



Profil Kromatografi dan Uji Kemurnian Isolat Metabolit Sekunder Kulit Batang *Lannea coromandelica* (Kayu Jawa)

Arfina Damayanti¹, Jannatin Aliyah², Nurfaida³, Adinda Aulia Ramadani⁴, Nur ilmi⁵, Dewi Regina Putri⁶, Zulfahmi Hamka⁷, Ananda Prastika⁸

¹⁻⁸ Program Studi Farmasi, Universitas Muhammadiyah Makassar, Indonesia

*Penulis Korespondensi: fahmihamka13@gmail.com

Abstract. Indonesia has abundant biological resources with potential for development as traditional medicine. One plant used by the people of South Sulawesi is Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*), which is empirically used to treat burns, and as an analgesic, anti-ulcer, and antibacterial agent. This study aimed to perform the separation and isolation of secondary metabolite compounds from Kayu Jawa bark to determine the chemical profile and purity level of the isolates obtained. The thick extract was fractionated using the liquid-liquid fractionation (SCC) method, followed by analytical TLC, column chromatography, preparative TLC (PTLC), purity testing using two-dimensional TLC (2D-TLC), and determination of total flavonoid content using UV-Vis spectrophotometry. The fractionation results showed a yield of 16% for the n-hexane fraction and 4% for the ethyl acetate fraction. Column chromatography successfully separated the components based on their polarity, and the 2D-TLC results showed a single, compact spot under UV 254 nm and UV 366 nm illumination. The stem bark of Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) proved to be a potential source of secondary metabolites (alkaloids, tannins, flavonoids, triterpenoids), 2D-TLC testing confirmed that the isolate obtained had a good level of purity, and the total flavonoid content obtained was 17.648 mg QE/g or 1764.8%.

Keywords: Column Chromatography; *Lannea coromandelica*; Phytochemical Screening; Preparative TLC; UV-Vis Spectrophotometry.

Abstrak. Indonesia memiliki kekayaan sumber daya hayati yang potensial dikembangkan sebagai obat tradisional. Salah satu tanaman yang dimanfaatkan masyarakat Sulawesi Selatan adalah Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*), yang secara empiris digunakan untuk mengobati luka bakar, analgesik, anti-ulkus, dan antibakteri. Penelitian ini bertujuan melakukan pemisahan, serta isolasi senyawa metabolit sekunder dari kulit batang Kayu Jawa untuk mengetahui profil kimia dan tingkat kemurnian isolat yang diperoleh. Ekstrak kental difraksinasi menggunakan metode fraksinasi cair-cair (SCC), dilanjutkan dengan KLT analitik, kromatografi kolom, KLT preparatif (KLTP), serta uji kemurnian menggunakan KLT Dua Dimensi (KLT 2D) dan penetapan kadar Flavonoid total menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Hasil fraksinasi menunjukkan rendemen fraksi n-heksan sebesar 16% dan fraksi etil asetat sebesar 4%. Kromatografi kolom berhasil memisahkan komponen berdasarkan tingkat kepolarannya, dan hasil KLT 2D menunjukkan satu noda tunggal yang kompak di bawah pengamatan lampu UV 254 nm dan UV 366 nm. Kulit batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) terbukti merupakan sumber metabolit sekunder yang potensial (alkaloid, tanin, flavonoid, triterpenoid), uji KLT 2D membuktikan bahwa isolat yang diperoleh memiliki tingkat kemurnian yang baik dan diperoleh kadar flavonoid total sebesar 17,648 mg QE/g atau 1764,8%.

Kata Kunci: KLT Preparatif; Kromatografi Kolom; *Lannea coromandelica*; Skrining Fitokimia; Spektrofotometri UV-Vis.

1. PENDAHULUAN

Indonesia mempunyai sumber daya hayati yang kaya, bisa dikembangkan untuk pengobatan tradisional, khususnya bahan atau ramuan yang berupa tumbuhan, hewan dan mineral, sehingga diperlukan penelitian terutama mengenai jenis bahan yang dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan obat. Untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat pada tanaman langkah awal yang dilakukan ialah uji Skrining (Amaliah dkk, 2024).

Kayu jawa (*Lannea coromandelica*) adalah tumbuhan dari keluarga Anacardiaceae, merupakan salah satu tanaman yang banyak tumbuh di Indonesia khususnya di Sulawesi. Masyarakat makassar mengenal tanaman ini dengan nama kayu tammate. Tanaman ini sering

digunakan masyarakat sulawesi selatan untuk mengobati beberapa jenis penyakit, misalnya untuk pengobatan luka bakar. Kulit kayu jawamenjadi tumbuhan obat yang khas digunakan oleh masyarakat sulawesi selatan. Penggunaan lain tanaman kayu jawa adalah sebagai analgesik, anti ulkus, dan antibakteri (Tuti dkk, 2022).

Kayu Jawa atau kayu Jaranan merupakan tanaman yang banyak tumbuh di pulau Jawa dan umumnya digunakan sebagai pagar pembatas. Tanaman ini banyak mengandung senyawa metabolit sekunder. Metabolit sekunder yang diketahui terkandung dalam kayu Jawa adalah steroid, terpenoid, alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid (Widwastuti dkk 2022).

Dalam pengujian fitokimia dilakukan langkah awal untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada suatu sampel ekstrak, hal ini dilakukan dengan Skrining fitokimia. Skrining fitokimia adalah cara untuk mengetahui konsentrasi senyawa metabolit sekunder dalam produk alami. Yang dapat memberikan gambaran tentang konsentrasi senyawa tertentu dalam bahan alam yang diteliti. Bergantung pada tujuan penggunaan pereaksi warna, skrining fitokimia dapat dilakukan baik secara kualitatif, semi kuantitatif, atau kuantitatif dengan menggunakan reagen tertentu.

Metode Fraksinasi adalah teknik pemisahan dan pengelompokan kandungan kimia kestrak berdasarkan kepolaran. Pada proses fraksinasi digunakan dua pelarut yang tidak saling bercampur dan memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Fraksinasi bertingkat menggunakan pelarut berbeda berdasarkan tingkat kepolaritasannya menghasilkan ekstrak alami yang berbeda, sehingga senyawa metabolit sekunder dapat tertarik secara maksimal oleh pelarut (Putri dkk, 2023).

Metode KLT (Kromatografi lapis tipis) merupakan metode untuk mengkonfirmasi lebih lanjut hasil dari skrining fitokimia. KLT digunakan untuk menganalisis sejumlah kecil zat organik, termasuk menentukan jumlah partikel metabolit sekunder. KLT merupakan metode kromatografi cair yang terdiri dari dua fase yaitu fase diam dan fase gerak (eluen). Fase gerak atau elusi biasanya terdiri atas campuran pelarut yang daya larutnya baik mendorong elusi dan pemisahan. Daya elusi dan resolusi ini ditentukan oleh total polaritas pelarut, polaritas fase diam, dan karakteristik komponen sampel (Pratiwi dkk 2023).

Kromatografi kolom adalah metode pemisahan senyawa yang memanfaatkan perbedaan interaksi setiap komponen dengan fase diam di dalam kolom dan fase gerak yang mengalir melaluinya. Komponen yang memiliki afinitas lebih kuat terhadap fase diam akan bergerak lebih lambat, sedangkan komponen yang lebih mudah terbawa fase gerak akan keluar lebih cepat. Oleh karena itu, campuran senyawa dapat terpisah menjadi fraksi-fraksi yang berbeda. Metode ini banyak digunakan untuk memisahkan dan memurnikan senyawa (Widiastuti, 2025)

Kromatografi lapis tipis Preparatif (KLT Preparatif) adalah metode yang digunakan untuk memisahkan dan mengisolasi sampel dalam jumlah 10-1000 mg pada plat dengan ketebalan 0,5-4 mm. Tujuan KLT preparatif untuk mengisolasi senyawa murni yang selanjutnya dilakukan elusidasi struktur dengan menganalisa data dari UV (Lubis, 2022).

KLT 2 Dimensi (KLT 2D) adalah alat yang sangat baik untuk memeriksa kemurnian suatu isolat. Jika suatu senyawa benar-benar murni akan muncul satu noda tunggal yang kompak pada kromatogram KLT 2D. Noda ini akan berada di suatu tempat di dalam segitiga pemisahan, tetapi tidak akan ada noda satelit lain yang terkait dengannya (Najib, 2025). Sebaliknya, jika isolat tersebut mengandung pengotor, bahkan dalam jumlah kecil, KLT 2D memiliki peluang yang sangat tinggi untuk mendeteksinya.

Spektrofotometri UV-VIS ialah salah satu metode untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid. Spektrofotometri UV-Vis adalah metode untuk mengukur energi cahaya yang diserap oleh suatu sistem kimia pada panjang gelombang tertentu. Rentang panjang gelombang cahaya tampak (visible) ialah 400-750 nm, sementara panjang gelombang cahaya ultraviolet ialah 200-400 nm (Istiqomah dkk, 2026).

Oleh karena itu, dilakukan pengujian untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang sangat bermanfaat yang terdapat pada tanaman kayu jawa (*Lannea coromandelica*) dengan beberapa langkah pengujian mulai dari pengambilan sampel, ekstrasi, fraksinasi, uji skrining, pengujian kromatografi lapis tipis (KLT), Kromatografi kolom, Kromatografi Preparatif dan Kromatografi Dua Dimensi serta Penetapan Flavonoid Total.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Waktu & Tempat

Tempat dan Waktu Penelitian Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Muhammadiyah Makassar selama rentang waktu antara Juni 2026 hingga Juli 2026

Alat & Bahan

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah aluminium foil, botol coklat, chamber, timbangan digital, kertas label, kondensor, labu alas bulat, tabung reaksi, corong, gelas ukur, gelas kimia, batang pengaduk, bunsen, kaki tiga, kolom, penggaris, pipet tetes, sendok tanduk, cawan porselin, gelas arloji, kertas saring, corong pisah, uv 254 nm, dan uv 366 nm, Spektrofotometri Uv-vis, kuvet.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Aluminium foil, kertas saring, kertas label, ekstrak Kayu jawa (*Lannea coromandelica*) etanol 96 %, aquadest, pelarut etil asetat dan n- heksan, HCl, pereaksi mayer, pereaksi dragendorff, asam asetat anhidrat, pereaksi mayer, pereaksi liebermand-buchardat, pereaksi wagner, pereaksi FeCl₃, pereaksi gelatin, pereaksi, Silica gel

Metode Kerja

Ekstraksi

Ditimbang 50 g sampel lalu di rajang menggunakan gunting kemudian di gerus sampel agar memperkecil ukuran serta memperbesar laju permukaan bahan yang memungkinkan pelarut menembus bahan lebih efektif dan melarutkan senyawa aktif lebih banyak. Dimasukkan sampel ke dalam gelas kimia 250ml lalu dilarutkan Sebagian etanol 96%. Dimasukkan sampel ke dalam labu alas bulat bersama pelarut ditambahkan batu didih untuk mengecek mengontrol suhu didalam labu alas bulat. Di pasang kondensor pedas labu alas bulat dan diolesi dengan vaseline untuk memudahkan pemisahan alatnya kemudian dipasang selang untuk mengalirkan water in dan water out pada kondensor dan dipanaskan dengan suhu antara 70 sampai 80°C, ditampung hasil ekstrak yang diperoleh hingga mencapai 2 liter (Syahrir dkk, 2025).

Fraksinasi

1 gram ekstrak, dilarutkan dengan 30 ml n-heksan lalu dimasukan larutan ke dalam corong putih, diambil sisa ekstrak lalu ditambahkan 10 ml aquades lalu di suspensi kan, Dimasukkan ke dalam corong pisah, Dilakukan proses pengelompokan selama beberapa menit sambil katub corpis dibuka, Dijepit corong pisah pada statif didiamkan sampai terbentuk dua lapisan n- heksan dan aquadest, Ditampung aquades menggunakan cawan Porselin dan n- heksan pada cawan Porselin yang berbeda, Dilakukan replikasi hingga n-heksa yang dihasilkan sudah tidak pekat, diambil pelarut etil asetat sebanyak 30 ml, Ditambahkan ke dalam pelarut aquades yang ada di dalam cawan Porselin, dimasukkan ke dalam corong pisah, dilakukan proses pengocokan selama beberapa menit sambil Katup corpis dibuka, Dijepit corong pisah pada statis lalu didiamkan sampai terbentuk dua lapisan etil asetat dan aquades, Ditampung aquades menggunakan cawan Porselin dan itu asetat pada jaman presiden yang berbeda, Dilakukan replikasi hingga etil asetat yang dihasilkan sudah tidak pekat, Diupkan pelarut Heksana dan etil asetat yang dihasilkan hingga kental (Istiqomah dkk, 2026).

Skrining fitokimia

a. Pembuatan larutan stok

Disiapkan alat dan bahan, ditimbang ekstrak kental sampel 0,3 gram, dimasukkan ekstrak kental kedalam gelas kimia lalu masukkan aquadest sebanyak 40 ml.

b. Pengujian alkaloid

Pengujian alkaloid menggunakan pereaksi mayer, dragendorf, dan wagner. Diambil ekstrak dari larutan stok sebanyak 5 ml, masukkan kedalam tabung reaksi lalu tambahkan H₂SO₄ ditambahkan pereaksi mayer, dan hasil positif ditandai dengan warna kuning/putih. Pereaksi wagner ditandai dengan adanya warna merah kecoklatan dan pereaksi dragendorf ditandai dengan adanya warna endapan jingga.

c. Pengujian flavonoid

Dilakukan uji shinoda dengan mengambil ekstrak dari larutan stok sebanyak 3 ml, masukkan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan 1 ml HCl dan 0,5 gram magnesium, hasil positif ditandai dengan adanya warna merah atau pink dan hilang setelah 3 menit. Pengujian kedua menggunakan uji timbal asetat dengan memasukkan 3 ml ekstrak larutan kedalam tabung reaksi lalu tambahkan 1 ml timbal asetat, masukkan kedalam tabung reaksi amati warna yang diperoleh, adanya flavonoid ditandai dengan flok-flok endapan berwarna putih.

d. Pengujian steroid

Ambil 3 ml larutan ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi, tambahkan asam stearat anhidrat 2-3 tetes lalu didihkan dan dinginkan. Setelah itu tambahkan HCl 2-3 tetes pada dinding tabung, jika terbentuk cincin berwarna coklat dengan lapisan atas warna hijau positif steroid, warna merah jika positif triterpenoid.

e. Pengujian tanin

Dilakukan dengan uji FeCl₃ dengan mengambil 1 ml ekstrak etanol, tambahkan 2 ml aquadest didalam tabung reaksi. Tambahkan 2-3 tetes kedalam tabung reaksi lalu amati perubahan warna jika terbentuk biru-hijau maka ekstrak mengandung tanin (chotecic tanin) jika terbentuk warna biru-hitam maka ekstrak mengandung tanin (gallic tanin). Selanjutnya uji gelatin dilakukan dengan memasukkan 1 ml larutan ekstrak ke dalam tabung reaksi, tambahkan 2-3 tetes larutan gelatin yang mengandung NaCl 10% lalu amati perubahan warna yang ditandai dengan terbentuk endapan putih (Salimi dkk, 2024).

Kromatografi lapis tipis (KLT)

Disiapkan plat klt berukuran 20x20 cm lalu potong ukuran 7x4 sebanyak 5 lempeng, diaktifkan lempeng menggunakan oven dengan suhu 110° C selama 10 menit, diberi batasan

pemotongan dan batas elusi pada lempeng KLT, kemudian dilakukan penjenjuran chamber dengan kertas perkamen dimasukkan kedalam chamber yang telah berisi eluen, ditotolkan sampel pada lempeng KLT yang telah disiapkan, kemudian dimasukkan lempeng kedalam chamber proses elusi dimulai, diamati kromatografi dibawah lampu Uv 254 nm dan Uv 366 nm serta amati noda yang tampak (Salimi dkk, 2024).

Kromatografi Kolom

Persiapan sampel: disiapkan alat dan bahan, dibuat bubuk peradsorpsi, setelah itu dilakukan pencucian alat dengan cara dialirkan aquades dalam kolom, lalu etik asetat dan n-heksan. Setelah itu dilakukan penyiapan kolom dengan cara basah yaitu: kapas diletakkan di dasar kolom, kemudian ditimbang silika 20gram lalu ditambahkan eluen yang digunakan, sambil diaduk rata, dimasukkan bubuk silika ke dalam kolom dengan corong sambil diketuk-ketuk perlahan agar tidak terjadi gelembung udara, dibuka keran dan ditampung pelarut yang keluar. setelah kolom terbentuk maka sampel yang akan diisolasi diletakkan di atas adsorben. dielusi sampel dengan elemen perbandingan 1 lalu tidak dibiarkan mengering dengan melanjutkan perbandingan selanjutnya hingga selesai. Pemisahan selesai apabila hasil dan fraksi kembali bening atau jernih. Disimpan hasil pemisahan pada botol vial yang telah diberi tanda dengan memisahkan tiap perbandingan pelarut dan warna yang dihasilkan, dikemas rapi botol vial berisi fraksi tampak (Salimi dkk, 2024).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Disiapkan lempeng plat KLT berukuran 20x20 cm, diaktifkan lempeng menggunakan oven dengan suhu 110° C selama 10 menit, lalu potong ukuran 7x2 dan diberi batasan pemotongan serta batas elusi pada lempeng KLT, disiapkan fase gerak campuran etanol (6 ml) dan etil asetat (4 ml) lalu dimasukkan ke dalam chamber kemudian dilakukan penjenjuran chamber dengan kertas saring, ditotolkan fraksi yang memiliki warna paling terang (pekat) pada lempeng KLT yang telah disiapkan, kemudian dimasukkan lempeng kedalam chamber proses elusi dimulai, diamati lempeng klt dibawah lampu UV 254 nm dan UV 366 nm serta amati noda yang tampak (Salimi dkk, 2024).

Kromatografi Lapis Tipis Preparatif(KLTP)

Pertama-tama penyiapan lempeng dengan cara dibersihkan permukaan plat kaca ukuran 20x20 cm dengan tisu yang telah dibasahi dengan n-heksan agar mengurangi resiko kontaminasi, pengotor non polar serta meningkatkan daya lekat lapisan silika, lalu dimasukkan silika gel kedalam gelas kimia berisi aquadest, kemudian aduk hingga terbentuk suspensi silika, lempeng kaca diatur sejajar lalu silika dituang atas lempeng kaca & diratakan, didiamkan lempeng 1x24 jam lalu diaktifkan di oven dengan suhu 110°C selama 15 menit guna

menghilangkan sisa air serta mengaktifkan situs adsorpsi silika. Langkah kedua diisolasi senyawa dengan KLTP dengan cara fraksi yang paling terang dibawah uv 254 nm /366 nm & memenuhi kriteria nilai Rf yang baik pada pengujian KLT sebelumnya ditotolkan pada pelat FLTP menggunakan Pipet tetes hingga membentuk pita, lalu dikeringkan & dimasukkan kedalam chamber yang telah berisi eluen etanol: etil asetat (6:4) yang telah dijenuhkan. Kemudian ditandai pita yang muncul pada tumpu uv 254/366. setelah itu dikerok Pita yang telah ditandai adanya pita menggunakan spatula dan dimasukkan kebotol vial (Ningrum dkk, 2018).

Kromatografi Dua Dimensi

Disiapkan lempeng klt yang telah diaktifkan untuk menghilangkan kelembaban atau kadar air yang teradsorpsi pada permukaan plat klt. selanjutnya dijenuhkan Chamber agar seluruh permukaan chamber terisi oleh uap eluen sehingga hasil elusi dapat menghasilkan rambatan yang baik dan beraturan. Kemudian beri tanda untuk titik penotolan sampai sekitar 1 cm di bawah lempeng klt untuk memberikan ruang bagi pelarut mulai bergerak secara stabil. kemudian beri tanda batas elusi pertama sekitar 1 cm dari bagian atas lempeng klt, selanjutnya beri tanda batas kedua pada bagian kanan empat klt sekitar 1 cm untuk memaksimalkan bercak baja senyawa memiliki ruang gerak vertikal dan horizontal agar menyebar tanpa keluar dari jalur plat, isolat hasil KLT Preparatif ditotolkan pada lempeng KLT 2 Dimensi kemudian dielusi dengan dua pelari berbeda (etanol dan etil asetat) dengan perbandingan 6:4. selanjutnya dilakukan proses elusi pertama dilanjutkan dengan proses elusi kedua dengan cara memutar 90° lempeng berlawanan arah jarum jam. kemudian hasil elusi diamati pada lampu UV 254 nm dan UV 366 nm tampak (Salimi dkk, 2024).

Penetapan kadar flavonoid total

Dilakukan dengan menggunakan pereaksi AlCl_3 . Larutan baku dibuat dengan menimbang kuersetin sebanyak 0,01 g, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur dan dilarutkan dengan etanol PA hingga diperoleh larutan induk. Larutan induk tersebut selanjutnya diencerkan menjadi seri konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm. Masing-masing konsentrasi larutan baku ditambahkan AlCl_3 1 mL dan asam asetat 1 mL, kemudian dicukupkan volumenya dengan etanol PA hingga tanda batas dalam labu ukur 5 mL. Larutan sampel dibuat dengan menimbang ekstrak kulit batang Kayu Jawa sebanyak 0,05 g, kemudian dilarutkan dengan AlCl_3 1 mL dan asam asetat 1 mL, lalu dicukupkan volumenya dengan etanol PA hingga tanda batas dalam labu ukur 5 mL. Selanjutnya, ditentukan panjang gelombang maksimum kuersetin menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk memperoleh panjang gelombang serapan optimum yang akan digunakan pada pengukuran seluruh larutan. Larutan

blanko diukur terlebih dahulu sebagai koreksi terhadap serapan pelarut dan pereaksi yang digunakan. Larutan sampel yang telah dibuat kemudian diencerkan hingga konsentrasi 500 ppm dalam labu ukur 5 mL menggunakan pelarut etanol PA, lalu diukur absorbansinya pada spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan. Kadar flavonoid total dihitung berdasarkan persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva baku kuersetin (hubungan antara konsentrasi dan absorbansi), dengan memasukkan nilai absorbansi sampel ke dalam persamaan tersebut untuk memperoleh kadar flavonoid total yang dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin (mg QE/g ekstrak) (Istiqomah dkk, 2026).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Tabel 1. Sampel Yang Digunakan *Lannea coromandelica*

No	Tumbuhan	Nama Latin
1	Kayu Jawa	<i>Lannea coromandelica</i>



Gambar 1. Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) (Desa Kupa)

Tabel 2. Hasil Ekstraksi *Lannea coromandelica*

Tumbuhan	Metode ekstraksi	Pelarut awal	Hasil ekstrak	Eksrak kental
Kayu Jawa	Refluks	1.500 ml	1.110 ml	5,06 gram

Tabel 3. Hasil Fraksinasi Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*)

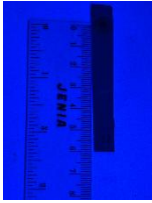
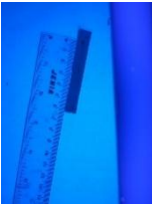
Tumbuhan	Metode ekstraksi	Hasil yang diperoleh	% Rendamen
Kayu Jawa	Fraksinasi cair-cair	Aquadest 10 ml	Pelarut etil asetat 4 %
		Etil asetat 0,09 g	Pelarut n-heksan 16%
		N-heksan 0,16 g	

Tabel 4. Hasil Skrinning Fitokimia (*Lanne Coromandelica*)

Tumbuhan	Golongan senyawa	Metode uji	Hasil pengamatan	Keterangan
Kayu jawa	Alkaloid	Wagner	Tidak terdapat warna merah kecoklatan	Negatif (-)
	Alkaloid	Mayer	Terdapat warna kuning/putih	Positif (+)
	Alkaloid	Dragendorf	Terdapat endapan warna jingga	Positif (+)
	Tanin	FeCl ₃	Terdapat warna biru-hijau (chatecic tanin)	Positif (+)
	Tanin	Gelatin	Tidak terdapat endapan putih	Negatif (-)
	Saponin		Tidak terdapat buih/busa yang bertahan selama 20 menit	
	Flavonoid	Shinoda	Terdapat bentuk warna pink/merah	Positif(+)

Flavonoid	Timbal asetat	Tidak terdapat flok flok endapan putih	Negatif (-)
Triterpenoid	Liebermand- buchardat	Terdapat lapisan hijau pada lapisan atas	Positif (+)

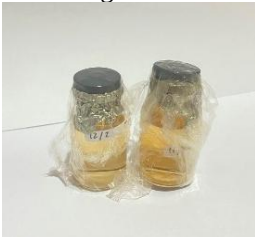
Tabel 5. Kromatografi Lapis Tipis Kayu Jawa (*Lanne coromandelica*)

Tumbuhan	Jumlah noda Uv 254 nm	Jumlah noda Uv 366 nm	Nilai Rf Uv 254 nm	Nilai Rf Uv 366 nm
Kayu Jawa	1 noda 	- noda 	Noda 1 $\frac{4,5}{5} = 0,9$	-
	n-heksan 1 noda 	n-heksan 	Noda 1 $\frac{1}{5} = 0,2$	-
Etil asetat				

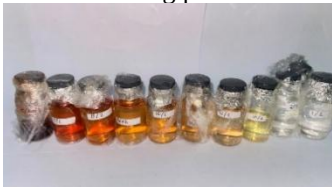
Tabel 6. Hasil Kromatografi Kolom Kayu Jawa (*Lanne coromandelica*)Vial 1-3 (N-heksan)
BeningVial 6 (Etanol; Etil asetat 8:2)
Merah keunguan pekatVial 7-8 (Etanol: etil asetat 6:4)
Orange kecoklatan



Vial 9- 10 (Etanol: etil asetat 3:3)
Kuning keemasan



Vial 1- 12 (Etanol: etil asetat 5:5)
Kuning pudar



Hasil fraksi keseluruhan

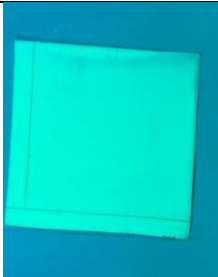
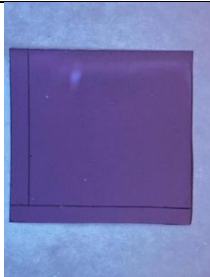
Tabel 7. Hasil Kromatografi Lapis Tipis Kayu Jawa (*Lanne coromandelica*)

Tumbuhan	Jumlah noda Uv 254 nm	Jumlah noda Uv 366 nm	Nilai Rf Uv 254 nm	Nilai Rf Uv 366 nm
Kayu Jawa			$\text{Farksi 6} = \frac{4,3}{5} = 0,8$ $\text{Fraksi 7} = \frac{4,4}{5} = 0,8$	$\text{Farksi 6} = \frac{4,3}{5} = 0,8$ $\text{Fraksi 7} = \frac{4,5}{5} = 0,9$

Tabel 8. Hasil Kromatografi Lapis Tipis Preparatif Kayu Jawa (*Lanne coromandelica*)

Tumbuhan	Hasil
Kayu Jawa (<i>Lannea coromandelica</i>)	 UV 254 nm menunjukkan terbentuknya satu pita memanjang

Tabel 9. Hasil Kromatografi Lapis Tipis 2 D Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*)

Tumbuhan	Jumlah noda Uv 254 nm	Jumlah noda Uv 366 nm
Kayu Jawa (<i>Lannea coromandelica</i>)		

Pembahasan

Secara umum kondisi lingkungan dari lokasi pengambilan sampel di periran pantai Desa Kupa, Kabupaten Barru Sulawesi Selatan sangat strategis untuk pengadaan pengambilan sampel yang strategis. Kondisi laut pasang surut pada kedalaman 15-30 cm, suhu udara 26-27°C. Kandungan dan komposisi masing-masing senyawa kimia tergantung spesies, umur panen, dan keadaan lingkungan tempat alga tumbuh. dengan demikian kandungan dan komposisi masing-masing alga berbeda satu sama lain.

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa aktif, simplisia dengan menggunakan pelarut cair tertentu (Triyanti et al., 2025). Adapun tujuan dilakukannya ekstraksi ini untuk memisahkan dan mengisolasi senyawa aktif atau komponen dari suatu bahan atau sampel dengan menggunakan pelarut. Berdasarkan hasil percobaan diperoleh pada sampel kayu jawa (*Lannea coromandelica*) dengan menggunakan metode refluks yaitu hasil sampel kering 50 gram dengan 3 kali pengulangan menggunakan 1.500 ml pelarut sehingga diperoleh ekstrak cair sebanyak 1.110 ml.

Berdasarkan hasil ekstraksi menggunakan metode refluks terhadap 50 g sampel kulit batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) dengan pelarut etanol 96% sebanyak 1.500 ml, diperoleh ekstrak cair sebanyak 1.110 ml yang setelah proses penguapan menghasilkan ekstrak kental sebesar 5,06 g dengan nilai rendemen 13,12%. Nilai rendemen tersebut menunjukkan bahwa proses ekstraksi berhasil menarik senyawa-senyawa yang larut dalam etanol sehingga diperoleh ekstrak yang cukup untuk digunakan pada tahap fraksinasi dan identifikasi fitokimia selanjutnya.

Skrining fitokimia adalah cara untuk mengetahui konsentrasi senyawa metabolit sekunder dalam produk alami yang dapat memberikan tentang konsentrasi senyawa tertentu dalam bahan alam yang diteliti (Pratiwi dkk, 2023). Hasil percobaan yang diperoleh uji alkaloid dengan sampel Halimeda Sp pada pereaksi dragendorff diperoleh hasil positif karena nampak endapan berwarna jingga, pada pereaksi mayer diperoleh hasil positif karena terdapat warna

kekuningan/putih sedangkan pada pereaksi wagner diperoleh hasil negatif karena tidak terdapat warna merah kecoklatan. adapun hasil yang diperoleh pada pengujian senyawa tanin menggunakan pereaksi FeCl_3 yaitu diperoleh hasil positif yang ditandai dengan hasil warna biru hijau yang berarti termasuk ke dalam jenis tanin kotekol sedangkan pereaksi gelatin yaitu diperoleh hasil negatif atau tidak terdapat reaksi dan perubahan. Hasil yang diperoleh pada pengujian senyawa saponin menggunakan penambahan air suling diperoleh hasil negatif karena tidak ada busa yang berarti tidak mengandung saponin. Hasil pengujian flavonoid menggunakan pereaksi uji shinoda diperoleh hasil negatif karena tidak terbentuknya warna pink atau merah sedangkan pada pereaksi timbal asetat diperoleh hasil negatif yang ditandai dengan tidak terdapat flok-flok endapan putih. Kemudian hasil yang diperoleh pada pengujian senyawa steroid pada pereaksi liebermand-bouchardat diperoleh hasil positif karena terdapat lapisan hijau pada lapisan atas tabung reaksi.

Metode kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu metode analisis sederhana yang dapat digunakan untuk mengetahui ada tidaknya senyawa yang terkandung dalam ekstrak (Lintang dkk, 2024). Adapun hasil yang diperoleh pada sampel kayu jawa (*Lannea coromandelica*) yaitu pada uv 254 nm terdapat 1 noda dengan nilai R_f 0,9 pada uv 366 nm pelarut n-heksan tidak terdapat noda sehingga tidak diperoleh nilai R_f karena tidak tampak noda. Pada pelarut etil asetat dengan uv 254 nm terdapat 1 noda yaitu 0,2 pada uv 366 nm tidak terdapat noda sehingga tidak diperoleh nilai R_f . Hal tersebut dikarenakan senyawa yang membentuk noda tidak dapat menarik dengan pelarut etil asetat. Sedangkan pada penelitian (Iqbal & jariyah, 2025) ekstrak kayu jawa diperoleh 3 noda dengan nilai retention faktor (R_f) yang mencerminkan perbedaan kepolaran dan jenis pigmen. Noda pertama berwarna kuning dengan nilai R_f relatif tinggi yaitu 0,93 diidentifikasi sebagai pigmen karetenoid. Noda kedua berwarna hijau terang dengan nilai R_f 0.96 yang menunjukkan klorofil, sedangkan noda ketiga berwarna abu-abu kehijauan dengan nilai R_f 0,97. Hal ini dapat disimpulkan bahwa hasil pengamatan tidak berjalan lurus dengan hasil penelitian dikarenakan perbedaan penampakan hasil noda dan perbedaan eluen yang digunakan.

Berdasarkan hasil warna yang dihasilkan ada hasil fraksi kromatografi kolom yaitu pada perbandingan 1 dengan vial 1 sampai 3 diperoleh warna yang bening/jernih. pada perbandingan 2 pada vial 4 dan 5 masih terlihat bening kemudian pada vial ke-6 diperoleh fraksi berwarna merah keunguan yang pekat. pada perbandingan 3 yaitu vial 7 dan 8 memiliki warna yang sama yaitu orange kecoklatan. Pada perbandingan 4 pada vial 9 dan 10 diperoleh warna yang sama yaitu kuning keemasan dan pada vial 11 dan 12 diperoleh warna kuning pudar. Adapun perbandingan pelarut yang digunakan yaitu dengan etanol dan etil asetat, alasan

penggunaannya yaitu sampel kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) cenderung lebih larut pada pelarut yang polar-semipolar, pada literatur (Hartati dkk, 2019) yang menyatakan kelarutan sampel kayu Jawa yang lebih besar pada pelarut etanol dibandingkan pelarut semipolar dan nonpolar lainnya dikarenakan senyawa yang terkandung lebih polar.

Metabolit sekunder dari fraksi kulit kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) yang diperoleh dari kromatografi kolom. Hasil yang diperoleh menunjukkan nilai *Retention factor* (Rf) sebesar 0,8 pada fraksi 6 dan 0,9 pada fraksi 7 pada pengamatan UV 366 nm dan pada pengamatan UV 254 nm menunjukkan nilai Rf sebesar 0,8 pada fraksi 6 dan fraksi 7. Tingginya nilai Rf pada kedua fraksi tersebut mengindikasikan bahwa polaritas analisis cenderung searah dengan pelarut fase gerak sehingga interaksinya lebih dominan pada fase gerak dan bermigrasi jauh mendekati batas atas plat. Berdasarkan literatur (Munthe dkk, 2025) menyatakan bahwa rentang nilai Rf yang ideal untuk pemisahan dan resolusi bercak yang optimal adalah 0,2 sampai 0,8, dengan demikian hasil pada pengamatan UV 366 nm pada fraksi 6 dengan Rf 0,8 masih memenuhi batas atau parameter ideal sedangkan fraksi 7 dengan nilai Rf 0,9 menunjukkan kondisi overload atau melewati batas optimal sedangkan pada UV 254 nm hasil pada pengamatan yang diperoleh memenuhi nilai RF yang ideal yaitu nilai RF 0,8 pada kedua fraksi. Adapun hasil yang paling tampak dan memenuhi nilai Rf yang ideal yaitu fraksi 6 (Rf 0,8) akan dilanjutkan ke metode selanjutnya yaitu KLT preparatif dan KLT dua dimensi.

Berdasarkan hasil pengamatan kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) sampel batang kulit kayu jawa (*Lannea coromandelica*) pada sinar UV 254 nm menunjukkan terbentuknya satu pita memanjang pada jalur sampel, pada uv 254 nm pita tempat lebih gelap dibandingkan latar belakang lempeng yang menunjukkan adanya Senyawa yang mampu menyerap sinar ultraviolet. Pita yang terbentuk memanjang pada jalur sampel dan tidak menunjukkan pemilihan senyawa menjadi beberapa pita yang berbeda. Menurut (Herwin ddk, 2021). Komponen dalam sampel tidak terpisah menjadi beberapa fraksi, kondisi tersebut dapat mengidentifikasi bahwa sampel mengandung satu senyawa dominan.

Berdasarkan hasil isolat yang diperoleh menggunakan eluen (etanol dan etil asetat) 6: 4 terbentuk 1 noda pada pengamatan di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. hal ini menandakan hasil kemurnian suatu senyawa ditandai dengan satu noda. (susmayanti dkk, 2012). Klt 2 dimensi yang menghasilkan satu noda menunjukkan bahwa isolat tersebut murni pada UV 254 nm noda tampak gelap karena senyawa menyerap sinar UV dan menghambat fluoresensi pada lempeng klt sedangkan pada UV 366 nanometer noda dapat tampak dengan warna tertentu karena adanya fluoresensi dari senyawa tersebut. keberadaan 1 noda pada kedua pengamatan menunjukkan bahwa pemisahan dengan metode klt 2 dimensi cukup baik dan memenuhi syarat.

Berdasarkan hasil penetapan kadar flavonoid total yaitu diperoleh nilai hasil absorbansi sampel yaitu 0,625 kemudian disubstitusikan ke dalam persamaan regresi kuarsetin yaitu $y = 0,06903x + 0,01587$ dan nilai kolerasi (r) sebesar 0,998571 sehingga dapat dihitung kadar total flavonoid dan diperoleh hasil kadar 17,648 mg QE/g dan persen kadar 1764,8%. Pada literatur (Nasrudin dkk, 2024) kadar flavonoid total yang diperoleh sebesar $8,28 \pm 0,00091$ mg QE/g atau setara dengan $\pm 0,83\%$. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang kayu jawa yang diperoleh memiliki kandungan senyawa flavonoid 2 kali lipat lebih tinggi. Perbedaan hasil yang diperoleh tersebut dapat disebabkan oleh faktor internal dan eksternal tanaman seperti lokasi pengambilan sampel, waktu pengambilan sampel, serta proses penanganan dan ekstraksi sampel.

4. KESIMPULAN

Karakterisasi fitokimia kulit batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) menunjukkan bahwa ekstrak etanol mengandung beberapa golongan metabolit sekunder, yaitu alkaloid, flavonoid, tanin katekol, dan triterpenoid, sedangkan saponin tidak terdeteksi. Hasil fraksinasi menunjukkan bahwa fraksi n-heksan memiliki rendemen lebih tinggi dibandingkan fraksi etil asetat, yang mengindikasikan dominasi senyawa yang bersifat nonpolar hingga semipolar. Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menghasilkan profil noda dengan nilai R_f yang mendukung adanya pemisahan senyawa, kemudian dilanjutkan dengan kromatografi kolom yang berhasil memisahkan komponen ekstrak ke dalam beberapa fraksi berdasarkan perbedaan kepolaran. Fraksi ke-6 dipilih sebagai fraksi terbaik karena memiliki nilai R_f yang memenuhi rentang ideal dan menunjukkan pemisahan yang optimal. Isolasi lanjutan menggunakan KLT preparatif menghasilkan satu pita dominan, sedangkan pengujian KLT dua dimensi memperlihatkan satu noda pada pengamatan UV 254 nm dan UV 366 nm yang menunjukkan tingkat kemurnian isolat yang baik. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak kulit batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) dengan metode spektrofotometri UV-Vis menghasilkan kadar sebesar 17,648 mg QE/g. Nilai koefisien korelasi kurva baku yang tinggi ($r = 0,998571$) menunjukkan linearitas metode yang sangat baik, sehingga hasil yang diperoleh dapat dipercaya. Kandungan flavonoid tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang Kayu Jawa berpotensi sebagai sumber senyawa bioaktif alami. Secara keseluruhan, hasil penelitian membuktikan bahwa kulit batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) merupakan sumber metabolit sekunder yang potensial dan layak dikembangkan lebih lanjut melalui identifikasi struktur senyawa serta pengujian aktivitas biologinya untuk mendukung pemanfaatannya sebagai bahan baku obat alami.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia dkk 2024. Skrining fitokimia dan Uji Aktivitas antioksidan fraksi air, metil asetat dan nheksan Kulit batang kayu Jawa (*lanea Grandis*) dengan metode FRAP Ferric reducing antioxdan power) . *Jurnal farmasi Mandala Waluya*
- Hasan, H. Dkk. 2022. Senyawa Antidiabetes Fraksi Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L). *Jurnal Syifa Sciences and Clinical Research (JSSCR)*. 4 (2).
- Herwin dkk. 2021. Aktivitas Fitokimia Daun Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) sebagai Antibakteri. *Jurnal Pharmaceutical*. 2 (1).
- Ismail, K. E. Dkk. 2023. Aktivitas antimikroba kulit batang kayu jawa (*Lannea coromandelica*), *Jurnal Pharmaceutical*. 2 (1).
- Istiqomah. H dkk 2026. Isolasi dan Penetapan Flavonoid Total pada Daun Keji Beling (*Strobilanthes Crispus*) Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Journal Pharmaceutical and Sciences*. 9(1)
- Lubis, Y.M. 2022. *Rahasia Kulit Jengkol Menyikap Senyawa Fenolik dan Manfaatnya bagi Kesehatan*. Jawa Barat; PT. Green Publishing Indonesia.
- Munthe, A dkk 2025. Penetapan Kadar Rhodamin B pada BumbuTabur dengan Metode KLT dan KCKT. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*. 8(2)
- Najib, A. 2025. *Isolasi dan elusinasi struktu senyawa bahan alam*. Jawa Tengah; Penerbit CV Pustaka Devata.
- Nasrudin, dkk 2024. Potensi Kimiawi Ekstrak Etanol Kulit batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) Asal Kota Kendari. *Jurnal Farmasi*. 9(1).
- Ningrum, E. P. dkk 2018. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Terpenoid Ekstrak Kloroform Kulit Biji Pinang Sirih (*Areca cathechu* L). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 7(4)
- Rahmawati dkk 2025. Pengenalan tanaman obat yang ada di Desa Gunungsari Kecamatan Cikatomas Kabupaten Tasikmalaya sebagai solusi pengobatan alternatif. *Jurnal kreativitas pengabdian kepada masyarakat*
- Pratiwi dkk 2023. Skrining dan uji penggolongan fitokimia dengan metode klt pada ekstrak etanol kemangi (*Ocium basilicum* l) dan sereh dapur (*Cymbopogon ciratus*). *Pharmasi medical journal*
- Putri dkk 2023. identifikasi senyawa metabolit sekunder pada rumput laut coklat (sargassum plagyophyllum) dengan metode fraksinasi. *Jurnal teknologi dan industri pertanian Indonesia*. Vol 15. No.01.
- Salimi, Y. K. dkk. 2024. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Batang Katang-katang (*Ipomeae Pes-Caprae*) dan Uji Aktivitas Antioksidan. *Jam J. Chem*. 6(1): 38-45.
- Syahrir, M. dkk. 2025. Analisis Sidik jari Variasi Metode Ekstraksi Kulit Batang Tanaman Tammatea (*Lannea coromandelica*) Menggunakan Analisis Densitometri dan Kemometrik. *Herbal Medicine Journal*. 8(1).
- Susmayanti.W. dkk. 2012. Identifikasi dan uji sitotoksik senyawa flavonoid dari ekstrak etil asetat daun binahong. *Jurnal kimia sains dan aplikasi* 15 (3): 88-93.
- Triyanti dkk 2025. pengaruh metode ekstraksi maserasi, seni kasih, dan sokletasi terhadap nilai rendemen sampel kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal sains dan edukasi sains*

- Tuti, F. Yuliastri, O.W., Dewi.,C. 2022. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol kulit batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) Pada Mencit (*Mus Musculus*). *Jurnal Pharmacia Mandala Luya*- 1 (3).
- Widwiasuti dkk 2022. pengaruh ukuran simplisia dan lama kontak pada ekstraksi senyawa aktif simplisia kayu jawa (*Lannea coromandelica*) menggunakan metode maserasi. *jurnal kimia Mulawarman*