



## Identifikasi Fitokimia Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Tapak Dara *Catharanthus roseus* Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis

*(Phytochemical Identification of Ethanol Extract Fractionation Results of Tapak Dara Leaves (Catharanthus Roseus L.) Using Thin Layer Chromatography Method)*

**Akhmad Al Bari\*, Yani' Qoriati, Nely Alfiana Faricha, Elis Faiqotul Kamelia**

Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Nahdlatul Ulama Sunan Giri, Bojonegoro, Indonesia.

\*Corresponding author: [albari@unugiri.ac.id](mailto:albari@unugiri.ac.id)

**Abstract:** Indonesia is one of the world's most biodiverse countries, offering vast potential for herbal medicine sources. *Catharanthus roseus* L. (Madagascar periwinkle) is known to contain diverse secondary metabolites with significant pharmacological potential. This study aimed to identify phytochemical groups from the ethanol extract fractions of *C. roseus* leaves using Thin Layer Chromatography (TLC). Extraction was conducted by sonicating 500 g of powdered leaves with 1,000 mL of 96% ethanol, yielding 7.28%. Successive fractionation with *n*-hexane, ethyl acetate, and ethanol produced yields of 21.4%, 10.2%, and 18.9%, respectively. TLC results indicated that the *n*-hexane fraction contained alkaloids (*R<sub>f</sub>* 0.28, 0.33, 0.39) and flavonoids (*R<sub>f</sub>* 0.28); the ethyl acetate fraction contained alkaloids (*R<sub>f</sub>* 0.80, 0.88), flavonoids (*R<sub>f</sub>* 0.11), and tannins (*R<sub>f</sub>* 0.11, 0.44); while the ethanol fraction was negative in all tests. These findings suggest that active compounds are concentrated in nonpolar and semipolar fractions.

**Keywords:** Alkaloids; *Catharanthus roseus* L.; flavonoids; fractionation; thin layer chromatography.

**Abstrak:** Indonesia memiliki keanekaragaman hayati tinggi yang berpotensi sebagai sumber bahan baku obat herbal, salah satunya adalah tapak dara yang mengandung berbagai metabolit sekunder. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi golongan senyawa fitokimia hasil fraksinasi ekstrak etanol tapak dara menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Proses ekstraksi dilakukan secara sonikasi terhadap 500 g serbuk daun dengan 1.000 mL etanol 96%, menghasilkan rendemen sebesar 7,28%. Fraksinasi dilakukan bertingkat menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan etanol, menghasilkan rendemen masing-masing sebesar 21,4%, 10,2%, dan 18,9%. Hasil KLT menunjukkan bahwa fraksi n-heksana mengandung alkaloid (*R<sub>f</sub>* 0,28; 0,33; 0,39) dan flavonoid (*R<sub>f</sub>* 0,28), fraksi etil asetat mengandung alkaloid (*R<sub>f</sub>* 0,80; 0,88), flavonoid (*R<sub>f</sub>* 0,11), serta tanin (*R<sub>f</sub>* 0,11; 0,44), sedangkan fraksi etanol negatif terhadap semua uji.

**Kata Kunci:** Alkaloid; *Catharanthus roseus* L.; flavonoid; fraksinasi; kromatografi lapis tipis.

## 1. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara dengan tingkat keanekaragaman hayati yang sangat tinggi dengan sumber daya alam melimpah. Tumbuhan di Indonesia mencapai lebih dari 30.000 spesies tumbuh subur di Indonesia [1]. Terdapat 7.000 jenis tumbuhan Indonesia yang berpotensi menjadi bahan baku obat yang telah digunakan sebagai obat tradisional [2]. Keanekaragaman ini memberikan potensi besar untuk dikembangkan menjadi sumber bahan baku obat herbal maupun senyawa bioaktif yang memiliki nilai ekonomi dan manfaat kesehatan. Pemanfaatan tanaman obat sebagai alternatif maupun pelengkap pengobatan modern terus mengalami perkembangan, terutama karena sifatnya yang relatif aman, ketersediaannya yang melimpah, dan biaya produksi yang terjangkau [3].

Salah satu tanaman yang memiliki potensi farmakologis penting adalah tapak dara (*Catharanthus roseus* L.). Tapak dara dikenal luas di Indonesia baik sebagai tanaman hias maupun tanaman obat [4]. Tanaman ini mengandung berbagai metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid, yang diketahui memiliki aktivitas biologis signifikan [5]. Beberapa alkaloid penting dari tapak dara, seperti vinblastin dan vinkristin, telah digunakan secara klinis sebagai obat kemoterapi pada pengobatan kanker [6]. Selain itu, ekstrak dan senyawa aktifnya

dilaporkan memiliki aktivitas antidiabetik, antihipertensi, antimikroba, serta antioksidan [7]. Keberadaan senyawa-senyawa bioaktif tersebut mendorong perlunya dilakukan identifikasi fitokimia untuk mengidentifikasi golongan metabolit sekunder yang terkandung dalam daun tapak dara. Identifikasi fitokimia merupakan tahap awal yang penting dalam penelitian bahan alam, karena hasilnya dapat memberikan informasi awal mengenai potensi farmakologis suatu tanaman dan menjadi dasar bagi penelitian lebih lanjut [8].

Fraksinasi merupakan salah satu tahapan penting dalam proses ekstraksi senyawa aktif dari bahan alam, karena memungkinkan pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya menggunakan pelarut bertingkat seperti n-heksana, etil asetat, dan air [9]. Proses ini memberikan beberapa kelebihan signifikan, antara lain meningkatkan kemurnian senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak, sehingga memudahkan dalam identifikasi, analisis, serta pengujian aktivitas biologis senyawa tersebut [10]. Dengan memisahkan senyawa-senyawa kompleks dalam ekstrak kasar menjadi fraksi-fraksi yang lebih sederhana dan homogen, fraksinasi juga membantu dalam mengurangi gangguan dari senyawa pengotor atau senyawa yang tidak diinginkan. Selain itu, fraksinasi mempermudah proses skrining fitokimia

karena setiap fraksi dapat dianalisis secara lebih spesifik untuk mengetahui golongan metabolit sekunder yang dominan. Proses ini juga menjadi langkah awal yang penting dalam isolasi senyawa murni untuk pengembangan obat berbasis bahan alam [11].

Untuk analisis lebih lanjut, penelitian ini menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), sebuah metode analisis sederhana, cepat, dan ekonomis yang efektif memisahkan senyawa berdasarkan perbedaan afinitasnya terhadap fase diam dan fase gerak [12]. KLT tidak hanya digunakan untuk identifikasi kualitatif, tetapi juga dapat menjadi indikator kemurnian fraksi dan mendeteksi keberadaan golongan senyawa tertentu dengan bantuan pereaksi penampak noda [13]. Penggunaan metode KLT dalam identifikasi fitokimia hasil fraksinasi ekstrak etanol daun tapak dara diharapkan dapat memberikan gambaran yang jelas mengenai distribusi golongan senyawa pada masing-masing fraksi. Informasi ini bermanfaat untuk menentukan fraksi yang berpotensi dikembangkan sebagai kandidat bahan baku obat herbal maupun isolat senyawa murni untuk aplikasi farmasi.

Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk melakukan identifikasi penggolongan fitokimia terhadap hasil fraksinasi ekstrak etanol daun tapak dara menggunakan metode KLT, sehingga dapat memberikan kontribusi ilmiah dalam

pengembangan pemanfaatan tanaman obat berbasis bukti ilmiah dan mendukung potensi *Catharanthus roseus* L. sebagai sumber senyawa bioaktif untuk keperluan farmasi.

## 2. Metodologi

### 2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu gelas ukur (pyrex), gelas beaker (pyrex), batang pengaduk (iwaki), rotary evaporator (eyela), oven (fisher scientific), corong pisah (pyrex), pH meter (Hanna Instruments), *ultrasonic cleaner* (AMTAST PS-30A), pipet tetes (iwaki), pengayak dengan mesh 60 (Retsch), plat KLT (merck), chamber (iwaki).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun tapak dara (*Catharanthus roseus* L.), etanol 96% (merck), n-hexan (merck), etil asetat (merck), kloroform (merck), metanol (merck),  $\text{AlCl}_3$  (merck),  $\text{FeCl}_3$  (merck), Liberman-Burchard (merck), dragendroff (merck), aquades (ROFA).

### 2.2 Alur Penelitian

#### 2.2.1 Preparasi Sampel

Proses preparasi sampel diawali dengan mengambil 1000 g daun tapak dara segar, kemudian dicuci hingga bersih. Daun tersebut selanjutnya dijemur di bawah sinar matahari langsung hingga diperoleh simplisia kering. Setelah kering, daun dihancurkan menggunakan blender hingga berbentuk

serbuk, lalu serbuk tersebut disaring menggunakan ayakan berukuran 60 mesh.

#### 2.2.2 Ekstraksi

Proses ekstraksi serbuk simplisia 500 g di tambahkan etanol 96% sejumlah 1000 ml. Kemudian diekstraksi sonikasi menggunakan ultrasonik selama 1 jam dengan suhu 30°C. Disaring hingga didapat filtrat pekat, lalu diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C hingga menghasilkan ekstrak yang kental.

#### 2.2.3 Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan ekstrak kental timbang sebanyak 3 g dilarutkan dengan etil asetat sebanyak 100 ml. Masukkan larutan tersebut kedalam corong pisah setelah itu ditambahkan pelarut n-heksan sebanyak 100 ml. Digojok sampai homogen. Larutan dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan yaitu lapisan etil asetat dan n-heksan. Keluarkan lapisan etil asetat dan tampung dalam gelas kimia. Tambahkan kedalam corong pisah pelarut aquades sebanyak 100 ml. Digojok lagi sampai homogen. Setelah itu, didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan aquades dan lapisan n-heksan. Masing-masing kedua lapisan dikeluarkan dan ditampung dalam gelas kimia yang berbeda. Tandai wadah penampungnya. Lapisan aquades, etil asetat dan n-heksan dipekatkan menggunakan rotary evaporator sehingga didapatkan ekstrak kental. Kemudian,

ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik dan diperoleh fraksinat.

#### 2.2.4 Identifikasi KLT

##### 2.2.4.1 Preparasi Plat KLT

Pemisahan senyawa ekstrak kasar dilakukan menggunakan plat silica sebagai fase diam dengan ukuran 1 cm x 10 cm. Selanjutnya diberi pananda garis pada tepi bawah plat pada jarak 1 cm sebagai posisi awal totolan dan 0,5 cm dari tepi atas plat untuk menunjukkan batas akhir proses elusi. Setelah itu plat silica diaktivasi pada suhu 100°C selama 15 menit untuk menghilangkan kadar air yang terdapat pada plat KLT. Taruh plat KLT dalam tempat kedap yang tidak banyak mengandung air. Lalu diberi penandaan pada garis dibagian bawah menggunakan jarum untuk menunjukkan posisi awal totolan.

##### 2.2.4.2 Preparasi Bejana Pengembang

Persiapan Fase gerak (eluen) Sebelum dilakukan pengelusan, eluen dalam bejana dijenuhkan terlebih dahulu untuk menyamakan tekanan uap pada seluruh bagian bejana. Setiap campuran eluen dimasukkan dalam chamber dan ditutup rapat selama 60 menit. Untuk mengetahui kejenuhan chamber maka diberikan kertas saring tergantung.

##### 2.2.4.3 Orientasi KLT

Sebelum dilakukan pemisahan senyawa, terlebih dahulu dilakukan orientasi eluen dengan secara kromatografi lapis tipis (KLT)

dengan menggunakan perbandingan eluen dari pelarut yang memiliki tingkat kepolaran berbeda (n-heksan : etil asetat, metanol : etil asetat, dan kloroform : metanol). Dilakukan penotolan pada lempeng KLT kemudian diamati dibawah sinar UV 254 dan 366 nm dan dipilih perbandingan eluen dengan pola pemisahan yang baik.

#### 2.2.4.4 Pemisahan Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis

Fraksi dari aquades, etil asetat, n-heksan dari daun tapak dara diambil 50 mg dan dilarutkan dengan 5 ml pelarutnya. Kemudian ditotolkan ekstrak sebanyak 1  $\mu$ L (1-10 totolan) pada jarak 1 cm dari tepi bawah dengan menggunakan pipa kapiler. Kemudian diangin-anginkan. Ekstrak yang telah ditotolkan pada plat KLT selanjutnya dielusi dengan masing-masing fase gerak berdasarkan kelarutannya. Plat KLT dimasukkan ke dalam chamber yang berisi fase gerak yang telah jenuh, kemudian diletakkan pada jarak setinggi  $\pm 1$  cm dari dasar plat KLT, selanjutnya chamber ditutup rapat selama 10 menit hingga fase geraknya mencapai jarak 0,5 cm dari tepi atas plat. Kemudian plat diangkat dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan.

#### 2.2.4.5 Identifikasi Senyawa Alkaloid

Pemisahan senyawa alkaloid pada ekstrak daun tapak dara menggunakan eluen n-heksan:etil asetat hasil orientasi terbaik. Noda yang dihasilkan diamati secara visual

dan di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Plat KLT disemprot dengan pereaksi Dragendorff untuk mengamati perubahan warna, reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya noda jingga atau merah dengan pengamatan secara visual.

#### 2.2.4.6 Identifikasi Senyawa Flavonoid

Pemisahan senyawa flavonoid pada ekstrak daun tapak dara menggunakan eluen n-heksan:etil asetat hasil orientasi terbaik. Noda yang dihasilkan diamati secara visual dan di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Plat KLT disemprot dengan pereaksi  $AlCl_3$  5% untuk mengamati perubahan warna, reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna kuning kecokelatan. Pengamatan dilakukan kembali secara visual untuk mengamati perubahan warna.

#### 2.2.4.7 Identifikasi Senyawa Tanin

Pemisahan senyawa tanin pada ekstrak daun tapak dara menggunakan eluen n-heksan:etil asetat hasil orientasi terbaik. Noda yang dihasilkan diamati secara visual dan di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Plat KLT disemprot dengan pereaksi  $FeCl_3$  10% untuk mengamati perubahan warna, reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna hitam. Pengamatan dilakukan kembali secara visual untuk mengamati perubahan warna.

#### 2.2.4.8 Identifikasi Senyawa Triterpenoid

Pemisahan senyawa triterpenoid pada ekstrak daun tapak dara menggunakan eluen n-heksan:etil asetat hasil orientasi terbaik. Noda yang dihasilkan diamati secara visual dan di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Plat KLT disemprot dengan pereaksi Lieberman-Burchard untuk mengamati perubahan warna, reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna hitam. Pengamatan dilakukan kembali secara visual untuk mengamati perubahan warna.

### 3. Hasil dan Pembahasan

#### 3.1 Hasil Ekstraksi daun Tapak Dara

Preparasi sampel dilakukan dengan pencucian simplisia daun tapak dara 500 g dan dikeringkan menggunakan cahaya matahari langsung. Pengeringan fungsinya untuk mengurangi kadar air yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi seperti tumbuhnya jamur, bakteri serta cemaran lain [14]. Tahapan selanjutnya yaitu penggilingan simplisia kering menggunakan blender hingga berbentuk serbuk halus. Serbuk yang didapat diayak dengan ayakan 60 mesh. Proses pengayakan dilakukan agar diperoleh serbuk dengan luas permukaan yang lebih besar sehingga pelarut dapat melarutkannya lebih cepat dan senyawa yang diinginkan dapat terserap secara optimal [15].

Simplisia daun tapak dara diekstraksi menggunakan ekstraksi sonikasi dengan perbandingan bahan dan pelarut yaitu 1:2

dengan 500 gram daun tapak dara ditambahkan 1000 ml pelarut etanol 96%. Pemilihan metode ekstraksi sonikasi ini dikarenakan memiliki kelebihan yaitu waktu ekstraksi yang cepat akibat gelombang ultrasonik yang dapat meningkatkan perpindahan massa karena pelarut mampu menembus jaringan tumbuhan melalui efek kapiler. Gelombang ultrasonik memicu terbentuknya gelembung kavitasi pada dinding sel dan pecahnya gelembung kavitasi tersebut mengakibatkan pori-pori dinding sel menjadi lebih besar [16]. Hasil ekstraksi disaring dan diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental berwarna hitam pekat dengan bobot sebesar 36,42 g. Pemanasan dilakukan pada suhu 50°C karena sesuai dengan ketentuan Farmakope Herbal Indonesia yang menganjurkan proses penguapan pelarut dilakukan pada suhu di bawah 60°C untuk mencegah degradasi senyawa aktif yang bersifat termolabil, seperti alkaloid. Hasil rendemen yang diperoleh sebesar 7,28%, menunjukkan bahwa proses ekstraksi berlangsung efisien dan masih berada dalam kisaran normal untuk ekstrak etanol daun tapak dara menurut literatur Farmakope.

#### 3.2 Hasil Fraksinasi Pelarut

Fraksinasi yaitu metode pemisahan campuran menjadi beberapa fraksi berdasarkan perbedaan tingkat kepolaritasannya. Teknik yang digunakan



yaitu ekstraksi cair-cair dengan memanfaatkan pelarut yang memiliki polaritas berbeda [17]. Prinsip dari ekstraksi cair-cair adalah *like dissolves like*, yaitu senyawa dengan tingkat kepolaritasan serupa akan larut dalam pelarut dengan polaritas yang sama [18]. Fraksinasi dilakukan dengan menimbang 10 g ekstrak daun tapak dara, kemudian ditambahkan pelarut secara bertahap ke dalam corong pisah mulai dari nonpolar yaitu n-heksan, semipolar yaitu etil asetat, hingga polar yaitu etanol. Pemilihan urutan pelarut dari nonpolar ke polar bertujuan agar senyawa metabolit sekunder yang bersifat nonpolar dapat terlebih dahulu

terekstraksi menggunakan pelarut nonpolar. Hal ini karena pelarut polar memiliki kemampuan yang lebih luas untuk melarutkan berbagai senyawa baik nonpolar, semipolar, maupun polar [19]. Hasil fraksinasi ekstrak etanol daun tapak dara seperti pada Tabel 1. Berdasarkan hasil Tabel 1 randemen yang paling banyak yaitu fraksi nonpolar n-heksan sebesar 21,4%, selanjutnya fraksi polar sebesar 18,9% dan fraksi etil asetat sebesar 10,2%. Hasil fraksinasi menunjukkan bahwa pelarut non polar yaitu n-heksan paling banyak bisa mengekstrak senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etanol daun tapak dara.

**Tabel 1. Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Tapak Dara**

No	Pelarut	Berat Ekstrak (g)	Volume Pelarut (ml)	Berat Fraksi (g)
1	n-heksan	10	100	2,14
2	Etil asetat			1,02
3	Aquades			1,89

### 3.3 Hasil Orientasi Fase Gerak KLT

Orientasi pelarut berfungsi untuk menentukan sistem eluen yang mampu memberikan pemisahan bercak paling baik pada ekstrak daun *Catharanthus roseus* (tapak dara). Setelah proses fraksinasi, dilakukan uji orientasi pelarut menggunakan beberapa kombinasi eluen, yaitu n-heksan : etil asetat, metanol : etil asetat, dan kloroform : metanol. Tahapan ini bertujuan untuk memperoleh sistem eluen dengan kemampuan pemisahan

optimum terhadap komponen senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak.

Selain variasi jenis pelarut, dilakukan pula variasi perbandingan komposisi pelarut dari 1:4 hingga 4:1. Hal ini dimaksudkan agar dapat diketahui pengaruh tingkat kepolaran eluen terhadap kemampuan migrasi senyawa pada lempeng KLT. Dengan mengubah perbandingan pelarut, dapat ditentukan rasio yang paling sesuai untuk menghasilkan pola

pemisahan bercak yang jelas, terpisah, dan terdistribusi merata di sepanjang lempeng.

**Tabel 2. Hasil Orientasi Fase Gerak**

Eluen KLT	Rasio	Jumlah Bercak Terpisah (Spot)		
		Fraksi N-Heksana	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Etanol
Metanol : Etil Asetat (MeOH:EtAc)	1:4	TT	1	1
	2:3	TT	3	5
	3:2	6	5	5
	4:1	2	3	2
N-Heksana : Etil Asetat (Hex:EtAc)	1:4	1	1	1
	2:3	1	1	1
	3:2	TT	2	3
	4:1	<b>10*</b>	<b>7*</b>	5
Kloroform : Etanol (CHCl <sub>3</sub> :EtOH)	1:4	1	3	4
	2:3	4	3	4
	3:2	1	4	TT
	4:1	TT	TT	<b>7*</b>

Keterangan:

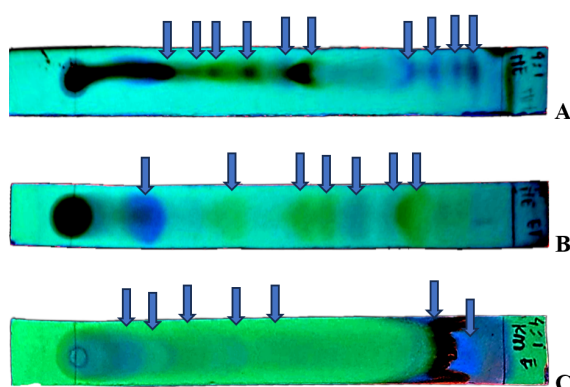
TT = tidak tampak terelusi.

\*= bercak (spot) terbanyak

Hasil orientasi fase gerak dilakukan seperti yang terdapat pada Tabel 2 bertujuan untuk menentukan sistem eluen terbaik dalam memisahkan senyawa pada ekstrak daun Tapak Dara. Hasil menunjukkan bahwa jumlah bercak bervariasi tergantung jenis dan rasio eluen. Pada sistem metanol : etil asetat, rasio 3:2 menghasilkan jumlah bercak terbanyak (6, 5, dan 8 spot) dibanding rasio lainnya. Hal ini menunjukkan keseimbangan polaritas yang sesuai untuk memisahkan

senyawa semi-polar. Sistem n-heksana : etil asetat memperlihatkan hasil paling optimal pada rasio 4:1, dengan jumlah bercak terbanyak (10, 7, dan 5 spot). Rasio ini efektif untuk memisahkan senyawa non-polar hingga semi-polar seperti alkaloid dan terpenoid. Sedangkan sistem kloroform : etanol menunjukkan hasil pemisahan sedang, dengan bercak paling banyak pada rasio 4:1 (7 spot pada fraksi etanol), namun beberapa fraksi tidak terelusi.





**Gambar 1. Hasil Analisis KLT terbaik hasil orientasi pelarut: (a). Fraksi n-heksan pada Hex:EtAc (4:1), (b). Fraksi etil asetat Hex:EtAc (4:1) dan (c). Fraksi etanol pada CHCl<sub>3</sub>:EtOH (4:1)**

Secara keseluruhan dari hasil penentuan orientasi eluen KLT ditunjukkan pada Gambar 1 yang menunjukkan bahwa untuk fraksi n-heksana diperoleh jumlah bercak terbanyak pada sistem pelarut metanol : etil asetat (4:1), sedangkan fraksi etil asetat menunjukkan hasil optimal pada sistem eluen n-heksana : etil asetat (4:1). Adapun pada fraksi etanol, jumlah bercak.

#### 3.4 Identifikasi Kualitatif Senyawa Fitokimia Pada Hasil KLT

Analisis golongan fitokimia pada ekstrak daun tapak dara dilakukan menggunakan pelarut terbaik yang mampu

memisahkan ekstrak dengan bercak terbanyak yakni n-heksana:etil asetat untuk identifikasi hasil fraksinasi ekstraksi daun tapak dara dengan pelarut n-heksana dan etil asetat, sedangkan untuk sistem kloroform:etanol digunakan untuk hasil fraksinasi dengan pelarut etanol. Hasil orientasi pelarut yang ditunjukkan pada **Gambar 1** kemudian diukur nilai *R<sub>f</sub>* nya seperti yang ditunjukkan pada **Tabel 3, 4 dan 5**. Selanjutnya plat KLT diduplikasi masing – masing sejumlah tiga plat KLT untuk dilakukan analisis kualitatif fitokimia lebih lanjut.

**Tabel 3. Hasil Identifikasi Fitokimia Hasil KLT Pada Fraksi N-Heksana**

No	Nilai <i>R<sub>f</sub></i>	Uji Spray Reagen Kualitatif			
		Alkaloid	Flavonoid	Tanin	Triterpenoid
1	0,18	-	-	-	-
2	0,28	+	+	-	-
3	0,33	+	-	-	-
4	0,39	+	-	-	-
5	0,47	-	-	-	-

6	0,54	-	-	-	-
7	0,75	-	-	-	-
8	0,81	-	-	-	-
9	0,86	-	-	-	-
10	0,90	-	-	-	-

Hasil uji KLT pada fraksi n-heksana yang ditunjukkan pada **Tabel 3** menunjukkan bahwa pada fraksi n-heksana terdapat tiga bercak yang menunjukkan reaksi positif terhadap pereaksi alkaloid, masing-masing pada  $R_f$  0,28; 0,33; dan 0,39. Satu bercak pada  $R_f$  0,28 juga memberikan reaksi positif terhadap pereaksi flavonoid. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi n-heksana mengandung senyawa alkaloid dan kemungkinan sedikit flavonoid yang bersifat semi-polar.

Rentang nilai  $R_f$  yang relatif sedang (0,28–0,39) mengindikasikan bahwa senyawa tersebut memiliki polaritas menengah, sesuai dengan karakteristik alkaloid yang sebagian besar bersifat basa dan semi-polar. Tidak ditemukan bercak yang menunjukkan reaksi positif terhadap tanin maupun triterpenoid, sehingga kandungan kedua golongan senyawa tersebut kemungkinan besar tidak larut dalam fraksi non-polar ini. Oleh karena itu fraksi n-heksana mengandung alkaloid sebagai senyawa dominan dan terdapat indikasi minor adanya flavonoid.

**Tabel 4. Hasil Identifikasi Fitokimia Hasil KLT Pada Fraksi Etanol**

No	Nilai $R_f$	Uji Spray Reagen Kualitatif			
		Alkaloid	Flavonoid	Tanin	Triterpenoid
1	0,16	-	-	-	-
2	0,37	-	-	-	-
3	0,52	-	-	-	-
4	0,57	-	-	-	-
5	0,65	-	-	-	-
6	0,73	-	-	-	-
7	0,79	-	-	-	-

Hasil KLT pada fraksi etanol menunjukkan bahwa seluruh bercak yang terdeteksi ( $R_f$  0,16–0,79) tidak menunjukkan

reaksi positif terhadap keempat pereaksi uji (alkaloid, flavonoid, tanin, dan triterpenoid). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang

terdapat dalam fraksi etanol kemungkinan bukan berasal dari golongan yang diuji atau berada dalam konsentrasi yang terlalu rendah untuk terdeteksi dengan pereaksi semprot. Selain itu, kemungkinan juga senyawa

tersebut terlalu polar sehingga sulit berinteraksi dengan fase diam dan tidak menghasilkan warna khas setelah penyemprotan.

**Tabel 5. Hasil Identifikasi Fitokimia Hasil KLT Pada Fraksi Etil Asetat**

No	Nilai <i>R<sub>f</sub></i>	Uji Spray Reagen Kualitatif			
		Alkaloid	Flavonoid	Tanin	Triterpenoid
1	0,11	-	+	+	-
2	0,17	-	-	-	-
3	0,25	-	-	-	-
4	0,36	-	-	-	-
5	0,44	-	-	+	-
6	0,8	+	-	-	-
7	0,88	+	-	-	-

Pada fraksi etil asetat, hasil menunjukkan variasi senyawa yang lebih kompleks. Bercak dengan *R<sub>f</sub>* 0,11 dan 0,44 memberikan reaksi positif terhadap tanin, sedangkan bercak pada *R<sub>f</sub>* 0,11 juga positif untuk flavonoid. Selain itu, bercak pada *R<sub>f</sub>* 0,8 dan 0,88 menunjukkan reaksi positif terhadap alkaloid. Hasil ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mengandung senyawa polar hingga semi-polar seperti tanin dan flavonoid, serta sedikit senyawa alkaloid yang ikut terelusi. Hal ini sesuai dengan karakteristik etil asetat sebagai pelarut semi-polar yang mampu melarutkan berbagai senyawa golongan fenolik dan alkaloid tertentu. Oleh karena itu, hasil fraksi etil

asetat mengandung flavonoid, tanin, dan alkaloid, dengan dominasi senyawa fenolik yang bersifat semi-polar.

#### 4. Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi n-heksana dan etil asetat dari ekstrak etanol daun *Catharanthus roseus* L. (tapak dara) mengandung senyawa aktif yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya. Fraksi n-heksana terdeteksi mengandung senyawa alkaloid dengan *R<sub>f</sub>* 0,28; 0,33; 0,39 dan flavonoid dengan nilai *R<sub>f</sub>* 0,28, sedangkan fraksi etil asetat mengandung alkaloid pada *R<sub>f</sub>* 0,80 dan 0,88, flavonoid pada 0,11, dan tanin dengan nilai *R<sub>f</sub>* 0,11; dan 0,44. Adapun fraksi etanol tidak menunjukkan hasil positif terhadap seluruh uji pereaksi begitu

juga pada triterpenoid tidak terdeteksi pada seluruh fraksi.

### Ucapan Terima Kasih

Ucapan terimakasih penulis ucapkan untuk seluruh anggota dan yang membantu pada penelitian ini serta LPPM UNUGIRI yang telah memberikan dana penelitian hibah internal. Semoga penelitian ini dapat bermanfaat untuk semua orang.

### Daftar Pustaka

- [1] S. A. Pratiwi *et al.*, “Skrining dan Uji Penggolongan Fitokimia dengan Metode KLT pada Ekstrak Etanol Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan Sereh Dapur (*Cymbopogon citratus*),” *Pharmacy Medical Journal*, vol. 6, no. 2, pp. 140–47, 2023.
- [2] M. A. Hadi, S. Latifah, I. M. L. Aji, N. Valentino, and A. R. Prasetyo, “Keanekaragaman Jenis Tumbuhan Obat di Hutan Kemasyarakatan Wana Lestari Desa Karang Sidemen,” *Journal of forest Science Avicennia*, vol. 6, no. 1, pp. 26–38, 2022.
- [3] M. Sabilu, S. Gende Ede, L. Kolaka, L. Darlian, D. Z. Nurhidayah, and N. Rayani, “Pengenalan Tumbuhan Berkhasiat Obat Bagi Masyarakat,” *Amal Ilmiah : Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, vol. 4, no. 2, pp. 109–17, 2023, doi: 10.36709/amalilmiah.v4i2.89.
- [4] N. N. Muna, A. Al Bari, A. Basith, and Y. ' Qoriati, “Formulasi dan Evaluasi Lotion Gel Ekstrak Etanol Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus* L.) Sebagai Tabir Surya,” *Jurnal Inovasi Farmasi Indonesia*, vol. 6, no. 2, pp. 94–106, 2025, doi: 10.30737/jafi.v6i2.6524.
- [5] L. U. Inayatin, A. Al Bari, A. Zuhriyah, and Y. ' Qoriati, “Formulasi dan Uji Stabilitas Sunscreen Bedak Padat dari Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus* L.),” *Desember*, vol. 6, no. 1, pp. 39–49, 2024, doi: 10.30737/jafi.v6i1.6387.
- [6] F. Akhmal Muslikh and F. Prasetyawan, “Update Aktivitas Farmakologi Vincristine Dari Tapak Dara (*Catharanthus Roseus* L.) Update On The Pharmacological Activity Of Vincristine From Tapak Dara (*Catharanthus Roseus* L.),” [Online]. Available: <https://jicnusanantara.com/index.php/jicn>
- [7] P. Studi Agroteknologi, M. Ulpa, K. Dorliana Sitanggang, H. Walida, and Y. Sepriani, “Karakteristik Morfologi dan Analisis Kandungan Senyawa Fitokimia Berbagai Tapak Dara (*Catharanthus roseus*),” 2022.
- [8] Y. Najukha, E. Yulianti, and F. Ferdinal, “Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Bunga Tapak Dara (*Catharanthus Roseus*),” *JUSINDO*, vol. 7, no. 1, 2025.
- [9] F. F. Hanny, M. Suryandari, and T. Puji Lestari Sudarwati, “Fraksinasi dan Identifikasi Ekstrak Daun *Mitragyna Speciosa* Menggunakan Metode Kromatografi,” *FARMASIS: Jurnal Sains Farmasi*, vol. 2, no. 2, 2021.
- [10] D. A. Nugroho, T. Siska, W. M. Farm, A. A. Dwi, and S. M. Farm, “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi N-Heksan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923,” in *Prosiding Seminar Informasi Kesehatan Nasional*, 2022, pp. 376–388.
- [11] M. Rivaldi Mappa *et al.*, “Identifikasi Senyawa Fenol Fraksi Etanol Rumput Laut (*Eucheuma spinosum*) dengan Metode Kromatografi Identification of Phenolic Compounds in Ethanol Fraction of Seaweed (*Eucheuma spinosum*) Using Chromatographic Methods,” 2024.
- [12] Rohama and Zainuddin, “Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Ekstrak Daun Gayam (*Inocarpus Fagifer Fosb*) Dengan Menggunakan Klt,” *Jurnal Surya Medika*, vol. 6, pp. 125–129, 2021.
- [13] E. Oriana Jawa La, R. Tiyas Sawiji, and A. NilaYuliawati, “Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis

- Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*),” *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, vol. 3, no. 1, pp. 45–58, 2020.
- [14] D. Lady, Y. Handoyo, and M. Eko, “Pengaruh Variasi Suhu Pengeringan Terhadap Pembuatan Simplisia Daun Mimba (*Azadirachta Indica*) The Effect Of Drying Temperature Variation On The Simplicia Of Mimba Leaf (*Azadirachta Indica*),” *Jurnal Farmasi Tinctura*, vol. 1, no. 2, pp. 45–54, 2020.
- [15] B. Rahmat Taruh, Y. S. Mokosuli, A. I. Tuda, and Y. K. Lengkey, “Uji Efektifitas Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus* (L) G. Don) Sebagai Penurun Kadar Gula Darah Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.),” *Majalah InfoSains*, vol. 2021, no. 2, pp. 34–41.
- [16] E. E. Sakalaty, R. A. Nugrahani, and N. H. Fithriyah, “Kinerja Inhibisi Antioksidan Ekstrak Daun Miana (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth.) pada Variasi Waktu Ekstraksi dan sebagai Bahan Tambahan Sabun Mandi Cair,” *Chimica et Natura Acta*, vol. 12, no. 1, pp. 1–9, Apr. 2024, doi: 10.24198/cna.v12.n1.47348.
- [17] M. A. I. Shina, T. S. Wardani, and K. S. Artini, “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak, Fraksi Air, Fraksi Etil Asetat, Fraksi n-Heksan Daun Petai Cina (*Leucaena leucocephala*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923,” *OBAT: Jurnal Riset Ilmu Farmasi dan Kesehatan*, vol. 2, no. 6, pp. 1–37, Sep. 2024, doi: 10.61132/obat.v2i6.785.
- [18] A. K. Ardiansyah and S. L. Ramayani, “Uji Aktivitas Tabir Surya Ekstrak Dan Fraksi Daun Kitolod (*Isotoma Longiflora* L.),” *Cendikia Journal of Pharmacy*, vol. 6, no. 2, pp. 301–306, 2022, [Online]. Available: <http://cjp.jurnal.stikescendekiautamakudus.ac.id>
- [19] S. Misfadhila, B. Chandra, Y. Wahyuni, S. Tinggi, I. Farmasi, and S. Padang, “Pengaruh Fraksi Air, Etil Asetat Dan N-Heksan Dari Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbii* L) Terhadap Kelarutan Kalsium Batu Ginjal Secara In Vitro,” *Jurnal Farmasi Higea*, vol. 12, no. 2, pp. 115–123, 2020.