Spektrometri Uv-vis pada rentang panjang gelombang 200-400 nm.

c. Penyiapan eluen dan fase diam

Fase diam yang digunakan adalah plat KLT silika gel GF254 dengan ukuran 10 x 10 cm. Fase gerak yang dipakai merupakan kombinasi pelarut organik yang diperoleh dari hasil pemilihan eluen. Plat KLT diaktivasi pada suhu 105°C selama 15 menit.

d. Penentuan Retardation Factor (R_f)

e. Larutan sampel diekstraksi ditotolkan pada plat KLT silika gel GF₂₅₄ sebanyak 1 μ L, kemudian dihitung nilai R_f . Nilai R_f dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$R_f = \frac{\text{jarak migrasi komponen}}{\text{jarak migrasi fase gerak}}$$

3.4 Analisa Data

3.4.1 Pelaksanaan KLT-Densitometri

1. Linieritas

Larutan baku kerja kuersetin 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm, 300 ppm, dan 350 ppm, dan larutan sampel ekstrak ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipet mikro. Volume penotolan untuk larutan standar kuersetin ditotolkan volume 1 μ l. Setelah itu, plat KLT dielusi dengan fase gerak yang terpilih dan diamati noda yang diperoleh dengan densitometri serta dihitung nilai persamaan regresinya $y = a + bx$, koefisien kolerasi (r).

2. Batas Deteksi dan Batas Kuantitas

BD dan BK dihitung menggunakan metode simpangan baku residual dari kurva baku sehingga didapatkan nilai BD dan BK dari kuersetin.

Rumus BD dan BK sebagai berikut:

$$BD = \frac{SBr}{b} \times 3 \text{ dan } BK = \frac{SBr}{b} \times 10 \text{ (Harmita., 2004)}$$

Dengan

SBr : Simpangan baku residual

b : Slope (kemiringan) pada persamaan garis

Dimana simpangan baku residual dan slope didapat dari perhitungan data plot regresi.

$$SBr = \sqrt{\frac{\sum(y-y_i)^2}{(n-2)}} \text{ (Miller, 2005)}$$

Dengan y : data konsentrasi pembacaan alat

y_i : data rata- rata konsentrasi pembaca alat

n : jumlah data

Batas kuantifikasi (BK) yang didapat dari pengolahan data kemudian dijadikan suatu acuan nilai batas konsentrasi suatu analisis kuantitatif dengan metode yang dilakukan dikatakan baik. Dan batas deteksi (BD) yang didapat dari pengolahan data kemudian dijadikan suatu acuan nilai batas konsentrasi suatu zat yang analisis dengan metode yang dilakukan dikatakan dapat dideteksi secara baik.

3.4.2 Penetapan Kadar Kuersetin dalam Ekstrak Daun Kelor

Penetapan kadar dalam ekstrak daun kelor diawali dengan pembuatan kurva baku dengan rentang sesuai dengan linieritas. Selanjutnya larutan sampel ditimbang sebanyak 40 mg sampel ekstrak daun kelor kemudian dilarutkan dengan etanol pa sebanyak 1 mL (replika 3 kali). Kemudian masukan dalam vial dan ditotolkan pada plat dengan volume penotolan sebanyak 1 μ L dalam lempeng KLT silika Gel 60 GF254 untuk dianalisa di KLT-Densitometri dengan kondisi analisa (komposisi eluen dan panjang gelombang) sesuai dengan hasil optimasi linearitas. Noda yang terbentuk discanning pada panjang gelombang hasil optimasi.

Untuk perhitungan kadar kuersetin dalam sampel daun kelor dihitung berdasarkan persamaan dibawah ini :

$$(Y = a + bx)$$

Keterangan :

$$Y = \text{Área}$$

$$x = \text{Konsentrasi}$$

$$a = \text{Intersep}$$

$$b = \text{Slope / koefisien regresi}$$

Dari persamaan regresi $Y = a + bx$, diperoleh konsentrasi (x). Kemudian dicari kadar sampel :

$$\text{Kadar} = \frac{C \times V \times FP}{Bs} \times 100\%$$

Keterangan : C = Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)

V = Volume sampel (ml)

Bs = Berat sampel (g)

FP = Faktor pengenceran (mL)

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Dari penelitian yang telah dilakukan mengenai Penetapan Kadar Kuersetin Pada Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam) dengan METODE KLT-Densitometri, diperoleh hasil sebagai berikut.

4.1.1 Hasil Identifikasi Tumbuhan Kelor

Hasil identifikasi tumbuhan kelor yang dilakukan Hebarium (ANDA), Jurusan Biologi, Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Andalas Padang dengan nomor 57/ADK/FAK. FARMASI-UPERTIS/1/2024 menyatakan bahwa sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah spesies (Lampiran 2, Gambar 6).

1. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etanol daun kelor positif terhadap adanya kandungan flavonoid, fenolik dan terpenoid (Lampiran 10, Tabel 3).
2. Hasil rendemen ekstrak daun kelor yang didapatkan 11,81% (Lampiran 10, Tabel 4).
3. Hasil pengujian organoleptis ekstrak daun kelor organoleptisnya kental, warna hijau-kehitaman, berbau khas, dan rasanya pahit (Lampiran 10, Tabel 5).
4. Hasil pengukuran susut pengeringan dari ekstrak daun kelor adalah 9,99% (Lampiran 11, Tabel 6) dan kadar abu total dari ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) adalah 5,28% (Lampiran 11, Tabel 7).
5. Identifikasi kuersetin dalam ekstrak etanol daun kelor menggunakan KLT dengan pembanding standar kuersetin.

- a) Eluen A (Kloroform :Metanol) dengan perbandingan 9 : 1
- Ekstrak kelor : terdapat 3 noda dengan nilai R_f 0,0830,41 ; 0,61 ; 0,73.
(Lampiran 12, Tabel 8).
 - Kuersetin : dengan nilai R_f 0,283 (Gambar 14).
- b) Eluen B (Kloroform: Etil asetat: Asam formiat) dengan perbandingan 8: 1,5: 0,5
- Ekstrak kelor : terdapat 5 noda dengan nilai R_f 0,08; 0,21; 0,38 ; 0,43 ; 0,5 ; 0,65 ; 0,73 ; (Lampiran 13, Tabel 9).
 - Kuersetin : dengan nilai R_f 0,38 (Gambar 15).
- c) Eluen C (Toluena: Etil Asetat : Asam Formiat) dengan perbandingan 5 : 4 :1
- Ekstrak kelor : terdapat 3 noda dengan nilai R_f 0,81 ; 0,85 ;0,98 (Lampiran 14,Tabel 10).
 - Kuersetin : terdapat 1 noda dengan nilai R_f 0,85 (Gambar 16).
6. Hasil pemeriksaan panjang gelombang serapan maksimum serapan kuersetin yang diukur pada rentang panjang gelombang 200-400 nm adalah 318,5 nm (Lampiran18, Gambar 17).
7. Persamaan linearitas standar kuersetin menggunakan instrumen KLT-Densitometri adalah pada $y= 16,398x - 1485,2$ daan nilai $r = 0,9951$ (Gambar 18).
8. Hasil penetapan kadar kuersetin dalam ekstrak daun kelor menggunakan metode KLT-Densitometri diperoleh kadar sebesar 0,310 %b/b (3,10 mg/g) (Lampiran 24, Tabel 17).

4.2 Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan penetapan kadar kuersetin pada ekstrak daun kelor) dengan menggunakan KLT-Densitometri. Adapun sampel daun kelor diperoleh di Pasaman Barat, Sumatera Barat.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini diidentifikasi di Herbarium ANDA Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Andalas (UNAND) Padang tujuannya untuk mengetahui dan memastikan kebenaran identitas tumbuhan yang digunakan di penelitian ini. Berdasarkan hasil identifikasi, spesies dari sampel yang digunakan adalah (*Moringa oleifera* Lam) yang dinyatakan pada nomor surat 57/ADK/FAK. FARMASI-UPERTIS/1/2024. Tahap pertama yang dilakukan identifikasi tumbuhan ekstrak daun kelor (Lampiran 2, Gambar 6).

Penelitian ini dilakukan dengan cara mengekstraksi sampel dengan metode maserasi. Selanjutnya daun kelor sebanyak 250 gram di ekstrak dengan pelarut etanol 96% sebanyak 2,5 liter. Kemudian direndam selama 3 x 24 jam dan diaduk sehari 2 kali pada jam yang sama, setelah proses perendaman selama 3 x 24 jam ekstrak disaring dan di uap pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* sampai mendapatkan ekstrak kental.

Selanjutnya dilakukan skrining fitokimia dengan tujuan untuk mengetahui profil kandungan metabolit sekunder dari ekstrak etanol daun kelor. Dalam skrining fitokimia terdapat beberapa senyawa diidentifikasi yaitu alkaloid, terpenoid, steroid, flavonoid, fenolik dan saponin. Dengan demikian, hasil yang didapatkan bahwa ekstrak etanol daun kelor flavonoid, fenolik, saponin dan terpenoid (Lampiran 10, Tabel 3). Berdasarkan laporan dari beberapa artikel menyatakan pada hasil skrining fitokimia daun kelor sesuai dengan penelitian sebelumnya yaitu

menurut (Rivai, 2020) ditemukan bahwa daun kelor mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid.

Kemudian dilakukan pemeriksaan rendemen ekstrak daun kelor diperoleh sebesar 11,81% (Lampiran 10, Tabel 4). Dimana hasil ini memenuhi standar persentase rendemen ekstrak daun kelor yaitu lebih dari 9,2% dalam Farmakope Herbal Indonesia Edisi II (Kementerian Kesehatan RI, 2017).

Pemeriksaan rendemen bertujuan untuk mengetahui persentase ekstrak yang didapatkan dari berat sampel awal serta untuk mengetahui kemampuan pelarut dalam menarik zat aktif yang ada di dalam sampel. Selain itu dilakukan pemeriksaan susut pengeringan hal ini bertujuan untuk mengetahui batasan maksimal komponen-komponen yang dapat menguap.

Uji pemeriksaan pada ekstrak daun kelor meliputi pemeriksaan organoleptis dimana ekstrak daun kelor memiliki bentuk yang kental, warna ekstrak coklat kehitaman, memiliki bau yang khas dan rasa yang pahit (Lampiran 10, Tabel 5) dimana hasil tersebut memenuhi standar organoleptis ekstrak daun kelor dalam Farmakope Herbal Indonesia Edisi II (Kementerian Kesehatan RI, 2017). Selain itu dilakukan pemeriksaan terhadap parameter non spesifik yaitu rendemen ekstrak, susut pengeringan dan kadar abu total.

Pemeriksaan susut pengeringan ekstrak didapatkan hasil 9,99% (Lampiran 10, Tabel 6) hal ini memenuhi persyaratan susut pengeringan tidak lebih dari 10% sesuai dengan yang terdapat di dalam Farmakope Herbal Indonesia Edisi II (Kementerian/Kesehatan RI, 2017). Untuk pemeriksaan kadar abu total didapatkan hasil 5,28% (Lampiran 10, Tabel 7) hal ini memenuhi standar kadar abu total yaitu titik lebih dari 7,5% sesuai dengan Farmakope Herbal Indonesia Edisi II

(Kementerian Kesehatan Indonesia, 2017). Pemeriksaan kadar abu total berfungsi untuk untuk mengetahui dan memberikan gambaran kandungan mineral yang berasal dari proses awal sampel akhir terbentuknya ekstrak, dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sehingga tinggal unsur mineral dan senyawa anorganik.

Pada analisa kualitatif dilakukan dengan menggunakan metoda Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pengujian dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa kuersetin pada sampel kelor yang dibandingkan dengan senyawa pembandingnya yaitu kuersetin dengan tujuan untuk membuktikan apakah sampel tersebut mengandung adanya kuersetin atau tidak.

Identifikasi ini dibuktikan melalui nilai R_f melalui perbandingan jarak rambat suatu senyawa tertentu dengan jarak perambatan baku pembanding dan menghasilkan kromatogram dengan satu puncak yang simetris. Jika zat uji yang diidentifikasi dan baku pembanding itu sama, maka terdapat kesesuaian dalam warna dan nilai R_f (Depkes RI, 2008).

Sebelum dilakukan identifikasi eluen terlebih dahulu dilakukan pemanasan plat KLT dan penjenuhan chamber. Tujuan pemanasan pada plat KLT ialah untuk mengaktifkan silika yang ada pada plat KLT serta menghilangkan air yang ada pada permukaan adsorben. Suhu yang digunakan adalah 105°C yang sempurna untuk mengaktifkan silika pada plat. Jika plat dipanaskan pada suhu yang terlalu tinggi dapat menon aktifkan adsorben secara permanen, serta jika plat yang tidak dipanaskan dapat mengakibatkan noda yang dihasilkan tidak berbentuk bulat dan terdapat beberapa bercak pada plat dari senyawa lainnya. Untuk penjenuhan chamber sendiri dilakukan dilakukan untuk menciptakan kondisi yang sama pada seluruh

ruangan chamber. Jika chamber yang digunakan tidak jenuh noda pada plat akan lambat pergerakannya serta bentuk noda pada plat tidak bulat dan akan memberikan bentuk yang melebar dan berekor.

Untuk identifikasi dilakukan dengan beberapa macam eluen yaitu, Kloroform : Metanol (9:1), Kloroform : Etil Asetat : Asam Formiat (8:1,5:0,5), Toluena : Etil Asetat : Asam Formiat (5 : 4: 1). Dan didapatkan hasil bahwa didalam ekstrak daun kelor terdapat kuersetin yang ditandai pemisahan yang bagus. Berdasarkan nilai R_f yang didapatkan menunjukkan bahwa sampel daun kelor mempunyai nilai R_f yang sama dengan senyawa pembandingnya. Hal ini menunjukkan bahwa sampel daun kelor memiliki senyawa kuersetin.

Berdasarkan hasil uji kualitatif kromatogram lapis tipis pada eluen A (Kloroform : Metanol) didapatkan nilai R_f pada ekstrak 0,083; 0,41 ; 0,61 ; 0,73. Sedangkan nilai R_f pada kuersetin sebesar 0,283. Sehingga nilai R_f yang didapatkan pada eluen A tidak menunjukkan nilai R_f yang sesuai dengan pembanding karena tidak terjadi pemisahan noda yang baik dan jelas. Pada eluen Kloroform : metanol mungkin tidak cocok untuk memisahkan senyawa senyawa yang ada dalam ekstrak kelor. Sehingga menyebabkan senyawa tidak terdeteksi pada plat KLT(Lampiran12, Gambar 14).

Selanjutnya pada eluen B (Kloroform : Etil Asetat : Asam Formiat) 8 ;1,5 ; 0,5 didapatkan nilai R_f pada ekstrak 0,383 ; 0,5 ; 0,65 ; 0,73. Hasil nilai R_f pada kuersetin didapatkan nilai R_f sebesar 0,38. Pada eluen ini diperoleh pemisahan yang jelas pada ekstrak dan menunjukkan noda pada nilai R_f yang sama dengan standar baku kuersetin. Nilai R_f pada ekstrak yang sama dengan kuersetin diperoleh pada

R_f 0,38 serta pemisahan noda dihasilkan bagus dan bercak noda berbentuk bulatan pada plat KLT(Lampiran 13,Gambar 16).

Sehingga data hasil optimasi eluen yang dipilih adalah eluen B .Berdasarkan hasil nilai R_f hasilnya mendekati dengan nilai R_f pada farmakope herbal yaitu 0,27 (Farmakope Herbal,2017).

Selanjutnya pada eluen C (Toluen : Etil Asetat : Asam Formiat) 5 : 4 : 1 didapatkan hasil nilai R_f pada ekstrak 0,81 : 0,85 : 0,90 . Sementara itu pada kuersetin nilai R_f sebesar 0,85. Dengan demikian terdapat pemisahan yang baik antara nilai R_f ekstrak dan baku kuersetinnya. Sehingga noda pada R_f dan baku kuersetinnya sama. Namun nilai R_f yang didapatkan masih terlalu tinggi sehingga eluen yang dipakai pada KLT Densitometri adalah eluen B (Kloroform : Etil Asetat : Asam Formiat) 8 : 1,5 : 0,5 (Lampiran 14, Gambar 17).

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan larutan deret asam kuersetin dengan konsentrasi 250 ppm dan di *scanning* menggunakan spektrofotometri rentang panjang gelombang 200 – 400 nm. Panjang gelombang yang dipilih adalah panjang gelombang yang memberikan panjang intensitas spektrum paling tinggi. Hasil *scanning* spektro standar kuersetin dapat dilihat pada (Gambar 17)

Berdasarkan spektrum yang didapatkan dari hasil *scanning*, dapat diketahui intensitas spektrum paling tinggi terjadi pada saat panjang gelombang kuersetin 318,5 nm, sehingga panjang gelombang terpilih dan digunakan dalam pengukuran selanjutnya adalah 318,5 nm. Dari keseluruhan optimasi yang dilakukan, didapatkan kondisi analisis yang paling optimum untuk analisis kuersetin yang dapat dilihat pada (Lampiran 18, Tabel 12).

Pada penelitian ini dilakukan metode Analisis yang meliputi pengujian parameter linieritas, batas deteksi (BD) dan batas kuantitasi (BK). Linieritas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel (Harmita, 2004). Pada penelitian ini, pengujian linieritas dilakukan menggunakan 5 konsentrasi dengan 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm, 300 ppm dan 350 ppm. Larutan standar dielusi dan di *scanning* sehingga dihasilkan data area standar kuersetin. Data yang diperoleh dari hasil *scanning* densitometer dihitung menggunakan kalkulator. Kriteria suatu metode dikatakan linier jika koefisien regresinya (r) mendekati 1. Hasil uji linearitas ditunjukkan pada (Lampiran 20, Tabel 14).

Berdasarkan data kurva kalibrasi kuersetin diperoleh persamaan linear (Gambar 18) diperoleh persamaan regresi yang didapatkan dari data linearitas $y = 16,398x - 1485,2$ dan nilai $r = 0,9951$ (Lampiran 22, Tabel 15), sehingga batas deteksi dan batas kuantitas yaitu $27,106777 \mu\text{g/ml}$ dan $90,35591 \mu\text{g/ml}$ (Lampiran 23, Tabel 16).

Tahap terakhir dalam penelitian ini adalah melakukan penetapan kadar kuersetin dalam ekstrak daun kelor dengan menggunakan KLT-Densitometri dengan panjang gelombang maksimum $318,5 \text{ nm}$ dengan 3 kali replikasi. Dan diperoleh hasil penetapan kadar kuersetin pada ekstrak daun kelor menggunakan KLT-Densitometri yaitu $0,310 \% \text{ b/b}$ ($3,10 \text{ mg/g}$) dapat dilihat pada (Lampiran 24, Tabel 17).

Dari hasil perhitungan diperoleh nilai standar deviasi (SD) pada daun kelor sebesar $0,04298$ dan nilai koefisien variasi (KV) sebesar $13,840428\%$. Nilai

koefisien variasi ini lebih besar dibandingkan ketetapan umumnya yaitu $\leq 2\%$. Semakin besar nilai koefisien variasi berarti datanya kurang merata (heterogen). Jika semakin kecil koefisien variasi berarti data merata (homogen). Hasil kadar kuersetin dengan nilai koefisien variasi (KV) yang besar pada penelitian ini menunjukkan kurang homogenya data. Hal ini mungkin terjadi karena larutan ekstrak yang digunakan cukup kental atau berkonsentrasi tinggi sehingga terbentuknya larutan yang kurang homogen.

Berdasarkan metode KLT Densitometri memiliki beberapa kelebihan yaitu spesifisitas yang tinggi, dapat dipercaya, pengerjaan relatif mudah dan cepat, biaya pengoperasian relatif murah, polaritas pelarut atau pelarut campuran dapat diubah dalam waktu singkat dan jumlah pelarut yang digunakan sedikit. Apabila dibandingkan dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT), metode KLT-Densitometri tidak ada batasan fase gerak yang harus digunakan. Selain itu pada proses deteksi KLT bersifat lebih statis jika dibandingkan dengan KCKT bersifat dinamis. Sedangkan jika dibandingkan dengan spektrofotometri, kemampuan KLT-Densitometri untuk memisahkan senyawa-senyawa dalam sampel yang dianalisis sehingga tidak terdapat senyawa yang saling mengganggu.

Kadar kuersetin yang ditemukan pada penelitian ini memenuhi rentang kadar kuersetin daun kelor yang sebelumnya sudah dipublikasikan oleh Amaglo, et al., 2010 dan Coppin, et al., 2013 dengan rentang 0,46 mg/g–16,64 mg/g.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian ini, dapat ditulis beberapa kesimpulan sebagai berikut.

1. Kuersetin dapat diidentifikasi di dalam ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Dan didapatkan hasil didalam ekstrak daun kelor terdapat kuersetin pada $R_f 0,38$. Menggunakan eluen kloroform : etil asetat : asam formiat (8: 1,5 :0,5).

2. Penetapan kadar kuersetin pada ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) dengan metode KLT-Densitometri yang didapatkan kadar kuersetin sebesar 0,3106 %b/b (3,106 mg/g).

5.2 Saran

1. Disarankan untuk peneliti selanjutnya melakukan penetapan kadar kuersetin pada ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) dengan metode lain seperti LC-MS.
2. Melakukan purifikasi ekstrak daun kelor untuk mendapatkan fraksi akan kaya kuersetin.
3. Disarankan untuk peneliti selanjutnya lebih teliti untuk melakukan penotolan dengan menggunakan pipet mikro KLT-Densitometri.
4. Disarankan untuk peneliti selanjutnya untuk melakukan penetapan kadar pada bagian tumbuhan lain ataupun senyawa-senyawa lain yang terdapat pada tanaman kelor.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, M. (1997). *Teknik Kromatografi Untuk Analisis Bahan Makanan*. Penerbit Andi: Yogyakarta.
- Annisa dkk, F. N. (2021). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Alma Ata, Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu, 2*.
- Amaglo, N., Bennett, R., Lo Curto, R., Rosa, E., Lo Turco, V., & Giuffrida, A. (2010). Profiling selected phytochemicals and nutrients in different tissues of the multipurpose tree *Moringa oleifera* L., grown in Ghana. *Food*

Chem. <https://www.researchgate.net/publication/223514723>, 122, 1047–1054.

- Aminah, S. R. (2015). Kandungan Nutrisi dan Sifat Fungsional Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*). *Jurnal: Buletin Pertanian Perkotaan*, vol no 5:2.
- Ayu Angger Putri ,dkk,. (2023). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera Lam*) Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Farmasi dan Manajemen Kefarmasian*, 6.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan, (. (2016). Serial The Power Of Obat Asli Indonesia Kelor *Moringa*. *CV Global Express Media Jakarta*, hal 13.
- Berawi, K. W. (2019). Potensi Terapi *Moringa oleifera Lam*(Kelor) pada Penyakit Degeneratif. *JK Unila*, 3: 210-214.
- Coppin, J., Xu, Y., Chen, H., Pan, M., Ho, C., Juliani, R., Wu, Q. (2013). Determination of flavonoids by LC/MS and anti-inflammatory activity in *Moringa oleifera*. *J. Funct. Foods*, <https://www.researchgate.net/publication/223514723>, 5, 1892-1899.
- Depkes RI, D. K. (2000). Farmakope Herbal Indonesia. hal.109-114.
- Depkes RI, D. K. (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Cetakan Pertama.1. *Ditjen POM, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional: Jakarta*.
- (Depkes) RI, D. K. (2009). Farmakope Herbal Indonesia Edisi pertama. *Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia nomor 261/MENKES/SK/IV*.
- Etty Sulistyowati, B. N. (2021). Verifikasi Metode Analisis Kuersetin Fraksi Etil Asetat Daun Kenikir (*Cosmos caudatus H.B.K*) SECARA DENSITOMETRI. *Jurnal Ilmiah Farmasi* , Vol 10 No 2, 7-12.
- Fatmawati Anisa, S. d. (2021). Identifikasi Mikroskopis dan Pentuan Kandungan Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi Etil Asetat Daun Kelor dan Fraksi Etil Asetat (*Moringa oleifera LamL*). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi Indonesia*, 2.
- Gritter, R. b. (1991). Pengantar Kromatografi,diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. In I. Press. Bandung.
- Gritter, R. (1997). Pengantar Kromatografi Edisi II. *Penerbit ITB :Bandung*.
- Hansen, S. S. (2012). Introduction to Pharmaceutical Chemical Analysis. *John Wiley & Sons Ltd. Wesh Sussiex*.

- Harbone, J. (1897). Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. *Institut Teknologi Bandung: Bandung*.
- Hardianti, F. (2015). Pemanfaatan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera L*) Dalam Sediaan Hand and Body Cream (skripsi). *Program Studi Kimia UIN Syarif Hidayatullah: Jakarta*.
- Harmita. (2004). Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1 (3) : 117-135.
- Jusnita, N. d. (2019). Karakterisasi Nanoemulsi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera Lam*). *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*, 6:16-24.
- Kakran, M. S., & Lin, L. d. (2011). Comparison Of Homogenization And Precipitation Techniques For Production Of Quersetin Nanocrystal. *Cameca Jurnal*, 2-9.
- Khopkhar. (1990). Concepts of Analytical Chemistry . *Diterjemahkan oleh Sapto Raharjo: Jakarta*.
- Krisnadi, A. (2015). Kelor Super Nutrisi. <https://kelorina.com/ebook.pdf>. (diakses : Desember 2020).
- Leone, A. A. (2015). Cultivation, Genetic, Ethnopharmacology. phytochemistry and Pharmacology of *Moringa oleifera Lam* Leaves :An Overview. *Int. Mol. Sci 16 :pp*, 12791-12835.
- Mishra, G. e. (2011). Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacological Properties Of *Moringa oleifera Lam* plant: An Overview. *Scholars Research Library Der Pharmacia Lettre*, Volume 3 (2):pp, 141-164.
- Pandey, e. a. (2012). *Moringa oleifera Lam* (Sahijan)-A Plant with a Plethora of Diverse Therapeutic Benefit: And Update Retrospection. *Med Aromat Plants.*, Volume 1: 101..
- Rahmat, H. (2009). Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Sayuran Indigenous Jawa Barat. *Skripsi. Program Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor*.
- Rivai, A. T. (2020). Identifikasi Senyawa yang Terkandung pada Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesian Journal of Fundamental Sciences*, 6 (2), 67.
- Rohman, A. (2009). Kromatografis Untuk Analisis Obat. *Pustaka Graha Ilmu : Yogyakarta*.
- Sing GP, R. G. (2012). Anti-Inflammatory Evaluation of Leaf Extract of *Moringa oleifera*. *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation*, 1(1) :22-24.

- Susanty, Y. S. (2019). Metode Ekstraksi Untuk Perolehan Kandungan Flavonoid Tertinggi Dari Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera Lam*). *Jurnal Konversi*, 8(2), 31–36.
- Sofia Adelima, A. D. (2016). Validasi Metode KLT-Densitometri Penetapan Kadar Kuersetin Dalam Sediaan Daun Sirsak (*Annona muricata Linn.*). *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 15-19.
- Syofyan, L. H. (2008). Peningkatan Kelarutan Kuersetin Melalui Pembentukan Kompleks Inklusi dengan beta-Siklodekstrin. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi* , Vol, 13, No.2:43-48.
- USDA. (2013). Natural Resources Conservation Service : PLANTS Profile *Moringa oleifera Lam. Horseradistrhee*.