

**IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVONOID EKSTRAK ETANOL DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) DENGAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS**

**Febrina Nugrahini\*, Rini Setiawati, Ahmad Bagus Mendiarto**  
Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Bina Bangsa  
Jl. Bhayangkara, Cipocok Jaya, Kec. Cipocok Jaya, Kota Serang Banten  
e-mail: [fenanugra@gmail.com](mailto:fenanugra@gmail.com)

**Abstrak**

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa flavonoid dalam ekstrak etanol daun sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil uji shinoda menunjukkan adanya flavonoid dengan terbentuknya warna jingga. Uji KLT dengan fase gerak non-polar diperoleh nilai Rf rendah ( $<0,2$ ), sedangkan pada fase gerak semi-polar diperoleh nilai Rf sebesar 0,64 dengan visualisasi bercak fluoresen kuning kehijauan yang lebih jelas. Hal ini menunjukkan bahwa sistem pelarut semi-polar lebih efektif dalam memisahkan senyawa flavonoid dibandingkan sistem non-polar. Dengan demikian, metode KLT dapat digunakan sebagai metode skrining awal yang sederhana, cepat, dan ekonomis dalam identifikasi flavonoid pada ekstrak daun sambiloto serta sebagai dasar untuk analisis lanjutan.

**Kata kunci :** *Sambiloto; Flavonoid; Kromatografi Lapis Tipis; Skrining Fitokimia*

**Abstract**

*This study aims to identify the presence of flavonoid compounds in the ethanol extract of sambiloto leaves (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) using the thin-layer chromatography (TLC) method. The Shinoda test results indicated the presence of flavonoids, as evidenced by the formation of an orange color. TLC testing with a non-polar mobile phase produced a low Rf value ( $<0.2$ ), whereas the semi-polar mobile phase resulted in an Rf value of 0.64, with a more distinct visualization of yellowish-green fluorescent spots. This indicates that the semi-polar solvent system is more effective in separating flavonoid compounds compared to the non-polar system. Therefore, the TLC method can be used as a simple, rapid, and cost-effective preliminary screening method for the identification of flavonoids in sambiloto leaf extract, as well as a basis for further analysis.*

**Keywords:** *Sambiloto; Flavonoid; Thin Layer Chromatography; Phytochemical Screening*

**1. PENDAHULUAN**

Tanaman *Andrographis paniculata* (sambiloto) telah lama dikenal dalam pengobatan tradisional Asia sebagai sumber utama metabolit sekunder yang memiliki aktivitas farmakologis, termasuk aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan antidiabetik (Dwivedi et al., 2021). Salah satu senyawa dari metabolit sekunder adalah flavonoid

(Putri et al., 2024). Flavonoid merupakan poli-fenol sekunder yang strukturalnya ditandai oleh kerangka C15 yang tersebar luas di jaringan tumbuhan dan sering dipilih sebagai marker bioaktif dalam standar mutu bahan alam (Bustanul & Sanusi, 2018).

Analisis senyawa flavonoid dalam ekstrak tumbuhan dapat dilakukan dengan berbagai teknik kromatografi, salah satunya adalah kromatografi lapis tipis (KLT) yang merupakan metode kualitatif sederhana, ekonomis dan efektif untuk mengidentifikasi keberadaan flavonoid berdasarkan nilai faktor retardasi (Rf) relatif terhadap standar (Putri et al., 2024). Meskipun teknik kromatografi berteknologi tinggi seperti HPLC dan LC-MS/MS memberikan resolusi dan kuantifikasi yang lebih tinggi, KLT tetap menjadi pilihan utama dalam tahap awal analisis fitokimia karena kemudahannya dalam visualisasi bercak flavonoid setelah diamati dengan sinar UV (Sultana et al., 2024).

Penelitian mengenai senyawa bioaktif pada tanaman *Andrographis paniculata* telah banyak dilakukan dalam beberapa tahun terakhir dengan berbagai pendekatan analisis. Penelitian oleh Kuo Yu et al. (2024) menunjukkan bahwa tanaman ini mengandung berbagai metabolit sekunder penting, termasuk flavonoid dan diterpenoid, yang berperan dalam aktivitas biologisnya (Yu et al., 2024). Selanjutnya, penelitian oleh Yustawan et al. (2024) mengkaji profil metabolit *Andrographis paniculata* menggunakan metode FTIR dan GC-MS, yang berhasil mengidentifikasi berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan fenolik (Yustawan et al., 2026).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa analisis kromatografi lapis tipis (KLT) efektif digunakan dalam mengidentifikasi profil metabolit sekunder pada *Andrographis paniculata*, termasuk senyawa flavonoid. Penelitian oleh Manish Kumar Dwivedi et al. (2021) melaporkan bahwa ekstrak metanol sambiloto menghasilkan beberapa noda dengan nilai Rf yang bervariasi baik pada pengamatan visual maupun di bawah sinar UV 254 nm, yang menunjukkan keberagaman komponen metabolit sekunder dalam ekstrak tersebut. Studi ini juga menunjukkan bahwa visualisasi

menggunakan sinar UV mampu meningkatkan deteksi senyawa flavonoid melalui munculnya beberapa spot dengan karakteristik berbeda pada plat KLT. Variasi nilai Rf yang diperoleh mencerminkan perbedaan polaritas dan interaksi senyawa dengan fase diam dan fase gerak, sehingga teknik KLT dapat digunakan sebagai metode awal dalam pemisahan dan identifikasi flavonoid dalam ekstrak tanaman (Dwivedi et al., 2021).

Penelitian identifikasi flavonoid menggunakan KLT di tanaman lain juga melaporkan bahwa variasi fase gerak dan sistem eluens mempengaruhi profil Rf dan sensitivitas deteksi flavonoid (Putri et al., 2024). Penggunaan KLT dalam penelitian flavonoid tetap relevan sebagai tahap awal analisis fitokimia sebelum dilakukan pengujian lanjutan menggunakan teknik kromatografi yang lebih canggih (Jana et al., 2023). Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini bertujuan mengidentifikasi keberadaan dan profil senyawa flavonoid dalam ekstrak daun sambiloto melalui teknik kromatografi lapis tipis.

## 2. METODE PENELITIAN

### 2.1. Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi, Universitas Bina Bangsa.

### 2.2. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid dalam ekstrak etanol daun *Andrographis paniculata* menggunakan metode skrining fitokimia dan kromatografi lapis tipis (KLT).

Bahan yang digunakan adalah ekstrak daun sambiloto, aquades, n-heksan, etil asetat, asam sulfat, asam asetat, HCL pekat, n-butanol. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas (Pyrex), timbangan analitik, oven, ayakan mesh no.60, blender, chamber KLT, lampu UV-VIS 254 nm dan 365 nm, waterbath, cawan porselen, gelas ukur batang pengaduk, corong, wadah maserasi, wadah penguap, tabung reaksi dan rak tabung.

Analisis data dilakukan secara deskriptif kualitatif, meliputi interpretasi hasil uji flavonoid berdasarkan perubahan warna, Perhitungan nilai Rf, Perbandingan profil kromatogram yang meliputi intensitas warna dan perbedaan sistem pelarut.

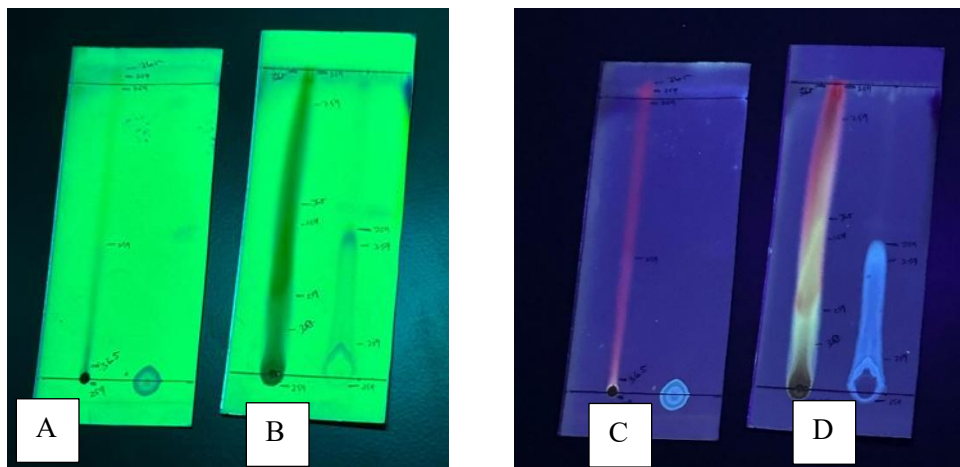
### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining fitokimia flavonoid ekstrak etanol daun sambiloto dilakukan dengan penambahan serbuk magnesium dan HCL pekat. Penambahan untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilum. Serbuk magnesium dan HCL bereaksi membentuk gelembung yang merupakan gas H<sub>2</sub> (Dewi et al., 2021).

Table 1. Skrining Fitokimia Uji Flavonoid

Sampel	Nama Pereaksi	Standar	Hasil Pengamatan	Keterangan
Ekstrak etanol daun sambiloto	Shinoda Test	Jingga	Jingga	Positif (+) flavonoid

Dari uji flavonoid diperoleh hasil yang positif, ditandai dengan adanya warna jingga. Warna jingga, kuning atau merah yang terbentuk merupakan indikator adanya senyawa flavonoid (Lestrari et al., 2023).



Gambar 1. Hasil kromatografi lapis tipis (KLT)

Hasil kromatografi lapis tipis (KLT) menunjukkan bahwa sistem pelarut sangat memengaruhi mobilitas dan pemisahan senyawa flavonoid dalam ekstrak daun sambiloto pada fase diam silica gel GF254. Dari pengamatan KLT UV 254 tampak bercak warna coklat, hal ini karena senyawa dengan struktur aromatik atau konjugasi yang kuat, bercak yang terdeteksi di UV 254 nm akan lebih sedikit variasinya dan cenderung berwarna gelap/coklat karena penghambatan fluoresensi (Irawan & Sulistyani, 2019).

Pada fase gerak non-polar n-heksana : etil asetat (5,5 : 4,5), tampak bercak kuning kehijauan tipis pada UV 365 nm dengan nilai  $R_f < 0,2$ , menunjukkan bahwa senyawa yang termigrasi memiliki afinitas kuat terhadap fase diam sehingga teradsorpsi lebih lama dan tidak mengikuti pelarut secara signifikan. Ini konsisten dengan tinjauan literatur yang menunjukkan bahwa variasi rasio pelarut mempengaruhi  $R_f$  senyawa flavonoid—semakin non-polar fase gerak, semakin rendah  $R_f$  yang teramati untuk komponen polar seperti flavonoid, karena interaksi kuat pada fase diam silica gel (Putri et al., 2024).

Sebaliknya, pada fase gerak semi-polar metanol : kloroform (2 : 10), bercak dengan warna kuning kehijauan tampak jelas pada UV 365 nm dengan  $R_f = 0,64$ , yang berarti migrasi senyawa lebih efektif dibanding fase non-polar. Nilai  $R_f$  di kisaran 0,3–0,7 umumnya dianggap berada dalam rentang yang baik untuk pemisahan TLC karena memungkinkan perbedaan signifikan antara komponen dan meningkatkan resolusi visual (Putri et al., 2024). Hal ini menjelaskan bahwa pelarut yang lebih polar mampu meningkatkan kelarutan senyawa flavonoid dalam fase gerak sehingga mereka bergerak lebih jauh ke atas lempeng sebelum pelarut berhenti.

Perbedaan perilaku migrasi ini selaras dengan prinsip kromatografi lapis tipis bahwa pemisahan berdasarkan polaritas terjadi melalui interaksi kompetitif antara senyawa target dan fase diam serta fase Gerak (Nur et al., 2020). Dalam sistem silica gel GF254 yang polar, senyawa flavonoid akan tertahan lebih kuat jika fase gerak kurang polar, sehingga bergerak lambat, sementara fase gerak yang memiliki komponen polar (seperti metanol) dapat menurunkan adsorpsi dan memungkinkan

senyawa berpindah lebih jauh, menghasilkan Rf lebih tinggi. Visualisasi bercak kuning kehijauan pada UV 365 nm terjadi karena banyak senyawa flavonoid yang memiliki sistem conjugated  $\pi$  orbital yang menyerap dan memfluoresensi pada panjang gelombang UV-visible tertentu saat terdeteksi, sehingga muncul warna khas di bawah lampu UV (V & AR, 2022).

Penggunaan vitamin C sebagai baku pembanding dalam KLT mendukung pendekatan kualitatif untuk membantu membandingkan posisi spot dan warna bercak antara sampel dan standar; ini sering dilakukan dalam skrining fitokimia untuk mengidentifikasi kelompok senyawa bahan alam sebelum analisis lanjutan (Putri et al., 2024). Meskipun vitamin C bukan flavonoid, perbandingan Rf bisa memberikan gambaran apakah ada senyawa bersifat polifenolik kuat berdekatan dengan standar, sehingga membantu interpretasi awal dan validasi visual.

Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan bahwa sistem pelarut semi-polar lebih efektif dalam memisahkan dan mengeluarkan senyawa flavonoid dari matriks ekstrak daun sambiloto dibandingkan pelarut non-polar. Dalam beberapa penelitian, fase gerak semi-polar telah diuji sebagai alternatif dan menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan fase gerak non-polar (Nur et al., 2020). Perbedaan respon Rf dan intensitas bercak mendukung pemilihan fase gerak yang tepat untuk screening awal flavonoid menggunakan KLT.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa KLT dapat digunakan sebagai metode screening awal dalam identifikasi flavonoid, yang ditunjukkan melalui variasi nilai Rf dan karakteristik noda. Hal ini sejalan dengan laporan sebelumnya bahwa KLT masih banyak digunakan dalam pemisahan flavonoid, meskipun memiliki keterbatasan dalam analisis kuantitatif (Cetinkaya et al., 2025).

#### 4. KESIMPULAN DAN SARAN

##### 4.1. Kesimpulan

Ekstrak etanol daun *Andrographis paniculata* terbukti positif mengandung senyawa flavonoid yang ditunjukkan melalui uji Shinoda dengan terbentuknya warna

jingga. Hasil uji KLT menunjukkan pemisahan senyawa dengan pelarut semi – polar lebih optimal dibandingkan dengan menggunakan pelarut non – polar. Visualisasi bercak pada sinar UV 365 nm berupa warna kuning kehijauan mengindikasikan adanya sistem konjugasi khas flavonoid. Dengan demikian, metode KLT dapat digunakan sebagai teknik screening awal yang efektif untuk identifikasi flavonoid dalam ekstrak daun sambiloto, dan pemilihan sistem pelarut yang tepat menjadi faktor penting dalam menghasilkan profil kromatogram yang optimal

#### 4.2. Saran

Penelitian selanjutnya disarankan untuk melanjutkan identifikasi senyawa flavonoid menggunakan metode analisis yang lebih spesifik dan sensitif seperti kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC), LC-MS/MS, atau spektrofotometri UV-Vis. Hal ini bertujuan untuk memperoleh data kuantitatif serta memastikan jenis flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun sambiloto secara lebih akurat.

## 5. REFERENSI

- Bustanul, A., & Sanusi, I. (2018). Struktur , Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid Structure, Bioactivity and Antioxidan of Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21–29.
- Cetinkaya, A., Yayla, S., Hurkul, M. M., & Ozkan, S. A. (2025). Comprehensive review on chromatographic analysis of flavonoids in fruits. *Journal of Chromatography Open*, 7(February), 100209. <https://doi.org/10.1016/j.jcoa.2025.100209>
- Dewi, I. S., Saptawati, T., & Rachma, F. A. (2021). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit dan Biji Terong Belanda (*Solanum betaceum Cav*). *Prosiding Seminar Nasional UNIMUS*, 4, 1210–1218.
- Dwivedi, M. K., Sonter, S., Mishra, S., Singh, P., & Singh, P. K. (2021). Secondary metabolite profiling and characterization of diterpenes and flavones from the methanolic extract of *Andrographis paniculata* using HPLC-LC-MS/MS. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/s43094-021-00292-6>
- Irawan, A., & Sulistyani, N. (2019). Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Cabe Rawit Terhadap *Streptococcus Pyogenes* dan Profil Bioutografi. *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis (JFSP)*, 5(2), 61–68.
- Jana, S. N., Banerjee, S., Biswas, S., Sing, D., Kar, A., Bandyopadhyay, R., Haldar, P. K., Sharma, N., & Mukherjee, P. K. (2023). Quantification and Standardization of Andrographolide in *Andrographis Paniculata* Samples by Validated RP-HPLC and HPTLC Methods. *Journal of Chromatographic Science*, 61(February), 514–521.

- Lestrari, N. W., Suswidianoro, V., Karim, D. D. A., & Putri, D. K. (2023). Skrining Fitokimia dan Uji Sifat Fisik Formula Gel Ekstrak Etanolik Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *JURNAL FARMASI Universitas Aisyah Pringsewu Journal Homepage*, 19, 99–114.  
<https://journal.aisyahuniversity.ac.id/index.php/JFA/article/download/SKRININGFITOKIMIA/642>
- Nur, N., Hariadi, A., Basmalah, N., Laprilski, H., Azzahra, K., & Mulki, A. (2020). Tinjauan Literatur: Pengaruh Parameter Metode Kromatografi Lapis Tipis untuk Identifikasi Kafein dalam Kopi. *Journal of Pharmaceutical and Sciences (JPS)*, 2025(3), 2058–2067.  
<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com>
- Putri, A. O., Hati, M. C., Ishanti, N. P., & Ilham, H. S. (2024). Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Beberapa Jenis Tanaman dengan Kromatografi Lapis Tipis: Literature Review. *PHARMADEMICA: Jurnal Kefarmasian Dan Gizi*, 3(2), 45–54.  
<https://doi.org/10.54445/pharmademica.v3i2.40>
- Sultana, S., Hossain, M. L., Sostaric, T., Lim, L. Y., Foster, K. J., & Locher, C. (2024). Investigating Flavonoids by HPTLC Analysis Using Aluminium Chloride as Derivatization Reagent. *Molecules*, 29(21). <https://doi.org/10.3390/molecules29215161>
- V, R., & AR, N. (2022). Phytochemical and chromatographic analysis of flavanoid fraction isolated from methanoloc extract of *Pterocarpus marsupium*. *The Journal of Phytopharmacology*, 11(2), 79–88. <https://doi.org/10.31254/phyto.2022.11205>
- Yu, K., Liang, P., Yu, H., Liu, H., Guo, J., Yan, X., Li, Z., & Li, G. (2024). *Integrating Transcriptome and Chemical Analyses to Provide Insights into Biosynthesis of Terpenoids and Flavonoids in the Medicinal Industrial Crop Andrographis paniculate and Its*.
- Yustawan, D. A., Apriliani, F. T., Rofida, S., & Farmasari, N. V. (2026). *Metabolomic Study of Andrographis paniculata Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Gas Chromatography-Mass Spectrometry*.