



**Identifikasi Flavonoid dalam Fraksi Kloroform Daun Binahong  
(*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen)**

*Identification of Flavonoid in Madeira vine's Leaf Chloroform Fraction (*Anredera cordifolia*  
(Tenore) Steen)*

Hanifah Karimatulhaji<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Program Sarjana Farmasi, Universitas PGRI Yogyakarta

Email : [hanifah@upy.ac.id](mailto:hanifah@upy.ac.id)

**ABSTRAK**

Fraksi kloroform daun binahong dari ekstrak etanoliknya telah dilaporkan dapat mempercepat penyembuhan luka pada hewan uji. Penelitian ini merupakan kelanjutan dari penelitian sebelumnya untuk mengetahui keberadaan senyawa flavonoid dalam fraksi kloroform daun binahong dengan metode kromatografi lapis tipis. Ekstrak etanol daun binahong diawalemakkan dengan n-heksan kemudian difraksinasi dengan kloroform menggunakan metode fraksinasi cair-padat. Selanjutnya fraksi dielusi dengan fase gerak n-heksan:etil asetat:metanol dengan perbandingan 6:3:1 dan fase diam silica gel 60F<sub>254</sub>. Deteksi semprot menggunakan pereaksi sitroborat yang sensitif terhadap senyawa flavonoid. Hasil KLT menunjukkan adanya 11 spot pada fraksi kloroform daun binahong yang di dalamnya tidak terdapat senyawa flavonoid.

**Kata kunci :** KLT, Fraksi Kloroform Daun Binahong, Flavonoid, Penyembuhan luka

**ABSTRACT**

Chloroform fraction of madeira vine leaf from the ethanolic extract was reported would promotes wound healing on animal testing. This study was a continuation of previous study to find out phytochemical compounds in the chloroform fraction of madeira vine's leaves by thin layer chromatography method. Ethanolic extract of madeira vine's leaves was defatting with n-hexan then fractionated with chloroform using liquid-solid fractionation method. The fraction eluted using mobile phase mixture of n-hexan:ethyl asetate:methanol with comparison 6:3:1 and silica gel 60F<sub>254</sub> as stationary phase. Spray detection using citroborat reagent which is sensitive to flavonoids. The result showed that any 11 spot in the chloroform fraction of madeira vine's leaves with no flavonoid there.

**Keywords:** TLC, Chloroform fraction of madeira vine's leaves, *Flavonoid*, *Wound healing*

## PENDAHULUAN

Aktivitas penyembuhan luka dalam bahasa Inggris dikenal dengan *wound healing activity*. Senyawa fitokimia tanaman yang berperan dalam aktivitas penyembuhan luka disebut juga cicatrizant, diantaranya seperti flavonoid, tanin, saponin, minyak atsiri, dan terpenoid (Lordani et al., 2018). Salah satu tanaman yang umum dikenal secara empiris sebagai obat luka yaitu binahong. Daun binahong memiliki kandungan fitokimia seperti flavonoid, alkaloid, tanin, steroid, triterpenoid, saponin, minyak atsiri, dan asam fenolat (Ekaviantiwi et al., 2013).

Proses penyembuhan luka oleh senyawa fitokimia melalui beberapa mekanisme seperti antibakteri, antiinflamasi, antioksidan, proliferasi selular, dan pembentukan kolagen (Rahimi et al., 2014). Aktivitas antioksidan ekstrak etanolik daun binahong sebesar 4,25 mmol/100g (simplicia segar) and 3,68 mmol/100g (simplicia kering). Ekstrak n-heksan daun binahong yang mengandung triterpenoid memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus* dengan konsentrasi hambat minimum sebesar 100 ppm (Murdianto, 2013). Fraksi kloroform daun binahong telah dilaporkan memiliki kemampuan dalam mempercepat penyembuhan luka pada hewan uji tikus jantan galur wistar (Kintoko et al., 2017). Kandungan fitokimia dari fraksi kloroform daun binahong belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan senyawa flavonoid dalam fraksi kloroform daun binahong dari ekstrak etanol menggunakan kromatografi lapis tipis.

## METODE PENELITIAN

### 1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu Oven (*Memmert*<sup>®</sup>), blender (*National*<sup>®</sup>), ayakan

40 mesh, neraca analitik (*Ohaus*<sup>®</sup>), *electric stirrer*, corong Buchner, vacuum, *rotary evaporator* (*Heidolph*<sup>®</sup>), *waterbath* (*Memmert*<sup>®</sup>), cawan porselen, mortir dan stamper, lemari asam, *Chamber* Kromatografi, sprayer, alat gelas (*Pyrex*<sup>®</sup>). Bahan yang digunakan yaitu Tanaman binahong didapat dari Kota Yogyakarta pada Bulan November tahun 2015 dideterminasi di Laboratorium Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta.

Bahan kimia yang digunakan yaitu amonia, Pelarut (Etanol 96% (*Brataco*<sup>®</sup>), n-heksan (*Brataco*<sup>®</sup>), kloroform (*Brataco*<sup>®</sup>), Metanol (*Brataco*<sup>®</sup>), aquades. Bahan untuk identifikasi senyawa dalam tanaman berupa uap amonia dan reagen semprot sitroborat, fase diam Pelat KLT Silika gel 60 F<sub>254</sub> (*Merck*<sup>®</sup>), kertas saring, fase gerak toluene, etil asetat, asam formiat,

### 2. Metode Penelitian

#### Pembuatan Fraksi Kloroform Daun Binahong

Daun binahong dikeringkan, diserbuk, dan dimaserasi dengan pelarut etanol 96% sehingga dihasilkan ekstrak etanolik daun binahong. Sebanyak 128 gram ekstrak difraksinasi menggunakan metode cair padat dengan mortir dan stamper. Fraksinasi diawali dengan pengawalemakan menggunakan n-heksan sebanyak 3x masing-masing sebanyak 200 mL. Residu hasil fraksinasi dengan n-heksan kemudian difraksinasi dengan kloroform dengan cara yang sama hingga menghasilkan fraksi kloroform daun binahong.

#### Identifikasi Flavonoid dalam Fraksi Kloroform Daun Binahong

Setelah fraksi didapat, dilanjutkan dengan uji kualitatif senyawa flavonoid dalam fraksi kloroform daun binahong menggunakan uap amonia. Fraksi

diteteskan pada kertas saring kemudian diuapi dengan uap amonia. Adanya warna kuning pada area tetesan menunjukkan adanya senyawa flavonoid. Uji kualitatif dilanjutkan dengan KLT menggunakan 3 pelarut campuran yang berbeda polaritas yang dioptimasi, yaitu FG<sub>1</sub> berupa campuran n-heksan-kloroform-metanol, FG<sub>2</sub> berupa campuran toluene-etil asetat-asam formiat (11,3:6,6:2) (Pandey 2014), FG<sub>3</sub> berupa campuran n-heksan-etil asetat-metanol, dan FG<sub>4</sub> berupa campuran kloroform-etil asetat-metanol masing-masing campuran berjumlah 10 mL. *Chamber* kromatografi dijenuhkan dengan empat jenis fase gerak tersebut dengan bantuan kertas saring.

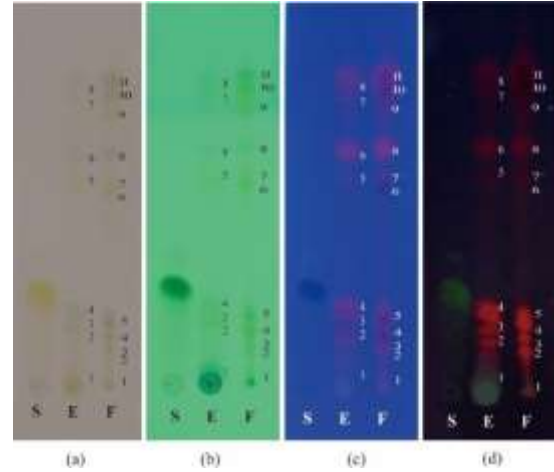
Fase diam berupa plat silika gel 60 F<sub>254</sub> yang telah diaktifkan (dipanaskan di dalam oven pada suhu 110° C selama 30 menit) ditunggu hingga kembali pada suhu normal. Cuplikan ditotolkan pada fase diam sebanyak 3 totolan awal dengan jumlah 5-10 µL, yaitu fraksi kloroform daun binahong dengan konsentrasi 0,1% dalam pelarut kloroform, standar senyawa flavonoid *quercetin* dalam pelarut metanol, dan ekstrak 1% dalam etanol 96%. Setelah *Chamber* jenuh dengan fase gerak, fase diam dimasukkan ke dalam *Chamber*, kemudian dielusi (dikembangkan) hingga batas elusi 8 cm dari totolan awal. Bercak (spot) yang didapat kemudian dihitung Rf nya dan ditulis dalam bentuk hRf sebagai data semi kuantitatif. Deteksi spot menggunakan visibel, UV 254 nm, UV 366 nm, dan pereaksi semprot sitroborat.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

KLT yang dilakukan menggunakan fase gerak yang telah dioptimasi menggunakan 3 campuran pelarut yang berbeda polaritasnya yaitu n-heksan, etil asetat, dan metanol dengan perbandingan 6:3:1. menunjukkan adanya 8 spot yang terelusi pada ekstrak dan 11 spot yang terelusi

pada fraksi yang terkumpul pada tiga bagian pada plat KLT yaitu bagian atas, tengah, dan bawah.



Gambar 1. Hasil identifikasi senyawa flavonoid dalam ekstrak dan fraksi dengan KLT (fase diam: silika gel 60 F<sub>254</sub>; fase gerak: n-heksan-etil asetat-metanol = 6:3:1). Standar *quercetin* (S), ekstrak (E), & fraksi (F) dengan deteksi visibel (a), UV 254 nm (b), UV 366 nm (c), dan UV 366 nm + pereaksi semprot sitroborat (d)

Gambar 1 (d) merupakan hasil analisis kualitatif keberadaan senyawa flavonoid setelah plat disemprot dengan reagen sitroborat. Spot berwarna kuning terlihat pada spot nomor 1 ekstrak etanolik daun binahong tetapi tidak pada fraksi kloroform daun binahong.

### Pembahasan

Ekstrak etanolik daun binahong mengandung beberapa senyawa fitokimia seperti alkaloid, tanin, triterpenoid, saponin, flavonoid, steroid, minyak atsiri, dan asam fenolat (Ekaviantiwi et al., 2013). Campuran fase gerak n-heksan, etil asetat, dan metanol dengan perbandingan 6:3:1 dapat memisahkan 3 kelompok senyawa fitokimia berdasarkan polaritasnya yang terlihat pada Gambar 1. Senyawa polar terletak pada 5 spot urutan

pertama yang tertambat pada fase diam. Senyawa semi polar mulai terelusi oleh fase gerak yang terlihat pada spot 6 hingga

8. Senyawa non polar dapat terelusi yang terletak pada 3 spot teratas (spot 9 hingga 11).

**Tabel 1. Nilai hRf dan deteksi warna spot pada EEDB dan FKDB**

Senyawa	Spot	hRf	Warna spot			
			Visibel	UV 254 nm	UV 366 nm	Pereaksi semprot sitroborat + UV 366 nm
<i>Quercetin</i>		21	Kuning	kuning-coklat	biru	Kuning
<b>Ekstrak etanol daun binahong</b>	Spot 1	2	kuning-	pemadaman	biru	Kuning
	Spot 2	10	coklat	kuning	merah muda	merah
	Spot 3	12	kuning	kuning	violet	merah
	Spot 4	15	kuning	hijau muda	merah muda	merah
	Spot 5	47	hijau muda	kuning	violet	coklat
	Spot 6	53	kuning	hijau muda	merah muda	merah-coklat
	Spot 7	65	hijau muda	kuning	violet	merah-coklat
	Spot 8	69	kuning hijau muda	hijau muda	merah muda	merah-coklat
<b>Fraksi kloroform daun binahong</b>	Spot 1	1	kuning-	hijau muda	oranye	Oranye
	Spot 2	6	coklat	kuning	violet	merah
	Spot 3	9	kuning	hijau muda	merah muda	merah
	Spot 4	11	hijau muda	kuning	violet	merah
	Spot 5	14	kuning-hijau	hijau muda	merah muda-	merah
	Spot 6	46	hijau muda	kuning	violet	merah-coklat
	Spot 7	47	kuning	kuning	violet	merah-coklat
	Spot 8	53	kuning	hijau muda	merah muda	merah-coklat
	Spot 9	62	hijau muda	kuning	merah muda	coklat
	Spot 10	65	kuning	kuning	violet	coklat
	Spot 11	69	kuning hijau muda	hijau muda	violet merah muda- violet	merah-coklat

Mulia et al. (2017) berhasil mengekstrak senyawa flavonoid vitexin (*8-β-D-glucopyranosyl-apigenin*) yang merupakan glikosida flavon apigenin yang larut dalam campuran pelarut polar betain dan 1,4 butanediol (1:3). Flavonoid *quercetin* tidak terdapat dalam ekstrak etanolik dan fraksi kloroform daun binahong yang diterlihat dari nilai hRf yang jauh berbeda dengan standar *quercetin*. Identifikasi flavonoid pada ekstrak etanolik daun binahong menghasilkan warna kuning dengan pereaksi sitroborat setelah terpapar

sinar UV 366 nm. Ekstrak etanol daun binahong mengandung flavonoid yang bersifat polar dengan nilai hRf 3,75 yang dimungkinkan merupakan flavonoid vitexin. Flavonoid tersebut tidak terdapat dalam fraksi kloroform daun binahong karena kloroform merupakan pelarut non polar sehingga senyawa fitokimia yang sangat polar tidak akan terekstrak.

Alkaloid betanidin diduga terdapat dalam ekstrak etanol daun binahong yang dapat terelusi dengan campuran fase gerak etanol, etil acetate, dan n-Hexan dengan

perbandingan 1:2:30 menghasilkan Rf 0,65 dan 0,23 dengan spot berwarna biru (Titus et al., 2013). Hal tersebut menunjukkan polaritas senyawa betanidin yang merupakan senyawa semipolar.

Seluruh spot semi polar hingga non polar berwarna merah muda hingga violet pada deteksi UV 366. Glikosida saponin, terpenoid, dan steroid terdapat dalam fraksi butanol yang diidentifikasi dengan KLT menggunakan campuran fase gerak kloroform, etil asetat, metanol, dan air dengan perbandingan 64:34:12:8 (Astuti et al., 2011). Saponin juga terdapat dalam ekstrak etanolik daun binahong yang terelusi menggunakan fase gerak kloroform:metanol:quadest dengan perbandingan 13:7:2 (Bahramsoltani et al., 2014). Saponin, terpenoid, dan steroid merupakan senyawa semi polar hingga non polar. Saponin dalam bentuk glikosida memiliki polaritas yang tinggi. Senyawa fitokimia dalam fraksi kloroform daun binahong dimungkinkan memiliki kedekatan dengan golongan-golongan senyawa kimia tersebut.

#### **SIMPULAN**

Fraksi kloroform daun binahong tidak mengandung senyawa flavonoid yang ditunjukkan dengan tidak adanya bercak kuning pada spot awal.

#### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada laboran Universitas Ahmad Dahlan.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

Astuti, S. M., Sakinah, M., Andayani, R., & Risch, A. (2011). Determination of Saponin Compound from *Anredera cordifolia* (Ten) Steenis Plant

(Binahong) to Potential Treatment for Several Diseases. *Journal of Agricultural Science*, 3(4). <https://doi.org/10.5539/jas.v3n4p224>

Bahramsoltani, R., Farzaei, M. H., & Rahimi, R. (2014). Medicinal plants and their natural components as future drugs for the treatment of burn wounds: An integrative review. In *Archives of Dermatological Research* (Vol. 306, Issue 7, pp. 601–617). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00403-014-1474-6>

Ekaviantiwi, T., Fachriyah, E., & Kusriani, D. (2013). Identifikasi asam fenolat dari ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dan uji aktivitas antioksidan. *Chem Info*, 1(1), 283–293. <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/kimia/article/view/1945>

Kintoko, Karimatulhadj, H., Yuni Elfasyari, T., Arviana Ihsan, E., Adiyas Putra, T., Hariadi, P., Ariani, C., & Nurkhasanah. (2017). Effect of Diabetes Condition on Topical Treatment of Binahong Leaf Fraction in Wound Healing Process Pengaruh Kondisi Diabetes pada Pemberian Topikal Fraksi Daun Binahong dalam Proses Penyembuhan Luka. *Traditional Medicine Journal*, 22(2), 103–110.

<https://dev.jurnal.ugm.ac.id/TradMedJ/article/view/27921>

Lordani, T., Lara, C. de, Ferreira, F. B. P., Monich, M. de S. T., Silva, C. M. da, Lordani, C. R. F., Bueno, F. G., Teixeira, J. J. V., & Lonardoni, M. V. C. (2018). Therapeutic effects of medicinal plants on cutaneous wound healing in humans: a systematic review. *Hindawi*, 2018, 1–12. <https://www.hindawi.com/journals/mi/2018/7354250/abs/>

Mulia, K., Muhammad, F., & Krisanti, E. (2017). Extraction of vitexin from



- binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) leaves using betaine-1,4 butanediol natural deep eutectic solvent (NADES) ARTICLES YOU MAY BE INTERESTED IN. *Aip.Scitation.Org*, 1823, 20018. <https://doi.org/10.1063/1.4978091>
- Murdianto, A. (2013). Isolasi, Identifikasi Serta Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid Dari Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steen) Terhadap. *Chem Info*, 1(1). <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/kimia/article/view/1950>
- Rahimi, R., Farzaei, M. H., Abbasabadi, Z., Mohammad, ;, Shams-Ardekani, R., & Abdollahi, ; Mohammad. (2014). A Comprehensive Review of Plants and Their Active Constituents With Wound Healing Activity in Traditional Iranian Medicine. *WOUNDS*, 26(7), 197–206. [www.woundsresearch.com](http://www.woundsresearch.com)
- Titis, M. B., Fachriyah, E., & Kusriani, D. (2013). Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktifitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis). *Chem Info*, 1(1), 196–201. <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/kimia/article/view/1875>