

IDENTIFIKASI STRUKTUR SENYAWA FLAVONOID DARI DAUN KESUM (*Polygonum minus* Huds.) MENGGUNAKAN METODE PEREAKSI GESER

Ita Inayah¹, Syumillah Saepudin², Humairo Mudrikah Ramdhani³

^{1,2,3}Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Al Ghifari, Indonesia

Article Info

Article history:

Received Sep 5, 2024

Revised Sep 11, 2024

Accepted Sep 30, 2024

Keywords:

Flavonoid Compounds

Kesum Leaves

Polygonum Minus

ABSTRACT

Polygonum minus Huds or kesum plant is a characteristic plant of West Kalimantan. The secondary metabolite content in this plant includes phenols, terpenoids, alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins. Previous research has shown the presence of isolated chemical compounds from the flavonoid group. This study aims to identify the structure of flavonoid compounds in kesum leaves using the shift reagent method. Extraction was carried out by maceration using methanol solvent for 7x24 hours. Afterwards, phytochemical screening was performed using Wilstater reagent, H₂SO₄, and 10% NaOH. Extract monitoring was done using TLC plates with n-hexane : ethyl acetate : 98% acetic acid (8 : 1 : 1) as eluent. Then, vacuum liquid chromatography fractionation was carried out with eluents of n-hexane (100%), n-hexane : ethyl acetate (50% : 50%), ethyl acetate (100%), ethyl acetate : methanol (50% : 50%), methanol (100%) and column chromatography with n-hexane : ethyl acetate : 98% acetic acid (8 : 1 : 1) as eluent. The next stage involved isolation using preparative thin-layer chromatography and purity testing with two-dimensional thin-layer chromatography. Identification of flavonoid compound structure using shift reagents was performed by adding shift reagents such as 2N NaOH, 5% AlCl₃, NaOAc, NaOAc/H₃BO₃ to determine the position of free phenol hydroxyl groups on the flavonoid nucleus. Based on the interpretation results using UV-Vis spectrophotometer (shift reagent method), it showed the presence of flavonoids from the flavonol group (3-OH substituted flavonoids). According to chemotaxonomic theory, plants within the same family generally have similar chemical compounds, thus likely having similar potential for disease treatment

This is an open access article under the [CC BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



Corresponding Author:

Ita Inayah,

Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Al Ghifari,

Jl. Cisaranten Kulon No. 140 Cisaranten Kulon, Kec. Arcamanik Kota Bandung, Jawa Barat 40293.

Email: itainayah@gmail.com

1. INTRODUCTION

Indonesia adalah negara yang kaya akan keanekaragaman hayati terutama macam jenis flora. Sebagian besar flora di Indonesia telah dimanfaatkan sebagai tanaman obat tradisional. Salah satu tanaman yang menarik sebagai bahan penelitian adalah tanaman daun kesum (*Polygonum minus* Huds). Tanaman ini merupakan khas Kalimantan Barat, dapat tumbuh di daerah tropis dan subtropis serta telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sekitar sebagai bahan makanan (Dewi et al., 2019).

Tanaman kesum mengandung senyawa-senyawa golongan fenol, terpenoid, alkaloid, flavonoid, saponin, dan tannin (Kartikasari et al., 2022). Pada penelitian sebelumnya, berdasarkan isolasi dan karakterisasi ekstrak metanol daun kesum (*Polygonum minus* Huds.) telah teridentifikasi mengandung senyawa kimia golongan flavonoid. Selain itu, beberapa penelitian pada daun kesum menunjukkan bahwa senyawa flavonoid diantaranya rutin dan kuersetin (Dewi et al., 2019).

Flavonoid merupakan senyawa aktif biologis yang dapat digunakan dalam berbagai pengobatan herbal. Oleh karena itu, flavonoid memiliki peranan penting yaitu mampu menangkal radikal bebas serta mampu menghambat oksidasi lipid. Senyawa ini memiliki kemampuan aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, dan anti kanker (Ladeska et al., 2022). Dimana jumlah total gugus hidroksil secara substansial yang mempengaruhi mekanisme aktivitas antioksidan. Berdasarkan struktur pada flavonoid tersusun konfigurasi C6-C3-C6 membentuk dua cincin aromatik serta dihubungkan oleh alifatik tiga atom karbon dengan membentuk cincin ketiga (H. Hermawan et al., 2017).

Identifikasi struktur senyawa flavonoid dapat dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis dengan menghasilkan 2 pita serapan khas flavonoid. Senyawa flavonoid mengandung gugus hidroksil yang keterikatannya pada flavonoid dapat ditentukan dengan penambahan pereaksi geser (Harijuliatri, 2023). Kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti flavonoid yang dapat ditentukan dengan menggunakan pereaksi geser ke dalam larutan dengan mengamati pergeseran puncak serapan yang terjadi (Markham, 1988). Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi struktur senyawa flavonoid dari daun kesum (*Polygonum minus* Huds.) menggunakan metode pereaksi geser.

2. RESEARCH METHOD

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yang dalam penelitian adalah timbangan analitik, gelas kimia, gelas ukur, bejana maserasi, pipet tetes, batang pengaduk, spatel, pinset, corong, rotary evaporator, water bath, moisture balance, chamber, vial, oven, pipet volume, cawan penguap, kolom, vakum, lampu UV, spektrofotometer UV. Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah daun kesum (*Polygonum minus* Huds.), metanol 100%, Mg, HCl Pekat, H₂SO₄ Pekat, NaOH 10%, n-heksan, etil asetat, asam asetat glasial, AlCl₃ 5%, n-butanol, air, plat KLT GF254, silika gel G60, kertas saring, NaOH 2N, serbuk NaOAc, serbuk H₃BO₃.

Pengumpulan Bahan Tanaman dan Determinasi Tanaman

Simplisia yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun kesum yang diperoleh dari pekarangan rumah daerah Kalimantan Barat. Tanaman dalam bentuk simplisia yang telah melalui proses pengeringan. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Jatinangor pada bulan Oktober 2023.

Penetapan Kadar Air

Sebanyak 2 gr simplisia dimasukkan ke dalam alat *moisture balance* yang telah disetarakan. Simpan pada suhu 100°C selama 5 menit. Timbang kembali pada selang waktu 1 jam (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

Penetapan Susut Pengerinan

Sebanyak 2 gram simplisia dimasukkan ke dalam cawan porselin yang sebelumnya ditimbang terlebih dahulu. Kemudian panaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah di tara. Cawan dimasukkan kedalam oven pada suhu 105°C hingga bobot tetap, didinginkan dalam desikator. Timbang kembali simplisia yang sudah didinginkan (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

Kadar Sari Larut Air

Sebanyak 5 gram simplisia dimasukkan ke dalam labu bersumbat kemudian dilarutkan air jenuh kloroform 100 ml. campurkan berkali-kali, uap kan selama 18 jam. Ambil filtrat sebanyak 20 ml hingga kering dalam cawan. Panaskan dalam suhu 105°C hingga bobot tetap (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2017). Kemudian hitung dalam persen dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Kadar sari larut air} = \frac{\text{Berat sari larut air}}{\text{Berat bahan awal}} \times \frac{\text{volume pelarut maserasi}}{\text{volume ekstrak cair}} \times 100\%$$

Kadar Sari Larut Etanol

Sebanyak 5 gram simplisia dimasukkan ke dalam labu bersumbat kemudian dilarutkan etanol 100 ml. campurkan berkali-kali, uap kan selama 18 jam. Ambil filtrat sebanyak 20 ml hingga kering dalam cawan. Panaskan dalam suhu 105°C hingga bobot tetap (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2017). Kemudian hitung dalam persen dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Kadar sari larut etanol} = \frac{\text{Berat sari larut etanol}}{\text{Berat bahan awal}} \times \frac{\text{volume pelarut maserasi}}{\text{volume ekstrak cair}} \times 100\%$$

Pembuatan Ekstrak

Ekstrak daun kesum dilakukan secara maserasi. Sebanyak 100 g simplisia daun kesum yang telah dihaluskan, ditimbang, dan dimasukkan kedalam maserator. Simplisia direndam dengan pelarut metanol sedikit demi sedikit, sampai simplisia turun dan terendam. Setelah simplisia terendam, pelarut metanol ditambah lebih kurang hingga 2 cm dari permukaan atas simplisia. Proses maserasi dilakukan dengan penggantian pelarut setiap 24 jam sampai filtrat akhir jernih. kemudian disaring sehingga diperoleh filtrat dan ditampung dalam botol kaca. Semua maserat dikumpulkan, pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator* dan *water bath* hingga diperoleh ekstrak kental. Kemudian dihitung nilai berat ekstrak dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\%$$

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak daun kesum untuk mengetahui senyawa kimia yang ada pada daun kesum dengan cara kualitatif.

1. Pereaksi Wilstater

Sebanyak 500 mg sampel dalam tabung reaksi yang telah dilarutkan dengan metanol dicampur dengan serbuk magnesium dan asam klorida pekat. Adanya flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna jingga. Karena penambahan pereaksi tersebut dapat membentuk garam flavilium yang berwarna merah atau jingga (Illing et al., 2017).

2. Pereaksi H₂SO₄

Sebanyak 500 mg sampel dalam tabung reaksi yang telah dilarutkan dengan metanol ditambahkan H₂SO₄ pekat. Adanya flavonoid yang membentuk senyawa kompleks yang ditandai dengan hijau kehitaman (Kusnadi & Devi, 2017).

3. Pereaksi NaOH 10%

Sebanyak 500 mg sampel dalam tabung reaksi yang telah dilarutkan dengan metanol ditambahkan NaOH 10%. Adanya flavonoid terjadi perubahan dari warna warna hijau muda menjadi warna kuning, merah, coklat, dan hijau (Mailuhu et al., 2017).

Isolasi dan Identifikasi dengan Metode Kromatografi

Isolasi dan identifikasi dilakukan terhadap ekstrak daun kesum untuk memisahkan senyawa kimia yang ada pada daun kesum dengan cara kromatografi.

1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Preparasi sampel disiapkan 1 gram ekstrak daun kesum yang telah dikentalkan, kemudian dilarutkan dalam 1 ml metanol. Totolkan ekstrak pada plat KLT. Plat KLT yang digunakan adalah silika gel. Jenuhkan fase gerak yang digunakan n-heksan : etil asetat : asam asetat glasial (8:1:1) sebanyak 3 ml diamkan selama \pm 45 menit (Rifky et al., 2019). Hasil pemantauan KLT menggunakan sinar UV 254 nm dan Sinar UV 366 nm (Karthika et al., 2014).

2. Kromatografi Cair Vakum

Preparasi sampel sebanyak 5 gram dikeringkan menggunakan silika gel G60 sebanyak 60 gram hingga homogen dan kering. Simpan silika gel di atas kertas saring, masukkan sampel yang sudah dikeringkan dan ratakan di dalam kolom. Tambahkan eluen berdasarkan tingkat kepolarannya, yaitu n-heksan (100%), n-heksan : etil asetat (50% : 50%), etil asetat (100%), etil asetat : metanol (50% : 50%), metanol (100%). Masukan eluen secara bertahap. Kemudian di vakum dan tampung hasil subfraksi. Hasil fraksi dilakukan pemantauan KLT menggunakan sinar UV 254 nm dan Sinar UV 366 nm (Karthika et al., 2014).

3. Kromatografi Kolom

Sampel hasil subfraksi KCV dilanjutkan pemisahan dengan kromatografi kolom. Preparasi sampel dan keringkan menggunakan silika gel G60 sebanyak 30 gram hingga homogen dan kering. Simpan silika gel di atas kertas saring, masukkan sampel yang sudah dikeringkan dan ratakan di dalam kolom. Basahi kolom menggunakan fase gerak secara terus menerus agar silika gel tidak kering. Fase gerak yang digunakan adalah n-heksan : etil asetat : asam asetat glasial (8 : 1 : 1) sebanyak 500 ml (Rifky et al., 2019). Hasil kromatografi kolom ditampung, jika memiliki profil yang sama dipekatkan dan dilakukan pemantauan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan plat ukuran 4 x 8 cm menggunakan fase gerak n-heksan : etil asetat : asam asetat glasial (8 : 1 : 1) sebanyak 3 ml.

4. Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Hasil subfraksi KK dilanjutkan pemisahan dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP) dengan plat ukuran 20 x 20 cm menggunakan fase gerak n-heksan : etil asetat : asam asetat glasial (8 : 1 : 1) sebanyak 5 ml (Rifky et al., 2019). Letakkan posisi plat KLT secara horizontal lalu totolkan berdekatan hingga dapat membentuk pita. Amati noda bercak di bawah sinar tampak, sinar UV 254 nm, dan sinar UV 366 nm (Karthika et al., 2014). Kerokan pita yang memberikan hasil positif yaitu yang mendekati nilai R_f .

5. Kromatografi Lapis Tipis Dua Dimensi

Hasil isolat pada Kromatografi lapis tipis preparatif dilanjutkan dengan Kromatografi Lapis Tipis Dua Dimensi (KLT2D) untuk dilihat uji kemurniannya. Pemisahan dilakukan dengan dua fase gerak. Fase gerak yang pertama n-heksan : etil asetat : asam asetat glasial (8 : 1 : 1) sebanyak 5 ml (Rifky et al., 2013). Kemudian amati dibawah sinar tampak, sinar UV 254 nm, dan sinar UV 366 nm. Putar plat KLT berlawanan arah jarum jam. Fase gerak yang kedua menggunakan n-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) sebanyak 5 ml (Ferdinan & Audiah, 2021). Plat KLT menggunakan ukuran 5 x 5 cm. Amati noda bercak di bawah bawah sinar tampak, sinar UV 254 nm, dan sinar UV 366 nm (Karthika et al., 2014).

Identifikasi Senyawa Flavonoid Menggunakan Spektrofotometer UV- Vis

Isolat diperoleh dari hasil Kromatografi Lapis Tipis Preparatif. Larutkan isolat dengan metanol sebanyak 5 ml. Kemudian analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Amati spektrum pada panjang gelombang 200 – 400 nm. Lanjutkan identifikasi menggunakan pereaksi

geser NaOH 2N, AlCl₃ 5%, NaOAc, NaOAc/H₃BO₃. Amati pergeseran puncak serapan yang terjadi dengan tahapan pereaksi geser sebagai berikut (Markham, 1988; Saptarini et al., 2022):

Tahap I : Larutan isolat yang diduga flavonoid dituang ke dalam kuvet. Amati spektrum pada panjang gelombang 200 – 400 nm. Hasil rentangan serapan spektrum UV-Vis yang terjadi yakni flavonol (flavonoid 3-OH tersubstitusi) yaitu pita I antara 330-360 dan pita II antara 250-280 nm. Untuk senyawa flavanon dan dihidroflavonol yaitu dengan rentang panjang gelombang pada 300-330 nm dan 275-295 nm.

Tahap II : Isolat tahap I ditambahkan 3 tetes NaOH 2N. Campurkan hingga homogen. Amati spektrum. Penambahan pereaksi NaOH 2N menyebabkan pergeseran batokromik karena adanya ionisasi pada gugus –OH pada posisi 3,4'-OH. Pergeseran tersebut terjadi pada pita I yaitu rentang antara 45-65 nm dari flavon dan flavonol.

Tahap III : Isolat tahap I ditambahkan 3 tetes AlCl₃ 5%. Campurkan hingga homogen. Amati spektrum. Penambahan pereaksi AlCl₃ menyebabkan pergeseran dengan mendeteksi gugus orto-dihidroksil pada cincin A dan B. Pergeseran tersebut terjadi pada pita I yaitu rentang lebih dari 30-40 nm.

Tahap IV : Isolat tahap I ditambahkan serbuk NaOAc. Campurkan hingga homogen. Amati spektrum. Selanjutnya tambahkan serbuk H₃BO₃. Campurkan hingga homogen. Amati spektrum NaOAc/H₃BO₃. Penambahan pereaksi NaOAc menyebabkan pergeseran batokromik dengan mendeteksi gugus 7-hidroksil. Pergeseran tersebut terjadi pada pita II yaitu rentang antara 5-20 nm dari flavon, flavonol, dan isoflavon. Sedangkan penambahan pereaksi NaOAc/H₃BO₃ menyebabkan pergeseran batokromik dengan mendeteksi gugus orto-dihidroksil pada semua lokasi inti flavonoid. Pergeseran tersebut terjadi pada pita I yaitu rentang antara 12-30 nm dari flavon, flavonol, auron, dan khalkon.

3. RESULTS AND ANALYSIS

Pengumpulan Bahan Tanaman

Pengumpulan bahan tanaman menggunakan simplisia daun kesum yang diperoleh dari Kalimantan Barat. Tanaman dalam bentuk simplisia yang telah melalui proses pengeringan.

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman tersebut telah dilakukan di Laboratorium Taksonomi Departemen Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Padjadjaran (UNPAD) Bandung, dengan No. 32/HB/12/2022.

Hasil Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi simplisia dilakukan bertujuan mengukur parameter uji guna menjamin kualitas dan keseragaman syarat mutu. Hasil ditunjukkan pada **Tabel 1**. Adapun faktor yang dapat mempengaruhi karakteristik simplisia meliputi cara pembuatan dan penyimpanan simplisia.

Tabel 1. Hasil Karakterisasi Simplisia

Parameter	Hasil (%)	Pustaka (Kemenkes RI, 2017)
Kadar Air	4	< 10 %
Susut Pengeringan	13	< 10 %
Kadar Sari Larut Air	21	> 12 %
Kadar Sari Larut Etanol	13	> 12 %

Pada penelitian ini dilakukan penetapan kadar air untuk mengetahui batasan maksimal kandungan air pada simplisia. Hasil yang diperoleh yaitu 4%. Hal ini sesuai dengan syarat standar kadar air yang baik adalah tidak melebihi dari 10% (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2017). Penetapan susut pengeringan dilakukan untuk mengetahui batasan maksimal jumlah senyawa yang hilang pada saat proses susut pengeringan. Hasil yang diperoleh yaitu 13%. Menurut

Kemenkes RI, syarat susut pengeringan yang baik itu tidak melebihi dari 10%. Namun, saat proses susut pengeringan tidak hanya kandungan air saja yang hilang, akan tetapi senyawa yang mudah menguap (Hermawan et al., 2016). Hal ini masih baik digunakan apabila persentasenya tidak melebihi dari kadar air.

Penelitian dilanjutkan dengan penetapan kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol dilakukan bertujuan untuk mengidentifikasi kadar senyawa kimia pada sari simplisia. Diperoleh hasil kadar sari larut air yaitu 21% dan hasil kadar sari larut etanol yaitu 13%. Hal ini sesuai dengan syarat standar kadar sari larut etanol yang baik adalah melebihi 12% (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

Hasil Pembuatan Ekstrak

Proses ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol. Pemilihan pelarut tersebut dikarenakan bersifat polar yang mampu menarik senyawa metabolit sekunder pada simplisia. Proses maserasi dilakukan selama 7x24 jam. Hasil ekstrak metanol sebesar 12,26 gr dengan nilai rendemen ekstrak sebesar 12,26%

Hasil Skrining Fitokimia

Pengujian skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder pada tanaman daun kesum dengan cara kualitatif. Sampel yang digunakan adalah simplisia yang dilarutkan dengan aquades serta ekstrak kental yang dilarutkan dengan metanol. Hasil ditunjukkan pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Flavonoid

Pereaksi	Sampel		Keterangan
	Simplisia	Ekstrak	
Mg + HCl pekat + amil alkohol	+++	+++	Terbentuk lapisan warna jingga/merah bata
H ₂ SO ₄ pekat	+	+++	Terbentuk hijau kehitaman
NaOH 10%	+	+++	Terbentuk hijau pekat

Keterangan :

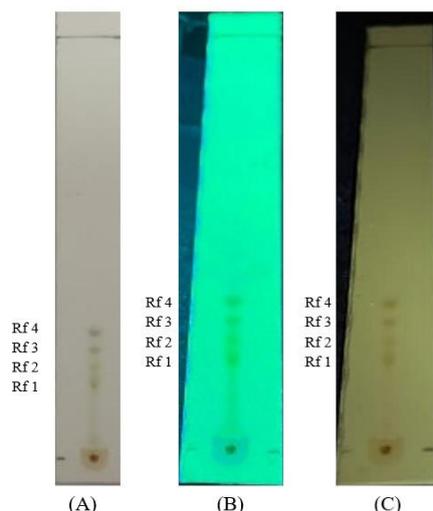
- +++ : Terdeteksi kuat mengandung flavonoid
- ++ : Terdeteksi sedang mengandung flavonoid
- +
- : Tidak terdeteksi mengandung flavonoid

Identifikasi flavonoid dengan pereaksi Wilstater dilakukan dengan penambahan serbuk magnesium, 3 tetes HCl pekat, dan 1 ml amil alkohol terjadi perubahan warna larutan menjadi warna jingga atau merah bata. Tujuan penambahan serbuk magnesium dan HCl pekat adalah untuk mereduksi inti benzopiron pada struktur flavonoid sehingga dapat terbentuknya garam flavilium (Illing et al., 2017). Kemudian, identifikasi flavonoid dengan pereaksi H₂SO₄ pekat terjadi perubahan warna larutan menjadi warna hijau kehitaman. Tujuan penambahan H₂SO₄ pekat disebabkan terjadinya reaksi oksidasi dan reduksi antara H₂SO₄ pekat dan flavonoid sehingga dapat terbentuknya senyawa kompleks (Kusnadi & Devi, 2017). Identifikasi flavonoid terakhir dengan pereaksi NaOH 10%. terjadi perubahan warna larutan menjadi warna hijau pekat. Tujuan penambahan NaOH 10% disebabkan adanya senyawa kristin yang merupakan senyawa flavon serta terjadinya penguraian basa menjadi molekul seperti asetafenon (Susiloningrum & Indrawati, 2020).

Hasil Isolasi dan Identifikasi dengan Metode Kromatografi

1. Kromatografi Lapis Tipis

Bercak noda pada plat KLT terdapat profil yang sama. Nilai *R_f* yang diperoleh yaitu 0,35 pada *R_f* dengan dugaan mengandung flavonoid. Nilai *R_f* pada profil KLT hampir mendekati dengan profil KLT senyawa bioaktif ekstrak Daun *Polygonum Chinese* yang mengandung flavonoid dengan nilai *R_f* 0,25; 0,43; 0,91 (Noviana, 2014). Berikut data hasil pemantauan dapat ditunjukkan pada **Gambar 1 dan Tabel 3**.



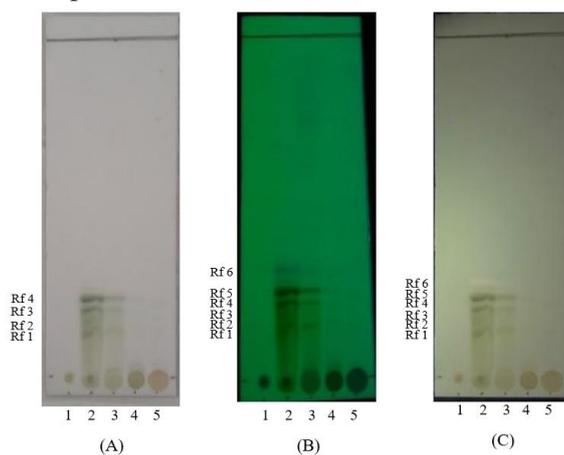
Gambar 1 : Profil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Metanol Daun Kesum. Yang Diamati Sinar Tampak (A), sinar UV 254 nm (B), dan sinar UV 366 nm (C)

Tabel 3. Hasil Pemantauan Profil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Metanol Daun Kesum fase gerak n-heksan : etil asetat : asam asetat 98% (8 : 1 : 1)

Nama sampel	Rf	Warna noda			Nilai Rf
		Tampak	UV 254 nm	UV 366 nm	
Ekstrak metanol daun kesum	1	Hijau	Hijau	Hijau	0,22
	2	Hijau	Hijau	Hijau	0,27
	3	Hijau muda	Hijau	Hijau kuning	0,31
	4	Hijau muda	Hijau	Hijau	0,35

2. Profil Kromatografi Cair Vakum

Bercak noda fraksi Kromatografi Cair Vakum pada plat KLT terdapat beberapa bercak noda dari fraksi kedua dan ketiga. Hasil bercak noda yang mendekati nilai Rf. Berikut data hasil pemantauan dapat ditunjukkan pada **Gambar 2 dan Tabel 4**.



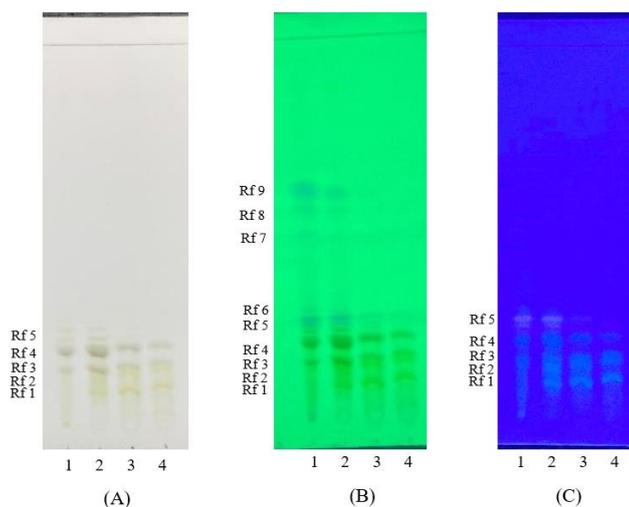
Gambar 2 : Profil Fraksi Kromatografi Cair Vakum. Yang Diamati Sinar Tampak (A), sinar UV 254 nm (B), dan sinar UV 366 nm (C)

Tabel 4. Hasil Pemantauan Profil Fraksi Kromatografi Cair Vakum Daun Kesum Fase Gerak n-heksan: etil asetat : asam asetat 98% (8 : 1 : 1)

Nama sampel	Rf	Warna noda			Nilai Rf
		Tampak	UV 254 nm	UV 366 nm	
Fraksi 1		-	-	-	-
Fraksi 2	1	Hijau muda	Hijau	Hijau muda	0,16
	2	Hijau	Hijau	Hijau	0,20
	3	Hijau pekat	Hijau	Hijau pekat	0,23
	4	-	Hijau	Hijau	0,26
	5	-	Biru	Biru	0,28
	6	-	-	-	Merah
Fraksi 3	1	Hijau	Hijau	Hijau	0,14
	2	Hijau	Hijau	Hijau	0,20
	3	Hijau	Hijau	Hijau	0,23
Fraksi 4		-	-	-	-
Fraksi 5		-	-	-	-

3. Profil Kromatografi Kolom

Bercak noda subfraksi kromatografi kolom terdapat beberapa bercak noda pada setiap fraksi. Namun yang dapat diidentifikasi sebagai isolat yaitu nilai Rf yang mendekati. Berdasarkan data hasil pemantauan dapat ditunjukkan pada **Gambar 3** dan **Tabel 5**.



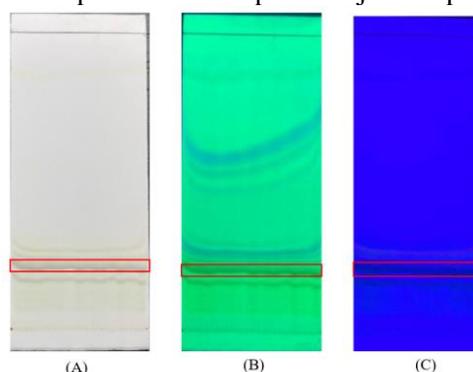
Gambar 3 : Profil Subfraksi Kromatografi Kolom. Yang Diamati Sinar Tampak (A), sinar UV 254 nm (B), dan sinar UV 366 nm (C)

Tabel 5. Hasil Pemantauan Subfraksi Kromatografi Kolom Daun Kesum fase gerak n-heksan : etil asetat : asam asetat 98% (8 : 1 : 1)

Nama sampel	Rf	Nilai Rf		
		Tampak	UV 254 nm	UV 366 nm
Subfraksi 2-1	1	0,13	0,13	0,13
	2	0,17	0,17	0,17
	3	0,20	0,20	0,20
	4	0,23	0,21	0,23
	5	-	0,23	-
	6	-	0,25	-
	7	-	0,45	-
	8	-	0,51	-
	9	-	0,55	-
Subfraksi 2-2	1	0,07	0,07	0,08
	2	0,13	0,13	0,14
	3	0,17	0,17	0,18
	4	0,20	0,20	0,23
	5	0,23	0,21	-
	6	-	0,23	-
	7	-	0,45	-
	8	-	0,51	-
	9	-	0,55	-
Subfraksi 2-3	1	0,08	0,08	0,08
	2	0,11	0,14	0,14
	3	0,13	0,13	0,18
	4	0,23	0,08	0,23
Subfraksi 2-4	1	0,08	0,08	0,08
	2	0,13	0,13	0,13
	3	0,14	0,14	0,18
	4	0,18	0,18	-

4. Profil Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Pemantauan kromatografi lapis tipis preparatif terdapat nilai *Rf* yang diperoleh yaitu pada *Rf*6 menunjukkan warna ungu pada sinar UV 254 nm. Hal tersebut menunjukkan adanya kandungan flavonoid. Berdasarkan pemantauan dapat ditunjukkan pada **Gambar 4**.

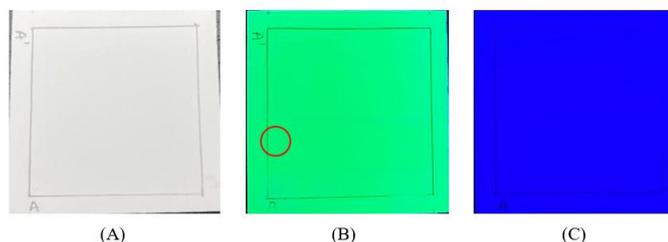


Gambar 4 : Profil Kromatografi Lapis Tipis Preparatif Senyawa Flavonoid. Yang Diamati Sinar Tampak (A), sinar UV 254 nm (B), dan sinar UV 366 nm (C)

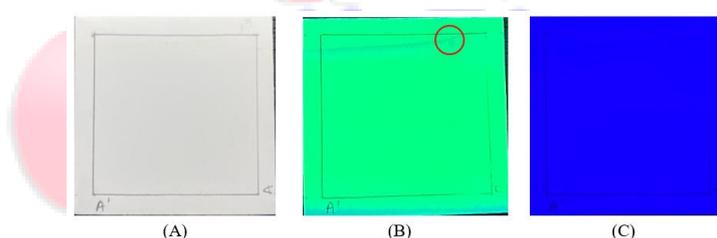
5. Profil Kromatografi Lapis Tipis Dua Dimensi

Berdasarkan pemantauan KLTP, hasil yang nilai *Rf* nya mendekati dikerok dan dilakukan uji kemurniannya menggunakan KLTP2D. Ketika di elusi pada fase gerak pertama dan diamati

pada sinar UV 254 nm terdapat satu noda berwarna ungu. Namun, tidak dapat berfluoresensi dengan baik dikarenakan noda tersebut terlihat tipis. Hal ini disebabkan saat elusi pada fase gerak pertama tidak mampu memisahkan komponen dengan baik. Kemudian di elusi kembali pada fase gerak kedua dan diamati adanya satu noda tunggal pada sinar UV 254 nm dengan menunjukkan warna ungu.



Gambar 5 : Profil Kromatografi Lapis Tipis Dua Dimensi Senyawa Murni Flavonoid. Yang Diamati Sinar Tampak (A), sinar UV 254 nm (B), dan sinar UV 366 nm (C). Fase Gerak Pertama N-Heksan : Etil Asetat : Asam Asetat 98% (8 : 1 : 1)



Gambar 6 : Profil Kromatografi Lapis Tipis Dua Dimensi Senyawa Murni Flavonoid. Yang Diamati Sinar Tampak (A), sinar UV 254 nm (B), dan sinar UV 366 nm (C). Fase Gerak Kedua N-Butanol : Asam Asetat 98% : Air (4 : 1 : 5)

Hasil Identifikasi Senyawa Flavonoid Menggunakan Spektrofotometer UV- Vis

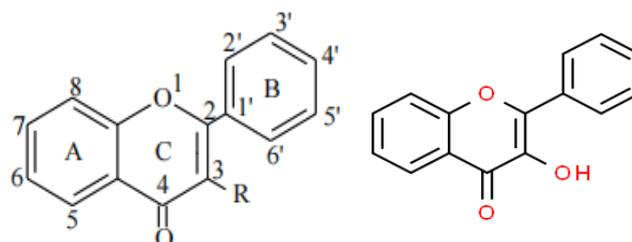
Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid dengan Spektrofotometer UV-Vis. Senyawa ini dapat menghasilkan dua pita serapan khas pada daerah spektrum UV yang dapat mengalami pergeseran dengan penambahan pereaksi geser. Pereaksi geser yang digunakan yaitu NaOH 2N, AlCl₃ 5%, NaOAc, NaOAc/H₃BO₃. Tujuan penambahan pereaksi geser adalah menentukan kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti flavonoid (Saptarini et al., 2022). Berdasarkan hasil data perubahan pergeseran panjang gelombang ditunjukkan pada **Tabel 6**.

Tabel 6. Hasil Interpretasi Perubahan Panjang Gelombang Dengan Pereaksi Geser

Isolat	Panjang gelombang (λ) nm		Pergeseran (nm)		Dugaan Substitusi
	Pita I	Pita II	Pita I	Pita II	
MeOH	340.6	275.4	-	-	Flavonol (3-OH tersubstitusi)
MeOH + NaOH	340.4	275.8	-0.2	+40	Tidak ada 3, 4'-OH pada cincin B
MeOH + AlCl ₃ 5%	340.6	215.2	0	-60.2	Tidak ada 3',4'-o-diOH pada cincin B
MeOH + NaOAc	233.6	218.6	-107	-56.8	Tidak ada 7-OH pada cincin A
MeOH + NaOAc/H ₃ BO ₃	238.4	235.5	-102.2	-39.9	Tidak ada o-diOH pada inti flavonoid

Hasil data spektrum di atas adanya senyawa flavonoid dari hasil isolat Kromatografi Lapis Tipis Preparatif dengan mendapatkan panjang gelombang ketika dilakukan pengujian menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang yang diperoleh pada isolat yaitu pita I sebesar 340.6 nm dan pita II sebesar 275.4 nm. Menurut (Markham, 1988), rentang serapan spektrum UV pada rentang pita I sebesar 330 - 360 nm dan pita II sebesar 250 - 280 nm. Penambahan NaOH menunjukkan adanya pergeseran hipsokromik pita I sebesar 0.2 nm dan batokromik pita II sebesar 40 nm, sehingga tidak menyebabkan pergeseran 3, 4'-OH pada cincin B

dan bentuk *o*-diOH (orto-dihidroksi) pada inti flavonoid (Zirconia et al., 2015). Penambahan AlCl_3 5% menunjukkan pergeseran hipsokromik pada pita II sebesar 62.2 nm, sehingga tidak menyebabkan pergeseran pada gugus 3',4' *o*-diOH (orto-dihidroksi) membentuk kompleks (Saptarini et al., 2022). Penambahan NaOAc menyebabkan pergeseran hipsokromik pita I sebesar 107 nm dan pita II sebesar 56.8 nm, sehingga tidak menyebabkan pergeseran 7-OH dan oksigenasi pada C_6 dan C_8 (Markham, 1988). Penambahan NaOAc/ H_3BO_3 menyebabkan pergeseran hipsokromik pita I sebesar 102.2 nm dan pita II sebesar 39.9 nm, sehingga tidak menyebabkan pergeseran *o*-diOH pada cincin B (Saptarini et al., 2022). Berdasarkan data hasil interpretasi, diduga isolat merupakan senyawa flavonoid golongan flavonol (flavonoid 3-OH tersubstitusi). Struktur ditunjukkan pada **Gambar 6**.



Gambar 6. Struktur Flavonol (Flavonoid 3-OH Tersubstitusi) (Alfaridz, 2018)

Senyawa flavonol telah banyak ditemukan dalam tingkat taksonomi famili *Polygonum*. beberapa tanaman seperti, *Polygonum tinctorium* Lour terdapat senyawa flavonol *o*-(asetil)-rhamnoidises mengandung kuersetin atau kaemferol pada bagian bijinya. *Polygonum tinctorium* Lour menunjukkan adanya aktivitas antioksidan (Tokuyama-Nakai et al., 2019). Selain itu, *Polygonum aviculare* L. (Ph.Eur) menunjukkan adanya flavonol glukuronida mengandung tiga kaemferol asetat dan glukuronida isorhamnetin. *Polygonum aviculare* L. (Ph.Eur) mampu menghambat produksi spesies oksigen reaktif serta pelepasan elastase dalam model neutrofil manusia dan harus dianggap bertanggung jawab atas aktivitas inflamasi (Granica et al., 2013). Berdasarkan kemotaksonomi (teori kekerabatan melalui pendekatan sistematis pada tumbuhan) tumbuhan dalam satu famili umumnya mempunyai senyawa kimia yang serupa, sehingga kemungkinan mempunyai potensi yang serupa untuk pengobatan penyakit (Saepudin & Susilawati, 2022).

4. CONCLUSION

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa tanaman daun kesum (*Polygonum minus* Huds.) teridentifikasi struktur senyawa flavonoid golongan flavonol (flavonoid 3-OH tersubstitusi).

REFERENCES

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi Kedua* (2nd ed.). Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dewi, S., Assegaf, S. N., Natalia, D., & Mahyarudin, M. (2019). Efek ekstrak etanol daun kesum (*Polygonum minus* huds.) Sebagai antifungi terhadap *Trichophyton rubrum*. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 8(2), 198–203.
- Ferdinan, A., & Audiah, K. (2021). Identifikasi Dan Isolasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Genjer (*Limnocharis flava* (L.) Buchenau). *Jurnal Komunitas Farmasi Nasional*, 1(1), 1–9.
- Granica, S., Czerwińska, M. E., Żyżyńska-Granica, B., & Kiss, A. K. (2013). Antioxidant and anti-inflammatory flavonol glucuronides from *Polygonum aviculare* L. *Fitoterapia*, 91, 180–188. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2013.08.026>
- Harijuliatri, R. (2023). Isolasi, Uji Antidiabetes Dan Antibakteri Senyawa Flavonoid Dari Tumbuhan Kenangan (*Artocarpus rigida*). Universitas Lampung.
- Hermawan, D. S., Lukmayani, Y., & Dasuki, U. A. (2016). Identifikasi senyawa flavonoid pada ekstrak dan fraksi yang berasal dari Buah Berenuk (*Crescentia cujete* L.). *Prosiding Farmasi*, 253–259.

- Hermawan, H., Purwanti, L., & Dasuki, U. A. (2017). Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Pakis Sayur [*Diplazium esculentum* (Retz.) Swartz]. *Prosiding Farmasi*, 642–650.
- Illing, I., Safitri, W., & Erfiana, E. (2017). Uji fitokimia ekstrak buah dengan. *Dinamika*, 8(1), 66–84.
- Karthika, S. J., & S, P. (2014). TLC and HPTLC Fingerprint Profiles of Different Bioactive Components from the Tuber of *Solena amplexicaulis*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry JPP*, 3(31), 198–206.
- Kartikasari, D., Rahman, I. R., & Ridha, A. (2022). Uji fitokimia pada daun kesum (*Polygonum minus* Huds.) dari Kalimantan Barat. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 5(1), 35–42.
- Kusnadi, K., & Devi, E. T. (2017). Isolasi dan identifikasi senyawa flavanoid pada ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.) dengan metode refluks. *PSEJ (Pancasakti Science Education Journal)*, 2(1), 56–67.
- Ladeska, V., Saudah, S., & Inggrid, R. (2022). Potensi Antioksidan, Kadar Fenolat dan Flavonoid Total Ranting *Tetracera indica* serta Uji Toksisitas terhadap sel RAW 264.7. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 9(2), 95. <https://doi.org/10.25077/jsfk.9.2.95-104.2022>
- Mailuhu, M., Runtuwene, M., & Koleangan, H. (2017). Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Batang Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC). *Chemistry Progress*, 10(1).
- Markham, K. R. (1988). *Cara mengidentifikasi flavonoid*. Institut Teknologi Bandung.
- Noviana, Y. (2014). *Uji Toksisitas Ekstrak Daun Hypericum Leschenaultii Choisy Dan Polygonum Chinense L. Dari Gunung Lawu Terhadap Artemia Salina Leach Sebagai Kandidat Antikanker*. Universitas Sebelas Maret.
- Rifky, M., Pratiwi, L., & Apridamayanti, P. (2019). Uji Kualitatif Senyawa Flavonoid Dalam Ekstrak N-Heksan Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds.) MENGGUNAKAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 4(1).
- Saepudin, S., & Susilawati, Y. (2022). Alpha-Glucosidase Inhibitor Activities And Phytochemicals Screening Of The Peperomia Genus Cultivated In Indonesia. *14*(5), 117–122. <https://doi.org/https://doi.org/10.22159/ijap.2022.v14s5.23>
- Saptarini, N. M., Mustarichie, R., Herawati, I. E., & Hadisoebroto, G. (2022). Isolation, Identification, And Quantification of Major Flavonoid In Leaves Of *Pereskia bleo* (Kunth) DC. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 106–110. <https://doi.org/10.22159/ijap.2022.v14s4.PP19>
- Susiloningrum, D., & Indrawati, D. (2020). Penapisan Fitokimia Dan Analisis Kadar Flavonoid Total Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Valetton & Zijp.) Dengan Perbedaan Polaritas Pelarut. *Jurnal Keperawatan Dan Kesehatan Masyarakat Cendekia Utama*, 9(2), 126. <https://doi.org/10.31596/jcu.v9i2.593>
- Tokuyama-Nakai, S., Kimura, H., Hirabayashi, Y., Ishihara, T., Jisaka, M., & Yokota, K. (2019). Constituents of flavonol O-glycosides and antioxidant activities of extracts from seeds, sprouts, and aerial parts of *Polygonum tinctorium* Lour. *Heliyon*, 5(3), e01317. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01317>
- Zirconia, A., Kurniasih, N., & Amalia, V. (2015). Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Daun Kembang Bulan (*Tithonia Diversifolia*) Dengan Metode Pereaksi Geser. *Al-Kimiya*, 2(1), 9–17. <https://doi.org/10.15575/ak.v2i1.346>