Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy) Vol. 14 No. 1
Bulan April Tahun 2025; Hal 53-63
p-ISSN : 2302-7436; e-ISSN : 2656-8950

Identifikasi Kualitatif Ekstrak, Fraksi n-Heksan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air Herba Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.)

Qualitative Identification of Extract, n-Heksan Fraction, Ethyl Acetate Fraction, Water Fraction of Herb Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.)

Dwi Ayu Palupi[1], Diah Pratimasari[1], C.E. Dhurhania[1]

[1] S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, Kwarasan, Grogol, Sukoharjo

*E-mail Korespondensi: diah_pratimasari@stikesnas.ac.id

Submit 24-08-2024 **Diterima** 15-04-2025 **Terbit** 28-04-2025

ABSTRAK

Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.*)* merupakan tumbuhan yang tumbu di daerah subtropis maupun tropis dan mempunyai daya tumbuh dan adaptasi yang tinggi. Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa herba bandotan memiliki aktivitas yang baik sebagai agen antibakteri, antiinflamasi, antioksidan, dan antidiabetik. Penelitian yang sudah ada saat ini terbatas pada penelitian kandungan dan aktivitas dari ekstrak herba Bandotan. Di sisi lain, beberapa ekstrak yang mengalami fraksinasi diketahui dapat meningkatkan aktivitas dari ekstrak tersebut. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa flavonoid dan fenolik yang terdapat dalam fraksi polar, fraksi semi polar dan fraksi non polar dari herba Bandotan. Penelitian ini dimulai dengan melakukan maserasi herba Bandotan menggunakan pelarut etanol dan dipekatkan sampai mendapat ekstrak kental. Ekstrak kental herba Bandotan selanjutnya disuspensikan dengan air hangat dan difraksinasi secara berturut-turut menggunakan pelarut n-heksan serta etil asetat. Ekstrak dan fraksi yang diperoleh dianalisis kandungannya menggunakan uji tabung dan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Hasil identifikasi menggunakan uji tabung menunjukkan ekstrak, fraksi etil asetat dan fraksi air positif mengandung flavonoid, sedangkan fraksi n-heksan negatif flavonoid. Hasil identifikasi KLT dari ekstrak dan seluruh fraksi herba bandotan menunjukkan adanya flavonoid golongan isoflavon yang tidak mengandung 5-OH bebas.

Kata kunci: Bandotan; Flavonoid, Flavonoid, KLT

ABSTRACT

Bandotan (Ageratum conyzoides L.) is a plant that grows in subtropical and tropical regions and has high growth and adaptability. Some studies have shown that Bandotan herb has good activity as an antibacterial, anti-inflammatory, antioxidant, and antidiabetic agent. Existing research is limited to the content and activity of Bandotan herb extracts. However, some extracts that undergo fractionation are known to enhance their activity. Therefore, this study aims to identify the flavonoid and phenolic compounds in the polar, semi-polar, and non-polar fractions of Bandotan herb. The research started with macerating the Bandotan herb using ethanol as a solvent and concentrating it to obtain a thick extract. This thick

extract was then suspended in warm water and fractionated successively using n-hexane and ethyl acetate solvents. The extracts and fractions obtained were analyzed for their content using tube tests and Thin Layer Chromatography (TLC). The tube test results indicated that the extract, ethyl acetate fraction, and water fraction were positive for flavonoids, while the n-hexane fraction was negative for flavonoids. TLC results showed variations in the compound profiles among the extract and its different fractions.

***Keywords**: Bandotan; Flavonoid; Phenolic, TLC*

PENDAHULUAN

Indonesia adalah salah satu negara tropis yang dikenal mempunyai kekayaan tumbuhan yang dapat digunakan sebagai bahan baku obat-obatan yang memiliki khasiat sehingga dapat digunakan untuk mengatasi berbagai macam penyakit. Tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai pengobatan berlangsung pada ribuan tahun yang lalu, tetapi penggunaannya belum terdokumentasikan dengan baik (Yassir & Asnah, 2019). Menurut Syukur dan Hemani (2003) sebanyak 74% tumbuhan liar berada di hutan-hutan dan sisanya sekitar 26% sudah dibudidayakan lebih dari 940 jenis tumbuhan yang digunakan sebagai pengobatan tradisional.

Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan adalah bandotan (*Ageratum conyzoides* L.*).* Bandotan merupakan tumbuhan yang banyak tumbuh baik di daerah subtropis maupun tropis dan mempunyai daya adaptasi yang tinggi. Adanya daya adaptasi yang tinggi, bandotan dapat tumbuh dimana saja, sehingga tumbuhan ini sering dikenal sebagai tanaman liar. Tumbuhan ini mengandung senyawa fitokimia seperti terpenoid, alkaloid, minyak atsiri, saponin, flavonoid dan fenolik. Oleh karena itu, herba bandotan dapat berpotensi sebagai obat, antara lain antibakteri, antiinflamasi, antioksidan, dan antidiabetik (Hilaliyah, 2021).

Penelitian yang ada saat ini terbatas pada penelitian terkait identifikasi kandungan dan aktifitas dari ekstrak herba Bandotan. Ekstrak merupakan bentuk preparat bahan alam yang masih mengandung banyak senyawa yang tidak berkolerasi terhadap aktivitas dari suatu tanaman. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk menghilangkan senyawa-senyawa yang tidak dibutuhkan pada ekstrak adalah dengan menggunakan metode fraksinasi. Namun, pada proses fraksinasi juga dapat dimungkinkan hilangnya kandungan senyawa penting yang berperan terhadap aktivitas dari bahan alam tersebut. Penelitian yang sudah dilakukan saat ini terbatas pada uji identifikasi dan aktivitas dari ekstrak herba Bandotan. Sejauh ini belum ada penelitian yang melakukan identifikasi perbandingan kandungan senyawa dari ekstrak dan berbagai fraksi herba Bandotan. Hal tersebut adalah dasar penelitian ini yang bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa flavonoid dan fenolik yang ada pada ekstrak dan berbagai fraksi herba Bandotan.

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat

Alat penelitian yang digunakan pada penelitian ini yaitu timbangan analitik *(Ohaus)*, blender (*Philips)*, *rotary evaporator (RV 10 digital V)*, alat gelas kimia *(Pyrex)*, *waterbath* (*Memmert*), tabung reaksi (*iwaki*).

Bahan

Bahan yang digunakan yaitu herba bandotan yang tumbuh di sekitar persawahan Blimbing, etanol 70% (*Medika*), akuades , N-heksan, etil asetat, kuersetin (*Sigma*), kloroform p.a, metanol p.a, silika gel, $FeCl_3$ 1%, serbuk magnesium, HCl pekat, plat KLT Silika GF 254.

Metode Penelitian

Determinasi dan preparasi sampel

Determinasi pada tanaman herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.*)* dilakukan di Laboratorium Pengujian UPF Pelayanan Kesehatan Tradisional Tawangmangu. Herba bandotan yang sudah mekar sempurna dicuci dengan air mengalir kemudian dipotongi, dan diangin-anginkan sampai 24 jam, kemudian dilanjutkan dengan oven selama 24 jam dengan suhu 50℃, selanjutnya diblender hingga serbuk dan diayak dengan 40 mesh. Hasil yang diperoleh digunakan untuk sampel penelitian.

Ekstraksi

Serbuk herba bandotan ditimbang sebanyak 250 gram kemudian direndam dengan 1875 mL pelarut etanol 70% selama 3 x 24 jam, kemudian disaring dan diperoleh maserat. Selanjutnya, sampel sisa maserasi diremaserasi dengan pelarut 70% sebanyak 625 mL dan direndam selama 2 hari dan disaring lagi dengan kain flannel. Maserat kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C. Penguapan dilanjutkan menggunakan *waterbath* pada suhu 50° C hingga diperoleh ekstrak kental (Abdullah dkk., 2021).

Fraksinasi

Ekstrak kental herba bandotan ditimbang sebanyak 5 gram dan dilarutkan dengan aquades hangat (polar) sebanyak 50 ml dan dimasukkan kedalam corong pisah. Kemudian, ditambahkan dengan pelarut n-heksan (non-polar) sebanyak 50 ml, dan selanjutnya dikocok lalu didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan atas diambil untuk dipisahkan, dilakukan pengulangan hingga lapisan n-heksannya berwarna bening. Selanjutnya fraksi air ditambahkan pelarut etil asetat (semi polar) sebanyak 50 ml dan dimasukkan kedalam corong pisah, kemudian dikocok dan didiamkan sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan atas diambil untuk dipisahkan, dilakukan pengulangan hingga lapisan etil asetatnya berwarna bening. Selanjutnya fraksi n-heksan, etil asetat, dan air diuapkan di *waterbath* hingga didapatkan fraksi yang kental (Novia dkk., 2019).

Identifikasi Senyawa Fenolik dan Flavonoid

Uji Tabung

Flavonoid

Sampel 50 mg dilarutkan dalam 10 mL diambil sebanyak 2 mL ditambah serbuk Mg, dan 3 tetes HCl pekat dan dikocok kuat. Timbulnya warna merah muda, kuning, orange, dan jingga mendanakan adanya senyawa flavonoid.

Fenolik

Sampel 50 mg dilarutkan dalam 10 mL diambil sebanyak 2 mL ditambah larutan $FeCl_3$ 1 %. Hasil ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, ungu, biru tua, biru, biru kehitaman, atau hijau kehitaman.

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Senyawa Flavonoid

Sampel ekstrak, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air herba bandotan dan kuersetin masing-masing diaplikasikan pada plat KLT (silika gel GF 254 dan ukuran 10 cm

x 5 cm). Sistem fase gerak KLT dibuat dengan berbagai macam fase gerak : n-heksan:etil asetat (6:4); n-heksan:etil asetat (5:5); n-heksan:etil asetat (8:12); dan kloroform:metanol (9:1). Plat KLT dimasukkan kedalam *chamber* yang telah berisi fase gerak yang dijenuhkan. Kemudian masing-masing eluen dibiarkan terelusi hingga 8 cm dari garis awal. Selanjutnya plat KLT dikeluarkan dari *chamber* dan dikeringkan pada suhu ruang. Selanjutnya diamati di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm dan dihitung nilai Rf nodanya (Abdullah dkk., 2021) dan dideteksi menggunakan uap amonia. Nilai Rf dihitung dengan rumus:

$$\text{Rf} = \frac{jarak\ yang\ ditempuh\ senyawa}{jarak\ yang\ ditempuh\ eluen}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman

Bandotan dilakukan determinasi bertujuan untuk memastikan kebenaran dan menghindari kesalahan sampel tanaman yang digunakan dalam penelitian (Ekayani dkk., 2021). Hasil determinasi tanaman bandotan yang dilaksanakan di Laboratorium Pengujian UPF Pelayanan Kesehatan Tradisional Tawangmangu sesuai surat No. TL.02.04/D.XI.5/16536.143/2023 menunjukkan bahwa sampel tersebut yaitu bandotan, sehingga tanaman yang digunakan untuk penelitian ini benar tanaman yang berasal dari spesies *Ageratum conyzoides* L.

Preparasi Sampel

Pembuatan simplisia herba bandotan diawali dengan melakukan sortasi basah untuk memisahkan kotoran yang menempel dan herba yang rusak pada saat pemanenan. Selanjutnya dicuci dengan menggunakan air yang mengalir dan ditiriskan, kemudian dikeringkan dengan diangin-anginkan selanjutnya di oven pada suhu 50°C untuk mengurangi kerusakan senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia akibat metabolisme mikroorganisme (Asworo dan Widwiastuti, 2023). Simplisia yang telah kering dilakukan sortasi kering untuk memisahkan bagian tanaman yang rusak saat pengeringan. Selanjutnya dilakukan pengecilan ukuran simplisia dengan cara dihaluskan menggunakan blender untuk memperluas permukaan sampel sehingga lebih mudah berinteraksi dengan permukaan partikel dan mudah melarutkan senyawa dari simplisia. Simplisia yang telah menjadi serbuk diayak menggunakan ayakan no 40 mesh agar memperoleh ukuran partikel serbuk yang homogen agar pada proses ekstraksi akan menjadi lebih cepat dan jumlah ekstrak yang dihasilkan lebih optimum (Widyasanti dan Klarasitadewi, 2022).

Ekstraksi

Serbuk herba bandotan diekstraksi dengan etanol 70% karena etanol dapat menarik senyawa aktif yang bersifat polar lebih banyak dibandingkan dengan pelarut organik lainnya (Hasanah dan Novian, 2020). Setelah 3 hari maserasi, maka dilakukan remaserasi selama 2 hari. Remaserasi dilakukan untuk menyari senyawa-senyawa yang masih tertinggal atau tidak ikut tersari dalam ampas pada saat maserasi karena pelarut sudah jenuh, sehingga tidak dapat tertarik senyawanya. Maserat yang diperoleh kemudian dilakukan *rotary evaporator* dengan kecepatan 200 rpm dengan suhu 50°C. Selanjutnya dilakukan penguapan pelarut dengan *waterbath* pada suhu 50°C untuk menghilangkan pelarut etanol dari ekstrak, sehingga dihasilkan bentuk ekstrak kental. Ekstrak kental memiliki warna hijau kecoklatan dengan rendemen sebesar 17,44% (tabel 1). Perolehan rendemen yang didapatkan pada penelitian ini lebih besar jika dibandingkan dengan penelitian (Abdullah dkk., 2021). Pada penelitian Abdullah *et al* (2021) yang menyatakan bahwa ekstrak yang diperoleh hanya 2,361%. Hal ini disebabkan karena perbedaan rasio bahan dibanding pelarut yang digunakan sehingga

menyebabkan senyawa aktif yang dapat ditarik pada saat proses ekstraksi lebih optimal penelitian ini. Penelitian Abdullah *et al* (2021) melakukan maserasi dengan perbandingan 1 : 2 sedangkan pada penelitian ini menggunakan perbandingan 1 : 10.

Ekstrak etanol kental herba bandotan selanjutnya di fraksinasi bertingkat menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan air. Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran pelarut yang tidak saling bercampur (Sembiring dkk., 2016). Hasil rendemen fraksi herba Bandotan tertuang pada tabel 1 yang menunjukkan hasil organoleptis dan % rendemen yang berbeda-beda karena adanya perbedaan kemampuan pelarut untuk menarik senyawa yang ada berdasarkan polaritasnya. Hasil organoleptis menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi n-heksan memiliki aroma yang lebih pekat dibandingkan fraksi air dan etil asetat. Hal ini dapat disebabkan karena coumarin, senyawa yang mengakibatkan aroma pada tanaman Bandotan (Waterhouse, 1994) merupakan senyawa yang bersifat non polar. Sehingga ketika terjadi fraksinasi akan lebih banyak tertarik pada fraksi yang bersifat non polar. Tabel 1 juga menunjukkan % rendemen yang dihasilkan oleh fraksi air paling besar dibandingkan fraksi yang lain. Hal ini dapat disebabkan karena bandotan memiliki kandungan metabolit yang bersifat polar lebih banyak dibandingkan semi polar dan non-polar. Penelitian Firdiyani (2015) menyatakan bahwa senyawa flavonoid yang mudah larut dalam pelarut polar adalah flavonoid yang mempunyai gugus gula (karbohidrat sederhana). Adanya gula yang terikat dan bersifat polar menyebabkan glikosida mampu larut dalam pelarut polar (air).

Tabel 1. Hasil Rendemen

Sampel	Berat Bahan Awal	Berat Ekstrak yang diperoleh	Rendemen (%)	Organoleptis
Ekstrak	500 gram	87,2 gram	17,44	Warna hijau kecoklatan; bau khas bandotan pekat
Fraksi n-Heksan	38 gram	3,2 gram	8,42	Warna hijau kehitaman, bau khas bandotan
Fraksi Etil Asetat	38 gram	2,2 gram	5,79	Warna coklat, bau etil asetat
Fraksi Air	38 gram	26,2 gram	68,94	Warna orange kecoklatan, bau khas bandotan yang sangat lemah.

Identifikasi Senyawa Fenolik dan Flavonoid

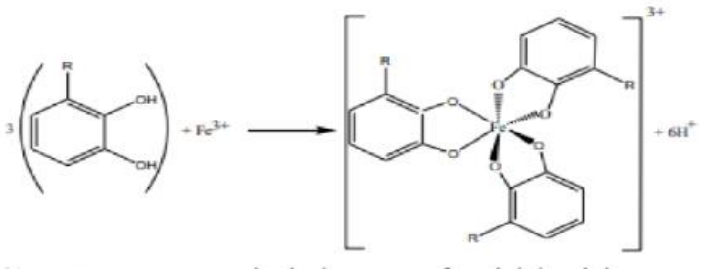
Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa herba bandotan mengandung senyawa terpenoid, alkaloid (Puro dkk., 2018), flavonoid (Yadav dan Ganie, 2019), minyak atsiri, fenolik (Amadi dkk., 2012), kumarin, sterol, glikosida, tannin, dan saponin (Kamboj dan Saluja, 2011). Senyawa fenolik dan senyawa flavonoid merupakan metabolit sekunder yang berperan dalam berbagai aktivitas dari tanaman bandotan. Oleh karena itu maka pada penelitian ini dilakukan identifikasi fenolik dan flavonoid dari ekstrak dan berbagai fraksi herba bandotan. Identifikasi dilakukan menggunakan uji tabung yang mereaksikan ekstrak dan berbagai fraksi dengan reagen kimia tertentu. Hasil identifikasi ditampilkan pada Tabel 2. Berdasarkan tabel tersebut, senyawa fenolik dan flavonoid terdapat pada ekstrak, fraksi etil asetat, dan fraksi air.

Tabel 2. Hasil Identifikasi

Sampel	Identifikasi	Hasil	Hasil uji
Ekstrak	Fenolik	+	Terbentuknya warna hitam
	Flavonoid	+	Terbentuknya warna jingga
Fraksi n-Heksan	Fenolik	-	Terbentuknya warna hijau
	Flavonoid	-	Terbentuknya warna kuning kecoklatan
Fraksi Etil Asetat	Fenolik	+	Terbentuknya warna hijau kehitaman
	Flavonoid	+	Terbentuknya warna kuning
Fraksi Air	Fenolik	+	Terbentuknya warna hitam
	Flavonoid	+	Terbentuknya warna jingga bening

Keterangan: positif (+) dan negatif (-)

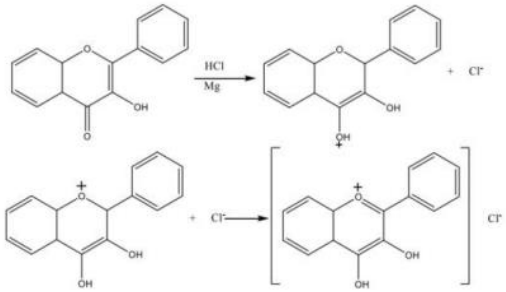
Keberadaan fenolik diuji dengan reaksi warna, dikatakan positif jika sampel mengalami perubahan warna hijau hingga biru kehitaman karena adanya penambahan $FeCl_3$ sehingga bereaksi dengan gugus aromatis –OH sehingga menimbulkan warna merah, hijau kehitaman, biru kehitaman, hingga hitam pekat (Anindita dkk., 2022). menunjukkan bahwa fenolik terdapat pada ekstrak, fraksi air, dan fraksi etil asetat. Ekstrak mengalami perubahan warna menjadi hitam pekat, pada fraksi air larutan berubah menjadi warna hijau kehitaman, sedangkan fraksi etil asetat berubah menjadi berwarna hijau kehitaman. Hal ini disebabkan sebagian besar senyawa golongan fenolik dalam bentuk glikosida lebih mudah larut dalam pelarut yang bersifat polar. Hasil identifikasi skrining fitokimia pada ekstrak dan fraksi herba bandotan terlihat pada tabel 2.



Gambar 1. Reaksi Fenolik

(Oktavia dan Sutoyo, 2021)

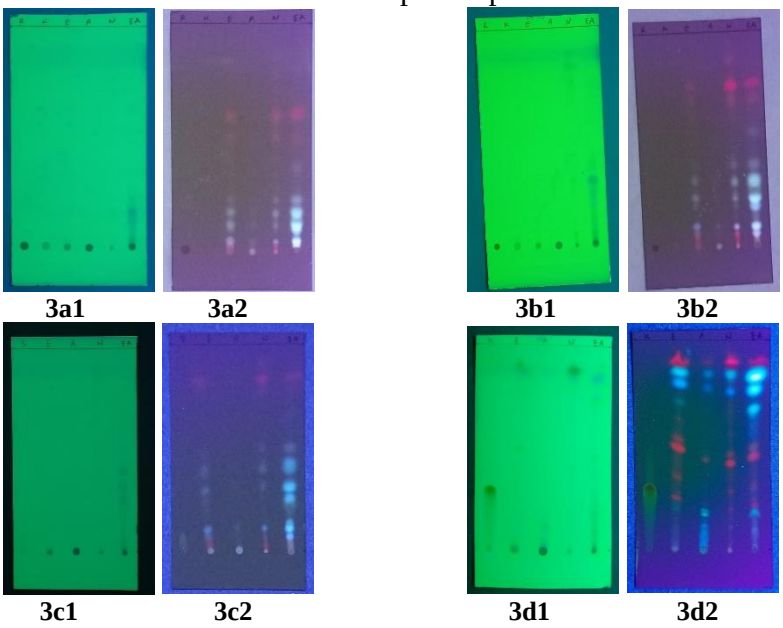
Senyawa flavonoid diuji dengan reaksi warna, dikatakan positif jika sampel mengalami perubahan warna menjadi merah muda, magenta dan jingga karena adanya penambahan serbuk Mg dan penambahan HCl pekat yang dilakukan pada suasana asam. Senyawa flavonoid akan tereduksi dengan Mg dan HCl sehingga menghasilkan warna hijau kekuningan, hijau kehitaman, merah, kuning atau jingga pada sampel (Sulistyarini, 2020). Pada ekstrak terjadi perubahan warna menjadi berwana jingga, pada fraksi air berubah menjadi warna jingga bening, sedangkan pada fraksi etil asetat berubah menjadi berwana kuning. Hal ini disebabkan sampel lebih banyak mempunyai gugus gula yang terikat pada senyawa flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air. Campuran pelarut etanol dengan air merupakan pelarut yang baik untuk glikosida, sehingga akan larut dalam pelarut polar. Hasil identifikasi skrining fitokimia pada ekstrak dan fraksi herba bandotan terlihat pada tabel 2.



Gambar 2. Reaksi Flavonoid
(Oktavia dan Sutoyo, 2021)

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Analisis menggunakan KLT merupakan pemisahan suatu komponen kimia berdasarkan perbedaan tingkat interaksi dalam dua fase material pemisah. Identifikasi KLT menggunakan Silika GF 254 nm dan standard berupa kuersetin. KLT diawali dengan mengoptimasi berbagai sistem fase gerak untuk menghasilkan sistem pemisahan yang paling baik. Sistem fase gerak yang digunakan adalah n-heksan : etil asetat (6:4); n-heksan : etil asetat (5:5); n-heksan : etil asetat : air (9:10:1); n-heksan : etil asetat (8:12) dan kloroform : metanol (9:1). Kromatogram yang timbul diamati dibawah sinar UV 254 nm, UV 366 nm, dan diuap amonia.Hasil identifikasi ditampilkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil Identifikasi KLT (3a1. n-Heksan : Etil Asetat (6 : 4) UV 254 nm; 3a2. n-Heksan : Etil Asetat (6 : 4) UV 366 nm+amonia; 3b1. n-Heksan : Etil Asetat (5 : 5) UV 254 nm; 3b2. n-Heksan : Etil Asetat (5 : 5) UV 366 nm+ amonia; 3c1.n-Heksan : Etil Asetat (8 : 12) UV 254 nm; 3c2. n-Heksan : Etil Asetat (8 : 12) UV 366 nm+amonia; 3d1.Kloroform : Metanol (9 : 1) UV 254 nm; 3d2. Kloroform : Metanol (9 : 1) UV 366 nm+amonia).

Berdasarkan hasil optimasi yang telah dilakukan, fase gerak klorofom : metanol (9:1) adalah fase gerak terpilih. Hal ini disebabkan karena pada fase gerak tersebut setiap sampel dapat terpisah dengan baik, dan senyawa kuersetin yang merupakan standard juga dapat terelusi keluar dari fase diam, sehingga dapat diidentifikasi dengan baik. Berdasarkan

Gambar 3d1 dan 3d2, *spot* yang dihasilkan oleh kromatogram hasil elusi dengan fase gerak klorofom : metanol (9:1) secara lebih rinci ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai Rf

Sampel	Jumlah Spot	Nilai Rf	UV 366
Kuersetin	1	0,31	Fluoresensi kuning
Ekstrak	9	0,20	Fluoresensi biru
		0,26	Fluoresensi merah
		0,36	Fluoresensi merah
		0,51	Fluoresensi merah
		0,56	Fluoresensi merah
		0,74	Fluoresensi biru
		0,83	Fluoresensi biru
		0,87	Fluoresensi biru
		0,91	Fluoresensi merah
Fraksi Air	7	0,12	Fluoresensi biru
		0,17	Fluoresensi biru
		0,18	Fluoresensi biru
		0,42	Fluoresensi merah
		0,80	Fluoresensi biru
		0,86	Fluoresensi biru
		0,91	Fluoresensi merah
Fraksi Etil Asetat	10	0,01	Fluoresensi biru
		0,18	Fluoresensi biru
		0,22	Fluoresensi merah
		0,30	Fluoresensi merah
		0,46	Fluoresensi merah
		0,50	Fluoresensi merah
		0,70	Fluoresensi biru
		0,78	Fluoresensi biru
		0,85	Fluoresensi biru
		0,92	Fluoresensi merah
Fraksi n-Heksan	8	0,01	Fluoresensi merah
		0,18	Fluoresensi merah
		0,29	Fluoresensi merah
		0,43	Fluoresensi merah
		0,76	Fluoresensi merah
		0,78	Fluoresensi biru
		0,85	Fluoresensi biru
		0,91	Fluoresensi merah

Tabel 3 menunjukkan masing-masing sampel menghasilkan jumlah spot yang berbeda-beda karena sampel yang digunakan mempunyai kandungan senyawa yang bervariasi. Berdasarkan buku Markham, (1988) perbedaan warna pada spot yang dihasilkan setelah diperiksa menggunakan UV 366 nm tanpa uap amonia dan uap amonia dapat dijadikan dasar untuk mengetahui jenis flavonoid yang mungkin ada dalam sampel. Fraksi etil asetat menunjukkan hasil pemisahan sampel yang terbanyak yaitu 10 spot. Hasil ini menyatakan bahwa senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat lebih banyak daripada sampel yang lainnya. Hal ini bermakna bahwa kandungan senyawa yang ada pada herba bandotan lebih banyak yang bersifat semi polar.

Tabel 3 menunjukkan bahwa fluoresensi yang muncul saat diamati di bawah UV 366 nm dari masing-masing sampel berwarna biru dan merah. Berdasarkan buku Markham, (1988) hasil spot berwarna fluoresensi biru menandakan bahwa positif mengandung flavonoid golongan isoflavon yang tidak mengandung 5-OH bebas karena saat diamati di bawah UV 366 nm dan setelah dilakukan penguapan amonia warna spot yang dihasilkan tidak mengalami perubahan warna sedikit atau tanpa perubahan.

Nilai Rf 0,91 - 0,92 terdapat warna merah, yang mana pada fraksi air menghasilkan warna spot merah yang paling pudar daripada yang lainnya. Hal ini dimungkinkan klorofil karena klorofil memeberikan bercak berwarna merah pada pengamatan di bawah UV 366 nm (Santosa dan Haresmita, 2015). Pada esktrak, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan terdapat bercak warna merah dengan nilai Rf 0,91 dan 0,92 kemungkinan adalah klorofil yang mempunyai sifat non-polar. Sedangkan pada sampel fraksi air terdapat warna merah yang paling pudar karena fraksi air mempunyai sifat yang polar sehingga tidak dapat menarik senyawa yang bersifat non-polar.

Identifikasi KLT ini menggunakan standar kuersetin karena merupakan salah satu senyawa flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada atom C-4 dan juga gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang bertetangga (Sari dan Ayuchecaria, 2017). Menurut Hanani, 2015 pada sinar UV 366 flavonoid terlihat berfluoresensi berwarna kuning, biru atau hijau, sedangkan pada UV 254 menyebabkan plat KLT berfluoresensi dan sampel akan berwarna gelap (Ramlah dkk., 2022). Hasil Rf pada standar kuersetin adalah 0,31 sedangkan sampel yang digunakan tidak menunjukan adanya nilai Rf dan tampilan spot yang sama dengan kuersetin, sehingga dapat dikatakan sampel tidak mengandung kuersetin. Hal tersebut didukung penelitian Adelya (2022) yang menyatakan bahwa kandungan senyawa herba bandotan dalam flavonoid adalah kaempferol.

Kromatogram yang timbul diamati dibawah sinar UV 254 nm dan UV 366 nm dan diuap amonia. Bercak yang timbul setelah dilakukan penguapan amonia diamati di UV 254 nm berwarna kuning muda dengan nilai Rf 0,50 dan 0,90 untuk ekstrak; 0,68 untuk fraksi air; 0,41 dan 0, 85 untuk fraksi n-Heksan; sedangkan 0,45 dan 0,87 untuk fraksi etil asetat. Noda nampak semakin jelas setelah diuap amonia dengan terbentuknya warna kuning yang masuk dalam rentang nilai Rf 0,2 – 0,75 sebagai flavonoid (Rahayu dkk., 2015).

KESIMPULAN

Hasil identifikasi kualitatif uji tabung menunjukkan ekstrak, fraksi air, dan fraksi etil asetat herba bandotan positif mengandung fenolik dan flavonoid. Identifikasi KLT dari ekstrak dan seluruh fraksi herba bandotan menunjukkan adanya flavonoid golongan isoflavon yang tidak mengandung 5-OH bebas.

ACKNOWLEDGEMENT

Ucapan terimakasih ditujukan kepada Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional yang telah memberikan fasilitas Hibah Pendanaan dan semua pihak yang telah memberikan dukungan, saran dan masukan dalam penelitian yang dilakukan ini.

DAFTAR PUSTAKA

Abdullah, S. S., Djide, N., & Natsir, S. (2021). KLT Bioautografi Hasil Partisi Ekstrak Etanol Herba Bandotan (Ageratum conyzoides L.) Terhadap Shigella dysentriae. *CHEMISTRY PROGRESS*, *14*(1). https://doi.org/10.35799/cp.14.1.2021.34076

Amadi, B. A., Duru, M. K. C., & Agomuo, E. N. (2012). Chemical profilesof leaf, stem, root and flower of Ageratum conyzoides. *Pelagia Research Library*, *2*(4), 428–432.

Anindita, R., Yolanda, H., & Inggraini, M. (2022). Skrining Fitokimia dan Uji Antibakteri Senyawa Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Lemon (Citrus limon (L.) Osbeck)Terhadap Staphylococcus aureus. *Jurnal Bioshell*, *11*(2). https://doi.org/10.56013/bio.v11i2.1644

Asworo, R. Y., & Widwiastuti, H. (2023). Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia dan Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Sirsak. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, *3*(2). https://doi.org/10.37311/ijpe.v3i2.19906

Ekayani, M., Juliantoni, Y., & Hakim, A. (2021). Uji Efektivitas Lavarsida dan Evaluasi Sifat Fisik Sediaan Losio Antinyamuk Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (Chromolaena odorata L.) Terhadap Nyamuk Aedes Aegypti. *Jurnal Inovasi Penelitian*, *2*(4), 1261–1270. https://doi.org/10.47492/jip.v1i4.802

Hasanah, N., & Novian, D. R. (2020). Analisis Ekstrak Etanol Buah Labu Kuning (Cucurbita Moschata D.). *Parapemikir : Jurnal Ilmiah Farmasi*, *9*(1), 54. https://doi.org/10.30591/pjif.v9i1.1758

Hilaliyah, R. (2021). Pemanfaatan Tumbuhan Liar Bandotan (Ageratum conyzoides L.) sebagai Obat Tradisional dan Aktivitas Farmakologinya. *Bioscientiae*, *18*(1), 28. https://doi.org/10.20527/b.v18i1.4065

Kamboj, A., & Saluja, A. K. (2011). Isolation Of Stigmasterol And β-Sitosterol From Petroleum Ether Extract Of Aerial Parts Of Ageratum Conyzoides (Asteraceae). *Int J Pharm Pharm Sci*, *3*(1), 94–96.

Markham, K. R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata*. ITB.

Novia, D., Noviyanti, Y., & Anggraini, Y. N. (2019). IDENTIFIKASI DAN FRAKSINASI EKSTRAK AKAR TEBU HITAM (Saccharum officinarum L.) DENGAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS. *Jurnal Ilmiah Pharmacy*, *6*(1), 77–85. https://doi.org/10.52161/jiphar.v6i1.2

Oktavia, F. D., & Sutoyo, S. (2021). Skrining Fitokimia, Kandungan Flavonoid Total, Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Tumbuhan Selaginella doederleinii. *Jurnal Kimia Riset*, *6*(2), 141. https://doi.org/10.20473/jkr.v6i2.30904

Puro, K. N., Mazumder, M. U., Khazeo, P., Jyrwa, R., Jamir, N., & Sailo, L. (2018). *Qualitative and quantitative analysis of phytochemicals of crude extracts of Ageratum conyzoides L. leaves*. 164–168. https://doi.org/10.2991/msc-18.2018.26

Rahayu, S., Kurniasih, N., & Amalia, V. (2015). Ekstraksi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Limbah Kulit Bawang Merah Sebagai Antioksidan Alami. *al-Kimiya*, *2*(1), 1–8. https://doi.org/10.15575/ak.v2i1.345

Ramlah, Pratiwi, L., & Nurbaeti, S. N. (2022). *Ekstraksi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Limbah Kulit Bawang Merah Sebagai Antioksidan Alami (Melastoma malabathricum L.)*. 1–4.

Santosa, D., & Haresmita, P. P. (2015). Antioxidant Activity Determination Garcinia dulcis (Roxb.) Kurz, Blumeamollis (D.Don) Merr., Siegesbeckia orientalis L., and Salvia riparia H.B.K Which Collected From Taman Nasional Gunung Merapi Using DPPH (2,2-diphenyl-1-pikril-hidrazil) and Thin Layer Chromatography. *Traditional Medicine Journal*, *20*(1), 28–36.

Sari, A. K., & Ayuchecaria, N. (2017). Penetapan Kadar Fenolik Total Dan Flavonoid Total Ekstrak Beras Hitam (Oryza sativa L) Dari Kalimantan Selatan. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, *2*(2), 327–335.

Sembiring, E., Sangi, M. S., & Suryanto, E. (2016). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Dari Biji. *Chem. Prog*, *9*(1), 14–20.

Sulistyarini, I. (2020). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga. *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 56–62.

Waterhouse. (1994). *Biological Control of Weeds: Southeast Asian Prospects*. nternational Agricultural Researc.

Widyasanti, A., & Klarasitadewi, A. (2022). Pengaruh Rasio Bahan-Pelarut Dan Lama Terhadap Karakteristik Fisikokimia Ekstrak Cair Daun Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni). *Jurnal Agroindustri*, *12*(2), 86–95. https://doi.org/10.31186/j.agroind.12.2.86-95

Yadav, N., & Ganie, S. A. (2019). Phytochemical constituents and ethnopharmacological properties of Ageratum conyzoides L . *Journal Wiley*, 1–16. https://doi.org/10.1002/ptr.6405

Yassir, M., & Asnah, A. (2019). Pemanfaatan Jenis Tumbuhan Obat Tradisional Di Desa Batu Hamparan Kabupaten Aceh Tenggara. *BIOTIK: Jurnal Ilmiah Biologi Teknologi dan Kependidikan*, *6*(1), 17. https://doi.org/10.22373/biotik.v6i1.4039