SKRINING FITOKIMIA EKSTRAK ETANOL DAN ETIL ASETAT BIJI CHIA SEED (*Salvia hispanica L.*) MENGGUNAKAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS

KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Ahli Madya Farmasi (A.Md.Farm)

Disusun Oleh:

Kaka Adjie Sentosa

23161018

PROGRAM STUDI DIII FARMASI

SEKOLAH TINGGI KESEHATAN AL-FATHAH BENGKULU

TAHUN AJARAN

2026

PERNYATAAN DAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan di bawah ini adalah :

Nama : Kaka Adjie Sentosa

NIM : 23161018

Program Studi : D3 Farmasi

Judul : "SKRINING FITOKIMIA EKSTRAK ETANOL DAN ETIL ASETAT BIJI CHIA SEED (*Salvia hispanica L.*) MENGGUNAKAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS"

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Karya Tulis Imiah ini merupakan hasil karya sendiri dan sepengetahuan penulis tidak berisikan materi yang dipublikasikan atau ditulis orang lain atau dipergunakan untuk menyelesaikan studi di perguruan tinggi lain kecuali untuk bagian-bagian tertentu yang dipakai sebagai acuan. Apabila terbukti pernyataan ini tidak benar, sepenuhnya menjadi tanggung jawab penulis.

Bengkulu, Juni 2026

Yang Membuat Pernyataan

Kaka Adjie Sentosa

HALAMAN PENGESAHAN

KARYA TULIS ILMIAH

"SKRINING FITOKIMIA EKSTRAK ETANOL DAN ETIL ASETAT BIJI CHIA SEED (*Salvia hispanica L.*) MENGGUNAKAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS"

Oleh :

Kaka Adjie Sentosa
23161018

Karya Tulis Ilmiah Ini Telah Dipertahankan Di Hadapan Penguji Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menempuh Ujian Diploma (D III) Farmasi Di Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fathah Bengkulu

Pada Tanggal : 29 Juni 2026

Disetujui Oleh :

Pembimbing I	Pembimbing II
Herlina, M.Si	**Dewi Winni Fauziah, M.Farm.,Apt**
NIDN: 0201058502	**NIDN : 0218118101**

Penguji

Elly Mulyani, M.Farm., Apt

NIDN : 0214128501

HALAMAN PERSEMBAHAN

Bismillahirahmanirahim, Dengan menyebut nama Allah yang maha pengasih dan maha penyayang. Syukur Alhamddullilah semua proses yang saya lalui untuk menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah diberi kemudahan dan dapat menyelesaikan nya dengan tepat waktu ini semua karna ridho dari Allah SWT. Karya Tulis Ilmiah ini saya persembahkan untuk :

1. Terima Kasih yang sebesar-besarnya kepada orang tua penulis yakni Husnedy dan Ibunda Supriati. Terima Kasih atas pengorbanan, usaha, tetesan keringat dan doa yang selalu menyertai setiap langkah penulis, terima kasih karena selalu mengajarkan arti kata besyukur atas segala hal yang sudah diberikan. Terima kasih sudah berjuang dalam mengupayakan yang terbaik untuk kehidupan penulis, berkorban keringat, tenaga dan pikiran. Beliau memang tidak sempat merasakan pendidikan sampai bangku perkuliahan, namun beliau mampu mendidik penulis serta memberikan dukungan hingga penulis mampu menyelesaikan studi ini, Semoga Ayah dan Ibu sehat, panjang umur dan bahagia selalu.
2. Kepada kakak lelaki saya Ricky Attensi, dan Kakak perempuan saya Aldissa Ferinawati. Terima Kasih atas semangat dan dukungan yang kalian berikan, berkat banyak kata motivasi dari kalian penulis jadi bersemangat menyusun tugas akhir.
3. Kepada Rizki Mariska Putri. Kekasih penulis. Terima kasih atas dukungan, perhatiaan, dan waktu yang telah di berikan kepada penulis.

4. Kepada M. Fadhil Dwi Putra, Sahabat penulis. Terima kasih atas dukungan, perhatiaan, dan waktu yang telah di berikan kepada penulis selama 3 tahun di perkuliahan.
5. Kepada band dan penyanyi. feast, hindia, for revenge. Band luar negeri justin bieber, maroon 5, vicetone, lady gaga, coldplay, Karena musik kalian yang telah menemani saya menyusun Karya Tulis Ilmiah ini.
6. Terakhir, Terima Kasih kepada lelaki sederhana yang memiliki impian besar, namun terkadang sulit dimengerti isi kepalanya, yaitu diriku sendiri, Kaka Adjie Sentosa. Terima Kasih telah berusaha keras untuk meyakinkan dan menguatkan diri sendiri bahwa kamu bisa menyelesaikan studi ini sampai selesai. Terimakasih selalu semangat dan bertahan menjalankan lelahnya kuliah bersama bekerja setiap harinya. Berbahagialah selalu dengan dirimu sendiri, Kaka. Rayakan kehadiranmu sebagai berkah dimana pun kamu menginjakan kaki. Jangan sia-sia kan usaha dan doa yang kamu inginkan.

Penulis, 28 Juni 2026

Kaka Adjie Sentosa

KATA PENGANTAR

Puji Syukur atas kehadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan Rahmat dan hidayahnya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (KTI) dapat diselesaikan dengan baik, Penulisan Karya Tulis Ilmiah dengan judul "Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Dan Etil Asetat Biji Chia Seed (*Salvia hispanica L.*) Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis" disusun untuk memenuhi salah satu syarat guna memperoleh gelar Ahli Madya Farmasi pada program studi Diploma III Farmasi Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu.

Dalam penulisan Karya Tulis Ilmiah ini penulis menyadari keberhasilan ini tidak terlepas dukungan, bimbingan, serta bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih yang sebesarbesarnya kepada:

1. Herlina, M.Si pembimbing I dalam menyusun dan membuat Karya Tulis Ilmiah ini yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, nasehat, motivasi, dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
2. Dewi Winni Fauziah, M.Farm., Apt pembimbing II dalam menyusun dan membuat Karya Tulis Ilmiah ini yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, nasehat, motivasi, dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
3. Elly Mulyani, M.Farm., Apt selaku penguji yang telah tulus dan ikhlas meluangkan waktu, dan memberikan kritik dan saran serta arahan yang sangat berguna dalam Penyusunan proposal Karya Tulis Ilmiah ini.

4. Bapak Drs. Djoko Triyono, Apt., MM Selaku Ketua Yayasan Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu.
5. Ibu Gina Lestari, M.Farm., Apt selaku Ketua Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu.
6. Para dosen dan staf karyawan Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu yang telah memberikan ilmu pengetahuan kepada penulis selama menempuh pendidikan di Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu.
7. Rekan-rekan satu angkatan di Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu, yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini masih memiliki banyak kekurangan dan belum sempurna. Penulis menyampaikan harapan yang tulus untuk menerima kritik serta saran yang bersifat membangun dan bermanfaat, agar dapat terus berkembang dan semakin sempurna di masa mendatang.

Bengkulu, 3 Juli 2026

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR **13**
BAB I PENDAHULUAN **14**
1.1 Latar Belakang 14
1.2 Batasan Masalah 16
1.3 Rumusan Masalah 16
1.4 Tujuan Penelitian 17
1.5 Manfaat Penelitian 17
1.5.1 Bagi Akademik 17
1.5.2 Bagi Penelitian Lanjutan 17
1.5.3 Bagi Masyarakat 18
BAB II TINJAUAN PUSTAKA **19**
2.1 Kajian Teori 19
2.1.1 Klasifikasi Ilmiah 19
2.1.2 Senyawa Fitokimia Dalam Tanaman 23
2.1.3 Prinsip Dan Prosedur Skrining Fitokimia 34
2.1.4 Prinsip Kromatografi Lapis Tipis 37
2.2 Kerangka Konsep 40
BAB III METODE PENELITIAN **41**
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian 41
3.2 Alat dan Bahan 41
3.2.1 Alat 41
3.2.2 Bahan 41
3.3 Prosedur Penelitian 42
3.3.1 Proses Ekstraksi 42
3.3.2 Skrining Fitokimia 43
3.3.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) 44
3.4 Analisis Data 47
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN ..... Error! Bookmark not defined.
4.1 Hasil Penelitian ..... **Error! Bookmark not defined.**

4.2 Preparase .....**Error! Bookmark not defined.**

4.3 Analisis Senyawa Metabolit Dengan Skrining Fitokimia .**Error! Bookmark not defined.**

4.4 Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dengan KLT...**Error! Bookmark not defined.**

BAB V KESIMPULAN ..... Error! Bookmark not defined.

5.1 Kesimpulan .....**Error! Bookmark not defined.**

5.2 Saran.....**Error! Bookmark not defined.**

DAFTAR PUSTAKA 48

DAFTAR TABEL

Tabel I. Golongan senyawa dan pereaksi uji fitokimia..... 36

Tabel II. Hasil skrining ekstrak etanol dan etil asetat biji chia seed..... **Error! Bookmark not defined.**

Tabel III. Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak etanol dan etil asetat ..... **Error! Bookmark not defined.**

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Bji Chia Seed (Salvia hispanica L.).**Error! Bookmark not defined.**
Gambar 2. 2 Senyawa alkaloid 24
Gambar 2. 3 Senyawa polifenol 25
Gambar 2. 4 Senyawa terpenoid 26
Gambar 2. 5 Senyawa fitosterol 27
Gambar 2. 6 Senyawa organosulfur 29
Gambar 2. 7 Kromatografi lapis tipis 37
Gambar 2. 8 Kerangka konsep 40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema kerja ekstraksi .....**Error! Bookmark not defined.**
Lampiran 2. Skema kerja skrining fitokimia.....**Error! Bookmark not defined.**
Lampiran 3. Skema kerja kromatografi lapis tipis**Error! Bookmark not defined.**
Lampiran 4. Skema kerja perhitungan nilai Rf ....**Error! Bookmark not defined.**
Lampiran 5. Proses pembuatan ekstrak etanol dan etil asetat ...**Error! Bookmark not defined.**
Lampiran 6. Hasil skrining fitokimia .....**Error! Bookmark not defined.**
Lampiran 7. Hasil kromatografi lapis tipis.....**Error! Bookmark not defined.**
Lampiran 8. Hasil perhitungan nilai *Rf* .....**Error! Bookmark not defined.**

INTISARI

Biji chia seed (*Salvia hispanica L.*) merupakan bahan alam yang mengandung senyawa metabolit sekunder dengan berbagai potensi manfaat kesehatan, seperti antioksidan, antimikroba, antiinflamasi, dan antidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat biji chia seed (*Salvia hispanica L.*) menggunakan skrining fitokimia dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif kualitatif. Simplisia biji chia seed diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dan etil asetat. Ekstrak kemudian diuji secara skrining fitokimia terhadap flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan terpenoid. Identifikasi KLT dilakukan dengan membandingkan warna noda dan nilai Rf sampel dengan baku pembanding.

Hasil skrining fitokimia menunjukkan ekstrak etanol positif mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan terpenoid, sedangkan ekstrak etil asetat positif mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, dan terpenoid. Hasil KLT menunjukkan flavonoid pada kedua ekstrak dengan Rf 0,975; alkaloid pada kedua ekstrak dengan Rf 0,975; saponin pada ekstrak etanol dan etil asetat dengan Rf masing-masing 0,925 dan 0,850; tanin pada ekstrak etanol dengan Rf 0,725; serta terpenoid pada ekstrak etil asetat dengan Rf 0,988. Berdasarkan hasil tersebut, pelarut etanol 96% lebih efektif dalam mengekstraksi senyawa metabolit sekunder dibandingkan pelarut etil asetat.

Kata Kunci: Biji chia seed, *Salvia hispanica L.*, metabolit sekunder, skrining fitokimia, Kromatografi Lapis Tipis, nilai Rf.
Daftar Acuan: 27 (1987-2023)

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia adalah salah satu negara yang memiliki keanekaragaman hayati terbesar di dunia. Dari sekitar 40.000 jenis tanaman yang tumbuh di sana, diperkirakan lebih dari 2.000 jenis memiliki potensi menjadi tanaman obat (Hendriyani, 2018). Di bidang farmasi penggunaan bahan alami semakin berkembang karena dianggap lebih aman, hemat, dan memiliki efek samping yang lebih sedikit dibandingkan obat buatan atau kimiawi (Prawitasari, 2019). Salah satu cara penelitian bahan alami yang penting adalah skrining fitokimia, yaitu proses mengidentifikasi senyawa kimia alami dalam tanaman seperti senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, terpenoid, dan fenolik memiliki banyak manfaat seperti menangkal radikal bebas, membunuh bakteri, mengurangi peradangan, dan membantu mengendalikan diabetes (Khalid *et al*., 2023).

Salah satu tanaman yang sedang banyak diteliti karena kandungan aktifnya adalah biji chia seed (*Salvia hispanica L.*). Tanaman ini berasal dari Amerika Tengah, masuk ke dalam keluarga Lamiaceae dan kini mulai ditanam di berbagai negara termasuk Indonesia (Trisnani et al., 2023). Biji Chia Seed (*Salvia hispanica L.*) dianggap sebagai makanan super karena kandungan nutrisinya tinggi seperti asam lemak omega-3, protein, serat, dan polifenol (P.

A. Velix et al., 2023). Selain itu, Biji Chia Seed (*Salvia hispanica L.*) juga mengandung senyawa fitokimia aktif seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin (I. H. P. Asih & Khumairoh, 2024).

Biji chia seed memiliki kandungan serat yang tinggi sekitar 30-34 gram per 100 gram yang bisa membantu menurunkan kolesterol darah, menjaga kadar gula darah tetap stabil, serta memperbaiki fungsi pencernaan. Selain itu, biji chia juga mengandung asam lemak tak jenuh ganda seperti omega-3 dan omega-6 yang memiliki sifat antiinflamasi dan bisa mengurangi risiko penyakit jantung dan pembuluh darah (Mohsenian *et al*., 2019). Biji chia seed juga kaya akan senyawa fenolik dan flavonoid seperti kuersetin, asam klorogenat, serta asam kafeat yang bekerja sebagai antioksidan alami. Senyawa ini mampu melawan radikal bebas dan melindungi sel dari kerusakan akibat oksidasi yang berhubungan dengan penuaan dini dan berbagai penyakit kronis (Function, 2019).

Untuk mengetahui jenis senyawa yang ada dalam suatu tanaman dibutuhkan skrining fitokimia yang bertujuan mengidentifikasi metabolit sekunder melalui reaksi warna menggunakan pereaksi tertentu (I. H. P. Asih & Khumairoh, 2024). Pemilihan pelarut sangat penting dalam proses ekstraksi bahan alami. Pelarut etanol 96% digunakan karena mampu melarutkan senyawa polar maupun semi-polar seperti flavonoid dan saponin sedangkan etil asetat lebih cocok untuk mengekstrak senyawa semi-polar seperti terpenoid dan tanin. Dengan membandingkan hasil ekstraksi dari kedua pelarut tersebut

bisa diketahui pelarut mana yang paling efektif dalam menarik senyawa aktif dari biji chia seed (Damayanti *et al*., 2018).

Berdasarkan latar belakang metode penelitian tersebut, senyawa bergerak dengan kecepatan berbeda sesuai tingkat kepolarannya. Senyawa non-polar bergerak lebih jauh dari senyawa polar. Setiap senyawa memiliki nilai Rf yang khas dan digunakan untuk dibandingkan dengan senyawa standar (N. Hafizah *et al*., 2024).

1.2 Batasan Masalah

a. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah biji chia seed (*Salvia hispanica L.*).
b. Ekstrak etanol dan etil asetat dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dan pelarut etil asetat.
c. Analisis senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol dan etil asetat biji chia seed (*Salvia hispanica L.*) menggunakan metode skrining fitokimia.
d. Metode Kromatografi lapis tipis (KLT) yang digunakan untuk mengetahui pola pemisahan senyawa dan menganalisis nilai Rf.

1.3 Rumusan Masalah

a. Senyawa metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat biji chia seed (*Salvia hispanica L.*)?
b. Bagaimana hasil analisis kandungan metabolit sekunder dengan kromatografi lapis tipis?

1.4 Tujuan Penelitian

a. Untuk mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder apa saja yang terdapat dalam ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat biji chia seed (*Salvia hispanica L.*).
b. Untuk mengidentifikasi kandungan metabolite sekunder dalam sampel menggunakan metode kromatografi lapis tipis.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Bagi Akademik

Penelitian ini menambah pengetahuan dalam bidang analisis farmasi bahan alam, khususnya mengenai identifikasi senyawa metabolit sekunder pada biji chia seed (*Salvia hispanica L.*). Hasilnya dapat menjadi referensi ilmiah untuk penelitian lanjutan dan pembelajaran tentang penerapan metode skrining fitokimia serta Kromatografi Lapis Tipis (KLT) di lingkungan akademik.

1.5.2 Bagi Penelitian Lanjutan

Penelitian ini membantu peneliti lain memahami hubungan antara teori dan praktik laboratorium dalam menganalisis senyawa aktif tanaman obat. Melalui penelitian ini, peneliti lain dilatih untuk lebih teliti, terampil, dan mampu menerapkan metode ilmiah dalam bidang fitokimia dan farmakognosi.

1.5.3 Bagi Masyarakat

Bagi masyarakat penelitian ini memberikan informasi ilmiah tentang potensi biji chia sebagai sumber senyawa alami yang bermanfaat bagi kesehatan, terutama sebagai antioksidan. Pengetahuan ini dapat mendorong pemanfaatan bahan alami yang aman, terjangkau, dan mendukung gaya hidup sehat berbasis herbal.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kajian Teori

2.1.1 Klasifikasi Ilmiah



Gambar 2. Bji Chia Seed (*Salvia hispanica L.*)

A. Toksonomi Biji Chia Seed *(Salvia hispnica L.)*

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Magnoliopsida*

Ordo : *Lamiales*

Famili : *Lamiaceae*

Genus : *Salvia*

Spesies : *Salvia hispanica L.*

B. Morfologi Tanaman Chia Seed (*Salvia hispanica L.*)

Tanaman chia seed masuk ke dalam keluarga Lamiaceae, yang sama seperti tanaman kemangi dan mint. Asalnya dari Amerika Tengah terutama daerah Meksiko dan Guatemala. Ini adalah tanaman semusim yang bisa tumbuh setinggi 80 sampai 100 cm dengan batang berbentuk segi empat, berdiri tegak, dan menutupi rambut halus. Daunnya muncul berpasangan bentuknya oval sampai lonjong dengan pinggiran yang sedikit bergerigi, panjangnya sekitar 4 hingga 8 cm, dan lebarnya 3 sampai 5 cm. Warna daunnya hijau muda hingga hijau tua, dengan tekstur yang agak berbulu. Bunganya kecil dan warnanya ungu kebiruan, berkumpul dalam tandan vertikal di ujung batang, dan juga termasuk jenis bunga majemuk yang berbentuk seperti lonceng. Buahnya lonjong, warnanya juga hitam keabu-abuan, cokelat, atau putih keabu-abuan, dengan panjang sekitar 2 mm dan lebar 1,5 mm. Biji chia seed sendiri memiliki permukaan yang licin dan mengkilap dengan pola mirip aslinya. Yang unik dari biji Chia Seed ini adalah kemampuannya untuk membuat lapisan yang berbentuk gel transparan saat direndam dalam air yang berasal dari *mucilage* yaitu sebuah polisakarida yang larut dalam air dan ada di kulit biji yang bisa menyerap air sampai 10-12 kali lipat berat dari biji Chia Seed itu sendiri. Kandungan serat dan lendir alami ini berfungsi untuk melindungi biji dari kekeringan serta menjadi ciri penting dalam identifikasi bahan alam (N. Velix et al., 2023).

C. Kandungan Biji Chia Seed *(Salvia Hispanica L.)*

Biji chia seed adalah bahan alami yang memiliki potensi baik untuk kesehatan dan bisa dipakai sebagai bahan alternatif dalam membuat produk makanan fungsional. Biji chia kaya akan protein 15-25%, lemak 30-33%, karbohidrat 26-41%, serat 18-30%, dan mineral 4-5% (Ixtaina et al., 2008). Biji chia juga kaya akan asam lemak omega 3 khususnya asam linolenat sebesar 17,83 % (USDA, 2011). Pada tahun 2009, biji chia seed telah disetujui sebagai bahan makanan baru *novel food* oleh Parlemen Eropa dan Dewan Eropa (E.U., 2009). Penggunaan biji chia dalam makanan dianggap aman karena tidak menimbulkan efek samping atau alergi (EFSA, 2009). Dengan demikian, biji chia dan produk turunannya sangat berpotensi dikembangkan lebih lanjut. Biji chia seed juga mengandung asam lemak omega 3 (asam linolenat) sebesar 17,83% serta merupakan sumber serat pangan protein dengan kualitas tinggi dan antioksidan (Craig, 2004). Selain itu, biji chia seed juga mengandung senyawa fenolik yang merupakan komponen bioaktif yang membantu meningkatkan manfaat kesehatan dari biji chia seed. Beberapa senyawa fenol dalam biji chia seed adalah flavonol dan asam fenolat seperti myricetin, quercetin, kaempferol, dan asam kafeat (Ali et al., 2012). Senyawa ini merupakan antioksidan utama yang berperan sinergis dalam memberikan aktivitas antioksidan yang tinggi dari biji chia seed (Fernandez et al., 2006). Beberapa penelitian telah dilakukan mengenai manfaat biji chia seed bagi kesehatan. Dalam penelitian tersebut, asam kafeat dan asam klorogenat yang terkandung dalam biji chia diketahui dapat melindungi sel tubuh dari radikal

bebas dan mencegah terjadinya peroksidasi lemak. Kedua senyawa ini bahkan memiliki kemampuan yang lebih baik dibandingkan vitamin C, asam ferulat, dan vitamin E (Reyes et al., 2008). Biji chia seed kaya akan serat makanan dan protein serta mengandung berbagai asam amino eksogen. Biji chia juga merupakan sumber mineral dan vitamin yang baik dan memiliki aktivitas antioksidan tinggi terutama dari senyawa polifenol dan tokoferol. Penelitian menunjukkan bahwa biji chia memiliki beberapa manfaat seperti efek menurunkan tekanan darah, menurunkan gula darah, antimikroba, dan meningkatkan sistem imun. Penelitian oleh Bartoz dkk pada tahun 2019 menyatakan bahwa biji chia (Salvia hispanica) merupakan bahan baku yang memiliki khasiat dan dapat digunakan secara luas dalam industri makanan (Bartoz et al., 2019).

D. Manfaat Biji Chia Seed *(Salvia Hispanica L.)*

Biji chia seed yang dikenal juga secara ilmiah sebagai *Salvia hispanica L.* merupakan salah satu makanan fungsional yang kaya akan serat dengan nutrisi penting dan beragam kebaikan untuk kesehatan. Biji ini penuh dengan serat makanan seperti protein nabati berkualitas tinggi, asam lemak omega-3 khususnya asam alfa-linolenat dan antioksidan, plus mineral seperti kalsium, magnesium, dan fosfor. Serat yang ada di dalamnya bisa membantu memperbaiki sistem pencernaan membuat perut kenyang lebih tahan lama dan juga membantu mengontrol kadar gula darah. Sementara itu, asam lemak omega-3nya berfungsi menurunkan kolesterol jahat (LDL) sambil meningkatkan kolesterol baik (HDL), jadi bagus banget buat menjaga

kesehatan jantung. Antioksidan seperti quercetin, kaempferol, dan asam caffeic juga mempunyai peran penting dalam melindungi sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas serta berkurangnya peradangan. Dengan semua manfaat kandungan ini, kalau rutin memakan biji chia seed bisa membantu mencegah penyakit metabolik seperti diabetes dan hipertensi sekaligus meningkatkan kesejahteraan tubuh secara menyeluruh (Fernandes et al., 2023).

2.1.2 Senyawa Fitokimia Dalam Tanaman

A. Pengertian Fitokimia

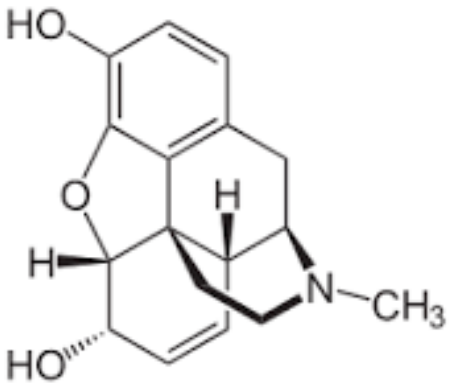
Fitokimia itu berasal dari kata "*phyto*" yang berarti tumbuhan, dan "*chemical*" yang artinya senyawa kimia. Secara keseluruhan istilah ini Merujuk pada senyawa kimia alami yang diproduksi oleh tanaman sebagai bagian dari proses metabolisme sekunder mereka (Damayanti *et al*., 2018). Senyawa-senyawa ini tidak langsung terlibat dalam pertumbuhan atau perkembangan tanaman lain dari karbohidrat, protein, dan lemak. Namun, mereka memiliki peran penting dalam melindungi tanaman dari berbagai ancaman kesehatan lingkungan seperti serangan hama, mikroorganisme, atau paparan sinar ultraviolet. Dalam ilmu kefarmasian, fitokimia didefinisikan sebagai ilmu yang menelaah lebih dalam kandungan kimia dari tumbuhan khususnya metabolit sekunder yang memiliki potensi aktivitas biologi atau farmakologis (I. H. P. Asih & Khumairoh, 2024). Ilmu ini menjadi fondasi utama dalam pengembangan obat-obatan tradisional maupun modern yang berbasis tanaman karena banyak senyawa fitokimia sudah terbukti memiliki efek penyembuhan

seperti antioksidan, antimikroba, antikanker, antidiabetes, dan antiinflamasi (Prawitasari, 2019).

B. Klasifikasi Senyawa Fitokimia

Senyawa fitokimia itu sebenarnya zat alami yang diproduksi oleh tanaman melalui proses metabolisme sekunder. Senyawa senyawa ini tidak langsung terlibat dalam pertumbuhan atau perkembangan tanaman tetapi mempunyai peran penting dalam perisai melawan serangan hama, penyakit, serta dari lingkungan sekitar (Kristianti, 2008). Senyawa fitokimia dapat dipecah ke dalam lima kelompok yaitu alkaloid, polifenol, terpenoid, fitosterol, dan organosulfur.

1. Alkaloid

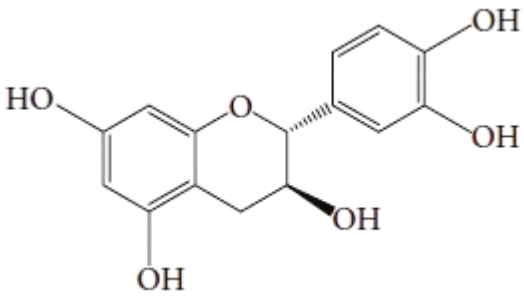


Gambar 2. 1 Senyawa alkaloid

Alkaloid adalah zat yang bersifat basa dan mengandung atom nitrogen biasanya dalam bentuk sekunder atau tersier terkadang juga nitrogen kuartener. Atom nitrogen pada alkaloid biasanya terletak dalam struktur berbentuk lingkaran dan ini menjadi ciri khas dari alkaloid (Harborne, 1987). Alkaloid ditemukan di berbagai bagian tanaman seperti akar, biji, daun, dan batang. Zat

ini memiliki berbagai efek pada tubuh, baik yang berguna maupun beracun. Dalam tanaman, alkaloid berperan sebagai penyimpan nitrogen membantu melindungi tanaman dari serangan hama serta membantu dalam mengatur pertumbuhan. Secara kimia, alkaloid terdiri dari atom karbon (C), hidrogen (H), nitrogen (N), dan terkadang oksigen (O). Contoh alkaloid adalah arborinine yang ditemukan pada tanaman inggu (*Ruta angustifolia*) dan digunakan dalam pembuatan jamu (Rizaldi et al., 2023). Dalam bidang farmasi, alkaloid memiliki aktivitas antibakteri, antioksidan, analgesik, hepatoprotektor, serta bisa berfungsi sebagai antimikroba (Debnath et al., 2018). Untuk mengenali keberadaan alkaloid dalam ekstrak tanaman biasanya digunakan reagen Dragendorff dan Mayer (Harborne, 1987).

2. Polifenol

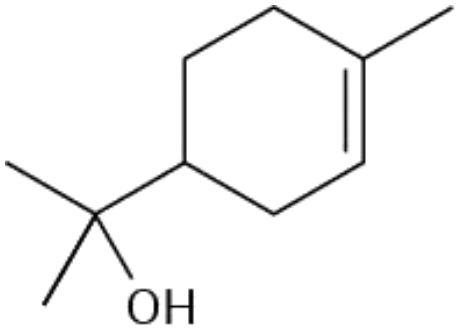


Gambar 2. 2 Senyawa polifenol

Polifenol adalah kelompok senyawa alami yang terdapat dalam banyak tanaman. Mereka memiliki satu atau lebih gugus fenol (-OH) yang terhubung langsung ke cincin aromatik. Jenis senyawa ini memiliki struktur kimia yang rumit dan bisa ditemukan di hampir semua jenis tanaman (Kristianti, 2008). Polifenol bisa dibagi menjadi empat subkelompok utama yaitu Flavonoid,

Asam fenolat, Stilbene, dan Lignan. Flavonoid terdapat di berbagai tanaman seperti teh hijau, teh putih, kacang-kacangan, anggur, minyak zaitun, dan delima. Senyawa ini berperan sebagai antioksidan alami yang bisa melindungi tubuh dari kerusakan akibat stres oksidatif (Kumar & Pandey, 2013). Berdasarkan penelitian, polifenol memiliki banyak manfaat seperti memperbaiki kesehatan jantung, menurunkan tekanan darah, mencegah diabetes, mengurangi peradangan, serta melindungi hati (Rana *et al*., 2022).

3. Terpenoid



Gambar 2. 3 Senyawa terpenoid

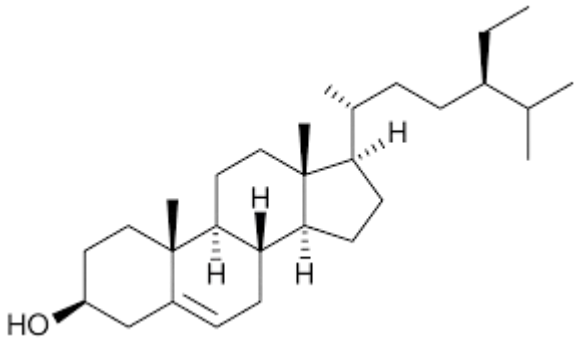
Terpenoid sering juga disebut sebagai isoprenoid yaiu kelompok besar senyawa alami yang terdiri dari unit dasar bernama isoprena (C_5 H_8). Bentuk struktur kimia terpenoid bisa berupa rantai lurus atau berbentuk lingkaran serta memiliki berbagai jenis kelompok kimia seperti hidroksil, karbonil, atau ikatan ganda (Kristianti, 2008). Terpenoid banyak terdapat dalam minyak atsiri dari tumbuhan dan berperan dalam interaksi tumbuhan dengan lingkungan seperti menarik serangga penyerbuk serta melindungi dari serangga penghisap. Saat terbentuk semua terpenoid berasal dari molekul isoprena yang bergabung

menjadi satuan yang lebih besar. Berdasarkan jumlah unit isoprena, terpenoid dapat dibagi ke dalam beberapa kategori yaitu:

1. Monoterpenoid digunakan sebagai antiseptik, ekspektoran, antispasmodik, serta bahan pengurang ketegangan.
2. Seskuiterpenoid berperan sebagai antimikroba, antibiotik, bahan sitotoksik, dan bahan pemanis alami.
3. Diterpenoid berfungsi sebagai hormon pembawa pertumbuhan tanaman, penghambat pertumbuhan sel kanker, serta bahan pemanis.
4. Triterpenoid berfungsi sebagai bahan penurun gula darah, melindungi hati serta digunakan dalam pengobatan beberapa gangguan kulit dan siklus menstruasi (Azalia, 2023).

Terpenoid juga berperan penting dalam pembentukan minyak atsiri yang banyak digunakan dalam industri parfum, kosmetik, dan farmasi.

4. Filosterol



Gambar 2. 4 Senyawa fitosterol

Fitosterol adalah zat alami yang termasuk dalam kelompok steroid, terdapat di dalam jaringan tumbuhan dan berperan sebagai bagian dari membran sel. senyawa steroid alami yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan

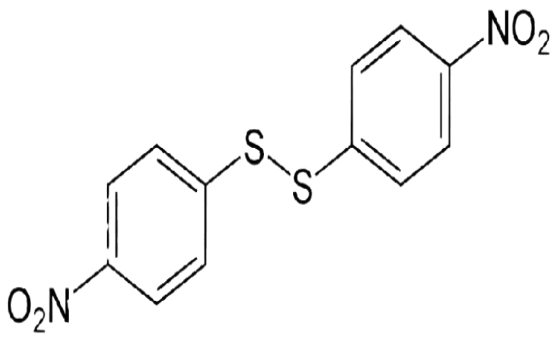
dan berfungsi sebagai bagian dari membran sel. Senyawa ini tidak dapat dihasilkan oleh tubuh manusia maupun hewan sehingga harus diperoleh dari sumber nabati seperti minyak goreng, kacang-kacangan, dan bahan-bahan berbenuh (Ogbe *et al*., 2015). Fitosterol memiliki dua kelompok yaitu sterol (contohnya sitosterol dan campesterol) dan stanol.

Dalam bidang kesehatan, fitosterol memiliki berbagai manfaat, seperti:

1. Mengurangi kadar kolesterol dalam darah.
2. Mencegah penyakit jantung coroner.
3. Memiliki efek antiinflamasi, anti diabetes, dan antikanker dengan cara menginduksi kematian sel kanker (Kristianti, 2008).

Namun, orang yang menderita gangguan genetik berupa phytosterolemia (*sitosterolemia*) perlu menghindari konsumsi filosterol karena dapat menyebabkan penumpukan zat tersebut dalam darah.

5. Senyawa Organosulfur



Gambar 2. 5 Senyawa organosulfur

Senyawa organosulfur adalah jenis senyawa alami yang terdapat pada tanaman-tanaman dalam keluarga Alliaceae seperti bawang putih, bawang merah, dan bawang dayak (*Eleutherine bulbosa*). Senyawa ini mengandung unsur belerang yang menyebabkan aroma dan rasa khas pada tanaman tersebut (Ellmore & Feldberg, 1994). Senyawa organosulfur memiliki berbagai manfaat dalam bidang kesehatan dan kedokteran seperti membantu mencegah terjadinya kanker, melindungi tubuh dari racun bebas radikal, mengatur kadar gula dalam darah, menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur, mengurangi peradangan, melindungi fungsi hati, serta mendukung kesehatan jantung (Walag et al., 2020).Beberapa senyawa penting dalam kelompok organosulfur adalah:

1. *Allicin* - berfungsi sebagai antibakteri, membantu menurunkan gula darah, mencegah kanker, dan mengurangi kadar lemak dalam darah.

2. *S-Allyl Sistein* - dapat menurunkan kadar gula darah dan membantu menjaga keseimbangan hormon tiroid.

3. *Sulforafan* - memiliki efek menurunkan gula darah dan melindungi tubuh dari radikal bebas.
4. *Sistein* dan *Metionin* - berperan sebagai antioksidan alami dan membantu melindungi hati.
5. Asam Lipoat - bekerja sebagai antioksidan yang sangat kuat serta bermanfaat untuk mengatur kadar gula darah (Tizazu & Nebi, 2024).

C. Mekanisme Kerja Fitokimia

Setiap jenis senyawa fitokimia memiliki cara kerja dan tujuan yang berbeda tergantung pada struktur kimianya serta bagian tubuh yang dituju. Kombinasi beberapa senyawa ini sering kali menghasilkan efek yang lebih baik, itulah sebabnya tanaman obat seperti biji chia seed memiliki banyak manfaat medis meskipun berasal dari bahan alami yang sama (P. A. Velix *et al*., 2023).

1. Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa polifenol yang banyak ditemukan di tumbuhan dan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Cara kerjanya adalah dengan memberikan elektron atau atom hidrogen kepada molekul reaktif oksigen (ROS) dan nitrogen (RNS) sehingga mencegah reaksi oksidatif berantai dalam tubuh (Prawitasari, 2019). Selain itu, flavonoid dapat membuat radikal bebas menjadi lebih stabil dengan membentuk senyawa sementara yang tidak reaktif. Gugus hidroksil (-OH) pada struktur aromatik flavonoid berperan penting dalam reaksi ini. Flavonoid juga bisa meningkatkan aktivitas enzim

antioksidan alami seperti superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), dan glutation peroksidase (GPx) yang membantu menjaga keseimbangan kesehatan sel (Damayanti *et al*., 2018).

2. Alkaloid

Alkaloid adalah jenis senyawa kimia yang mengandung nitrogen dan biasanya mempunyai dampak besar terhadap tubuh makhluk hidup. Cara kerja alkaloid bisa berbeda tergantung jenisnya. Beberapa alkaloid bekerja dengan menghambat pembentukan DNA dan RNA pada bakteri sehingga mengganggu pertumbuhan sel mikroba (Damayanti *et al*., 2018). Hal ini menjelaskan mengapa beberapa ekstrak tumbuhan yang kaya alkaloid memiliki sifat antimikroba. Selain itu, banyak alkaloid juga memengaruhi sistem saraf. Contohnya alkaloid seperti morfin, kafein, dan nikotin bisa memengaruhi cara saraf mengirimkan sinyalnya dengan berikat pada reseptor neurotransmiter. Dalam konteks fitokimia pada biji chia seed meskipun kadar alkaloidnya rendah tetap memberikan dampak kecil sebagai tonik dan stimulan yang membantu meningkatkan metabolisme tubuh dan menjaga keseimbangan energi (N. Velix *et al*., 2023). Beberapa alkaloid juga bisa mengurangi rasa sakit dan peradangan dengan cara menghambat enzim *fosfolipase A2* sehingga mencegah pelepasan asam arakidonat yang menjadi penyebab utama produksi prostaglandin yang memicu rasa sakit (Prawitasari, 2019).

3. Tanin

Tanin merupakan bagian dari kelompok senyawa polifenol yang rumit dan mampu melekat kuat pada protein serta logam berat. Fungsi utama tanin

adalah membuat protein melekat di dinding sel mikroba sehingga mengganggu fungsi membran dan menyebabkan mikroba kehilangan kemampuan menghasilkan energi (Damayanti *et al*., 2018). Selain itu, tanin juga bisa membentuk ikatan dengan enzim penting pada mikroba yang membuat aktivitas enzim tersebut berkurang hingga sel mikroba mati. Mekanisme ini menjelaskan mengapa tanin bisa digunakan sebagai bahan alami yang memiliki sifat antibakteri dan antijamur. Dalam tubuh manusia, tanin juga memiliki efek *astringen* yaitu menyebabkan penyempitan pori-pori dan jaringan mukosa, membantu menghentikan perdarahan kecil, serta mempercepat proses penyembuhan luka. Selain manfaat antimikroba, tanin juga memiliki kemampuan antioksidan karena memiliki struktur aromatik yang kaya akan gugus hidroksil. Gugus ini bertugas menetralkan radikal bebas dan mencegah terjadinya oksidasi pada lipid, protein, dan DNA yang penting untuk menjaga kesehatan sel (M. Asih & Khumairoh, 2024).

4. Saponin

Saponin adalah jenis senyawa glikosida yang terbuat dari triterpenoid atau steroid. Senyawa ini memiliki kemampuan untuk menurunkan tegangan permukaan air dan membentuk busa. Cara kerja saponin adalah dengan berinteraksi langsung dengan membran sel yang terdiri dari lemak. Bagian yang bersifat lipofilik pada saponin akan mengikat kolesterol di dalam membran sehingga menyebabkan membran menjadi lebih mudah terbuka. Akibatnya, cairan di dalam sel akan keluar. Proses ini menjelaskan efek antimikroba dan antijamur dari saponin karena membran mikroba terganggu.

Di dalam tubuh manusia, saponin juga dapat membantu menurunkan kadar kolesterol dalam darah dengan menempel pada kolesterol yang ada di saluran pencernaan sehingga penyerapan kolesterol terhambat. Selain itu, saponin juga dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh dengan meningkatkan aktivitas *makrofag* dan produksi *antibody* sehingga berfungsi sebagai peningkat imun alami. Beberapa jenis saponin juga memiliki efek antitumor dan antiinflamasi karena mampu menghambat produksi sitokin proinflamasi seperti TNF-α dan IL-6. Dengan demikian, saponin termasuk dalam senyawa fitokimia yang memiliki banyak manfaat dan aktivitas farmakologis dalam bahan alami.

5. Terpenoid

Terpenoid adalah kelompok zat kimia yang dihasilkan oleh tumbuhan dan memiliki berbagai manfaat untuk tubuh seperti mampu melindungi dari radikal bebas, mengurangi peradangan, membunuh mikroba serta mencegah pertumbuhan sel kanker. Secara kimia, terpenoid bekerja melalui beberapa cara penting di dalam tubuh. Saat berfungsi sebagai antioksidan, terpenoid dapat membersihkan radikal bebas dengan memberikan electron mencegah terbentuknya senyawa reaktif oksigen (ROS) serta memperkuat sistem antioksidan alami melalui jalur Nrf-2 (Singh & Sharma, 2015). Sebagai zat antiinflamasi, terpenoid dapat menghambat enzim yang memicu peradangan seperti COX-2 dan LOX serta mengurangi aktivasi jalur NF-κB yang terlibat dalam produksi zat penyebab peradangan seperti TNF-α, IL-1β, dan IL-6 (Medeiros *et al*., 2019). Dalam aktivitas antimikroba, terpenoid dapat merusak membran sel mikroba karena sifatnya yang mudah larut dalam lemak

menyebabkan kebocoran ion dan gangguan proses metabolisme. Selain itu, terpenoid juga bisa menghambat aktivitas enzim yang digunakan oleh bakteri untuk bernapas dan proses pembentukan protein (Silva *et al*., 2017). Dalam hal antikanker beberapa jenis terpenoid seperti *limonene* dan *geraniol* dapat memicu proses kematian sel kanker (*apoptosis*) dengan meningkatkan aktivitas Bax, menurunkan Bcl-2 serta mengaktifkan caspase-3. Selain itu, terpenoid juga dapat menghentikan pertumbuhan sel kanker dengan menghambat siklus pembelahan sel (Crowell, 1999).

2.1.3 Prinsip Dan Prosedur Skrining Fitokimia

A. Pengertian Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia adalah langkah pertama dalam penelitian bahan alam yang digunakan untuk mengetahui adanya senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak tanaman. Metode ini dilakukan dengan mengamati perubahan warna, munculnya endapan, atau reaksi khusus yang terjadi setelah menambahkan reagen kimia tertentu ke dalam ekstrak tanaman (I. H. P. Asih & Khumairoh, 2024).

B. Tujuan Skrining Fitokimia

Tujuan utama dari skrining fitokimia adalah untuk Mengetahui jenis senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tanaman secara kualitatif. Memutuskan langkah penelitian berikutnya yaitu apakah perlu dilakukan analisis kuantitatif atau identifikasi struktur molekul menggunakan peralatan seperti KLT, FTIR, atau GC-MS Mengevaluasi potensi manfaat farmakologis tanaman berdasarkan jenis metabolit sekundernya. Misalnya, jika terdapat

flavonoid dan polifenol kemungkinan besar memiliki aktivitas antioksidan jika mengandung alkaloid berpotensi sebagai antimikroba atau analgesic dan Membandingkan kinerja berbagai jenis pelarut ekstraksi seperti etanol, etil asetat, atau n-heksana dalam menarik senyawa aktif (Damayanti et al., 2018). Dengan demikian, skrining fitokimia tidak hanya berfungsi sebagai uji awal untuk mengidentifikasi tanaman tetapi juga menjadi dasar ilmiah untuk memandu pengembangan produk obat herbal serta menentukan standar kualitas bahan alami yang digunakan dalam industri farmasi dan kosmetik. Dalam penelitian ini, skrining fitokimia dilakukan pada ekstrak etanol dan etil asetat biji chia seed (*Salvia hispanica L.*) untuk mengetahui jenis metabolit sekunder yang dominan dalam masing-masing pelarut. Etanol biasanya lebih efektif menarik senyawa polar hingga semipolar seperti flavonoid, fenolik, dan saponin sedangkan etil asetat lebih baik untuk senyawa semipolar seperti terpenoid dan tanin. Perbandingan hasil skrining dari kedua jenis ekstrak ini akan memberikan informasi mengenai efektivitas pelarut terhadap senyawa bioaktif yang nantinya bisa digunakan untuk penelitian lebih lanjut dalam karakterisasi senyawa spesifik dan uji aktivitas biologisnya (N. Velix *et al.*, 2023).

C. Pereaksi Kimia Untuk Skrining Fitokimia

Berikut adalah bahan bahan pereaksi yang digunakan untuk mengidentifikasi setiap kelompok senyawa.

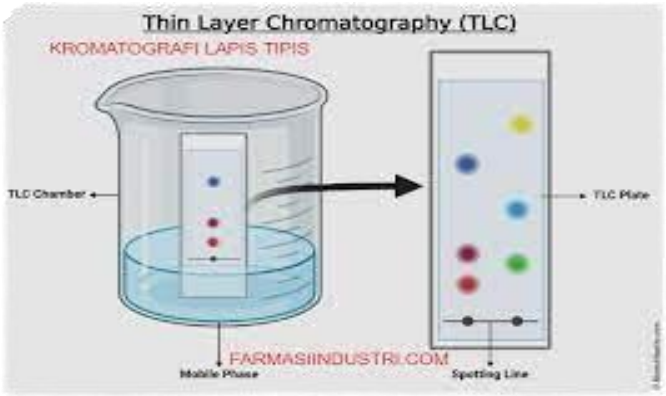
Tabel I. Skrining fitokimia uji reaksi warna

Golongan Senyawa	Pereaksi	Hasil Positif
Alkaloid	Dragendorff, Mayer	Endapan Jingga Atau Putih
Flavonoid	Serbuk Mg + HCl pekat (Pereaksi Shinoda	Warna Merah Jingga
Tanin	$FeCl_3$ 1%	Warna Biru Kehitaman
Saponin	Pengocokan Dengan Air Panas	Busa Stabil ≥ 10 Menit
Terpenoid	Liebermann - Burhard	Warna Hijau Kebiruan

Cara ini mudah tetapi cukup baik untuk mengenali kehadiran senyawa aktif secara kualitatif (M. Asih & Khumairoh, 2024).

2.1.4 Prinsip Kromatografi Lapis Tipis

A. Pengertian Kromatografi Lapis Tipis



Gambar 2. 6 Kromatografi lapis tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu metode analisis yang umum digunakan dalam bidang kimia baik untuk tujuan kualitatif maupun kuantitatif. Teknik ini memanfaatkan fase diam berupa lapisan tipis adsorben seperti silika gel atau alumina yang dilapiskan pada permukaan kaca, logam, atau plastik. Sementara itu, fase geraknya berupa pelarut atau campuran pelarut yang bergerak melalui gaya kapiler. Prinsip dasar KLT terletak pada perbedaan afinitas antar senyawa terhadap fase diam dan fase gerak senyawa yang memiliki afinitas lebih kuat terhadap fase diam akan bergerak lebih lambat sedangkan yang lebih larut dalam fase gerak akan bergerak lebih cepat (Tanneru *et al*., 2023). Metode ini banyak diterapkan untuk identifikasi senyawa aktif dalam bahan alam maupun produk farmasi karena memiliki prosedur yang sederhana, cepat, dan hanya memerlukan jumlah sampel yang relatif kecil (Puspita Dewi, 2023). Selain itu, KLT juga dapat dikombinasikan

dengan teknik densitometri untuk meningkatkan akurasi serta sensitivitas hasil analisis (Andrawina *et al*., 2024).

B. Mekanisme Pemisahan Senyawa

Proses pemisahan terjadi karena adanya perbedaan dalam sifat kepolaran. Senyawa yang tidak polar akan bergerak lebih cepat dan lebih jauh di atas pelat sedangkan senyawa yang polar akan tertahan lebih lama di fase diam. Jarak tempat senyawa sampai dibandingkan dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut disebut faktor retensi (Rf) dan rumusnya adalah:

$$Rf = \frac{Jarak\ senyawa\ (cm)}{Jarak\ pelarut\ (cm)}$$

Nilai Rf merupakan ciri khas bagi setiap senyawa tertentu sehingga bisa digunakan untuk membandingkan hasil identifikasi dengan bahan standar yang digunakan sebagai pembanding (N. Hafizah *et al*., 2024).

C. Komponen Dan Prosedur KLT

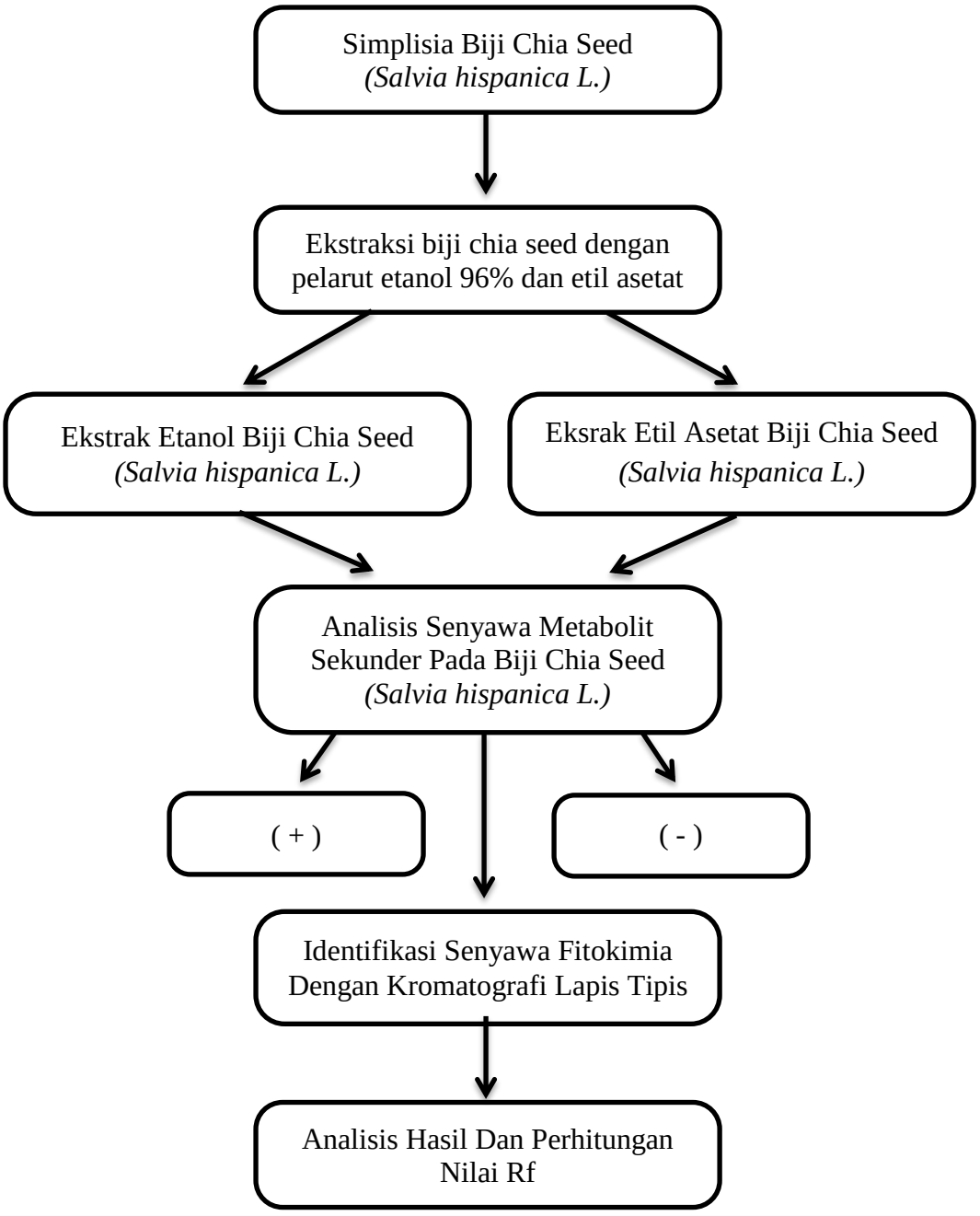
Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah salah satu cara untuk memisahkan dan mengenali senyawa kimia berdasarkan perbedaan cara senyawa tersebut melekat pada dua fase yaitu fase diam yang biasanya terdiri dari silika gel atau alumina dan fase gerak yang berupa pelarut atau campuran pelarut organik. Metode ini sering digunakan dalam penelitian tentang senyawa alami karena prosesnya cepat, sederhana, biaya rendah, dan mampu menghasilkan pola kromatogram yang berbeda untuk setiap ekstrak tanaman (M. Sihombing, 2020).

Prinsip kerja KLT didasarkan pada proses adsorpsi dan distribusi. Senyawa yang lebih polar akan melekat lebih kuat pada fase diam sedangkan senyawa yang kurang polar akan bergerak lebih jauh bersama fase gerak. Hasil akhir dari proses ini berupa noda atau spot pada pelat yang dapat dilihat menggunakan sinar UV atau bahan kimia tertentu untuk menunjukkan keberadaan noda. Berikut adalah tahapan umum dalam melakukan KLT:

1. Mempersiapkan pelat silika gel GF254.
2. Melakukan penggarisan titik awal dan akhir.
3. Mengembangkan pelat dalam chamber yang berisi fase gerak yang sesuai dengan ujinya.
4. Angkat lalu keringkan, kemudian semprot plat dengan reagen sesuai dengan ketentuan.
5. Lalu amati noda menggunakan sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.
6. Hitung nilai Rf dan analisis warna noda.

Warna dari noda dapat digunakan untuk mengenali jenis senyawa seperti noda kuning kecokelatan menunjukkan adanya flavonoid sedangkan noda biru kehitaman menunjukkan keberadaan tanin.

2.2 Kerangka Konsep



Gambar 2. 7 Kerangka konsep

BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2025 - Februari 2026, di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Kimia Dasar Stikes Al Fathah Bengkulu.

Seluruh proses meliputi ekstraksi, uji skrining fitokimia, dan analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan di fasilitas laboratorium tersebut dengan mengikuti prosedur keselamatan kerja laboratorium.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi timbangan analitik (ketelitian ±0,001 g), *drying oven*, blender atau penggiling simplisia, erlenmeyer 250-500 mL, gelas ukur 100 dan gelas ukur 1000 mL, beaker glass berbagai ukuran, corong kaca dan corong hisap, kertas saring Whatman No. 1, *rotary evaporator* beserta *waterbath*, spatula stainless steel, *chamber* KLT (kaca tertutup), pipet kapiler, pelat silika gel GF254 (Merck), lampu UV panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, tabung reaksi, rak tabung, pipet tetes, batang pengaduk, botol gelap untuk maserasi, sprayer KLT dan stopwatch.

3.2.2 Bahan

pelarut etanol 96% dan etil asetat. Bahan kimia untuk skrining fitokimia meliputi reagen Dragendorff, Mayer, dan Wagner; pita magnesium dan HCl

pekat; larutan $FeCl_3$ 1%; air suling panas; campuran kloroform, asam asetat anhidrat, dan H_2 SO_4 pekat.

Untuk analisis KLT digunakan pelat silika gel GF254 dan n-Butanol:Asam asetat:Air (flavonoid dan tanin), Etil asetat: Metanol: Air (alkaloid), kloroform:Metanol:Air (saponin), Toluen: Etil asetat: Kloroform (terpenoid).

3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian terdiri dari beberapa tahap yaitu Proses ekstraksi, Skrining fitokimia, Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Analisis hasil dan perhitungan nilai Rf.

3.3.1 Proses Ekstraksi

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi Sebanyak 500 gram serbuk simplisia biji chia seed (*Salvia hispanica L.*) di maserasi dengan rasio bahan terhadap pelarut sebesar 1:10 yang berarti 500 gram sebuk simplisia dicampurkan dengan 5000 ml pelarut. Maserasi dilakukan secara terpisah menggunakan etanol 96% dan etil asetat di dalam wadah tertutup berwarna gelap selama 3-5 hari sambil sesekali dikocok. Setelah proses perendaman selesai larutan hasil maserasi disaring dan filtratnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak yang lebih kental (Khumairoh, 2020).

3.3.2 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak etanol dan etil asetat dari biji chia seed (*Salvia hispanica L.*). Uji ini mencakup lima jenis senyawa utama yaitu:

a. Uji Flavonoid (Reaksi Shinoda)

Sebanyak 2 ml ekstrak ditambahkan serbuk magnesium dan 3 tetes HCl pekat. Terbentuknya warna merah jingga menunjukkan hasil positif adanya flavonoid. Reaksi ini terjadi akibat reduksi gugus karbonil oleh logam magnesium dalam suasana asam sehingga menghasilkan senyawa flavilium yang memiliki warna khas (Damayanti *et al*., 2018).

b. Uji Alkaloid (Reagen Dragendorff, Mayer dan Wagner)

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan Reagen Dragendorff, dan terbentuk endapan jingga yang menandakan adanya alkaloid. Lalu sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan Reagen Mayer, dan terbentuk endapan putih krem sebagai indikasi positif alkaloid. Kemudian sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan Reagen Wagner, dan terbentuk endapan cokelat kemerahan yang juga menunjukkan keberadaan alkaloid.

Ketiga reagen tersebut bekerja berdasarkan reaksi antara ion logam seperti bismut, merkuri, atau iodium dengan gugus nitrogen pada struktur alkaloid membentuk kompleks berwarna (M. Sihombing, 2020).

c. Uji Tanin (Reagen $FeCl_3$ 1%)

Sebanyak 2 mL ekstrak ditambahkan 2 tetes larutan $FeCl_3$ 1%. Munculnya warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan hasil positif

adanya tanin. Prinsip reaksi ini adalah pembentukan kompleks antara gugus hidroksifenol pada tanin dengan ion besi (Fe^{3+}) (M. Asih & Khumairoh, 2024).

d. Uji Saponin (Uji Busa)

Sebanyak 2 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL air panas dan dikocok kuat selama 30 detik. Terbentuknya busa stabil setinggi minimal 1-2 cm yang bertahan selama 10 menit menunjukkan hasil positif adanya saponin. Busa ini muncul karena saponin mampu menurunkan tegangan permukaan air melalui gugus glikosida yang berfungsi sebagai surfaktan alami (Damayanti *et al*., 2018).

e. Uji steroid dan Terpenoid (Reaksi Liebermann – Burchard)

Sebanyak 1 mL ekstrak ditambahkan 2 mL kloroform, kemudian 3 tetes asam asetat anhidrat. Selanjutnya, 1 tetes $H_2\ SO_4$ pekat diteteskan perlahan di dinding tabung. Terbentuknya warna hijau kebiruan menunjukkan hasil positif adanya steroid, sedangkan warna merah kecokelatan atau ungu menunjukkan adanya terpenoid. Reaksi ini terjadi akibat pembentukan kompleks karbokation antara asam kuat dan struktur isoprenoid pada senyawa steroid atau terpenoid (D. A. Hafizah *et al*., 2024).

3.3.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) digunakan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat biji chia seed (*Salvia hispanica L.*). Fase diam yang digunakan adalah pelat silika gel GF254 sedangkan fase gerak dibedakan untuk setiap golongan senyawa karena setiap

senyawa metabolit sekunder memiliki kepolaran yang berbeda-beda (I. H. P. Asih & Khumairoh, 2024).

1. Larutan Baku

Larutan baku yang digunakan yaitu kuersetin untuk baku flavonoid, katekin untuk baku tanin, piperin untuk baku alkaloid, saponin murni untuk baku saponin, dan β-sitosterol untuk baku terpenoid.

Cara Pembuatan:

Siapkan alat dan bahan yang digunakan. Kemudian bahan baku pembanding ditimbang sebanyak 50 mg. Lalu dilarutkan ke dalam 50 ml pelarut yang sesuai dan dihomogenkan hingga larut sempurna

Perbandingan bahan dan pelarut yang digunakan adalah 1:1 sehingga diperoleh larutan baku dengan konsentrasi yang sesuai untuk pengujian Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Harborne, 1987).

2. Penjenuhan Chamber

Disiapkan *chamber* dan kertas saring. Kemudian fase gerak yang akan dibuat harus sesuai dengan golongan senyawa yang akan diuji, fase Gerak yang digunakan meliputi:

1. Uji Flavonoid

   Fase gerak:n-Butanol:Asam asetat:Air (4:1:5)

   Baku pembanding:Kuarsetin

2. Uji Tanin

   Fase gerak:n-Butanol:Asam asetat:Air (4:1:5)

   Baku pembanding:Katekin

3. Uji Alkaloid

   Fase gerak:Etil asetat: Metanol: Air (6:4:2)

   Pembanding: Piperin

4. Uji Saponin

   Fase gerak:kloroform:Metanol:Air (13:7:2)

   Baku pembanding: Saponin murni

5. Uji Terpenoid

   Fase gerak: Toluen: Etil asetat: Kloroform (5:1:4)

   Baku pembanding:ß-Sitosterol

Kemudian fase gerak dimasukkan ke dalam *chamber*. Lalu kertas saring dipasangkan pada dinding *chamber* untuk membantu proses penjenuhan. Setelah itu *chamber* ditutup rapat dan dibiarkan hingga jenuh (Hasanuddin, 2019).

3. Penotolan Sampel

a. Sebelum penotolan plat silika gel GF254 sebagai fase diam di oven pada suhu 110°C selama 30 menit. Totolkan pelarut secara terpisah, larutan uji dan larutan baku pembanding menggunakan pipa kapiler. Sebelum penotolan, lempeng diberi tanda batas bawah sebagai tempat penotolan dan batas atas sebagai batas pergerakan pelarut masing masing 1 cm dan jarak antara totolan dibuat sekitar 1 cm (D. Sihombing, 2020).
b. Plat yang telah ditotolkan dimasukkan ke dalam *chamber* yang telah dijenuhkan dengan fase gerak. Pengelusian dilakukan hingga fase gerak mencapai batas atas Plat. Fase gerak yang digunakan disesuaikan dengan golongan senyawa

metabolit sekunder karena setiap senyawa memiliki tingkat kepolaran yang berbeda (M. Asih & Khumairoh, 2024)

c. Setelah proses elusi selesai, lempeng diangkat dan dikeringkan pada suhu ruang. Noda diamati secara visual dari bawah sinar ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Selanjutnya lempeng disemprot menggunakan pereaksi sesuai golongan senyawa untuk memperjelas warna noda yang terbentuk

4. Hitung Nilai *Rf* (*Retensi Faktor*) dengan rumus:

$$Rf = \frac{Jarak\ yang\ ditempuh\ senyawa}{Jarak\ yang\ ditempuh\ pelarut}$$

3.4 Analisis Data

Data dianalisis secara deskriptif kualitatif dengan mengamati perubahan warna pada uji skrining fitokimia, pola pemisahan noda dan hasil nilai Rf pada KLT serta perbandingan efektivitas antara pelarut etanol 96% dan etil asetat.

DAFTAR PUSTAKA

Ali, G., Zahran, S., & El-Magd, M. (2012). Phenolic compounds and antioxidant activity of chia seeds (*Salvia hispanica L.*). Journal of Medicinal Food, 15(7), 622–629.

Andrawina, A., Nurhaliza, R., & Fitria, S. (2024). Penggunaan Kromatografi Lapis Tipis dalam Analisis Senyawa Aktif Tanaman Obat. *Jurnal Kimia Dan Farmasi Indonesia*, *5*(1), 45–52.

Asih, I. H. P., & Khumairoh, R. D. (2024). Skrining Fitokimia dan Uji KLT Ekstrak Daun Beluntas (Pluchea indica L.). *Jurnal Pharma Bhakta*, *8*(2), 102–110.

Asih, M., & Khumairoh, S. (2024). Analisis Fitokimia Ekstrak Etanol Biji Chia (*Salvia hispanica L.*). Jurnal Fitofarmaka Indonesia, 11(2), 88–96.

Azalia, F. (2023). Kajian Senyawa Terpenoid dan Manfaatnya dalam Bidang Kesehatan. *Jurnal Sains Dan Kesehatan Alamiah*, *9*(1), 12–20.

Bartoz, A., Kowalska, M., & Nowak, J. (2019). Nutritional and functional properties of chia (*Salvia hispanica L.*) seeds. Food Research International, 126, 108–115.

Craig, W. J. (2004). Health-promoting properties of common herbs. *American Journal of Clinical Nutrition*, *79*(6), 1132S-1139S.

Crowell, P. L. (1999). Prevention and therapy of cancer by dietary monoterpenes. *Journal of Nutrition*, *129*(3), 775S-778S.

Damayanti, R., Nasution, H., & Simanjuntak, D. (2018). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan N-Heksana Batang Pala (Myristica fragrans Houtt.). *Talenta Conference Series: Science and Technology*, *1*(1), 30–35.

Debnath, B., Singh, W. S., Das, M., Goswami, S., Singh, M. K., Maiti, D., & Manna, K. (2018). Role of plant alkaloids on human health: A review of biological activities and molecular mechanisms. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, *18*(2).

E.U., K. (2009). Commission Decision 2009/827/EC authorising the placing on the market of chia seed (Salvia hispanica) as a *novel food* ingredient. Official Journal of the European Union, L 294, 14–15.

EFSA. (2009). Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on the safety of chia seed (*Salvia hispanica L.*) and ground whole chia seed as a food ingredient. EFSA Journal, 996, 1–26.

Ellmore, G. S., & Feldberg, R. S. (1994). Alliin lyase localization in garlic tissue (Allium sativum L.) and its inactivation during tissue disruption. *Plant Physiology*, *106*(2), 357–364.

Fernandes, M. A., Costa, N. V, & Silva, J. M. (2023). Functional and antioxidant properties of chia seed extracts. *Journal of Food Biochemistry*, *47*(3).

Fernandez, I., Martinez, M., & Lopez, E. (2006). Polyphenolic composition and antioxidant activity of chia seeds (*Salvia hispanica L.*). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54(12), 4769–4775.

Function, F. &. (2019). Phenolic compounds in chia seeds and their antioxidant properties. *Food & Function*, *10*(3), 1311–1320.

Hafizah, D. A., Wulandari, S., & Aini, N. (2024). Pemisahan Asam Amino dengan Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Kimia Dan Rekayasa*, *5*(1), 88–94.

Hafizah, N., Wulandari, E., & Aini, R. (2024). Analisis Nilai Rf Senyawa Fitokimia Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Kimia Dan Farmasi Modern*, *8*(1), 52–60.

Harborne, J. B. (1987). *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis*. Chapman & Hall.

Hasanuddin. (2019). *Penuntun Praktikum Fitokimia*. Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Hendriyani, T. (2018). Mekanisme Stres Oksidatif pada Diabetes Melitus. *Jurnal Biomedika Indonesia*, *6*(2), 90–98.

Ixtaina, V. Y., Nolasco, S. M., & Tomás, M. C. (2008). Physicochemical characterization and stability of chia (*Salvia hispanica L.*) seed oil obtained by pressing and solvent extraction. Journal of Food Composition and Analysis, 21(4), 286–293.

Khalid, W., Arshad, M. S., Aziz, A., Rahim, M. A., Qaisrani, T. B., Afzal, F., Ali, A., Ranjha, M. M. A. N., Khalid, M. Z., & Anjum, F. M. (2023). Chia seeds (*Salvia hispanica L.*): A therapeutic weapon in metabolic disorders. In Food Science and Nutrition (Vol. 11, Issue 1, pp. 3–16). John Wiley and Sons Inc. https://doi.org/10.1002/fsn3.3035

Khumairoh, L. (2020). *Perbedaan pelarut Etanol 96% dan Etil asetat pada uji aktivitas antibakteri ekstrak bunga telang (Clitoria ternatea L) terhadap Propionibacterium acnes*. Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ngudi Waluyo.

Kristianti, A. N. (2008). *Fitokimia: Senyawa Alam pada Tanaman*. Pustaka Pelajar.

Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *The Scientific World Journal*, *2013*, 162750.

Medeiros, J. R., Silva, A. C., & Gomes, R. S. (2019). Terpenoids as anti-inflammatory agents: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Phytotherapy Research*, *33*(2), 247–260.

Mohsenian, A., Shahi, A., & Ardestani, S. (2019). Effect of chia seed supplementation on lipid profile and oxidative stress in adults: A randomized controlled trial. *Nutrition & Metabolism*, *16*(1), 35.

Ogbe, R. J., Ochalefu, D. O., Mafulul, S. G., & Olaniru, O. B. (2015). A review on dietary phytosterols: Their occurrence, metabolism and health benefits. *Asian Journal of Plant Science and Research*, *5*(4), 10–21.

Prawitasari, I. (2019). Pengaruh Antioksidan terhadap Pembentukan ROS pada Diabetes Mellitus. *Jurnal Sains Kesehatan*, *7*(1), 55–62.

Puspita Dewi, D. (2023). Pemanfaatan Metode KLT dalam Analisis Senyawa Bioaktif Tumbuhan Obat. *Jurnal Kimia Farmasi Dan Bioteknologi*, *3*(2), 50–58.

Rana, S., Siddiqui, M. H., & Ahmed, A. (2022). Role of dietary polyphenols in the prevention of cardiovascular diseases. *Nutrients*, *14*(5), 1036.

Reyes, J., Morales, M., & Garcia, P. (2008). Protective effects of phenolic acids from chia seeds against lipid peroxidation. *Journal of Food Chemistry*, *109*(4), 921–926.

Rizaldi, M., Santoso, B., & Wulandari, A. (2023). Isolasi dan Identifikasi Alkaloid dari Tanaman Inggu (*Ruta angustifolia*). Jurnal Farmasi Dan Sains Terapan, 10(2), 85–93.

Sihombing, D. (2020). Prinsip dan Aplikasi Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dalam Identifikasi Senyawa Alamiah. *Jurnal Farmasi Indonesia*, *9*(1), 44–50.

Sihombing, M. (2020). Prinsip Dasar dan Aplikasi Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *Jurnal Teknologi Laboratorium*, *4*(2), 72–79.

Silva, N. C. C., Fernandes, J. A., & Oliveira, R. (2017). Antimicrobial activity of terpenoids against pathogenic microorganisms. *Microbial Pathogenesis*, *111*, 93–99.

Singh, B., & Sharma, R. A. (2015). Plant terpenes: defense responses, phytohormones, and therapeutic applications. *3 Biotech*, *5*(2), 129–143.

Tanneru, H., Dasari, S., & Rao, R. (2023). Thin-layer chromatography: Principles and applications in natural product research. *Analytical Chemistry Letters*, *13*(2), 133–145.

Trisnani, S. M., Chodidjah, & Wibowo, J. W. (2023). Pengaruh Ekstrak Biji Chia terhadap Kadar Gula Darah dan MDA pada Tikus DM Tipe 2. *Jurnal Ilmiah Sultan Agung*, *2*(1), 160–167.

USDA. (2011). *USDA National Nutrient Database for Standard Reference*. United States Department of Agriculture.

Velix, N., Yuliani, S., & Widodo, D. (2023). Kajian Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Chia (*Salvia hispanica L.*). Jurnal Fitofarmaka Indonesia, 9(1), 21–30.

Velix, P. A., Yuliani, F., & Widodo, S. (2023). Aktivitas Antihiperglikemik Ekstrak Etanol Biji Chia (*Salvia hispanica L.*). Jurnal Farmasi Indonesia, 10(2), 125–132.

Walag, A. M., Barrientos, G. C., & Lim, S. B. (2020). Health benefits of organosulfur compounds from garlic: A review. *International Journal of Herbal Medicine*, *8*(1), 19–26.