

**SKRINING FITOKIMIA SENYAWA METABOLIT
SEKUNDER DAN PENETAPAN KADAR FLAVONOID
EKSTRAK ETANOL BIJI KEBIUL
(*Caesalpinia bonduc* (L) ROXB)**

KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat

Untuk mencapai gelar Ahli Madya Farmasi (A.Md.Farm)



Oleh

DINI KURRATA AYUNI

17101030

**AKADEMI FARMASI AL-FATAH
YAYASAN AL-FATHAH
BENGKULU
2020**

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan dibawah ini adalah :

Nama :Dini Kurrata Ayuni

NIM :17101030

Program Studi :DIII Farmasi

Judul :Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dan
Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Kebiul
(*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah 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, 2 Juli 2020

Yang Membuat Pernyataan



Dini Kurrata Ayuni

LEMBAR PENGESAHAN

**KARYA TULIS ILMIAH DENGAN JUDUL SKRINING FITOKIMIA
SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DAN PENETAPAN KADAR
FLAVONOID EKSTRAK ETANOL BIJI KEBIUL (*Caesalpinia bonduc* (L)
Roxb)**

Oleh :

DINI KURRATA AYUNI

17101030

**Karya Tulis Ilmiah Ini Telah Dipertahankan Di Hadapan Dewan Penguji
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menempuh Ujian Diploma (DIII) Farmasi
Di Akademi Farmasi A-Fathah Bengkulu.**

Pada Tanggal : 2 juli 2020

Dewan Penguji :

Pembimbing I

(Luky Dharmayanti, M.Farm.,Apt)

NIDN : -

Pembimbing II

(Nurwani Purnama Aji, M.Farm.,Apt)

NIDN : -

Penguji

(Herlina, M.Si)

NIDN : 0201058502

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO :

- Orang sukses selalu berani mengambil risiko dan menghadapi tantangan. Sementara yang tidak sukses merasa takut dan memilih kabur darinya. Padahal di tengah tantangan dan kesulitan itu, ada kesempatan yang sulit didapatkan di tempat lain. Oleh karena itu, taklukkan rasa takutmu. Siapkan dirimu untuk menghadapi tantangan-tantangan itu.
- "Ilmu seperti udara, ia begitu banyak disekeliling kita, kamu bisa mendapatkannya dimanapun dan kapanpun"
- "Masa depan tidak akan berubah kecuali kamu mau merubahnya sendiri"
- "Bermimpilah seolah-olah anda akan hidup selamanya, dan hiduplah seolah-olah anda akan mati hari ini. Sebagai manusia anda harus memiliki impian untuk masa depan, dan kesungguhan untuk menjalani hari-hari anda"

PERSEMBAHAN :

- Alhamdulillah, akhirnya aku sampai pada titik ini terima kasih atas keberhasilan yang engkau hadiahkan padaku ya Robbi, tak henti-hentinya ku ucapkan syukur padamu ya Robbi ku.
- Untuk Ibu (Halimah Tusyadiyah) dan Ayah (Suardi) tercinta, sebagai tanda bakti, hormat, dan rasa terima kasih yang tiada terhingga kupersembahkan karya tulis ilmiah ini kepada Ibu dan Bapak yang telah memberikan kasih sayang, segala dukungan, dan cinta kasih yang tak mungkin dapat kubalas hanya dengan selembar kertas ini. Semoga ini menjadi langkah awal untuk membuat Ibu dan Bapak bahagia. Untuk Ibu dan Bapak yang telah banyak memberiku nasehat dan dukungan serta selalu mendoakanku agar menjadi orang yang lebih baik.

Terima kasih Ibu....Terima kasih Ayah...

- Untuk kakak ku yang pertama (Bgd.Hendri Irawan) (Septi Harlena) (Vivi Alvera) dan adikku (Nadia Ziqrah) tiada yang berharga saat berkumpul dengan kalian, terima kasih atas doanya kakakku dan adikku tersayang. Maaf karena aku belum bisa menjadi panutan seutuhnya, tapi aku akan selalu berusaha menjadi yang terbaik untuk kalian semua. Aamin
- Untuk semua keluarga besarku yang telah memberikan motivasi dengan segala keikhlasan agar aku bisa mewujudkan keinginanku.
- Dan untuk sahabatku dan teman seperjuanganku (Agustia Ningsih), (Delpike Yananda), (Tri Wulandari), (Reka Safira), (Mutia Septiani), (Sakina Ningrum), (Cici Febriyanti), (Fevi Angelina), (Lastiur Simanjuntak), (Hajar), (Tutut Prasetya Wati), (Nurhayati), (Della Rahmat Dahlena) (Serta teman-teman satu kelasku yang tak bisa aku sebut semua) terima kasih atas bantuan dan nasehat, serta semangat yang kalian berikan selama ini, aku takkan melupakan semua yang telah kalian berikan selama ini. Terima kasih atas supportnya. Sukses untuk kita semua...aamin
- Dan untuk sahabatku (Triola Novita), (Dona Vhariza), (Viola Tri Atika), (Dona Gianti Putri), (Rahmi Fadilah), (Dwi Rizky Indriani), (Sally Rosiani), terima kasih atas dukungan dari kalian semua.
- Untuk kamu (Febry Andika A,Md. F.S) yang telah mendukung dan memberi semangat serta mendengar keluh kesahku selama ini terima kasih banyak.
- Untuk pembimbing I ibu Luky Dharmayanti, M.Farm., Apt dan Untuk pembimbing II Nurwani Purnama Aji, M.Farm., Apt dan Untuk penguji ibu Herlina, M.Si., telah meluangkan waktu dan tenaga untuk membimbingku dalam menyelesaikan karya tulis ilmiah ini
- Untuk teman-teman almamaterku dan teman - teman seperjuanganku yang tak bisa ku sebutkan satu persatu

mahasiswa Akfar Al-Fathah Bengkulu angkatan 2017
terkhusus untuk lokal kelas C2 semoga kita semua menjadi
orang yang sukses. Aamin

- AlmamaterkuTerima kasih untuk 3 tahun ini.

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah Sang Maha Pencipta dan Pengatur Alam Semesta, berkat Ridho Nya, penulis akhirnya mampu menyelesaikan karya tulis ilmiah yang berjudul “Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dan Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb ”.

Dalam menyusun karya tulis ilmiah ini, tidak sedikit kesulitan dan hambatan yang penulis alami, namun berkat dukungan, dorongan dan semangat dari orang terdekat, sehingga penulis mampu menyelesaikannya. Penulis menyadari bahwa banyak kekurangan dalam karya tulis ilmiah ini. Oleh karena itu segala kritikan dan saran yang membangun, akan penulis terima dengan baik.

Semoga penelitian karya tulis ilmiah “Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dan Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb”.berguna dan bermanfaat terkhusus untuk peneliti dan masyarakat.

Penulis, 2 Juli 2020

Dini Kurrata Ayuni

DAFTAR ISI

Halaman

COVER	i
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	i
LEMBAR PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
INTISARI.....	xii
BAB I.....	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Batasan masalah	2
1.3 Rumusan masalah.....	2
1.4 Tujuan penelitian	2
1.5 Manfaat penelitian	3
BAB II	4
TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Kajian Teori.....	4
2.2 Kerangka Konsep	22
BAB III.....	23
METODE PENELITIAN	23

3.1 Tempat dan waktu penelitian	23
3.2 Verifikasi Tanaman.....	23
3.3 Alat dan Bahan.....	23
3.4 Prosedur Kerja	24
3.5 Analisis Data.....	31
BAB IV	32
HASIL DAN PEMBAHASAN	32
4.1 Hasil dan Pembahasan	32
BAB V.....	40
KESIMPULAN.....	40
5.1. Kesimpulan	40
5.2. Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN.....	45

DAFTAR TABEL

Tabel I Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Kebiul.....	32
Tabel II Hasil Uji Organoleptis.....	34
Tabel III Hasil Uji Kadar Abu	34
Tabel IV Hasil Uji Kelarutan	34
Tabel V Hasil Uji Kelarutan	35
Tabel VI Hasil Uji Penegasan Dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	36
Tabel VII Nilai absorbansi larutan standar Kuersetin.....	37
Tabel VIII Hasil penetapan kadar Flavonoid	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Tanaman Biji Kebiul (<i>Caesalpinia bonduc</i> (L) Roxb.....	4
Gambar 2 Struktur Flavonoid (Herbet R B, 1981).....	7
Gambar 3 Struktur Alkaloid (Herbet R B, 1981).....	8
Gambar 4 Struktur Saponin (Lewis,1977)	9
Gambar 5 Struktur Tanin (Ahadi, 2003).....	10
Gambar 6 Struktur Steroid (Lenny, 2006)	11
Gambar 7 Cara kerja Spektrofotometer	20
Gambar 8 Reaksi Flavonoid dengan NaOH (Robinson, 1983).....	36
Gambar 9 Reaksi Alkaloid dengan Wagner (Robinson, 1983).....	36
Gambar 10 Kurva Kalibrasi Kuersetin.....	38

INTISARI

Kebiul merupakan tumbuhan berbiji tunggal, batangnya memanjang dan seluruh permukaan batang berduri. Tanaman kebiul banyak ditemukan di Bengkulu Selatan. Berdasarkan pengalaman masyarakat, pengobatan menggunakan biji (*Caesalpinia bonduc* (L)Roxb) ini mempunyai efek penyembuhan yang baik (Anggi, 2013).

Biji kebiul dibeli di pasar kutau MANNA, biji di pisahkan dari cangkangnya dicuci bersih dan dirajang. Setelah di rajang dikeringkan didalam oven, setelah mendapatkan simplisia kering, di ekstraksi dengan metode maserasi dimana simplisia kering di rendam dengan etanol 70% di dalam botol kaca berwarna gelap selama 3 hari dan dilakukan remaserasi sebanyak 3 kali, didapat ekstrak cair yang kemudian di pekatkan dengan alat rotary evaporator. Setelah mendapatkan ekstrak kental dilakukan evaluasi ekstrak yaitu meliputi organoleptis, uji kadar abu, uji kelarutan dan dilanjutkan dengan skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder. Hasil yang didapat senyawa flavonoid dan saponin, dilanjutkan dengan uji penegasan kromatografi lapis tipis (KLT) untuk senyawa flavonoid, dan penetapan kadar dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Visibel.

Biji kebiul mengandung senyawa flavonoid. Pada uji kromatografi lapis tipis nilai R_f yang didapat memenuhi persyaratan, pada uji penetapan kadar hasil yang di dapat 0,0191%

Kata kunci : Biji kebiul, flavonoid, penetapan kadar flavonoid

Daftar acuan : (1981-2016)

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Masyarakat Indonesia sejak zaman dahulu sudah mengenal pengobatan penyakit dengan tanaman obat tradisional. Sebagian masyarakat lebih menyukai pengobatan dengan tumbuhan obat daripada obat sintetis. Mereka meyakini bahwa tumbuhan obat lebih aman dikonsumsi dan kurang menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan, sehingga memilih menggunakan obat herbal untuk menyembuhkan penyakitnya (Togubu, dkk., 2013).

Kebiul merupakan tumbuhan berbiji tunggal, batangnya memanjang dan seluruh permukaan batang berduri. Tanaman kebiul banyak ditemukan di Bengkulu Selatan. Berdasarkan pengalaman masyarakat, pengobatan menggunakan biji *Caesalpinia bonduc* (L)Roxb ini mempunyai efek penyembuhan yang baik (Anggi, 2013).

Salah satu bagian dari tanaman Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L)Roxb yang banyak dimanfaatkan sebagai pengobatan adalah biji dari tanaman ini karena memiliki banyak khasiat seperti antidiabetes antibakteri, antifungi, antiinflamasi, antioksidan, dan lain-lain. Efek ini muncul karena adanya kandungan senyawa kimia yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, tannin, steroid/terpenoid yang dapat bekerja untuk mengatasi berbagai jenis penyakit (Gupta, *et al.*, 2005).

Senyawa flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga, buah dan biji. Kebanyakan flavonoid ini berada dalam tumbuhan. Flavonoid yang terdapat didalam tumbuhan dapat

digunakan sebagai pelindung tubuh manusia dari radikal bebas dan dapat mengurangi resiko penyakit kanker dan peradangan serta dapat digunakan sebagai antibakteri dikarenakan kandungan antioksidannya (Sarastani, 2015).

Berdasarkan uraian diatas maka peneliti tertarik untuk mengangkat penelitian tentang Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dan Penetapan Kadar flavonoid ekstrak etanol biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb.

1.2 Batasan masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini antara lain :

1. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi
2. Identifikasi senyawa metabolit sekunder
3. Penetapan kadar flavonoid dengan metode spektrofotometri UV-Vis

1.3 Rumusan masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Apakah ada senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc*(L)Roxb ?
2. Berapakah kadar flavonoid pada ekstrak etanol biji kebiul dengan metode Spektrofotometri UV-Vis?

1.4 Tujuan penelitian

Adapun tujuan penelitian ini antara lain sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui adanya senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etanol biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L)Roxb
2. Untuk mengetahui berapa kadar flavonoid dari ekstrak etanol biji kebiul dengan metode Spektrofotometri UV-Vis.

1.5 Manfaat penelitian

1.5.1 Bagi Akademik

Penelitian ini diharapkan bermanfaat sebagai data ilmiah mengenai Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dan Penetapan Kadar flavonoid ekstrak etanol biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb).

1.5.2 Bagi peneliti lanjutan

Menambah pengetahuan, wawasan, acuan, dan referensi dalam melakukan penelitian selanjutnya, khususnya yang berhubungan dengan Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dan Penetapan Kadar flavonoid ekstrak etanol biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb).

1.5.3 Bagi Instansi/Masyarakat

Memberikan informasi bagi masyarakat mengenai Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dan Penetapan Kadar flavonoid ekstrak etanol biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kajian Teori

2.1.1 Tumbuhan Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L)Roxb

Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb merupakan tanaman obat yang termasuk dalam famili *caesalpinaceae* / *fabaceae* berbentuk semak-semak berduri yang banyak terdistribusi di seluruh dunia terutama di India, Sri Lanka, andamandan pulau nicobar yang dapat dijadikan sebagai antiinflamasi (Jethmalani, 1966). Nama spesies “*Bonducella*” berasal dari bahasa arab yang artinya bola kecil yang mengindikasikan bentuk bijinya yang globular.



Gambar 1 Tanaman Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb.

a. Taksonomi Tumbuhan Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Subdivisi	: <i>Magnoliopsida</i>
Kelas	: <i>Angiospermae</i>
Ordo	: <i>Fabales</i>
Famili	: <i>Fabaceae</i>
Genus	: <i>Caesalpinia</i>
Spesies	: <i>Caesalpinia bonduc</i> (L) Roxb

b. Morfologi Tanaman Kebiul.

1. Daun

Berbentuk oval, ujung tumpul pada tanaman muda dan ujung runcing pada tanaman tua, posisi daun sejajar, memiliki tangkai daun, pertulangan daun menyirip, panjangnya 10–20 cm, lebar 3-12 cm.

2. Batang

Bentuk Batang menjalar, sepanjang batang dipenuhi dengan duri, warnakulit batang muda hijau sedang batang yang sudah tua berwarna coklat, merambat pada batang lain, panjangnya dapat mencapai puluhan meter, dengan ketinggian mengikuti tinggi tanaman yang dirambati.

3. Buah

Buah muda berwarna hijau dan jika tua berwarna coklat tua, hingga hitam, buah dipenuhi dengan duri yang tajam. Dalam tiap buah terdapat 2-4 biji atau 6-8

biji dan buahnya memiliki kulit yang dilengkapi dengan duri-duri yang kaku tergantung daerah tumbuhnya.

4. Daging

Daging biji kebiul terasa pahit dan kelat (bahasa serawai).

5. Biji

Biji kebiul berbentuk bulat, biji kebiul muda berwarna hijau dengan kulit biji yang lunak sedangkan biji kebiul tua memiliki berwarna abu-abu dengan kulit biji yang sangat keras. Biji terbungkus dalam kelopak yang dipenuhi dengan duri. Biji kebiul yang sudah tua dapat disimpan hingga puluhan tahun tanpa terjadi kerusakan, biji kebiul berbagai macam bentuk tergantung tempat tumbuh ada yang berbentuk lonjong, bulat dan ada yang berbentuk tidak beraturan. Kulit luar biji terdiri dari tiga lapisan, inti biji mengandung dua kotiledon, berbentuk sirkuler atau oval, diameter 1,23-1,65 cm, rasanya sangat pahit, berbau tidak enak dan membuat mual.

2.1.2 Senyawa Metabolit Sekunder

1. Metabolit Sekunder

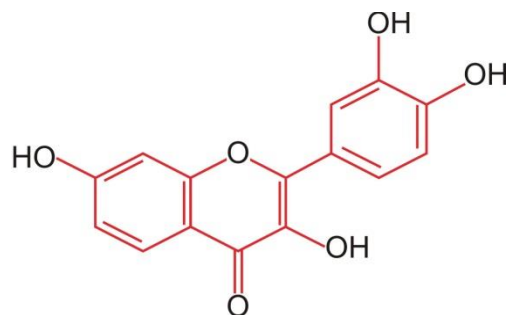
Metabolit sekunder merupakan metabolit yang dihasilkan organisme untuk aktivitas tertentu dan sifatnya tidak esensial untuk kehidupannya (Herbert, 1981). Ciri spesifik metabolit sekunder antara lain struktur kimia beragam, penyebaran relatif terbatas, pembentukannya dipengaruhi enzim, dan bahan genetik tertentu, proses biosintesisnya dipengaruhi oleh jumlah dan aktivitas enzim yang merupakan aspek spesialisasi sel dalam proses diferensiasi dan perkembangan

organisme secara keseluruhan. Contohnya : Alkaloid, Flavonoid, Steroid, Tanin, dan Saponin.

a. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman (Rajalakshmi dan S. Narasimhan, 1985). Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia C₆-C₃-C₆. Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya. Sistem penomoran digunakan untuk membedakan posisi karbon di sekitar molekulnya.

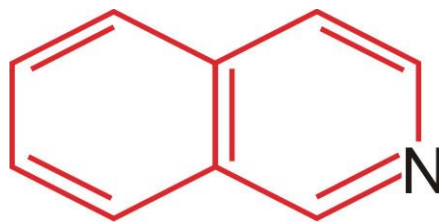
Berbagai jenis senyawa, kandungan dan aktivitas antioksidan flavonoid sebagai salah satu kelompok antioksidan alami yang terdapat pada sereal, sayur-sayuran dan buah, telah banyak dipublikasikan. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Herbet R B, 1981).



Gambar 2 Struktur Flavonoid (Herbet R B, 1981)

a. Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan metabolit sekunder yang banyak terdapat pada tanaman *angiospermae*. Tidak ada definisi yang tepat tentang alkaloid, tetapi pada umumnya alkaloid mencakup senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan, sebagai bagian dari sistem siklik, bersifat fisiologis aktif (Herbet R B, 1981).



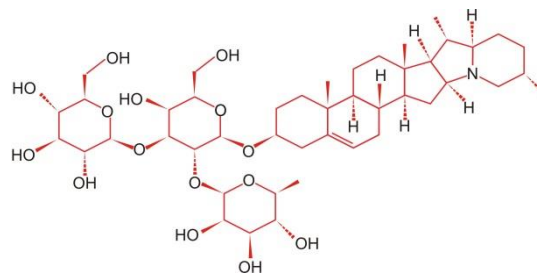
Gambar 3 Struktur Alkaloid (Herbet R B, 1981)

b. Saponin

Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol. Sebagai glikosida, saponin bila dihidrolisis oleh asam menghasilkan aglikon yang disebut sapogenin dan macam-macam gula serta asam uronat yang berkaitan. Berdasarkan struktur aglikon/sapogenin. Saponin dibedakan menjadi saponin tipe steroid dan tipe triterpenoid (Claus, 1970; Lewis, 1977).

Saponin atau glikosida sapogenin merupakan salah satu tipe dari glikosida yang tersebar luas dalam tanaman tingkat tinggi. Tiap saponin terdiri dari sapogenin yang merupakan molekul aglikon dan sebuah gula. Sapogenin mungkin dapat berupa steroid atau triterpen dan gulanya dapat berupa glukosa, galaktosa, pentosa atau metil pentosa. Semua saponin akan berbusa bila dikocok dengan air, membentuk emulsi minyak dalam air dan digunakan sebagai koloid pelindung.

Meskipun hampir tidak toksik bagi manusia, tetapi saponin memiliki kemampuan untuk menghemolisa darah jika diinjeksikan ke dalam pembuluh darah. Saponin mempunyai rasa yang pahit, biasanya menyebabkan bersin atau mengiritasi selaput lendir, bersifat toksik pada binatang berdarah dingin seperti ikan. Saponin digunakan juga sebagai deterjen, selain itu meningkatkan absorbs diuretika serta merangsang kerja ginjal. Dalam pengobatan rakyat digunakan untuk mengobati rematik (Lewis,1977).



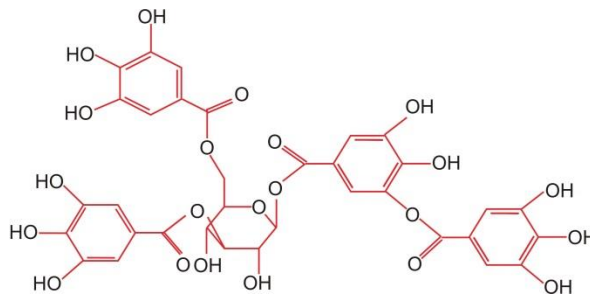
Gambar 4 Struktur Saponin (Lewis,1977)

c. Tanin

Tanin adalah senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada beberapa tanaman. Tanin mampu mengikat protein, sehingga protein pada tanaman dapat resisten terhadap degradasi oleh enzim *protease* di dalam silo ataupun rumen (Kondo *et al.*, 2004). Tanin selain mengikat protein juga bersifat melindungi protein dari degradasi enzim mikroba maupun enzim protease pada tanaman (Oliveira *et al.*, 2009), sehingga tanin sangat bermanfaat dalam menjaga kualitas silase. Tanin merupakan senyawa kimia yang tergolong dalam senyawa polifenol (Deaville *et al.*, 2010).

Tanin mempunyai kemampuan mengendapkan protein, karena tanin mengandung sejumlah kelompok ikatan fungsional yang kuat dengan molekul

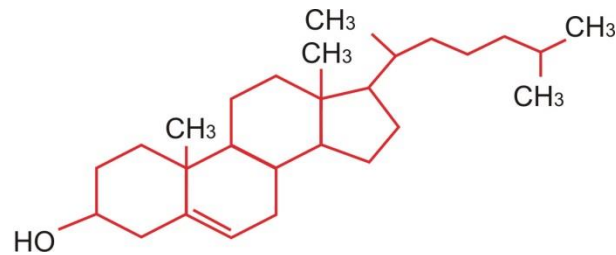
protein yang selanjutnya akan menghasilkan ikatan silang yang besar dan kompleks yaitu protein tanin. Tanin mempunyai berat molekul 0,5-3 KD. Tanin alami larut dalam air dan memberikan warna pada air, warna larutan tanin bervariasi dari warna terang sampai warna merah gelap atau coklat, karena setiap tanin memiliki warna yang khas tergantung sumbernya (Ahadi, 2003).



Gambar 5 Struktur Tanin (Ahadi, 2003)

d. Steroid

Steroid adalah suatu golongan senyawa triterpenoid yang mengandung inti siklopentana perhidrofenantren yaitu dari tiga cincin sikloheksana dan sebuah cincin siklopentana. Dahulu sering digunakan sebagai hormon kelamin, asam empedu, dll. Tetapi pada tahun-tahun terakhir ini makin banyak senyawa steroid yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan. Tiga senyawa yang biasa disebut fitosterol terdapat pada hampir setiap tumbuhan tinggi yaitu: sitosterol, stigmasterol, dan kampesterol (Lenny, 2006).



Gambar 6 Struktur Steroid (Lenny, 2006)

2. Metabolit Primer

Metabolit primer merupakan suatu zat/senyawa esensial yang terdapat dalam organisme dan tumbuhan, yang berperan dalam proses semua kehidupan organisme tersebut atau merupakan kebutuhan dasar untuk kelangsungan hidup bagi organisme atau tumbuhan tersebut. Contohnya : Asam Amino, Asetil CoA, gula-gula, Nukleotida, Asam sitrat, lipid, protein, dan karbohidrat.

2.1.3 Simplisia

Menurut Departemen Kesehatan Republik Indonesia (1983) simplisia adalah bahan alami yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun dan berupa bahan yang telah dikeringkan.

Simplisia terdiri dari 3 macam yaitu:

a. Simplisia nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman (isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya ataupun zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni).

b. Simplisia hewani

Simplisia hewani adalah simplisia yang merupakan hewan utuh, sebagian hewan atau zat-zat bergunayang dihasilkan oleh hewan dan belumberupa zat kimia murni.

c. Simplisia pelikan atau mineral

Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah dengan cara yang sederhana dan belum berupa zat kimia murni.

2.1.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan kedalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Ditjen POM, 2000).

b. Cara dingin

1. Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri. Prinsip dari metode maserasi adalah perendaman sampel. Cairan penyari (pelarut) akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif yang terkandung di dalam sel akan terekstrak keluar karena adanya perbedaan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel. Peristiwa tersebut akan terus

berlangsung sampai terjadi kesetimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel (Fathiyawati, 2008). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil.

2. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan atau penampungan ekstrak) terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

c. Cara Panas

1. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut yang temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

3. Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

4. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinyu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50 °C.

5. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98 °C) selama waktu tertentu (15-20 menit).

6. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama (≥ 300 C) dan temperatur sampai titik didih air (Anonim, 2000).

7. Destilasi Uap

Destilasi uap adalah ekstraksi senyawa kandungan menguap (minyak atsiri) dari bahan (sefar atau simplisia) dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan parsial senyawa kandungan menguap dengan fase uap air dari ketel secara kontinu sampai sempurna dan diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran (senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi) menjadi destilat air bersama senyawa kandungan yang memisah sempurna atau memisah sebagian (Depkes, 2000).

2.1.5 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai. Kemudian semua pelarut diuapkan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Jenis ekstraksi dan cairan yang digunakan sangat tergantung dari kelarutan bahan kandungan serta stabilitasnya (Indraswari, 2008).

Berdasarkan sifat-sifatnya ekstrak digolongkan menjadi tiga yaitu :

1. Ekstrak encer (*extractum tenue*) sediaan ini mempunyai konsentrasi seperti madu dan dapat dituang.
2. Ekstrak kental (*ekstraktum spissum*) sediaan ini dilihat pada kondisi dingin dan tidak dapat dituang kandungan airnya sekitar 30% sediaan ini memiliki konsentrasi kering dan mudah di gosokkan.
3. Ekstrak cair (*ekstraktum fluidum*) ekstrak cair adalah sediaan cair simplisia nabati, yang mengandung etanol sebagai pelarut atau pelarut dapat dijadikan sebagai pengawet. Jika tidak dinyatakan lain pada masing-masing monografi, tiap ml ekstrak mengandung bahan aktif dari 1g simplisia yang memenuhi syarat (Indraswari, 2008).

2.1.6 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian fitokimia yang bertujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang sedang diteliti. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu

pereaksi warna. Hal penting yang berperan penting dalam skrining fitokimia adalah pemilihan pelarut dan metode ekstraksi (Kristanti dkk, 2008).

a. Pemeriksaan Alkaloid

Ambil ekstrak 0,5 gram tambahkan HCl 1% kemudian disaring. Filtrat dibagi menjadi tiga bagian dan dilakukan pengujian menggunakan beberapa tetes pereaksi mayer, wagner dan dragendorf. Reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya endapan putih kekuningan dengan peraksi mayer. Terbentuk endapan coklat kemerahan dengan penambahan pereaksi wagner. Terbentuk endapan jingga pada penambahan pereaksi dragendorf menunjukkan positif mengandung alkaloida (Kumoro, 2015).

b. Pemeriksaan Tanin

Ambil ekstrak 0,5 gram masukan dalam tabung reaksi tambahkan 2 ml etanol 70% kemudian diaduk, tambahkan $FeCl_3$ sebanyak 3 tetes. Terbentuknya warna biru karakteristik, biru-hitam, hijau atau biru-hijau dan endapan menunjukkan adanya tanin.

c. Pemeriksaan Flavonoid

Sebanyak 1 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan beberapa tetes natrium hidroksida encer (NaOH 1%), jika pada saat penambahan terbentuk warna kuning menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

d. Pemeriksaan Saponin

Sebanyak 1 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 mL aquades panas dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik jika menghasilkan busa yang stabil setinggi 1- 10 cm maka menunjukkan adanya senyawa saponin.

e. Pemeriksaan Steroid

Ambil ekstrak 0,5 gram masukan dalam tabung reaksi tambahkan 2 ml etanol 70% kemudian diaduk, ditambahkan 2 ml kloroform, ditambahkan 2 ml H₂SO₄ pekat dengan cara diteteskan pelan-pelan dari sisi dinding tabung reaksi. Pembentukan cincin warna merah menunjukkan adanya steroid (Usman,2017).

2.1.7 Kromatografi Lapis Tipis

KLT merupakan suatu teknik pemisahan dengan menggunakan adsorben (fase stasioner) berupa lapisan tipis seragam yang disalutkan pada permukaan bidang datar berupa lempeng kaca, pelat aluminium, atau pelat plastik. Pengembangan kromatografi terjadi ketika fase gerak tertapis melewati adsorben (Deinstrop, Elke H, 2007). Prinsip Kromatografi lapis tipis untuk memisahkan komponen-komponen atas dasar perbedaan absorpsi atau partisi oleh fase diam (sifat lapisan) dalam fase gerak (larutan pengembang). Fase diam dapat berupa serbuk halus, berfungsi sebagai permukaan penyerap (kromatografi cair-padat) atau sebagai penyangga untuk lapisan zat cair (kromatografi cair-cair). Empat penyerap yang paling umum dipakai adalah silika gel (asam silikat), alumina (aluminium oksida), kiselgur (tanah diatome), dan selulosa. Fase gerak dapat berupa hampir segala macam pelarut atau campuran pelarut (Gritter *et al.*, 1991).

Sampel senyawa ditotolkan pada fase diam. Fase gerak akan melewati fase diam dengan gaya kapilaritas. Masing-masing totolan sampel akan terelusi dengan jarak tempuh berbeda-beda karena afinitas yang berbeda dari masing-masing komponen dengan fase diam atau fase gerak. Pengamatan visual dilakukan

sebagai evaluasi hasil kromatogram dan dibandingkan jarak bercak dari awal pengembangan senyawa yang dipisahkan. Jarak ini dikonversikan dalam nilai R_f (*Retention factor*), dengan rumus sebagai berikut :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa terlarut}}{\text{jarak yang ditempuh pelrut}}$$

Nilai R_f sangat karakteristik untuk senyawa tertentu pada eluen tertentu. Hal tersebut dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya perbedaan senyawa dalam sampel. Senyawa yang mempunyai R_f lebih besar berarti mempunyai kepolaran yang rendah, begitu juga sebaliknya. Hal tersebut dikarenakan fasa diam bersifat polar. Senyawa yang lebih polar akan tertahan kuat pada fasa diam, sehingga menghasilkan nilai R_f yang rendah. R_f KLT yang bagus berkisar antara 0,2-0,8. Jika R_f terlalu tinggi, yang harus dilakukan adalah mengurangi kepolaran eluen, dan sebaliknya.

2.1.8 Spektrofotometri UV-Vis

a. Definisi Spektrofotometri

Spektrofotometri ultraviolet tampak adalah salah satu teknik analisis yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dengan panjang gelombang (λ) 190-380 nm dan sinar tampak pada panjang gelombang (λ) 380-780nm. Serapan cahaya oleh suatu molekul dalam daerah spektrum uv-vis sangat bergantung pada struktur elektronik dari molekul (Asih *et al.*, 2012).

Pada spektrofotometri uv-vis yang digunakan sebagai sumber sinar/energi adalah cahaya tampak (visible) cahaya visible termasuk spektrum elektromagnetik

yang dapat ditangkap oleh mata manusia. Panjang gelombang sinar tampak adalah 380-750 nm semua sinar yang dapat dilihat oleh mata, maka sinar tersebut merupakan sinar tampak (visible), sumber sinar tampak yang biasanya digunakan pada spektro visible adalah lampu tungsten. Sampel yang dapat dianalisa pada metode ini hanya sampel yang berwarna saja, ini merupakan salah satu kelemahan dari metode spektrofotometri, dengan begitu untuk sampel yang tidak berwarna harus dibuat berwarna terlebih dahulu dengan menggunakan reagen spesifik.

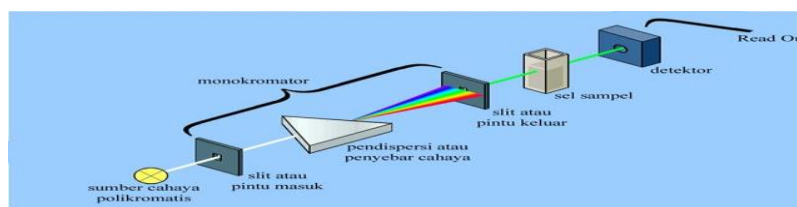
b. Prinsip Kerja Spektrofotometri

Spektrum elektromagnetik dibagi dalam beberapa daerah cahaya suatu daerah akan diabsorpsi oleh atom atau molekul dan panjang gelombang cahaya yang diabsorpsi dapat menunjukkan struktur senyawa yang diteliti. Spektrum elektromagnetik meliputi suatu daerah panjang gelombang yang luas dari sinar gamma gelombang pendek berenergi tinggi sampai pada panjang gelombang mikro (Rafi & Zulhan,2014).

Spektrum absorpsi dalam daerah-daerah ultra ungu dan sinar tampak umumnya terdiri dari satu atau beberapa pita absorpsi yang lebar, semua molekul dapat menyerap radiasi dalam daerah uv tampak.Oleh karena itu mereka mengandung elektron, baik yang dipakai bersama atau tidak, yang dapat dieksitasi ke tingkat yang lebih tinggi, panjang gelombang pada waktu absorpsi terjadi tergantung pada bagaimana erat elektron terikat di dalam molekul. Elektron dalam satu ikatan kovalen tunggal erat ikatannya dan radiasi dengan energi tinggi, atau panjang gelombang pendek, diperlukan eksitasi (yanisnaltuti&Syamsul, 2016).

Keuntungan utama metode spektrofotometri adalah bahwa metode ini memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil, Selain itu hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana angka yang terbaca langsung dicatat oleh detektor dan tercetak dalam bentuk angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan (Rafi & Zulhan,2014).

Sumber cahaya – monokromatis – sel sampel – detector- read out



Gambar 7 Cara kerja Spektrofotometer

Berikut ini adalah uraian bagian-bagian spektrometer :

1. Sumber-sumber lampu

Lampu deuterium digunakan untuk daerah uv dengan panjang gelombang dari 190-350 nm, sementara lampu halogen I kuarsa atau lampu tungsten digunakan untuk daerah visible (pada panjang gelombang antara 350-900 nm).

2. Monokromat

Digunakan untuk untuk memperoleh sumber sinar yang monokromatis, alatnya dapat berupa prisma ataupun mengarahkan sinar monokromatis yang diinginkan dari hasil penguraian, dan berfungsi sebagai penyeleksi panjang gelombang yaitu cahaya.

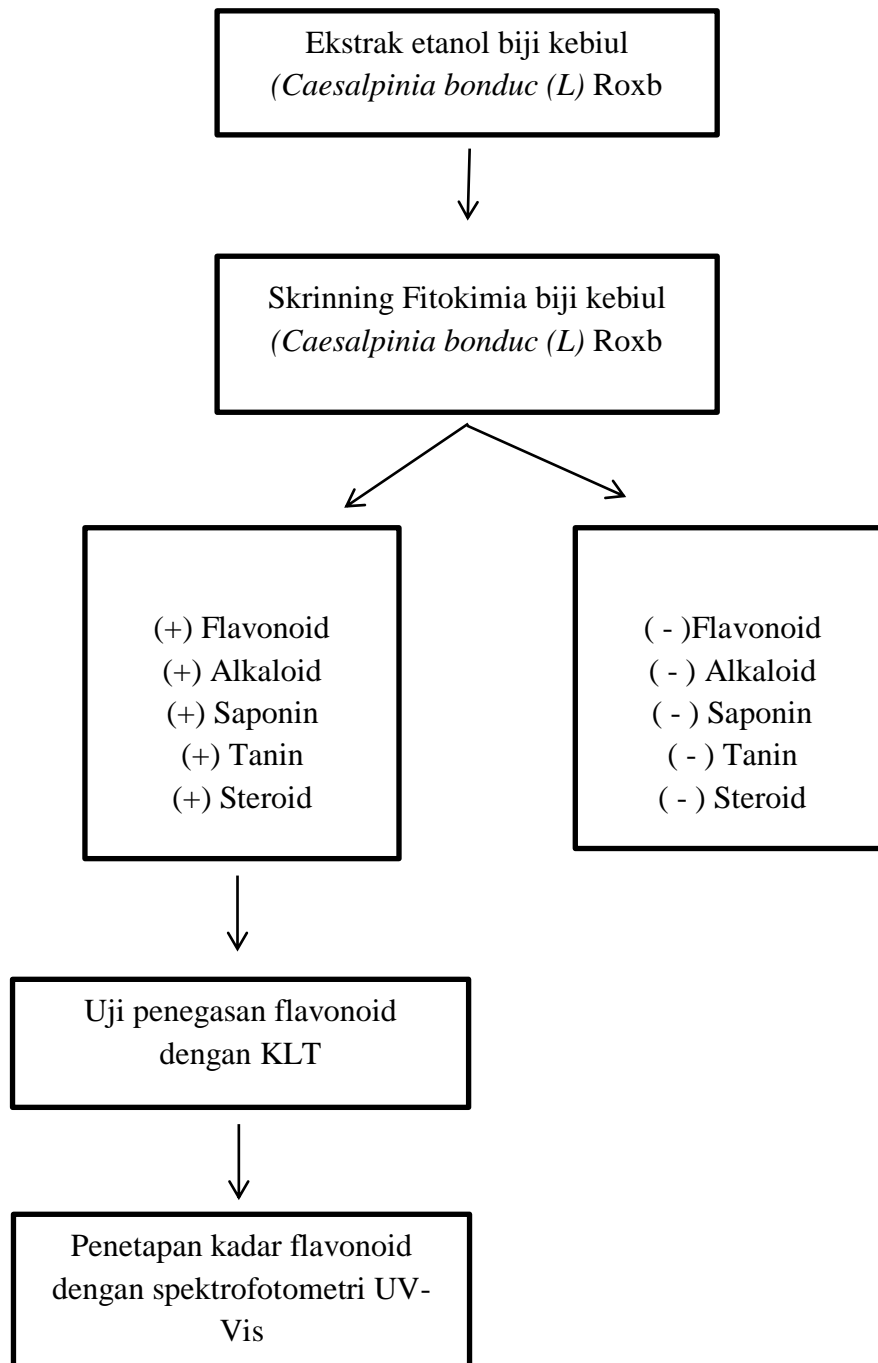
3. Kuvet

Pada pengukuran daerah tampak, kuvet kaca atau kuvet kaca corex dapat digunakan untuk pengukuran pada daerah uv kita harus menggunakan sel kuarsa karena gelas tidak tembus cahaya pada daerah ini. Umumnya tebal kuvet 10mm, tetapi lebih kecil ataupun yaitu lebih besar dapat digunakan. Sel biasa digunakan berbentuk persegi, tetapi bentuk pelarut organik, sel yang baik adalah kuarsa atau gelas hasil leburan yang homogen.

4. Detector

Peranan detektor penerima adalah memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai gelombang. Fungsi : Menangkap cahaya yang di teruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik.

2.2 Kerangka Konsep



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakognosi dan Laboratorium Kimia dan Farmakognosi Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu dan waktu penelitian adalah bulan Desember sampai bulan Juni 2020.

3.2 Verifikasi Tanaman

Verifikasi tanaman dilakukan di Laboratorium Universitas Bengkulu. Tujuan verifikasi ini agar tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan bahan baku.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat Penelitian

Timbangan analitik, pipa kapiler, pinset, pipet tetes, kertas saring, chamber, crus, erlemeyer, batang pengaduk, gelas ukur, cawan penguap, *rotary evaporator*, plat KLT, oven, penjepit kayu, rak dan tabung reaksi, batang pengaduk, botol kaca gelap, masker dan sarung tangan, spektrofotometer.

3.3.2 Bahan Penelitian

Ekstrak Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb, Etanol 70% (C₂H₅OH), Aquadest (H₂O), Quersetin (C₁₅H₁₀O₇), HCl 1%, Pereaksi Mayer, Pereaksi Wagner, Pereaksi Dragendrof, FeCl₃, Serbuk Mg, HCl (p), Kloroform, H₂SO₄ (P).

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Pembuatan Sampel

a. Pengambilan Sampel

Pengambilan biji dapat dilakukan pada saat mulai mengeringnya buah atau sebelum biji keluar dari buah. Buah dipetik, dibuka buahnya menggunakan tangan, pisau, biji dikumpulkan dan dicuci (Agoes, 2007). Biji kebiul yang sudah tua dapat disimpan hingga puluhan tahun tanpa terjadi kerusakan.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb yang dibeli dari Pasar Kutau Kota Bengkulu Selatan.

b. Verifikasi Tanaman

Verifikasi dilakukan agar tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan bahan utama yang akan digunakan. Verifikasi dilakukan di Laboratorium Fakultas Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu.

c. Pengelolaan Sampel

1. Pengumpulan Bahan Baku

Kualitas bahan baku simplisia sangat dipengaruhi beberapa faktor, seperti: umur tumbuhan atau bagian tumbuhan pada waktu panen, bagian tumbuhan, waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh (Depkes RI, 1985).

2. Sortasi Basah

Dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari tumbuhan sebelum pencucian dengan cara membuang bagian-bagian yang tidak perlu sebelum pengeringan, sehingga didapatkan bagian yang layak untuk digunakan. Cara ini dapat dilakukan secara manual.

3. Pencucian

Dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada tumbuhan. Pencucian dilakukan dengan air bersih, misalnya dari mata air, air sumur atau air PAM. Pencucian dilakukan sesingkat mungkin agar tidak menghilangkan zat berkhasiat dari tumbuhan tersebut.

4. Perajangan

Perajangan dimaksud adalah proses mendapatkan isi dari biji kebiul dengan cara biji di balut dengan kain dan pukul dengan menggunakan batu lakukan pukulan secara berulang sampai biji kebiul pecah. Setelah pecah, ambil isi biji kebiul yang sudah dalam bentuk pecahan.

5. Pengeringan

Pengeringan (Manoi, 2006) dapat dilakukan pengeringan dengan 3 cara yaitu: Dikering anginkan, terpapar cahaya matahari langsung, Dengan oven Pengeringan ini berlangsung hingga diperoleh kadar air $\leq 10\%$.

6. Sortasi Kering

Dilakukan untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Proses ini dilakukan secara manual.

3.4.2 Ekstrak Biji Kebiul Dengan Metode Maserasi

Pembuatan Ekstrak Biji Kebiul

a. Siapkan simplisia biji kebiul yang sudah kering. Kemudian timbang simplisia tersebut sebanyak 250 gr dan siapkan etanol 70 %.

b. Masukkan sampel (biji kebiul) 250 gr dan etanol 70 % sampai terendam. Dan biarkan selama waktu 3-5 hari, saat dibiarkan lakukan pengocokan simplisia tersebut se banyak 1 jam 3 kali pengocokan. Setelah 3-5 hari simplisia disaring dengan menggunakan kertas saring kemudian dilakukan remaserasi sampai filtrat yang didapatkan berwarna bening.

c. Lalu filtrat tersebut digabungkan dan dikentalkan dengan menggunakan *rotari evaporator* hingga dapatlah hasil dari ekstrak biji kebiul.

3.4.3 Uji Evaluasi Ekstrak

b. Organoleptis

Evaluasi ekstrak dengan menggunakan panca indera untuk menggtahui bentuk, warna, dan bau,konsistensi.

c. Randemen

Tujuan randemen untuk mengetahui perbandingan ekstrak yang dipperoleh dengan simplisia awal.

$$\%Randemen = \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat sampel yang digunakan}} \times 100\%$$

d. Kelarutan

Ekstrak ditimbang sebanyak 1 gr dititrasasi dengan etanol kemudian dilihat berapa banyak volume titran yang didapat untuk ekstrak yang larut dalam etanol.

d. Penetapan Kadar Abu

Uji kadar abu dilakukan dengan cara timbang ekstrak etanol biji kebiul sebanyak 2 gr, kemudian masukkan kedalam krush yang telah ditimbang dan ditara sampai menjadi abu, kemudian, timbang dan hitung persentase kadar abunya.

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{a-B}{A} \times 100 \%$$

Keterangan :

A : Berat Krus + Ekstrak (gr)

B : Berat Krus + berat abu (gr)

a : Berat Krus + Abu (gr)

3.4.4 Skrining Senyawa Metabolit Sekunder

Uji Senyawa Metabolit Sekunder

1. Uji Alkaloid

Ambil ekstrak 0,5 gram tambahkan HCl 1% kemudian disaring. Filtrat dibagi menjadi tiga bagian dan dilakukan pengujian menggunakan beberapa tetes pereaksi mayer, wagner dan dragendorf. Reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya endapan putih kekuningan dengan peraksi mayer. Terbentuk endapan coklat kemerahan dengan penambahan pereaksi wagner. Terbentuk endapan jingga pada penambahan pereaksi dragendorf menunjukkan positif mengandung alkaloida (Kumoro, 2015).

2. Uji Tanin

Ambil ekstrak 0,5 gram masukan dalam tabung reaksi tambahkan 2 ml etanol 70% kemudian diaduk, tambahkan FeCl₃ sebanyak 3 tetes. Terbentuknya warna biru karakteristik, biru-hitam, hijau atau biru-hijau dan endapan menunjukkan adanya tanin.

3. Uji Flavonoid

Sebanyak 1 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan beberapa tetes natrium hidroksida encer (NaOH 1%), jika pada saat penambahan terbentuk warna kuning menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

4. Uji Saponin

Sebanyak 1 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 mL aquades panas dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik jika menghasilkan busa yang stabil setinggi 1- 10 cm maka menunjukkan adanya senyawa saponin.

5. Uji Steroid

Ambil ekstrak 0,5 gram masukan dalam tabung reaksi tambahkan 2 ml etanol 70% kemudian diaduk, ditambahkan 2 ml kloroform, ditambahkan 2 ml H₂SO₄ pekat dengan cara diteteskan pelan-pelan dari sisi dinding tabung reaksi. Pembentukan cincin warna merah menunjukkan adanya steroid (Usman,2017).

3.4.5 Uji Penegasan Flavonoid dengan Kromatografi Lapis Tipis

Prinsip kerjanya memisahkan sampel berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dengan pelarut yang digunakan. Teknik ini biasanya menggunakan fase diam dari bentuk plat silica dan fase geraknya disesuaikan dengan jenis sampel yang ingin dipisahkan. Larutan atau campuran larutan yang digunakan dinamakan eluen. Semakin dekat kepolaran antara sampel dengan eluen maka sampel akan semakin terbawa oleh fase gerak tersebut.

Fase diam yang digunakan dalam skrining ini adalah plat silica GF 254 ukuran 10 x 10 cm² sedangkan fase gerak yang digunakan sebagai berikut :

Fase Gerak : n-Butanol : asam asetat : air (4:1:5)

Fase Gerak ini biasa disebut BAW (butano,aceti acid,water) dan terdiri dari 2 lapisan. Lapisan atas diambil dan dipakai sebagai fase gerak.

Baku Pembanding : Kuersetin

Amati dibawah lampu UV, Flavonoid akan berfluoresens biru, kuning atau hijau, tergantung dari strukturnya (Harbone,1987).

3.4.6 Penetapan Kadar Flavonoid dengan metode spektrofotometri UV-Vis

a. Pembuatan kurva standar kuersetin

Timbang sebanyak 25 mg baku standar kuersetin dan dilarutkan dalam 25 mL etanol. Ambil larutan dipipet sebanyak 5 mL dan dicukupkan volumenya sampai 50 mL dengan etanol sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. dari larutan standar kuersetin 100 ppm, kemudian dibuat beberapa konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm. Dari masing-masing konsentrasi larutan standar kuersetin diambil dipipet sebanyak 1,2,3,4,5 mL ke dalam labu ukur 50 ml. Selanjutnya ditambahkan aquadest 30 ml, 1 ml $AlCl_3$ 10%, 1 ml $C_2H_3NaO_2$ 1M dan diencerkan dengan aquadest sampai tanda batas. Dikocok homogen lalu dibiarkan selama waktu optimum, diukur absorbannya pada panjang gelombang maksimal (Rega dkk, 2018).

b. Penetapan kadar flavonoid total dalam ekstrak

Sebanyak 0,05 gram ekstrak kental dilarutkan dengan etanol 96% sampai 50 mL. Ambil larutan dipipet 10 mL dari masing-masing ekstrak kedalam labu ukur 50 mL lalu ditambahkan aqua destilata kira-kira 20 mL, 1 mL $AlCl_3$ 10%, 1 mL natrium asetat 1 M dan aquades sampai batas. Dikocok homogen lalu biarkan

selama waktu optimum, lalu serapan diukur pada panjang gelombang maksimal. Absorban yang dihasilkan dimasukkan kedalam persamaan regresi dari kurva standar kuersetin. Pengujian dilakukan secara triplo. Kemudian dihitung flavonoid total dengan menggunakan rumus :

$$F = \frac{c \times V \times f \times 10^{-6}}{m} \times 100\%$$

Keterangan :

F : Jumlah flavonoid metode AlCl₃

c : Kesetaraan Quersetin (µm/ml)

V : Volume total ekstrak

f : Faktor pengenceran

m : Berat sampel (g)

3.5 Analisis Data

Kadar flavonoid, dihitung berdasarkan kurva kalibrasi hasil pembacaan dari alat spektrofotometer UV-Vis, dan persamaan regresi linear dengan menggunakan hukum Lambert-Beer seperti pada persamaan :

Rumus regresi linier : $Y = bx + a$

Keterangan :

Y = Variabel tergantung / variabel kriteria

x = Variabel bebas

a = *Intecept* Y (Konstante)

b = *Slope* (Kemiringan)

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil dan Pembahasan

4.1.1 Pengambilan Sampel

Tanaman Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb) dibeli dari Pasar Kutau Kota Bengkulu Selatan pada bulan Desember 2019.

4.1.2 Verifikasi Tanaman

Dari hasil verifikasi tanaman biji kebiul yang dilakukan di laboratorium Biologi Universitas Bengkulu, menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah benar biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb) dan sesuai dengan Atlas Tanaman Obat Indonesia. Hasil verifikasi menyatakan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian yaitu tanaman kebiul keluarga Fabaceae spesies *Caesalpinia bonduc* (L) Roxb yang disahkan dengan surat hasil verifikasi laboratorium, seperti yang tertera pada lampiran 1.

4.1.3 Ekstrak Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb)

Dari pembuatan ekstrak etanol 70% biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb) yang dilakukan di Laboratorium Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu didapat hasil seperti pada Tabel I

Tabel I Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Kebiul.

Sampel yang digunakan	Berat simplisia kering (Gram)	Pelarut Etanol 70% (ml)	Berat ekstrak kental (gram)	Rendemen
Biji Kebiul	1500 gram	8000 ml	123,49 gram	8,23 %

Setelah dilakukan verifikasi selanjutnya sampel diolah, tahap pengolahan sampel biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb) diawali dengan biji di kupas dengan cara di tokok dengan menggunakan batu sehingga biji terpisah dari cangkangnya, biji dicuci dan di iris halus dan ditiriskan. Untuk mempercepat proses pengeringan dilakukan dengan cara dikeringkan dalam oven selama 24 jam.

Ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode maserasi. Simplisia kering sebanyak 1.500 gr di rendam dengan menggunakan etanol 70% di dalam botol kaca berwarna gelap yang bertujuan untuk mencegah terjadinya reaksi dikatalisis oleh cahaya atau perubahan warna. Setelah 3 hari dilakukan penyaringan yang bertujuan untuk memisahkan antara larutan penyari dengan ampas dari simplisia. Kemudian dilakukan remaserasi sebanyak tiga kali dengan tujuan untuk memaksimalkan proses dari maserasi dan mendapatkan filtrat lebih banyak. Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan Rotary Evaporator untuk mendapatkan ekstrak kental dari biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb). Didapatkan hasil ekstrak 123,49 gr dan randemen 8,23%.

4.1.4 Hasil Evaluasi Ekstrak Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb)

Evaluasi Ekstrak Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb) dilakukan dengan dua cara yaitu melakukan pemeriksaan parameter spesifik dan parameter non spesifik. Pemeriksaan parameter spesifik meliputi pemeriksaan organoleptis (warna, bau, konsistensi) sedangkan parameter non spesifik meliputi uji randemen, uji kadar abu, uji kelarutan.

a. Organoleptis Ekstrak

Tabel II Hasil Uji Organoleptis

No	Organoleptis	Hasil Pengamatan
1	Warna	Cokelat
2	Bau	Khas
3	Konsistensi	Cairan Kental

Pada uji organoleptis ekstrak diperoleh hasil konsistensi berupa cairan kental karena hasil maserat dilakukan evaporasi sehingga mengalami penguapan. Warna ekstrak yang dihasilkan adalah warna coklat tua dan bau yang khas.

b. Uji Kadar Abu

Tabel III Hasil Uji Kadar Abu

Berat krus kosong	Berat sampel	Berat krus + ekstrak	Berat krus + abu	% Kadar abu
51,39 gr	2 gr	53,40 gr	52,08 gr	1,29 %

Uji kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral baik dalam simplisia maupun dari mineral cecaran luar, hingga hasil tersebut digunakan untuk mengetahui tingkat cecaran senyawa non organik atau mineral. Hasil kadar abu yang didapat dari ekstrak etanol biji kebiul (*Caesalpinia bonduc (L) Roxb*) adalah 1,29 % menurut buku *Materia Medika Indonesia (MMI)* edisi III untuk suku *Caesalpinaceae* kadar abu tidak lebih dari 3 % dimana hasil yang didapat memenuhi syarat tersebut.

c. Uji kelarutan

Tabel IV Hasil Uji Kelarutan

Pelarut	Volume titrasi	Keterangan
Aquadest	7,1 ml	Mudah Larut
Etanol 70%	5,7 ml	Mudah Larut

Uji kelarutan pada ekstrak etanol biji kebiul (*Caesalpinia bonduc (L)*Roxb menggunakan pelarut etanol 70% dan aquadest. Hasil kelarutan pada etanol 70% adalah 5,7 ml sedangkan pada aquadest 7,1 ml. Berdasarkan kelarutan dari Farmakope Indonesia Edisi III range 1 sampai 10 mudah larut, yang berarti sampel mudah larut dalam etanol 70% dan aquadest.

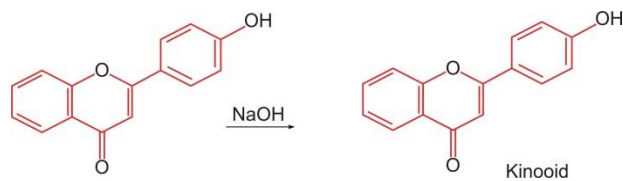
4.1.5 Uji Pendahuluan (Skrining Fitokimia)

Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia dari ekstrak biji kebiul (*Caesalpinia bonduc (L)*Roxb. Hasil dapat dilihat di tabel V.

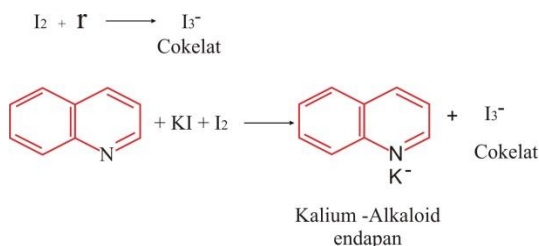
Tabel V Hasil Uji Kelarutan

Senyawa	Reagen	Persyaratan MMI	Pengamatan	Ket
Flavonoid	Ekstrak+NaOH 1%	Terbentuk warna kuning	Warna Kuning	(+)
Saponin	Ekstrak+ Aquadest panas dikocok kuat	Terbentuk busa	Busa dilihat selama 10 menit	(+)
Steroid	Ekstrak+etanol70%+ Kloroform+H ₂ SO ₄ (P)	Cincin warna merah	Tidak ada cincin	(-)
Tanin	Ekstrak+FeCl ₃ +Etanol 70%	Jingga	Cokelat	(-)
Alkaloid	Ekstrak+HCl 1%+Wagner	Terbentuk endapan cokelat kemerahan	Terbentuk endapan cokelat kemerahan	(+)
	Ekstrak+HCl 1%+Meyer	Endapan putih kekuningan	Tidak ada endapan larutan kuning tipis	(-)
	Ekstrak+HCl 1%+Dragendrof	Endapan jingga	Tidak ada endapan larutan merah gelap	(-)

Pada uji skrining hasil yang didapat adalah positif flavonid,saponin,dan alkaloid saat di tambahkan dengan pereaksi wagner hal ini disebabkan karena adanya reaksi kimia antara :



Gambar 8 Reaksi Flavonoid dengan NaOH (Robinson, 1983)



Gambar 9 Reaksi Alkaloid dengan Wagner (Robinson, 1983)

4.1.6 Uji Penegasan dengan Kromatografi Lapis Tipis

Setelah dilakukannya uji pendahuluan dengan menggunakan reagen selanjutnya dilakukan uji penegasan dengan KLT. Hasil pemeriksaan dapat dilihat pada tabel VI.

Tabel VI Hasil Uji Penegasan Dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Senyawa	Fase Gerak	BP	Jarak yang ditempuh pelarut	Jarak yang ditempuh noda (Sp)	Jarak yang di tempuh noda (Bp)	RF sp	RF bp	Hasil
Flavonoid	BAA	Kuersetin	10 cm	9,5cm	0,94	0,95	0,94	(+)

Setelah dilakukan uji pendahuluan dilanjutkan dengan uji penegasan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang hanya dilakukan untuk senyawa flavonoid yang positif pada uji pendahuluan karena uji penegasan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) berfungsi mempertegas atau memastikan hasil dari uji pendahuluan. Pada prosedur uji penegasan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan penjenuhan eluen terlebih dahulu dengan memasukkan kertas saring kedalam chamber sampai kertas saring terbasahi seluruhnya dengan eluen,

tujuannya agar eluen memenuhi chamber dan berfungsi agar fase gerak dalam kromatografi berjalan dengan baik. Pada proses penotolan terlebih dahulu plat silika diaktifkan dengan cara dipanaskan dalam oven pada suhu 50°C-60°C selama 30 menit dengan tujuan agar pada proses elusi plat silika dapat menyerap dan berikatan dengan sampel. Setelah plat sudah terelusi sampai batas atas dan sudah dalam keadaan kering, plat dapat diamati dibawah sinar UV untuk mengetahui bercak noda dan menentukan nilai Rf dengan tujuan untuk memastikan sampel memiliki karakteristik yang sama dengan baku pembanding atau dapat dikatakan sampel positif. Menurut (Ari, 2008) nilai Rf yang didapat dari sampel dapat dikatakan positif jika memiliki perbandingan $\pm 0,02$ Rf baku pembanding.

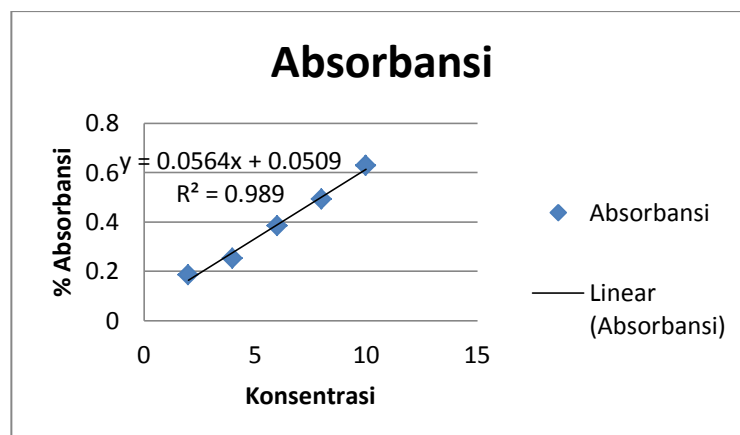
Uji penegasan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada flavonoid menggunakan fase gerak n-butanol:asam asetat:air (BAA), serta dilihat dengan sinar UV didapatkan hasil Rf sampel sebesar 0,95 cm dan Rf baku pembanding sebesar 0,94 cm. Dari hasil Rf yang didapatkan antara baku pembanding dengan sampel memiliki perbandingan tidak lebih dari 0,02 sehingga dapat dikatakan mempunyai karakteristik yang sama dan positif mengandung flavonoid.

4.1.7 Penetapan Kadar Flavonoid

a. Pengukuran Konsentrasi Kuersetin

Tabel VII Nilai absorbansi larutan standar Kuersetin

Konsentrasi	Absorbansi
2 ppm	0,186
4 ppm	0,253
6 ppm	0,384
8 ppm	0,492
10 ppm	0,630

b. Kurva baku larutan standar kuersetin pada panjang gelombang 431 nm**Gambar 10 Kurva Kalibrasi Kuersetin**

Untuk menentukan kadar flavonoid pada sampel digunakan kuersetin sebagai larutan standar dengan menimbang 25 mg kuersetin dan dilarutkan dalam 25 ml etanol (1000ppm), larutan stok dipipet sebanyak 5 ml dan dicukupkan volumenya sampai 50 ml dengan etanol sehingga diperoleh konsentrasi 100ppm, dibuat beberapa konsentrasi yaitu 2ppm, 4ppm, 6ppm, 8ppm, 10ppm dari masing-masing dipipet sebanyak 1ml, 2ml, 3ml, 4ml, 5ml, kedalam labu 50ml. Pada penelitian ini tidak lagi menentukan panjang gelombang maksimum kuersetin, dikarenakan pada penelitian (Rega, dkk., 2018). Telah diperoleh panjang gelombang maksimum sebesar 431nm untuk kuersetin dan sesuai pula dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Lissawardi, 2017). Sehingga pada penelitian digunakan panjang gelombang sebesar 431nm. Optimasi waktu inkubasi dilakukan untuk menentukan waktu yang dibutuhkan zat untuk bereaksi secara optimum, sehingga menghasilkan serapan yang stabil. Hasil waktu inkubasi yaitu 30 menit merupakan waktu dengan nilai absorban yang paling stabil.

a. Hasil penetapan kadar Flavonoid ekstrak etanol biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L)Roxb

Tabel VIII Hasil penetapan kadar Flavonoid

Replikasi	Absorbansi	Kandungan Flavonoid	Rata-rata kandungan Flavonoid
1.	0,060	0,163 %	0,0421 %
2.	0,061	0,180 %	
3.	0,064	0,234 %	

Setelah memperoleh nilai absorbansi dibuat kurva baku kuesetin dengan tujuan untuk mengetahui kolerasi antara konsentrasi kuesetin dan absorbansinya. Dari kurva kalibrasi diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y = 0,564x + 0,0509$ dengan nilai koefisien kolerasi $r = 0,989$. Nilai r yang mendekati 1 menunjukkan kurva kalibrasi linear dan terdapat hubungan antara konsentrasi larutan kuesetin dengan nilai serapan.

Dilakukan pengukuran sampel dengan perlakuan yang sama dengan konsentrasi larutan kuesetin. Dari pengukuran sampel didapat data absorbansi sampel, kemudian data yang diperoleh tersebut dimasukkan kedalam regresi linier $y = 0,564x + 0,0509$ larutan standar kuesetin. Selanjutnya dilakukan perhitungan menggunakan rumus kadar flavonoid dari ekstrak etanol biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L)Roxb secara spektrofotometri uv-vis dan diperoleh nilai sebesar 0,0421%.

BAB V

KESIMPULAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan ekstrak etanol biji kebiul (*Caesalpinia bonduc (L)*Roxb mengandung senyawa flavonoid dan saponin.

Penetapan kadar flavonoid dengan metode spektrofotometri uv-vis dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol biji kebiul (*Caesalpinia bonduc (L)*Roxb memiliki kadar flavonoid sebesar 0,0421%.

5.2. Saran

1.1.1 Bagi Akademik

Agar bisa menjadi masukan penelitian bagi mahasiswa angkatan berikutnya.

1.1.2 Bagi Peneliti lanjutan

Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk meneliti biji kebiul (*Caesalpinia bonduc (L)*) dengan menggunakan metode yang berbeda.

1.1.3 Bagi Masyarakat

Dapat memanfaatkan biji kebiul sebagai obat tradisional karena telah dilakukan pengujian kandungan metabolit sekunder dan positif mengandung senyawa flavonoid yang berkhasiat sebagai anti kanker, anti oksidan, dan anti bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Ari, N., Nora, I., dan Andi, H.A. 2016. *Skrining Fitokimia Dan Uji Toksisitas Ekstrak Akar Mentawa (Artocarpus Anisophyllus) Terhadap Larva Artemia Salina*. JKK. Vol. 5(1). 2016; 58-64
- Asih, I., Ratnayani, K., & Swardana, B. (2012). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid dari Madu Kelengkeng, 6(1), 72–78.
- Anggi, R. P. 2013. Elektroforesis dan uji hemaglutinasi lektin biji Kebiul pada darah golongan ABO dan implemen- tasi sebagai model pembelajaran audio-visual untuk meningkatkan hasil belajar kimia. Tesis. Universi- tas Bengkulu. Bengkulu. Hal 8-11. (tidak dipublikasikan)
- Ditjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan pertama Jakarta: Agrom edia Pustaka. Halaman5-13, 34-35.
- Dewick, P.M. 1999. *Medicinal Natural Products, a Biosinthetic Approach*. London: Wiley & Sons Ltd. England.
- Gandjar, I.G. dan Rohman, A., 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar Yogyakarta.
- Gupta AK, Sharma M, and Tandon N.2005. Quality standards of Indian medicinal plants. Vol–2. New Delhi: Indian Council of Medical Research.25-33.
- Gritter, R.J., James M.B and Arthur E.s. 1991,*BukuPengantar Kromatografi (terjemahan K. Padmawinata)*, edisi 2, ITB, Bandung, 107
- Hollman, 2004.Absorption, Bioavailability, and Metabolism of Flavonoid.*Pharmaceutical Biology*. 42: 74-83
- Harbone, J.B. 1987. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Jilid II. Penerbit ITB Bandung.

- Harbone, J.B., 1987, *Metode Fitokimia: penuntunan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Terbitan Kedua. Bandung: ITB
- Herbet. R.B. 1981. *Biosintesis Metabolit Sekunder*. Edisi Ke-2. Cetakan Ke 1. Terjemahan Bambang Srigandono. IKIP Press Semarang.
- Indraswari, A., 2008, Optimasi Pembuatan Ekstrak Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora L.*) Menggunakan Metode Maserasi dengan Parameter Kadar Total Senyawa Fenolik dan Flavonoid, 5–8.
- Jethmalani, M. Sabnis, PB, *Gaitonde BB. Anti-inflammatory activity of Caesalpinia bonducella*. Indian J Pharm 1966 : 28:314. Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Kristianti, A. N, N. S. Aminah, M. Tanjung, dan B. Kurniadi. 2008. Buku Ajar Fitokimia. Surabaya: Jurusan Kimia Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas
- Kumoro, A.C. 2015, *Teknologi Ekstraksi Senyawa Bahan aktif Dari Tanaman Obat*, Plantaxia, Yogyakarta
- Kadarisman I. 2000. Isolasi dan Identifikasi Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar*). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Martins, M.A.P. 2001. “Molecular structure of heterocycles: 6. solvent effects on the ¹⁷O NMR chemical shifts of 5-trichloromethylisoxazoles”, *Journal Brazil Chemical Society*, 12(6), hal 804-808.
- M., Rafi & Zulhan., A, 2014., Penentuan Kadar Flavonoid Total Dalam Obat Herbal Menggunakan Spektrofotometri Derivative Ultra Violet., Institut Pertanian Bogor., Bogor
- Ningrum, E, K, M. Murti, 2012, Dahsyatnya Hasiat Hebal untuk Hidup Sehat, Jakarta , Dunia Sehat
- Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*, Yogyakarta: Pustaka Pelajar.

- Robinson, T., 1983, *The Organic Constituents of Higher Plants Their Chemistry and Interrelationships*, 5th Ed., 200, Cordus Press., North Amherst.
- Sutisna I & Purnama BM. 2000. Isolasi dan Karakterisasi senyawa Triterpenoid Lanostana dari Kulit Kayu Danglo (*Macaranga javanica*). Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Stankovic, M.S., 2011. Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts. *Kragujevac J Sci*, 33(2011), pp.63-72.
- Sarastani, 2015, Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 70% Daun Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS, 18–24.
- Stahl, E., 1985, *Analisis Obat Secara kromatografi dan Mikroskopi*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, 3-17, ITB, Bandung.
- Togubu, S., Lidya I.M., Jessy E. P., Navila S. 2013. Aktivitas Antihiperlikemik dari Ekstrak Etanol dan Heksana Tumbuhan Suruhan (*Peperomia pellucid* (L.) Kunth) pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus* L.) yang Hiperlikemik. *Jurnal MIPA UNSRAT* 2(2). 109-114.
- Usman, 2017. Potensi Antijamur Ekstrak Metanol Daun Mangrove *Rhizophora mucronata* Terhadap Jamur *Candida Albicans* Dan *Aspergillus Niger*
- Yanlisnastuti, Syamsul, F., 2016., Pengaruh Konsentrasi Pelarut Untuk Menentukan Kadar Zirkonium dalam Panduan U-Zr dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis., Badan Tenaga Nuklir Nasional Serpong, Banten.
- Lissawardi, A. 2017. Penetapan Kadar Flavonoid Daun Bungur (*Lagerstroemia speciosa* L. Pers) Dengan Menggunakan Jenis Pelarut Yang Berbeda. [Skripsi] Universitas Pakuan : Bogor.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Verifikasi Tanaman



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BENGKULU
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LABORATORIUM BIOLOGI

Jl. WR Supratman Karang Limun Bengkulu Telp. (0736) 20199 ex. 205

SURAT KETERANGAN

Nomor : 355 /UN30.12.LAB.BIOLOGI/PM/2019

Telah dilakukan Verifikasi taksonomi tumbuhan :

Ordo : Fabales
Familia : Fabaceae

Nama Ilmiah : *Guilandina bonduc* L.
Syn. *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb.

Nama daerah : kebiul

Pelaksana : Dra. Rr. Sri Astuti, M.S.
196103281989012001

Pengguna : Dini Kurrata Ayuni
17101030

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

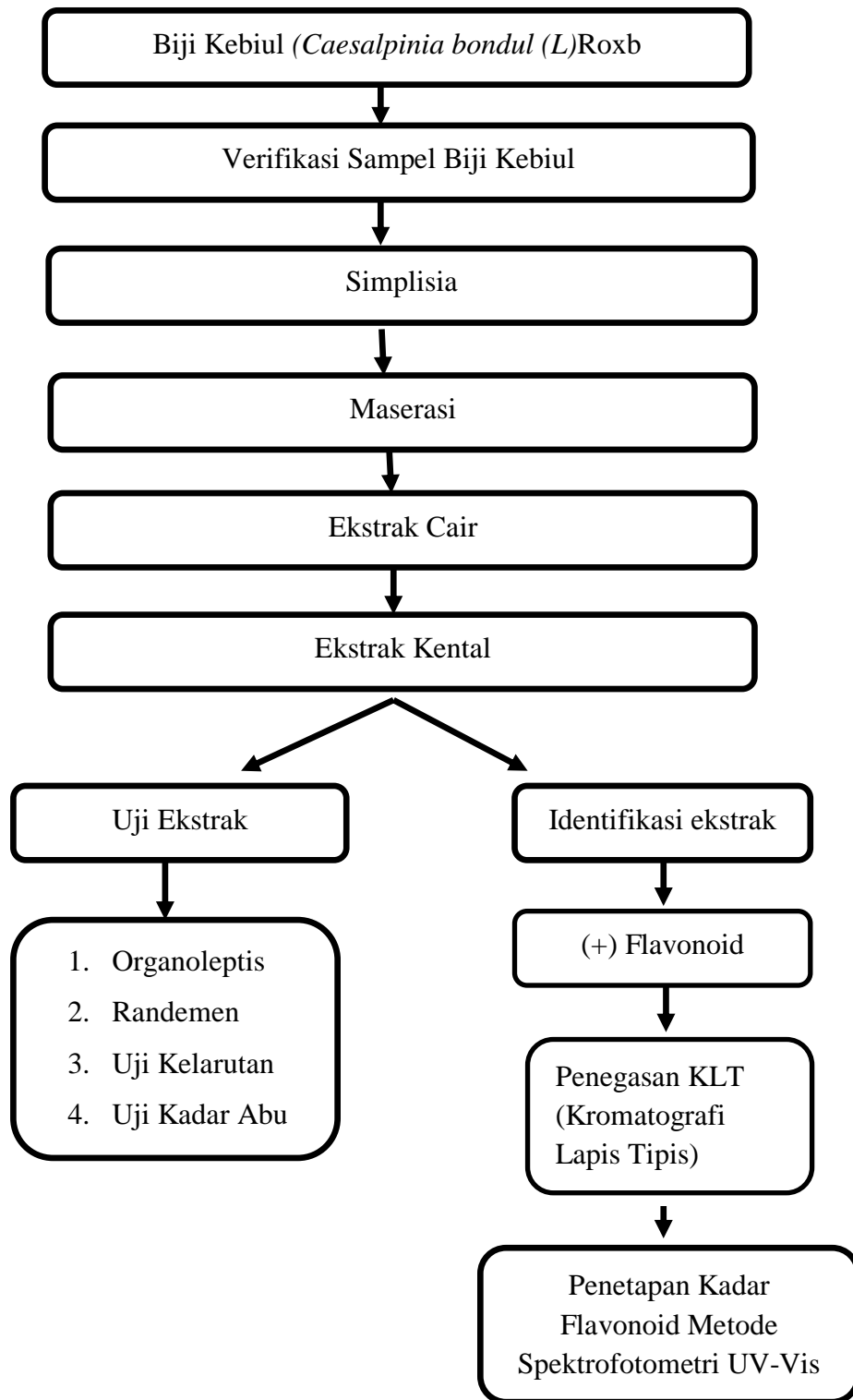
Mengetahui,
Kepala Laboratorium Biologi


Dr. Sipriyadi, M.Si.
198409222008121004

3 Desember 2019
Pelaksana



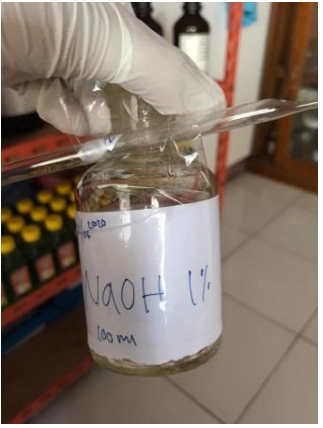




Dra. RR. Sri Astuti, MS.
196103281989012001

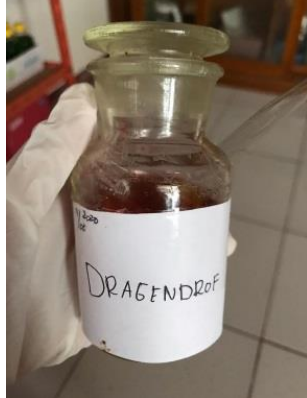
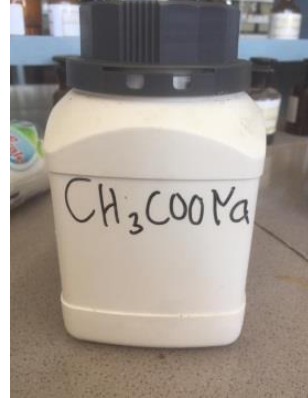
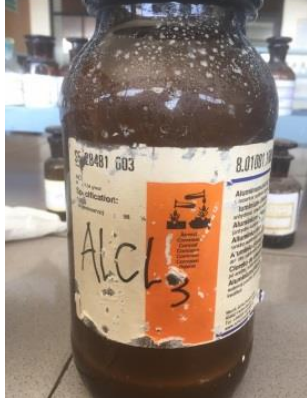
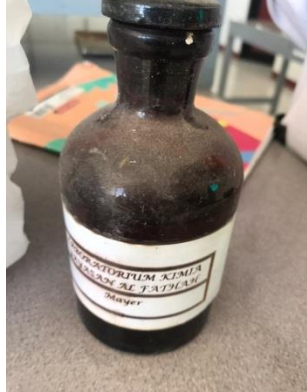

Lampiran 2. Skema Alur Penelitian



Lampiran 3. Bahan dan Alat Yang digunakan

Bahan

		
Aquadest	Etanol 70%	NaOH 1%
		
FeCl 3%	HCl 1%	Kuersetin

		
<p>Dragendorf</p>	<p>Natrium Asetat</p>	<p>AlCl₃</p>
		
<p>Mayer</p>	<p>Wagner</p>	

Alat :

		
Gelas ukur	Timbangan Analitik	Gelas Ukur
		
Tabung Reaksi	Rotari Evaporator	Spektrofotometri
		
Erlenmeyer	Botol Kaca Gelap	Labu Ukur 50 ml

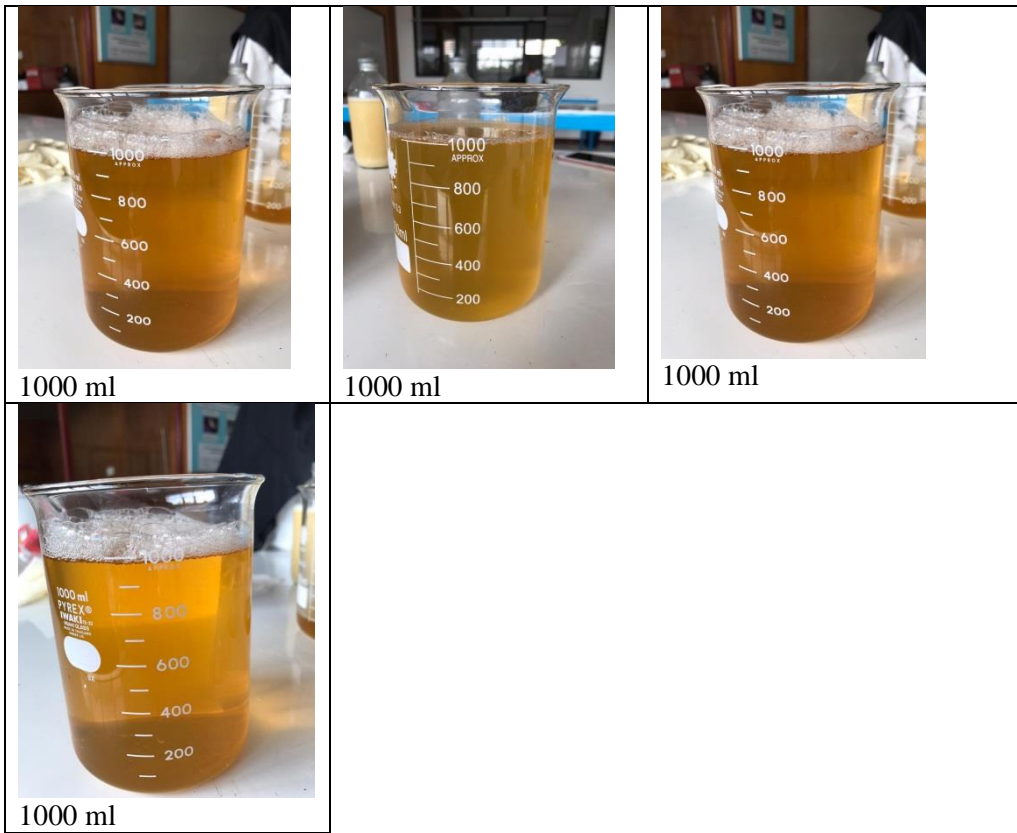
Lampiran 4. Pembuatan Ekstrak

Pembuatan simplisia

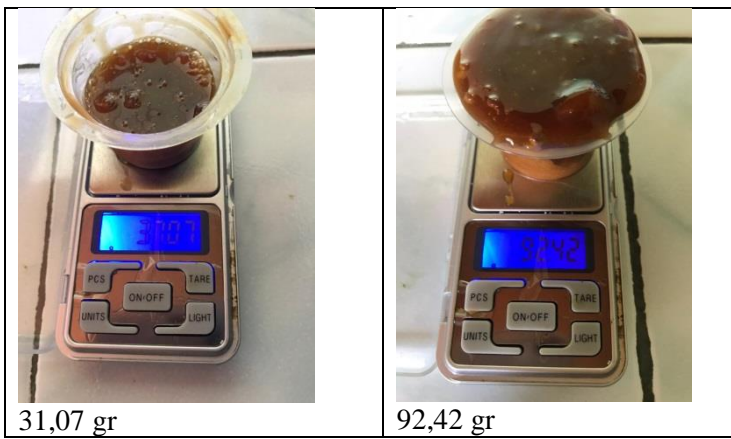


Pembuatan ekstrak





Hasil ekstrak



Total ekstrak kental = 123,49 gr

Lampiran 5. Perhitungan Rendemen dan Uji kadar abu

a. Perhitungan Rendemen Ekstrak

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Siplisa}} \times 100\% \\ &= \frac{123,49 \text{ gr}}{1.650 \text{ gr}} \times 100 \% = 7,484 \%\end{aligned}$$






b. Perhitungan Kadar Abu


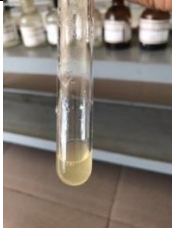
$$\begin{aligned}\% \text{ Kadar Abu} &= \frac{A-B}{A} \times 100 \% \\ &= \frac{52,08-51,39}{52,40} \times 100\% = 1,29 \%\end{aligned}$$

Lampiran 6. Skema Skrinning Fitokimia Ekstrak Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L)ROXB)

Senyawa	Reagen	Persyaratan MMI	Pengamatan	Ket
Flavonoid	Ekstrak+NaOH 1%	Terbentuk warna kuning	Warna Kuning	(+)
Saponin	Ekstrak+ Aquadest panas dikocok kuat	Terbentuk busa	Busa dilihat selama 10 menit	(+)
Steroid	Ekstrak+etanol70%+ Kloroform+H ₂ SO ₄ (P)	Cincin warna merah	Tidak ada cincin	(-)
Tanin	Ekstrak+FeCl ₃ +Etanol 70%	Jingga	Cokelat	(-)
Alkaloid	Ekstrak+HCl 1%+Wagner	Terbentuk endapan cokelat kemerahan	Terbentuk endapan cokelat kemerahan	(+)
	Ekstrak+HCl 1%+Meyer	Endapan putih kekuningan	Tidak ada endapan larutan kuning tipis	(-)
	Ekstrak+HCl 1%+Dragendrof	Endapan jingga		(-)

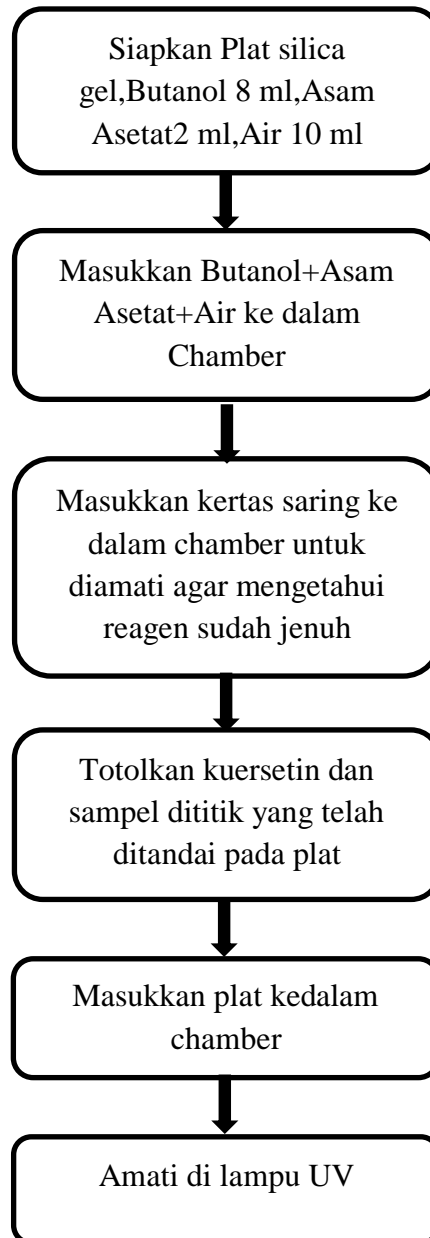
Lampiran 7 .Hasil Skrinning Fitokimia Ekstrak Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L)ROXB)

Senyawa	Reagen	Persyaratan MMI	Pengamatan	Ket
Flavonoid	Ekstrak+NaOH 1%	Terbentuk warna kuning	Warna Kuning	 Positif
Saponin	Ekstrak+Aquadest panas dikocok kuat	Terbentuk busa	Busa dilihat selama 10 menit	 Positif
Steroid	Ekstrak+etanol70 % +Kloroform+H ₂ SO ₄ (P)	Cincin warna merah	Tidak ada cincin	 Negatif
Tanin	Ekstrak+FeCl ₃ +Etanol 70%	Jingga	Cokelat	 Negatif
Alkaloid	Ekstrak+HCl 1%+Larutan Dragendrof 1 ml	Jingga atau merah	Merah	 Negatif

Alkaloid	Ekstrak+HCl 1%+Larutan wagner	Terbentuk endapan coklat kemerahan	Terbentuk endapan cokelat kemerahan	 <p>positif</p>
Alkaloid	Ekstrak+HCl 1%+meyer	Endapan putih kekuningan	Tidak ada endapan	 <p>Negatif</p>

Lampiran 8. Skema Kromatografi Lapis Tipis Flavonoid Ekstrak Etanol Biji

Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L)ROXB)



Lampiran 9. Hasil Kromatografi Lapis Tipis



Uji Kromatografi Lapis Tipis Flavonoid

Lampiran 10. Perhitungan Kromatografi Lapis Tipis Flavonoid Ekstrak Etanol

Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc (L)*Roxb

Perbandingan (4:1:5) BAA :

$$\text{n- Butanol} : \frac{4}{10} \times 20 = 8 \text{ ml}$$

$$\text{Asam Asetat} : \frac{1}{10} \times 20 = 2 \text{ ml}$$

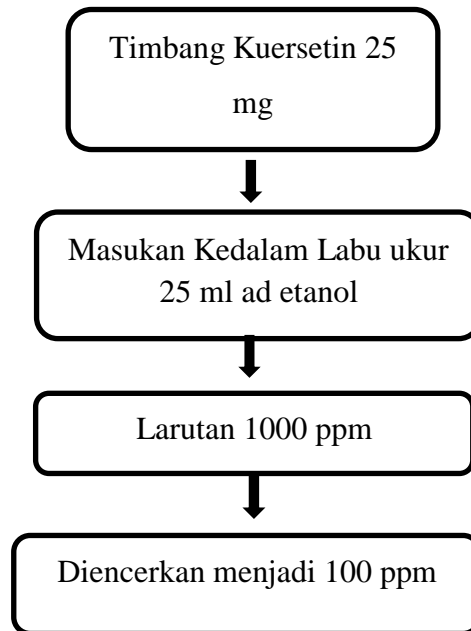
$$\text{Air} : \frac{5}{10} \times 20 = 10 \text{ ml}$$

$$\text{RF} = \frac{\text{Jarak yang ditempu senyawa pelarut}}{\text{jarak yang ditempu pelarut}}$$

$$\text{RF Sampel} = \frac{9,5 \text{ cm}}{10 \text{ cm}} = 0,95$$

$$\text{RF Baku Pembanding} = \frac{9,4 \text{ cm}}{10 \text{ cm}} = 0,94$$

Lampiran 11. Skema Pembuatan Larutan standar Kuersetin



Lampiran 12. Perhitungan Reagen Kimia

- a. AlCl_3 10 % dalam 10 ml

$$\frac{1 \text{ gr}}{10 \text{ ml}} \times 100 \% = 10\%$$

Jadi AlCl_3 yang ditimbang sebanyak 1 gr dilarutkan dengan aquadest ad 10 ml dalam labu ukur

- b. Natrium Asetat 1 M

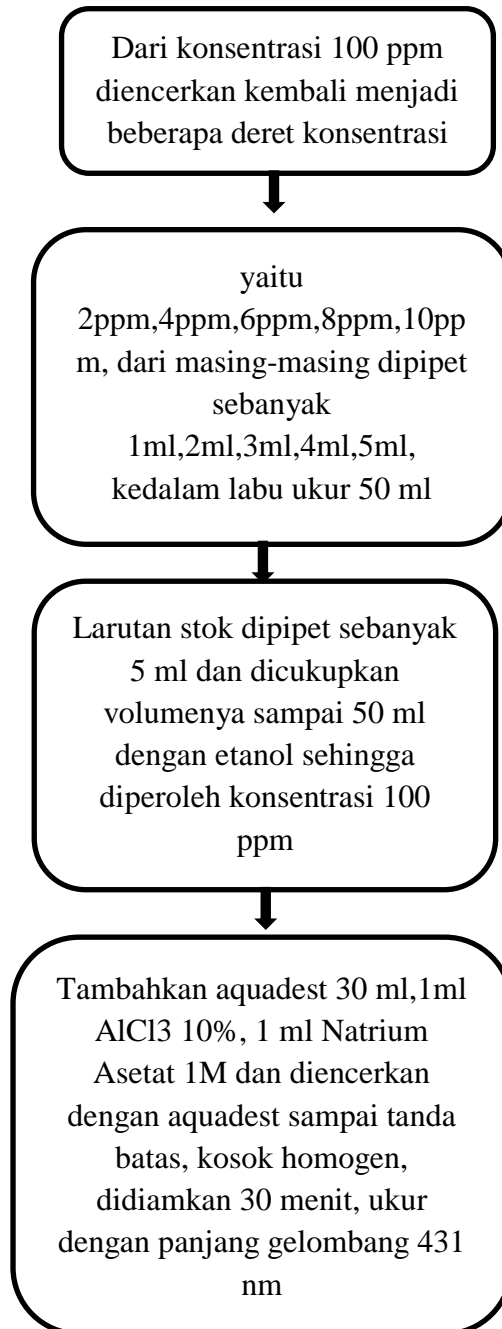
$$M = \frac{m}{BM} \times \frac{100}{v}$$

$$1 = \frac{m}{98/\text{mol}} \times \frac{100}{10}$$

$$m = \frac{98\text{gr/mol}}{100} = 0,98 \text{ gr}$$

Jadi Natrium asetat yang ditimbang 0,98 gr dilarutkan dengan aquadest ad 10 ml dalam labu ukur.

Lampiran 13. Skema kurva kalibrasi



Lampiran 14. Perhitungan Larutan Standar Dan Kurva Kalibrasi

a. Perhitungan Larutan Standar Kuersetin






$$\frac{25mg \text{ sampel}}{25 \text{ ml etanol}} = \frac{25 \text{ mg}}{0,025} = 1000 \text{ ppm}$$

Dilakukan pengenceran dari 10000 ppm ke 100 ppm




b. Perhitungan larutan untuk penentuan kurva baku Standar kuersetin

$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$ $V_1 \cdot 100_{ppm} = 50 \text{ ml} \cdot 2_{ppm}$ $V_1 = \frac{100}{100} = 1ml$	$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$ $V_1 \cdot 100_{ppm} = 50 \text{ ml} \cdot 8_{ppm}$ $V_1 = \frac{400}{100} = 4ml$
$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$ $V_1 \cdot 100_{ppm} = 50 \text{ ml} \cdot 4_{ppm}$ $V_1 = \frac{200}{100} = 2ml$	$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$ $V_1 \cdot 100_{ppm} = 50 \text{ ml} \cdot 10_{ppm}$ $V_1 = \frac{500}{100} = 5ml$
$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$ $V_1 \cdot 100_{ppm} = 50 \text{ ml} \cdot 6_{ppm}$ $V_1 = \frac{300}{100} = 3ml$	

Lampiran 15. Hasil uji kuantitatif pada deret konsentrasi

			
2 ppm = 0,186	4 ppm = 0,253	6 ppm = 0,384	8 ppm = 0,492
			
10 ppm = 0,636			

Lampiran 16. Hasil absorbansi sampel

		
Replikasi 1 = 0,060	Replikasi 2 = 0,061	Replikasi 3 = 0,016

Lampiran 17. Perhitungan Kadar Flavonoid Total Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis

a. Perhitungan Absorbansi Sampel

Diketahui ada 3 replikasi yaitu:

Replikasi 1: 0,060

Replikasi 2: 0,061

Replikasi 3: 0,064

Perhitungan Absorbansi Sampel dihitung dengan rumus

$$y = bx + a$$

Dimana :

y = Absorbansi (replikasi)

x = Konsentrasi (C) mg.L

b = Slope (kemiringan) (0,056)

a = Intersep (0,0509)

<p>Replikasi 1 = 0,060</p> $y = bx + a$ $0,060 = 0,056x + 0,0509$ $x = \frac{0,060 - 0,0509}{0,056} = 0,163 \text{ ppm}$	$f = \frac{c \times v \times f \times 10^{-6}}{m} 100\%$ $= \frac{0,163 \times 50 \times 1 \times 10^{-6}}{0,05} 100\%$ $= \frac{815}{0,05 \times 10^6} = \frac{815}{50,000} = 0,0163\%$
--	--

<p>Replikasi 2 = 0,0611</p> $y = bx + a$ $0,061 = 0,056x + 0,0509$ $x = \frac{0,061 - 0,0509}{0,056} = 0,180 \text{ ppm}$	$f = \frac{c \times v \times f \times 10^{-6}}{m} 100\%$ $= \frac{0,180 \times 50 \times 1 \times 10^{-6}}{0,05} 100\%$ $= \frac{900}{0,05 \times 10^6} = \frac{900}{50,000} = 0,018\%$
<p>Replikasi 3 = 0,064</p> $y = bx + a$ $0,064 = 0,056x + 0,0509$ $x = \frac{0,064 - 0,0509}{0,056} = 0,234 \text{ ppm}$	$f = \frac{c \times v \times f \times 10^{-6}}{m} 100\%$ $= \frac{0,234 \times 50 \times 1 \times 10^{-6}}{0,05} 100\%$ $= \frac{1.170}{0,05 \times 10^6} = \frac{1.170}{50,000} = 0,0234 \%$
<p>Nilai Rata-rata = $\frac{f_1+f_2+f_3}{3} = \frac{0,0163\%+0,018\%+0,0234\%}{3} = 0,0421 \%$</p>	