

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID FRAKSI EKSRAK
DAUN JERINGAU (*Acorus calamus L*) DENGAN
METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

Karya Tulis Ilmiah

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



Oleh :

KURNIA AMANDA EKA PUTRI

21141038

**YAYASAN AL FATHAH
PROGRAM STUDI DIII FARMASI
SEKOLAH TINGGI KESEHATAN AL-FATAH
BENGKULU
2024**

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan dibawah ini adalah :

Nama : Kurnia Amanda Eka Putri

NIM : 21141038

Program Studi : Diploma (DIII) Farmasi

Judul : Peneetapan kadar flavonoid fraksi ekstrak daun jeringau (*Acorus calamus L.*)
Dengan metode spektrofotometri UV-VIS

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Karya Tulis Ilmiah ini merupakan hasil karya sendiri dan sepengetahuan penulis tidak berikan 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 tangguang jawab penulis.

Bengkulu, Juli 2024

Yang Membuat Pernyataan



Kurnia Amanda Eka Putri

LEMBAR PENGESAHAN

KARYA TULIS ILMIAH

PENETAPAN KADAR TOTAL FLAVONOID FRAKSI EKSTRAK DAUN
JERINGAU (*Acorus calamus L.*) DENGAN METODE
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Oleh :

Kurnia Amanda Eka Putri
21141038

Karya Tulis Ilmiah Ini Telah Dipertahankan Di Hadapan Dewan Penguji
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menempuh Ujian Diploma (DIII) Farmasi
Di Sekolah Tinggi Keshatan Al-Fatah Bengkulu

Pada Tanggal :

Dewan Penguji

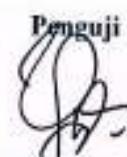
Pembimbing I


Devi Novia, M.Farm., Apt
NIDN.0215058201

Pembimbing II


Nurwani Purnama Aji, M.Farm.
NIDN.0208028801

Penguji


Yuska Noviyanti, M.Farm., Apt
NIDN.0212118202

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO :

“bukan tentang seberapa besar mimpi yang kita buat,tetapi seberapa besar kita mewujudkannya.”

PERSEMBAHAN :

Dengan rasa syukur yang mendalam, penulis mempersembahkan Karya Tulis Ilmiah ini kepada :

1. Allah SWT, semoga Karya Tulis Ilmiah ini menjadi salah satu bentuk ibadah yang dapat bermanfaat di dunia dan di akhirat.
2. Kedua orang tua saya, bapak Sudirman dan ibu Megawati yang telah memberikan dukungan serta doa yang tiada henti. Semua perjuangan saya hingga titik ini saya persembahkan untuk kalian berdua. Terima kasih karena selalu menjaga saya dalam doa serta selalu ada dalam kondisi apapun.
3. teman saya galuh tri prastiwi dan Abdul Rahmat S. yang senantiasa memberikan dukungan, semangat, dan doa untuk keberhasilan ini. Terima kasih ku ucapan kepada kalian berdua support systemku yang menemaniku sadari SMA.
4. Kakak ku M.aidil, ainil, triski dan keponakan ku khariza, assauqi emir dan seluruh kelurgaku yang tidak bisa kusebutkan satu persatu. Terima kasih atas dukungan serta doa untukku bisa sampai di titik ini.
5. Teman Seperjuangan saya, Nia ernawati, Gita Annisa, Anggun oktaviona, Vera sintarani, dan Salindri ayuningtiyas. Terima kasih saya ucapan atas dukungan, doa, dan kebersamaanya dalam keadaan susah maupun senang selama ini, saya tidak akan melupakan kalian.
6. Pembimbing Karya Tulis Ilmiah saya, Ibu Devi Novia, M.Farm.,Apt dan Ibu Nurwani purnama Aji, M. Farm atas bimbingannya, untuk pengertian, ilmu, arahan, dan dukungannya.
7. Penguji Karya Tulis Ilmiah saya, ibu Yuska novianty, M.Farm.,Apt terima kasih atas kritik dan sarannya untuk Karya Tulis Ilmiah ini.
8. Teman-teman seangkatan di Stikes Al-Fatah Bengkulu khususnya kelas C1, terima kasih atas kerjasamanya dan kenangan Bersama selama di kampus.

9. Almemater tercinta STIKES AL-Fatah Bengkulu yang telah membentuk saya menjadi lebih baik hingga saat ini.
10. Dosen-dosen dan semua pihak yang telah membantu dan mendukung baik secara moril maupun materil sehingga Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan tepat pada waktunya.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyusun Karya Tulis Ilmiah (KTI) yang berjudul **PENETAPAN KADAR FLAVONOID FRAKSI EKSRAK DAUN JERINGAU (*Acorus calamus* L)** DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS tepat pada waktunya. Karya Tulis Ilmiah disusun sebagai salah salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Ahli Madya Farmasi di sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu. Dengan tidak mengurangi rasa hormat, penulis ucapkan terimakasih atas bantuan dan dukungan kepada :

1. Ibu Devi Novia, M. Farm., Apt Selaku Pembimbing 1 yang telah tulus memberikan bimbingan dan arahan kepada saya dalam penyusunan Proposal Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini.
2. Ibu Nurwani Purnama Aji, M. Farm., Apt selaku Pembimbing 2 yang telah tulus memberikan bimbingan dan arahan kepada saya dalam penyusunan Proposal Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini.
3. Ibu Setya Enti Rikomah, M,Farm.,Apt selaku Pembimbing Akademik.
4. Ibu Yuska Noviyanty, M.Farm., Apt selaku Ketua Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu.
5. Bapak Drs. Djoko Triyono, Apt., MM Selaku Ketua Yayasan 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 Al-Fatah Bengkulu.
7. Rekan-rekan seangkatan di Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu, yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari masih banyak terdapat kekurangan oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun.

Bengkulu, Desember 2022

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN UJIAN PROPOSAL.	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	x
BAB I PENDAHULUAN	4
1.1 Latar belakang	4
1.2 Batasan masalah	5
1.3 Rumusan masalah.....	5
1.4 Tujuan Penelitian.....	5
1.5 Manfaat penelitian.....	6
1.5.1 Bagi Akademik	6
1.5.2 Bagi penelitian lanjutan	6
BAB II TINJAUN PUSTAKA	7
2.1 Kajian teori	7
2.1.1 Tanaman jeringau (<i>Acorus calamus L.</i>)	7
2.1.2 Kandungan fitokimia daun jeringau (<i>Acorus calamus L.</i>).....	9
2.1.3 Ekstrak dan Ekstraksi.....	14
2.1.5 Fraksinasi.....	19
2.1.6 Pelarut	20
2.1.4 Simplisia	23
2.1.8 Spektrofotometri Uv-Vis.....	28
2.2 kerangka konsep	31
BAB III METODE PENELITIAN.....	31
3.1 Tempat dan waktu penelitian	32
3.1.1 Tempat penelitian	32
3.1.2 Waktu penelitian.....	32
3.2 Verifikasi Tanaman	32
3.3 Alat dan bahan.....	32
3.3.1 Alat penelitian.....	32
3.4 Prosedur penelitian	33
3.4.1 Pengambilan sampel.....	33

3.4.2	Penglolaan simplisia daun jeringau (<i>Acorus calamus L</i>)	33
3.4.3	Pembuatan ekstrak etanol daun jeringau (<i>Acorus calamus L</i>)	33
3.4.5	Fraksinasi.....	34
3.4.6	Skrining fraksi flavonoid.....	35
3.4.7	Penetapan Kadar Flavonoid Secara Spektrofotometri UV-Vis	35
BAB IV HASIL DAN PEMBAHSAN		37
4.1	HASIL	Error! Bookmark not defined.
4.1.1	Hasil verifikasi tanaman	Error! Bookmark not defined.
4.1.2	Hasil pembuatan ekstrak etanol daun jeringau (<i>Acorus calamus L</i>) Error! Bookmark not defined.	
4.1.3	Hasil evaluasi ekstrak etanol daun jeringau (<i>Acorus calamus L</i>) Error! Bookmark not defined.	
4.1.4	Hasil indentifikasi kandungan ekstrak daun jeringau (<i>Acorus calamus L</i>).....	Error! Bookmark not defined.
4.1.5	Hasil uji identifikasi kandungan fraksi daun jeringau (<i>Acorus calamus L</i>).....	Error! Bookmark not defined.
4.1.6	Penetapan kadar flavonoid	Error! Bookmark not defined.
4.2	PEMBAHASAN	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR PUSTAKA		38

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman jeringau (<i>Acorus calamus L.</i>)	7
Gambar 2. Struktur Alkoloid	11
Gambar 3. Struktur Flavonoid	12
Gambar 4. Struktur Tanin	13
Gambar 5. Struktur Saponin.....	14

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Surat verifikasi daun jeringau (*Acorus calamus L*) **Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 2. Alat dan bahan yang digunakan.....**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 3. Skema Pembuatan Simplisia Daun Jeringau ... **Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 4. Pembuatan Simplisia**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 5. Skema Ekstraksi Daun Jeingau (*Acorus calamus L.*)..... **Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 6. Sembuatan Ekstrak Daun Jeringau (*Acorus calamus L*) **Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 7. Skema Fraksinasi.....**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 8. Proses Fraksinasi Daun Jeringau (*Acorus calamus L*) **Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 9. Skema penetapan Kadar Favonoid**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 10.Penetapan Kadar flavonoid.....**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 11.Penetapan Panjang gelombang**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 12.Kurva kalibrasi**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 13.Penetapan Kadar Fraksi**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 14.Perhitungan Rendemen.....**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 15.Perhitungan Larutan Baku dan Larutan Seri Konsentrasi **Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 16.Perhitungan Kadar Flavonoid.....**Error! Bookmark not defined.**

INTISARI

Daun jeringau (*Acorus Calamus L.*) adalah salah satu tanaman yang berpotensi sebagai pengobatan alamiah. Secara tradisional daun jeringau dapat bermanfaat untuk menambah nafsu makan, radang lambung, demam, kurap, migran, anti inflamasi dan diare. Sedangkan untuk pengobatan sebagai antibakteri belum ada yang menggunakannya padahal daun jeringau (*Acorus calamus L.*) memiliki metabolit sekunder yang dibutuhkan sebagai antibakteri.

Penelitian ini menggunakan fraksi aquadest daun jeringau (*Acorus calamus L.*) yang digunakan untuk mengetahui kadar flavonoid yang terkandung daun jeringau (*Acorus calamus L.*) menggunakan metode spekrofotometri Uv-Vis

Hasil penelitian yang didapatkan dengan panjang gelombang maksimum 141 nm. kurva baku kuarsit dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm , 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm didapatkan absorbansi sebesar 0,056, 0,217, 0,365, 0,567, 0,652. Hasil penetapan kadar flavonoid fraksi fraksi daun jeringau (*Acorus calamus L.*) replikasi 1. 5,791%, replikasi 2. 5,78391%. replikasi 3. 2,97126%, dengan rata-rata 4,84472%.

Kata Kunci : Daun Jeringau (*Acorus calamus L.*), Fraksi Aquadest, Penetapan kadar, Flavonoid, Spektrofotometri Uv-Vis

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Tumbuhan Jeringau (*Acorus calamus* L) merupakan salah satu tanaman endemik yang berasal dari Kalimantan Barat tepatnya di daerah Sanggau, Kapuas Hulu, dan Ngabang. Tanaman ini merupakan tanaman liar yang hidup di daerah rawa, sawah, ataupun ditanam sebagai penghias perkarangan.

Jeringau juga dikenal dengan nama *sweet flag* yang sudah banyak digunakan sebagai obat alternatif. Jeringau merupakan tanaman monokotil dari famili *Acoraceae*. Tanaman ini banyak mengandung senyawa Fitokimia yaitu senyawa alkoloid, Flavonoid, Fenolik, Tanin dan Steroid (Patil dkk., 2016). Pada daun jeringau juga terdapat senyawa flavonoid dan saponin (Wahyuni., 2012)

Flavonoid adalah salah satu golongan senyawa kimia metabolit sekunder yang banyak terdapat ditanaman. Senyawa ini memiliki manfaat yang sangat beragam seperti antioksidan, antibakteri, dan lain-lain (Nisaa dkk., 2023) Flavonoid terbentuk melalui proses fotosintesis yang terjadi pada daun, dan bermanfaat untuk pengaturan gen dan pertumbuhan metabolisme (Nisaa., 2023)

Secara tradisional Jeringau (*Acorus calamus* L) juga bermanfaat untuk meningkatkan nafsu makan, radang lambung, kurap, migran, anti inflamasi, diare dan demam (Alta dkk., 2022)

Berdasarkan uraian diatas,belum ada penelitian yang menguji penetapan kadar flavonoid fraksi daun jeringau (*Acorus calamus* L). sehingga peneliti tertarik untuk melakukan uji tersebut dengan metode spektrofotometri UV-VIS.

1.2 Batasan masalah

- a. Sampel yang digunakan pada penelitian adalah fraksi daun jeringau (*Acorus calamus* L)
- b. Uji yang digunakan adalah untuk mengetahui kadar flavonoid yang terkandung dalam fraksi daun jeringau (*Acorus calamus* L)
- c. Fraksi yang akan digunakan adalah aquadest
- d. Metode yang akan digunakan adalah spektrofotometri UV-VIS

1.3 Rumusan masalah

- a. Apakah fraksi daun jeringau (*Acorus calamus* L) mengandung flavonoid
- b. Berapa kadar flavonoid yang terkandung dalam fraksi daun jeringau (*Acorus calamus* L)

1.4 Tujuan Penelitian

- a. Untuk mengetahui apakah pada fraksi daun jeringau (*Acorus calamus* L) mengandung flavonoid
- b. Untuk mengetahui kadar flavonoid pada fraksi daun jeringau (*Acorus calamus* L)

1.5 Manfaat penelitian

1.5.1 Bagi Akademik

Dapat memberikan informasi ilmiah dalam bidang kimia analisa mengenai kadar flavonoid pada fraksi daun jeringau (*Acorus calamus L*) dan dapat menjadi referensi yang bermanfaat bagi mahasiswa /mahasiswi sekolah tinggi kesehatan Al-Fatah Bengkulu.

1.5.2 Bagi penelitian lanjutan

Penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan masukan dan perbandingan bagi mahasiswa yang ingin melanjutkan penelitian dengan topik yang sama dan metode yang berbeda dimasa yang akan datang.

1.5.3 Bagi masyarakat

Dapat dijadikan sebagai sumber informasi bagi masyarakat tentang manfaat daun jeringau (*Acorus calamus L*)

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kajian teori

2.1.1 Tanaman jeringau (*Acorus calamus L.*)



Gambar 1. Tanaman jeringau (*Acorus calamus L.*) (Anonim, 2011)

a. Klasifikasi jeringau

Klasifikasi tanaman jeringau sebagaimana berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida

Anak kelas : Arecidae

Ordo : Arales

Famili : Araceae

Genus : Acorus

Spesies : *Acorus calamus L* (Hasan., 2015)

b. Morfologi

Jeringau tergolong jenis herbal menahun yang berbentuknya mirip rumput, tetapi tingginya sekitar 75 cm dengan daun dan rimpang yang beraroma kuat. Tumbuhan ini biasa hidup di tempat lembab, seperti rawa dan air pada semua ketinggian tempat. Batang basah, pendek, membentuk rimpang, dan berwarna putih kotor. Daunnya tunggal, bentuk lanset, ujung runcing, tepi rata, panjang 60 cm, lebar sekitar 5 cm, dan warna hijau. Bunga majemuk bentuk bonggol, ujung meruncing, panjang 20-25 m terletak di ketiak daun dan berwarna putih. Perbanyakan dengan stek batang, rimpang, atau dengan tunas-tunas yang muncul dari buku-buku rimpang. Jeringau mempunyai akar berbentuk serabut (Hasan., 2015)

c. Manfaat daun jeringau (*Acorus calamus L*)

Daun jeringau (*Acorus calamus L*) banyak digunakan masyarakat Indonesia untuk berbagai penyakit salah satunya gangguan pada kulit seperti peradangan (anti radang), inflamasi, dan luka pasca melahirkan dengan membalurkan remasan daun jeringau pada bagian yang akan diobati (Tiwari dkk., 2014). Jeringau juga bermanfaat untuk menambah nafsu makan, radang lambung, kurap (obat luar), sakit kepala, anti inflamasi, diare, disentri, asma, cacingan dan imunostimulan. Ekstrak jeringau sangat berguna sebagai bahan antibakteri. Tetapi jeringau tidak boleh digunakan dalam jangka waktu yang lama dan terus-menerus,

karena dapat mengakibatkan efek samping yang tidak diinginkan. Dalam dosis tinggi dapat memberikan efek meningkatkan aktivitas mental (Psikoaktif). Selain itu jeringau mengandung senyawa asaron yang dapat memicu timbulnya kanker (Ulung, 2014)

Selain di Indonesia jeringau (*Acorus calamus* L) juga menjadi tanaman obat di berbagai negara seperti India, Vietnam, Cina, dan Malaysia. Di Malaysia akarnya digunakan sebagai obat luar untuk mengobati inflamasi atau peradangan, gangguan kulit, dan rematik. Di India akarnya digunakan untuk megobati sakit perut, disentri, asma, diare, karmanitatif, dan ematik. Di Vietnam digunakan untuk mengobati gangguan pernafasan seperti asma dan inflamsi

2.1.2 Kandungan fitokimia daun jeringau (*Acorus calamus* L)

Daun jeringau (*Acorus calamus* L) digunakan sebagai antibakteri dan anti inflamasi. Aktivitas antibakteri pada tanaman jeringau dipengaruhi adanya kandungan flavonoid, saponin, alkaloid dan tanin. (Alta dkk., 2022). Berikut senyawa yang terkandung dalam daun jeringau :

1. Alkaloid

Alkaloid adalah kelompok metabolit sekunder terpenting yang ditemukan pada tumbuhan. Keberadaan alkaloid di alam tidak pernah berdiri sendiri. Golongan senyawa ini berupa campuran dari beberapa alkaloid utama.

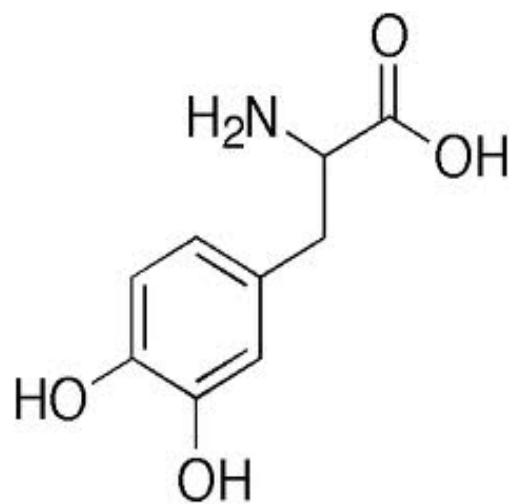
Definisi yang terdapat dari istilah “alkaloid” (mirip alkali) agak sulit karena tidak ada batas yang jelas diantara alkaloid dan amina kompleks yang terjadi secara alami. Alkaloid khas yang berasal dari sumber tumbuhan, senyawa ini bersifat basa, mengandung satu atau lebih atom nitrogen (biasanya dalam cincin heterosiklik) dan biasanya memiliki aktifitas fisiologis yang pada manusia atau hewan lainnya (Harbone, 1987)

Beberapa sifat dari alkaloid yaitu:

- a. Alkaloid yang berbentuk cair yaitu konini, nikotin dan spartein.
- b. Mengandung atom nitrogen yang umumnya berasal dari asam amino.
- c. Umumnya berupa Kristal atau serbuk amorf.
- d. Dalam tumbuhan berada dalam bentuk bebas, dalam bentuk N- oksida atau dalam bentuk garamnya.
- e. Umumnya mempunyai rasa yang pahit.
- f. Alkaloid dalam bentuk bebas tidak larut dalam air, tetapi larut dalam kloroform, eter dan pelarut organik lainnya yang bersifat relative nong).

Alkaloid dalam bentuk garamnya mudah larut dalam air.

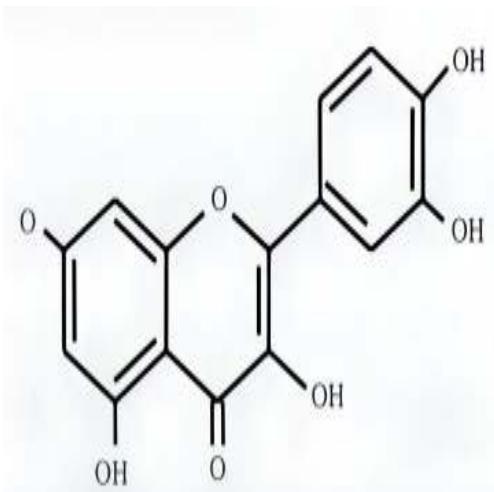
- g. Alkaloid bebas bersifat basa karena adanya pasangan elektron bebas pada atom N-nya\Biasanya banyak digunakan di bidang
- h. farmasi



Gambar 2. Struktur Alkoloid

2. Flavonoid

Flavonoid adalah metabolit sekunder yang tersebar luas di berbagai tumbuhan dan merupakan salah satu golongan senyawa fenol yang terbesar. Flavonoid adalah isoflavon adalah kelas metabolit sekunder yang tersebar luas di tumbuhan ada yang berada di akar,cabang,bunga,buah,biji dan daun. Senyawa flavonoid sebagai pewarna alami yang berwarna merah,kuning,dan ungu. Warna flavonoid dihasilkan oleh sistem konjungsi elektron dari senyawa aromatik. Tetapi kandungan flavonoid dalam sayuran sangat rendah yaitu sekitar 0,25%. (Harbone., 1987)



Gambar 3. Struktur flavonoid

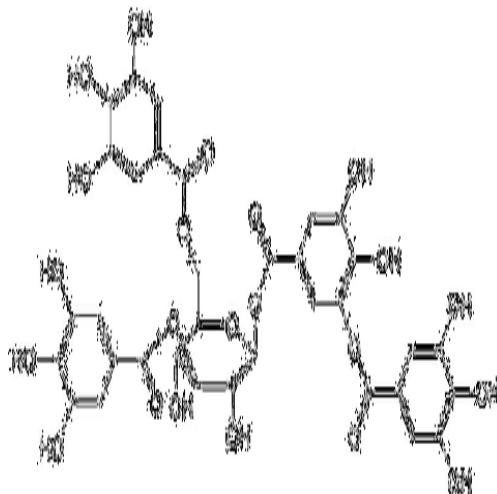
3. Tanin

Tanin ialah suatu senyawa metabolit (hasil dari metabolisme) sekunder dari beberapa tanaman. Metabolit sekunder adalah senyawa hasil biogenesis dari metabolit primer. Tanin pada dasarnya merupakan senyawa polifenol yang memiliki berat molekul besar serta terdiri dari gugus hidroksi (-OH) dan karboksil (-COOH). Senyawa tanin terbagi menjadi dua jenis, yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis diprekusor oleh asam dehydroshikimic, sedangkan tanin kondensasi disintesis dari prekusor flavonoid.

Tanin berfungsi mengikat dan mengendapkan protein. Dalam dunia kesehatan, tanin berfungsi untuk mengobati diare, mengobati ambeien, dan menghentikan pendarahan. Selain daun, tanin biasanya terdapat pada beberapa bagian tanaman, seperti: buah, kulit, dahan dan batang tanaman.

Uji Tanin Beberapa mL ekstrak daun (kering dan segar) tanaman patikan emas dan bawang laut, ditambahkan dengan 10 tetes FeCl₃ 10%.

Ekstrak positif mengandung tanin apabila menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman (Harbone, 1987)



Gambar 4. Struktur tanin

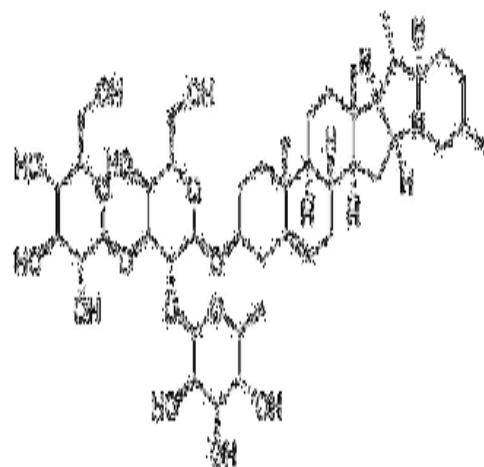
4. Saponin

Saponin merupakan senyawa dalam bentuk glikosida yang tersebar luas pada tumbuhan tingkat tinggi. Saponin membentuk larutan koloidal dalam air dan membentuk busa yang mantap jika dikocok dan tidak hilang dengan penambahan asam (Harbone, 1987). Saponin merupakan golongan senyawa alam yang rumit, yang mempunyai massa dan molekul besar, dengan kegunaan luas. Saponin diberi nama demikian karena sifatnya menyerupai sabun “*Sapo*” berarti sabun.

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa bila dikocok dengan air. Beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba. Dikenal juga jenis saponin yaitu glikosida triterpenoid dan glikosida struktur steroid tertentu yang mempunyai rantai spirotekal.

Kedua saponin ini larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter. Aglikonya disebut sapogenin, diperoleh dengan hidrolisis dalam suasana asam atau hidrolisis memakai enzim, Senyawa saponin dapat pula di identifikasi dari warna yang dihasilkannya dengan reaksi *Liebermann-Burchard*. Warna biru- hijau menunjukkan saponin, steroida, dan warna merah, merah muda, atau ungu menunjukkan saponin triterpenoida.

Pengujian Saponin Sebanyak 40 mg ekstrak ditambahkan 10 mL air sambil dikocok selama 1 menit, lalu ditambahkan 2 tetes HCl 1 N. Bila busa yang terbentuk tetap stabil \pm 7 menit, maka ekstrak positif mengandung saponin (Harbone, 1987)



Gambar 5. Struktur saponin

2.1.3 Ekstrak dan Ekstraksi

- a. pengertian ekstrak

Menurut Farmakope Indonesia edisi III, ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan cara mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewan dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarutnya diuapkan dan sisa massa atau serbuknya diolah sehingga memenuhi standar yang telah ditentukan. faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak (DepKes RI, 2000) :

1. Faktor Biologi

- a. Identifikasi Jenis (species)
- b. Lokasi tumbuhan asal
- c. Periode pemanenan hasil tumbuhan
- d. Penyimpanan bahan tumbuhan
- e. Umur tumbuhan dan bagian yang digunakan

2. Faktor Kimia

- a. Jenis senyawa aktif
- b. litatif dan kuantitatif senyawa aktif
- c. Kadar total rata-rata senyawa aktif
- d. Metode ekstraksi
- e. Ukuran, kekerasan dan kekeringan bahan
- f. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi
- g. Kandungan logam berat dan pestisida

b. pengertian ekstraksi

Ekstraksi adalah pemisahan suatu zat terlarut yang menggunakan dua pelarut yang tidak dapat bercampur untuk mengambil zat terlarut dari satu pelarut ke pelarut lainnya. Ekstraksi bertujuan untuk melarutkan senyawa yang terkandung dalam jaringan tumbuhan ke dalam pelarut yang digunakan untuk proses ekstraksi (Harbone, 1987)

Ekstraksi bertujuan untuk mengekstrak semua komponen kimia yang terkandung dalam simplisia. Ekstraksi didasarkan pada perpindahan massa komponen padat ke dalam pelarut dimana perpindahan dimulai pada lapisan antarmuka, kemudian berdifusi ke dalam pelarut.

Adapun cara ekstraksi yaitu :

a. Cara dingin

1. Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Hanani, 2014)

2. Perkolasi

Perkolasi adalah proses penyarian simplisia dengan pelarut yang sesuai secara lambat pada simplisia dalam suatu percolator. Perkolasi bertujuan untuk menarik semua zat berkhasiat, metode ini bisa digunakan untuk zat yang tahan panas maupun yang tidak tahan panas pemanasan. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif hingga mencapai keadaan jenuh. Kekuatan yang berperan pada perkolasian antara lain: gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosa, adesi, daya kapiler dan daya geseran (Hanani, 2014)

b. Ekstrak cara panas

1. Refluks

metode digunakan dalam sintesis menggunakan pelarut yang mudah menguap. Pada kondisi ini jika dilakukan pemanasan biasa maka pelarut akan menguap sebelum reaksi berlangsung selesai. Prinsipnya adalah pelarut Volatil yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi, tetapi akan didinginkan oleh kondensor sehingga pelarut yang berupa uap akan mengembun pada kondensor dan jatuh kembali ke bawah bejana reaksi sehingga pelarut akan tetap utuh saat reaksi berlangsung. Sedangkan aliran gas N₂ diberikan sehingga tidak ada uap air atau gas oksigen yang masuk terutama dalam senyawa organologam untuk sintesis senyawa anorganik karena sifatnya yang reaktif (Hanani, 2014)

2. Soxhletasi

Soxhletasi adalah metode atau proses pemisahan suatu komponen yang terkandung dalam suatu zat padat dengan penyaringan berulang menggunakan pelarut tertentu, sehingga komponen yang diinginkan akan diisolasi. Soxhletasi digunakan dalam pelarut organik tertentu. Pelarut yang telah membawa senyawa kimia dalam labu distilasi evaporatif putar evaporator sehingga pelarut dapat dihilangkan lagi ketika campuran organik cair atau padat ditemukan dalam padatan, maka bisa diekstrak menggunakan pelarut dingin (Hanani, 2014)

3. Infusa

Infusa adalah metode ekstraksi dengan pelarut air. Selama proses infus, suhu pelarut air harus mencapai suhu 90°C untuk 15 menit, Perbandingan berat bahan dan air adalah 1 :10, artinya jika berat bahan 100 gram maka volume air sebagai pelarut adalah 1000 ml. cara biasa yang dilakukan adalah bahan bubuk dipanaskan di dalam panci dengan air secukupnya selama 15 menit dihitung mulai suhu mencapai 90°C sambil sesekali diaduk. Setelah itu saring selagi panas menggunakan kain flanel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas sampai mendapatkan volume yang diinginkan. Jika materi mengandung minyak atsiri, dilakukan penyaringan setelah dingin (Hanani, 2014)

4. Dekota

Metode ekstraksi dekokta dan infusa hampir sama, letak perbedaan antara ekstraksi dekokta dan infusa adalah lamanya waktu yang dibutuhkan untuk memanaskan. Metode dekokta membutuhkan waktu ≥ 30 menit untuk memanaskan dibandingkan dengan metode infusa setelah temperaturnya mencapai titik didih air

2.1.5 Fraksinasi

Fraksinasi adalah suatu metode pemisahan senyawa organik berdasarkan kelarutan senyawa dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur. Teknik pemisahan ekstraksi cairan ini dilakukan menggunakan corong pisah kemudian dikocok dan didiamkan yang kemudian akan terbentuk dua lapisan yaitu lapisan atas dan lapisan bawah yang dapat dipisahkan dengan membuka kunci pipa corong pisah (Dalimunthe, 2016)

Fraksinasi merupakan suatu metode pemisahan senyawa organik berdasarkan kelarutan senyawa-senyawa tersebut dalam dua jenis pelarut yang bersifat tidak saling bercampur, umumnya antara pelarut air dan pelarut organik (Andhini, 2017) Teknik pemisahan dengan cara ekstraksi cair-cair ini umumnya dilakukan dengan menggunakan corong pisah (separatory funnel). Kedua jenis pelarut yang saling tidak bercampur tersebut dimasukkan kedalam corong pisah, kemudian digojok, dan didiamkan. Solut (senyawa organik) akan terdistribusi kedalam fasenya masing-masing sesuai dengan sifat kelarutannya terhadap fase tersebut. Setelah didiamkan, akan terbentuk dua lapisan yaitu lapisan atas dan

lapisan bawah yang dapat dipisahkan dengan cara membuka kunci pipa pada corong pisah (Wayan dkk, 2017)

2.1.6 Pelarut

Pada umumnya pelarut adalah suatu cairan yang berupa zat murni ataupun zat campuran. Sedangkan untuk zat yang terlarut berupa gas, padat, dan cairan lainnya. Terdapat dua persyaratan saat pemilihan pelarut yang akan digunakan yaitu harus mempunyai daya larut yang tinggi dan pelarut harus bersifat inert, agar tidak ada reaksi yang terjadi dengan komponen lain. Faktor yang berpengaruh pada proses ekstraksi salah satunya ialah jenis pelarut yang dipakai dan mutu pelarut (Rifai dkk, 2018)

Pemilihan pelarut yang sesuai merupakan faktor terpenting dalam proses ekstraksi. Proses ekstraksi menggunakan pelarut berbasis pada sifat kepolaran zat dalam pelarut saat ekstraksi. Senyawa yang polar hanya larut pada pelarut polar misalnya, etanol, metanol, dan butanol. Pada campuran non polar hanya larut pada pelarut non polar seperti eter, kloroform, dan n-heksan (Kamisnah, 2016).

Beberapa pelarut yang digunakan untuk fraksinasi misalnya aquadest, n-heksan, etil asetat.

a. Air

Air merupakan pelarut universal yang sering digunakan. Biasanya digunakan untuk mencari produk tumbuhan dengan aktivitas antimikroba. Air dapat melarutkan senyawa fenolik yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan (Kasminah, 2016). Air atau disebut dengan aquadestillata dan air suling mempunyai rumus molekul H_2O . (Kristijarti, 2012). Air

merupakan pelarut yang sangat polar digunakan untuk menyari senyawa-senyawa organik polar sehingga cocok digunakan sebagai pelarut polar dalam proses fraksinasi. Pelarut air dipilih karena air dapat melarutkan misalnya garam alkaloid, asam organik, glikosida, tanin, protein, gom, dan pati (Andhini, 2017).

Pelarut Air mempunyai keuntungan dimana relatif murah, mudah didapat, tidak menguap, dan tidak mudah terbakar. Namun tidak bisa dihindari pada pelarut air yaitu kemungkinan dapat terjadi reaksi hidrolisa, dapat ditumbuhki jamur dan mikroba, serta untuk pengeringan dibutuhkan waktu lama (Sa'adah dkk, 2017).

b. n-Heksan

n-Heksan merupakan senyawa karbon yang bisa digunakan sebagai solven. Solven pada umumnya adalah zat berupa senyawa karbon cair baik jenis alifatik maupun aromatik. n-Heksan merupakan hidrokarbon alkana yang mempunyai rumus kimia C_6H_{14} . Seluruh isomer n-heksan sering digunakan sebagai pelarut organik yang bersifat inert karena sifat non polarnya (Utomo, 2016)

n-Heksan mempunyai sifat sangat tidak polar, volatil, mempunyai bau khas yang menyengat (Kasminah, 2016). n-Heksan merupakan hasil penyulingan dari minyak tanah yang sudah bersih terdiri atas campuran rangkaian hidrokarbon, bersifat mudah terbakar. n-Heksan larut dalam alkohol, benzene, kloroform, dan eter, serta tidak larut pada air. Senyawa yang dapat larut dalam pelarut n-heksan ialah senyawa yang bersifat non

polar seperti terpenoid, triterpenoid, sterol, dan fenil propanoid (Andhini, 2017).

c. Etil asetat

Etil asetat merupakan larutan bening, tidak berwarna, berbau khas, zat berupa larutan polar yang volatil, dan toksisitas rendah. Etil asetat mempunyai rumus molekul $C_4H_8O_2$ Larut dalam 15 bagian air, dapat bercampur dengan etanol 95%, dan eter. Dalam pembuatan etil asetat biasanya dilakukan dengan proses esterifikasi(Lidiawati, dkk, 2018). Etil asetat mudah terbakar dan menguap, maka penyimpanannya dalam wadah tertutup baik dan terhindar dari sinar matahari. Senyawa yang larut dalam pelarut ini yaitu senyawa fenolik seperti fenol-fenol, asam fenolat, fenil propanoid, antrakuinon, dan xantan (Andhini, 2017).

2.1.7 Skrining fitokimia

Skrining Fitokimia adalah suatu metode yang digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat pada suatu sampel, yang berupa struktur kimia, biosintesis, penyebaran secara alamiah dan fungsi biologis, isolasi serta perbandingan komposisi senyawa kimia dari berbagai macam jenis tumbuhan. Sampel tanaman yang digunakan dalam uji fitokomia berupa daun, batang, buah, bunga dan akar yang memiliki khasiat sebagai obat dan digunakan sebagai bahan obat tradisional maupun obat-obatan modern (Afriani, dkk, 2016)

2.1.4 Simplisia

A. Pengertian Simplisia

Simplisia berasal dari kata simple yang mempunyai bentuk jamak dari simpleks, yang berarti satu atau sederhana. Untuk menandai bahan-bahan obat alam yang masih dalam wujud aslinya atau belum mengalami perubahan bentuk biasanya disebut dengan istilah simplisia. Simplisia merupakan bahan alamiah yang dipakai sebagai bahan obat yang belum mengalami pengolahan apapun kecuali dinyatakan baru mengalami proses setengah jadi seperti pengeringan. Simplisia dapat digolongkan menjadi tiga golongan, yaitu sebagai berikut (Anonim, 2011)

1. Simplisia Nabati

Simplisia nabati yaitu simplisia yang berasal dari tumbuhan utuh, bagian dari tumbuhan, maupun eksudat dari tanaman. Eksudat tumbuhan merupakan isi dari sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan dengan cara dikeluarkan isinya dari sel atau zat nabati lain yang dipisahkan dari tumbuhan asalnya (Anonim, 2011)

2. Simplisia Hewani

Simplisia hewani yaitu simplisia yang berasal dari hewan utuh, bagian dari hewan, maupun zat-zat berguna yang dihasilkan oleh suatu hewan dan belum dalam bentuk zat kimia murni (Anonim, 2011)

3. Simplisia Mineral (Pelikan)

Simplisia mineral atau pelikan yaitu simplisia yang bersal dari pelikan atau mineral yang belum mengalami pengolahan dengan cara sederhana maupun dalam bentuk zat kimia murni (Anonim, 2011)

b. Penyiapan Simplisia

Tahapan penyiapan simplisia sangat penting untuk menjamin kualitas simplisia, diantaranya(Anonim, 2014):

2. Pengumpulan Bahan

Pengumpulan bahan baku berpengaruh terhadap kualitas bahan. Faktor yang paling berperan dalam pengumpulan bahan yaitu masa panen (Narulita, 2014). Bahan baku yang digunakan untuk pembuatan simplisia daun adalah daun yang masih segar, tidak busuk dan tidak cacat. Pemanenan dilakukan dengan cara dipetik atau digunting (Anonim, 2014)

3. Sortasi Basah

Sortasi basah ialah pemilahan hasil panen saat tanaman masih segar. Sortasi basah dilakukan dengan cara memisahkan kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya misalnnya tanah, kerikil, rumput, dan batang atau bagian dari tanaman yang tidak digunakan. Tanah mengandung mikroba dengan jumlah yang tinggi (Inorah. 2013).

4. Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan kotoran yang melekat pada bahan simplisia. Air yang digunakan harus bersih yang berasal dari mata air, air sumur atau air PAM (Perusahaan Air Minum),

jika air yang digunakan kotor maka dapat berpengaruh terhadap keberadaan mikroba pada permukaan simplisia. Air dapat mempercepat pertumbuhan mikroba (Inorah. 2013). Simplisia yang mengandung zat mudah larut harus dicuci dalam waktu singkat. Pencucian satu kali dapat menghilangkan 25% dari jumlah mikroba awal sedangkan pencucian menggunakan air yang mengalir sebanyak tiga kali, jumlah mikroba yang tertinggal hanya 42% dari jumlah mikroba awal (Inorah. 2013). Pencucian dilakukan sampai air bekas cucian jernih (Al-Jauhari, 2021)

5. Perajangan

Simplisia dengan jenis tertentu perlu mengalami perajangan. Perajangan dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Perajangan dapat dilakukan dengan menggunakan pisau atau mesin perajang khusus untuk memperoleh ukuran yang dikehendaki. Perajangan simplisia yang tipis dapat mempercepat penguapan air sehingga dapat mempercepat pengeringan, namun apabila terlalu tipis dapat mengakibatkan kerusakan dan berkurangnya zat berkhasiat yang mudah menguap sehingga mempengaruhi komposisi, bau dan rasa yang diinginkan (Inorah. 2013).

6. Pengeringan

Pengeringan dilakukan untuk memperoleh simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Berkurangnya kadar air dapat menghentikan reaksi enzimatik yang dapat menurunkan mutu dan merusak simplisia. Air yang masih tersisa dalam simplisia pada takaran tertentu dapat menjadi media pertumbuhan kapang dan jasad renik lainnya. Reaksi enzimatik tidak terjadi dalam simplisia bila kadar airnya kurang dari 10% (Inorah. 2013) Pengeringan simplisia dapat dilakukan dengan menggunakan sinar matahari atau menggunakan suatu alat pengering misalnya oven dengan suhu 40-50°C (Inorah. 2013). Pengeringan dengan sinar matahari langsung dan oven suhu 50°C membutuhkan waktu 8 jam, sedangkan yang dianginanginkan membutuhkan waktu hingga 4 hari (Al-Jauhari, 2021). Pengeringan menggunakan suhu ideal yaitu maksimal 50°C dengan ketebalan tumpukan 3-4 cm. Hasil pengeringan yang baik adalah simplisia daun yang mengandung kadar air maksimal 5% dan ketika diremas akan hancur yang berarti daun sudah kering optimal(Al-Jauhari, 2021)

7. Sortasi Kering

Sortasi kering adalah proses memilah bahan setelah mengalami pengeringan.Pemilahan dilakukan terhadap yang rusak (Narulita, 2014). Simplisia daun yang baik memiliki kandungan benda asing tidak lebih dari 2%, warna dan aroma tidak berbeda jauh dari aslinya,

tidak mengandung bahan beracun dan berbahaya serta tidak tercemar oleh jamur (Al-Jauhari, 2021)

8. Penggilingan

Penggilingan dilakukan untuk mendapatkan produk dalam bentuk serbuk dengan derajat kehalusan yang ditentukan menggunakan mesin yang terbuat dari stainless stell. Derajat kehalusan serbuk 30-40 mesh digunakan untuk pembuatan produk teh, 40-60 mesh digunakan untuk ekstraksi dan 80-100 mesh untuk pembuatan kapsul (Al-Jauhari, 2021)

9. Penyimpanan

Simplisia disimpan dalam wadah tersendiri yang memenuhi persyaratan. Persyaratan wadah simplisia ialah tidak mudah bereaksi dengan bahan lain, tidak beracun, mampu melindungi bahan simplisia dari cemaran mikroba, kotoran, serangga, dan mampu melindungi simplisia dari penguapan kandungan zat aktif, pengaruh dari cahaya, oksigen dan uap air. Tempat penyimpanannya harus bersih, suhunya tidak lebih dari 30°C dan terpisah dari bahan lain yang dapat menyebabkan produk simplisia terkontaminasi serta bebas dari hama kutu, rayap atau tikus (Al-Jauhari, 2021)

2.1.8 Spektrofotometri Uv-Vis

a. Definisi

Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur transmisi atau absorbansi sesuatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang, setiap media akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu tergantung pada senyawa atau warna yang terbentuk. Spektrofotometer adalah alat yang digunakan untuk mengukur absorbansi dengan melewatkannya cahaya dengan panjang gelombang tertentu pada objek kaca atau kuarsa yang disebut kuvet. Setengah dari Cahaya akan diserap dan sisanya akan dilewatkannya. Nilai absorbansi dari Cahaya yang diserap sebanding dengan konsentrasi larutan di dalamnya kuvet.

Spektrofotometer UV-VIS adalah pengukuran penyerapan cahaya dalam daerah ultraviolet (200-350nm) dan tampak (350-800nm). Penyerapan sinar UV atau VIS (cahaya tampak) menyebabkan transisi elektronik, yaitu promosi elektron dari orbital keadaan dasar energi rendah ke orbital keadaan tereksitasi energi rendah (Saputra, 2019).

Keuntungan utama pemilihan metode spektrofotometri bahwa metode ini memberikan metode sangat sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil (Hasibuan, 2015)

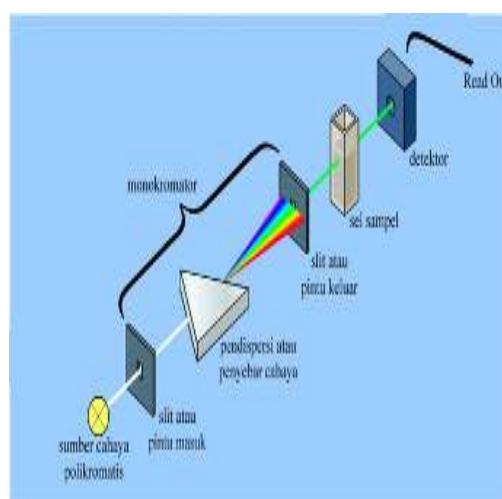
b. Prinsip kerja

Prinsip kerja spektrofotometer adalah penyerapan cahaya pada panjang gelombang tertentu oleh bahan yang diperiksa. Setiap zat memiliki absorbansi di panjang gelombang tertentu. Panjang gelombang

dengan absorbansi Kadar tertinggi digunakan untuk mengukur kadar zat yang akan diperiksa. Jumlah cahaya yang diserap oleh suatu zat berbanding lurus dengan kadar zat tersebut. Untuk memastikan ketelitian pengukuran kadar yang diukur maka dibandingkan dengan kadar yang sudah diketahui (standar) (Saputra, 2019).

Keuntungan utama dari metode spektrofotometri adalah menyediakan cara sederhana untuk menentukan jumlah yang sangat kecil dari suatu zat. Selain itu hasil yang didapat cukup akurat dimana angka langsung terbaca direkam oleh detektor dan dicetak dalam bentuk angka digital atau grafik telah diregresi. Secara sederhana alat spektrofotometer, yang disebut spektrofotometer terdiri dari.

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



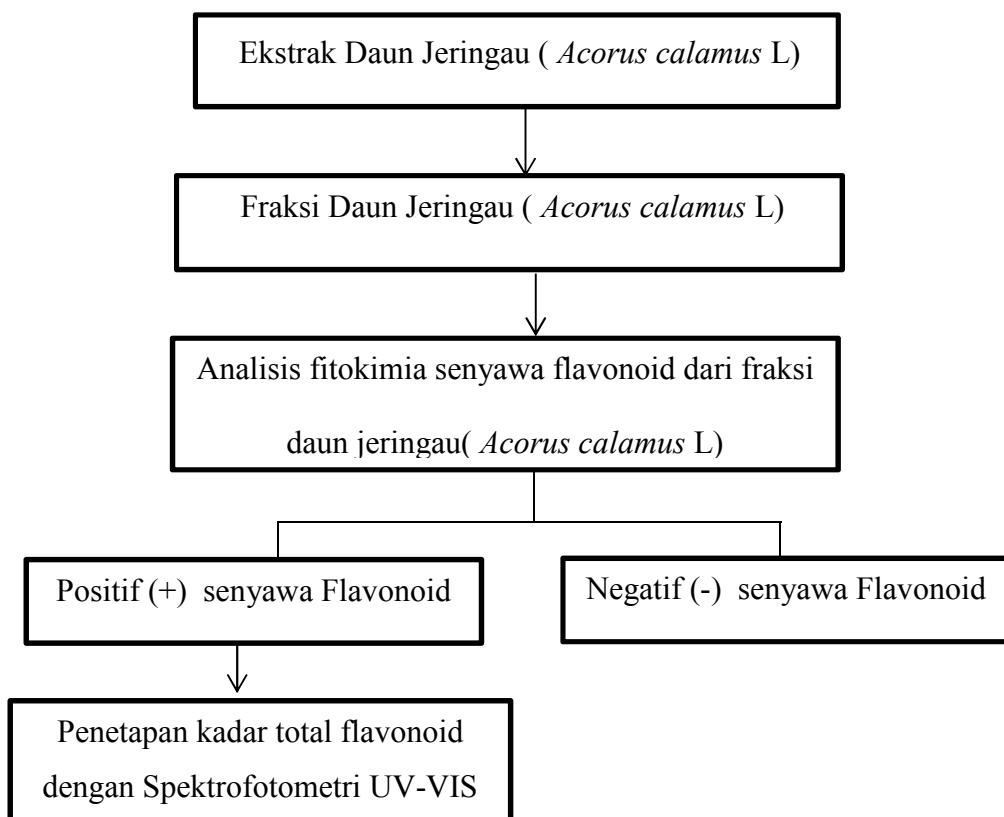
Gambar 6. Diagram Alat Spektrofotometer Uv-Vis

Fungsi dari macam-macam bagian :

- a. Sumber cahaya polikromatik berfungsi sebagai sumber cahaya polikromatik dengan rentang panjang gelombang yang luas.
- b. Monokromator berfungsi sebagai pemilih panjang gelombang, yang mengubah cahaya dari sumber cahaya polikromatik menjadi cahaya monokromatik. Pada gambar di atas disebut sebagai pendispersi atau penyebar cahaya. Dengan adanya pendispersi hanya satu jenis cahaya atau cahaya dengan panjang gelombang tunggal yang mengenai sel sampel. Pada gambar di atas hanya lampu hijau yang melewati pintu keluar.
- c. Sel sampel berfungsi sebagai tempat meletakan sampel
 1. UV, VIS dan UV-VIS menggunakan kuvet sebagai tempat sampel. Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa atau gelas, namun kuvet dari kuarsa yang terbuat dari silika memiliki kualitas yang lebih baik. Hal ini disebabkan yang terbuat dari 6 kaca dan plastik dapat menyerap UV sehingga penggunaannya hanya pada spektrofotometer sinar tampak (VIS). Kuvet biasanya berbentuk persegi panjang dengan lebar 1 cm.
 2. IR untuk sampel cair dan padat (dalam bentuk pasta) biasanya dioleskan pada dua lempeng natrium klorida. Untuk sampel dalam bentuk larutan dimasukan ke dalam sel natrium klorida. Sel ini akan dipecahkan untuk mengambil kembali larutan yang dianalisis, jika sampel yang dimiliki sangat sedikit dan harganya mahal.

- d. Detektor berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik. Macam-macam detector yaitu detektor foto (Photo detector), Photocell, misalnya CdS, Phototube, Hantaran foto, Dioda foto, Detektor panas.
- e. Read out merupakan suatu sistem baca yang menangkap besarnya isyarat listrik yang berasal dari detector (Saputra, 2019)

2.2 kerangka konsep



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan waktu penelitian

3.1.1 Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakognosi dan Laboratorium Kimia Kesehatan Al-Fatah Bengkulu.

3.1.2 Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari - juni

3.2 Verifikasi Tanaman

Verifikasi tanaman jeringau (*Acorus calamus* L) dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Bengkulu.

3.3 Alat dan bahan

3.3.1 Alat penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-Vis, *Rotari Evaporator*, timbangan analitik, botol gelap untuk maserasi, corong, kertas saring, serbet, batang pengaduk, pipet volume, mikro pipet, labu ukur, *krus porselen*, kuersetin, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pisau, sendok tandu, dan corong pisah.

3.1.2 Bahan penelitian

Bahan yang akan digunakan pada penelitian ini yaitu daun Jeringau (*Acorus calamus* L) Etanol 96%, fraksi daun jeringau, Aquades, Etil asetat, n-heksan, dan kuersetin sebagai baku pembanding.

3.4 Prosedur penelitian

3.4.1 Pengambilan sampel

Sampel daun jeringau (*Acorus calamus* L) diambil dari kota Bengkulu.

3.4.2 Pengolahan simplisia daun jeringau (*Acorus calamus* L)

Daun jeringau (*Acorus calamus* L) yang sudah diambil dan dipilih dilakukan sortasi basah terlebih dahulu agar tarpisah dari ranting, batang, dan zat lain yang tidak diinginkan. Setelah itu Daun jeringau (*Acorus calamus* L) dicuci hingga bersih lalu lakukan perajangan dengan cara dipotong kecil-kecil untuk mempermudah pengeringan. Selanjutnya daun yang sudah dirajang, keringkan dengan cara diangin-anginkan, lalu Daun jeringau (*Acorus calamus* L) disimpan menggunakan wadah yang tertutup rapat (Hasan, 2015)

3.4.3 Pembuatan ekstrak etanol daun jeringau (*Acorus calamus* L)

Ekstrak etanol daun jeringau (*Acorus calamus* L) dibuat dengan metode maserasi. Perbandingan antara bahan dengan pelarut yang digunakan dalam maserasi yaitu 1:10. Menggunakan wadah yang tertutup dan berwarna gelap, Maserasi dilakukan selama 5 hari terlindung dari cahaya. Kemudian disaring menggunakan kertas saring, maserat ditampung lalu hasil ampasnya dimerasasi lagi sebanyak 2 kali dengan jumlah penyari yang sama. Hasil maserasi yang terkumpul

diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 50°C, 20 rpm sampai diperoleh ekstrak kental etanol daun jeringau.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak yang di proleh}}{\text{berat simplisia yang digunakan}} \times 100 \%$$

3.4.4 Skrining ekstrak

Masukkan 3 gram ekstrak daun jeringau (*Acorus calamus* L) dalam tabung reaksi lalu tambahkan dengan senyawa asam klorida pekat (HCl) sebanyak 3 tetes dan serbuk logam maksium (Mg) 2 mg hasil positif ditandai dengan perubahan warna merah,kuning atau jingga (Asmorowati, 2019)

3.4.5 Fraksinasi

1. Ekstrak etanol daun jeringau (*Acorus calamus* L) sebanyak 10 gram dilarutkan dengan aquadest sebanyak 100 ml dan dilarutkan dengan pelarut nonpolar (n-heksan) 100 ml kemudian masukan kedalam corong pisah lalu dikocok selama 30 menit hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan bawah (lapisan etanol-air) dan lapisan atas (lapisan n-heksan).
2. Lapisan etanol-air sisa fraksinasi n-heksan selanjutnya ditambahkan pelarut semi polar (etil asetat) 100 ml kemudian masukan kedalam corong pisah lalu dikocok dan diamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan bawah (etanol-air) dan lapisan atas (lapisan etil asetat).
3. Selanjutnya ketiga fraksi tersebut dievaporasi sehingga diperoleh tiga fraksi yaitu fraksi n-heksan (F1), fraksi etil asetat (F2), dan fraksi etanol air (F3) (Novia dkk., 2019)

3.4.6 Skrining fraksi flavonoid

Masukkan 3 gram ekstrak daun jeringau (*Acorus calamus* L) dalam tabung reaksi lalu tambahkan dengan senyawa asam klorida pekat (HCL) sebanyak 3 tetes dan serbuk logam maksium (Mg) 2 mg hasil positif ditandai dengan perubahan warna merah,kuning atau jingga (Asmorowati, 2019)

3.4.7 Penetapan Kadar Flavonoid Secara Spektrofotometri UV-Vis

a. Pembuatan baku induk kuersetin 100 ppm

Timbang 10 mg kuesertin lalu dilarutkan pada etanol 96% sampai larut. Kemudian masukan dalam labu takar 100 mL, tambahkan etanol sampai tanda batas atas (Ramadhani dkk, 2020).

b. Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin

Larutkan kuesertin 100 ppm diambil sebanyak 1 ml, kemudian ditambahkan dengan 1 ml AlCl₃ 10% dan 8 ml asam asetat 5%. Dilakukan pembacaan dengan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 400-500 nm (Ramadhani dkk, 2020).

c. Pembuatan kurva Standar kuersetin

Siapkan larutan standar kuersetin 100 ppm dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, dan pipet 1, 2, 3, 4, 5 ml setiap konsentrasi larutan standar kuersetin ke dalam labu ukur 50 mL. Kemudian ditambahkan 30 ml aquadest, 1ml AlCl₃ 10%, 1ml AlCl₃ 2% dan 1ml C₂H₂NaO₂ dan diencerkan dengan aquadest sampai garis batas dikocok ad homogen, kemudian diinkubasi selama 30 menit lalu diukur serapannya dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 431 nm (Ijazati Alfitroh dkk, 2024)

d. Penetapan kadar Flavonoid total

Timbang sebanyak 0,05 gram fraksi kental dilarutkan dengan etanol 96% sampai 50 ml. Kemudian larutan dipipet sebanyak 10 ml dimasukan kedalam labu ukur 50 ml kemudian ditambahkan aqua destilata kurang lebih 20 ml, 1 ml AlCl₃ 10%, 1 ml natrium asetat 1 M dan aquades sampai batas. Dikocok homogen kemudian biarkan selama waktu optimum, kemudian serapan diukur pada panjang gelombang maksimal. Absorbasi yang dihasilkan dimasukkan kedalam persamaan regresi dari kurva kuersetin. Pengujian dilakukan secara triplo. Kemudian dihitung flavonoid total dengan menggunakan rumus: (Farmakope Herbal Indonesia, 2017)

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

Keterangan:

F: Jumlah flavonoid metode AlCl₃

c: Kesetaraan Quersetin (μ g/ml)

v: Volume total ekstrak

f: Faktor pengeceran

m: Berat sampel (g)

e. Analisa data

Dari hasil pengukuran yang didapat data nilai absorbansi. Kemudian data yang didapat diolah dengan menggunakan rumusan berikut (Gusnedi, 2013)

Menentukan kadar flavonoid

$$y = bx + a$$

y :nilai absorbansi

x :kadar flavonoid

a,b :konstanta

Data yang diperoleh dari hasil penelitian di laboratorium selanjutnya akan diolah secara manual dan dianalisis secara deskriptif dalam bentuk tabel dan grafik.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriani, Natia, Nora Idiawati, dan Andi Hairil Alimudidin. 2016. "Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Akar Mentawa (*Artocarpus anisophyllus*) Terhadap Larva Artemia salina." *Jurnal Kimia Khatulistiwa* 5(1):58–64.
- Al-Jauhari, A. 2021. "Pedoman Teknologi Pananganan pasca panen Tanaman Obat." 44(1).
- Alta, Ulik, Yudi Arina, dan Suprayetno Suprayetno. 2022. "formulasi masker tradisional dari daun jeringau (*Acorus calamus L*) dan madu." *Babul Ilmi Jurnal Ilmiah Multi Science Kesehatan* 14(1):123–39. doi: 10.36729/bi.v14i1.819.
- Andhini, NN. 2017. "Uji aktifitas Antibakteri fraksi n-heksan, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun Binahong (*Anredera cordifiola*(Ten.)steenis)Terhadap Escherichia coli ATCC 25922. Universitas Setia Budi."
- Anonim. 2011. "Pedoman Umum Panen dan Pasca Panen Tumbuhan. Jakarta Perpustakaan Perguru."
- Anonim. 2014. "Peraturan Badan Pengawasan Obat dan Makanan No.7 Tahun 2014 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinis Secara In Vivo. Badan Pengawas Obat Dan Makanan RepublikIndonesia." 1–165.
- Asmorowati, Hani. 2019. "Penetapan kadar flavonoid total buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) dengan metode spektrofotometri UV-Vis." *Jurnal Ilmiah Farmasi* 15(2):51–63. doi: 10.20885/jif.vol15.iss2.art1.
- Astuti, Puspita, Rohama Rohama, dan Setia Budi. 2023. "Profil Kromatografi Dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Fraksi N-Heksan Daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis." *Journal Pharmaceutical Care and Sciences* 3(2):30–41. doi: 10.33859/jpcs.v3i2.237.
- Badriyah, Lailatul, dan Dewi Farihah. 2023. "Optimalisasi ekstraksi kulit bawang merah (*Allium cepa* L) menggunakan metode maserasi." *Jurnal Sintesis: Penelitian Sains, Terapan dan Analisisnya* 3(1):30–37. doi: 10.56399/jst.v3i1.32.
- Dalimunthe, cici indriani. 2016. "identifikasi dan uji metabolit sekunder bangun-bangun (*Coleus Ambisisus*) terhadap akar putih (*rigidoporus micropus*) di laboratorium." 34(2):189–200.
- Depkes RI. Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. Jakarta: Depkes RI; 2017.

- Gusnedi, Ratnawulan. 2013. "Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat." *Pillar of Physics*, 2:76–83.
- Hanani, E. 2014. "Analisis fitokimia.ECG."
- Harbone, J. 1987. "metode fitokimia : Chapman and Hall Ldt."
- Hasan, R. ... 2015. "pengaruh rimpang jeringau (*Acorus calamus* L) dalam beberapa pelarut organik terhadap aktivitas antioksidan antifungi secara IN VITRO." *Block Caving – A Viable Alternative?* 21(1):1–9.
- Hasibuan, Elliwati. 2015. "Karya tulis ilmiah ini telah disetujui oleh Kepala LaboratoriumTerpadu Kultur Sel dan Jaringan Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara." *Karya tulis ilmiah ini telah disetujui oleh Kepala LaboratoriumTerpadu Kultur Sel dan Jaringan Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara* 1–17.
- Ijazati Alfitroh, Dkk. 2024. "Identifikasi Dan Penetapan Kadar Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Etanol Daun Kopasanda (*Chromolaena Odorata* L) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis." *Jurnal Lmu Kesehatan* 36–40.
- Inorah., Prasetyo &. 2013. "Pengelolahan Tanaman Obat Bahan Simplisia." 155.
- Ipandi, Irwan, Liling Triyasmono, dan Budi Prayitno. 2016. "Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kajajahi (*Leucosyne capitellata* Wedd.)." *Jurnal Pharmascience* 5(1):93–100.
- Kamisnah. 2016. "Aktivitas Antioksidan Rumput Laut (*Halymenia durvillaei*) dengan pelarut Non polar, semi polar, dan polar. Universitas Airlangga,12–15."
- Kristijarti, A. Prima, dan Ariestya Arlene. 2012. "Isolasi Zat Warna Ungu pada Ipomoea batatas Poir dengan Pelarut Air." *Penelitian III*(1):1–31.
- Kurniawati, putri. 2017. "Determinan OF Flavonoid content on onion skin (*Allium cepa* L) 70% ethanol Ekstrak Using Maceration and microwa Ve Assisted eksracction method." *Universitas Nusantara PGRI Kediri* 01(2):1–7.
- Lidiawati, T. E., C. Saleh, dan Alimuddin A. 2018. "Sintesis Etil Asetat dari hasil Fermentasi kulit singkong (*manihot Esculenta* L) Dengan Asam Asetat Menggunakan Katalis Asam. Seminar nasional kimia." 1–5.
- Nisaa, Nur Rezky Khairun, Abd. Malik, dan Virsa Handayani. 2023. "Analisis Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Pisang Cavendish (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum*) Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis." *Jurnal Sains dan Kesehatan* 5(2):212–17. doi: 10.25026/jsk.v5i2.1810.

Novia, Devi, Yuska Noviyanti, dan Yansi Nove Anggraina. 2019. "identifikasi dan fraksinasi ekstrak akar tebu hitam (*saccharum officinarum* L) dengan metode kromatografi lapis tipis." *jurnal ilmiah farmasi stikes al-fatah Bengkulu* 3(1):18–23.

Patil, P. J., dan V. R. Patil. 2016. " Phytochemical and Toxicological Evaluation of *Acorus calamus* and *Argyreia speciosa* Leaves Extract ." *Research Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 8(3):121. doi: 10.5958/0975-4385.2016.00022.4.

Rahayu, Supiani, Rissa Vifta, dan Jatmiko Susilo. 2021. "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.) dari Kabupaten Lombok Utara dan Wonosobo Menggunakan Metode FRAP." *Generics: Journal of Research in Pharmacy* 1(2):1–9. doi: 10.14710/genres.v1i2.9836.

Ramadhani, Melati Aprilliana, Anita Kumala Hati, Novel Fibriani Lukitasari, dan Armin Hari Jusman. 2020. "Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) Dengan Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 96 %." *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product* 3(1):8–18. doi: 10.35473/ijpnp.v3i1.481.

Ramayani, S. L., R. P. Sandiyani, dan V. O. Dinastyantika. 2020. "Pengaruh perbedaan bagian tanaman terhadap kadar total fenolik dan kadar total flavonoid ekstrak talas (*Colocasia esculenta* L)." *Media Farmasi Indonesia* 15(2):1611–16.

Rifai, G., I. W. R. Widarta, dan K. A. Nocianitri. 2018. "Pengaruh jernis pelarut dan Rasio Bahan dengan Pelarut Terhadap Kandungan Senyawa fenolik dan Antioksidan Ekstrak Biji Alpukat (*persea americana* Mill) 7(2)."

Sa'adah, Hayatus, dan Henny Nurhasnawati. 2017. "perbandingan pelarut etanol dan air pada pembuatan ekstrak umbi bawang tiwai (*Eleutherine americana* Merr) menggunakan metode maserasi." *Jurnal Ilmiah Manuntung* 1(2):149–53. doi: 10.51352/jim.v1i2.27.

Sapitri, Rapika. 2019. "diajukan sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Sarjana (S1) pada Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Al-Ghfari." (Mill).

Saputra, Rendi. 2019. "'Spektrofotometer.' Journal of Chemical Information and Modeling." 53(9): 1689-99.

Saputri, Alip Desi Suyono, dan Muhammad Sa'ad. 2023. "Penetapan Kadar Fenolik dan Flvonoid Fraksi Daun Insulin (*Smallanthus sonchifolius*) Secara

- Spektrofotometri UV-VIS.” *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (PMJ)* 6(1):51–58. doi: 10.35799/pmj.v6i1.48197.
- Sholikha, Munawarohthus, Wahyuningtyas, dan Lia Puspitasari. 2023. “Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Tirosinase Oleh Ekstrak Etanol Daun Keladi Tikus (*Typhonium flagelliforme* (Lodd.) Blume) Secara In Vitro Tyrosinase Enzyme Inhibition Activity Test by Ethanol Extract of Taro Leaf (*Typhonium flagelliforme* (Lodd.) Blume) In.” *Jurnal Ilmu Kefarmasian* 16(1):1–6.
- Tiwari, Meenakshi, Virendra Bajpai, Amogh Sahasrabuddhe, Ashok Kumar, Rohit Sinha, Sanjay Behari, dan Madan Godbole. 2014. “Tiwari et al 2008.” 400:395–400.
- Ulung, G. 2014. *pusat studi Biofarmaka LPPM IPB, sehat alami dengan Herbal-250 Tanaman berkhasiat obat* Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama, P:171.
- Utomo, Suratmin. 2016. “Pengaruh Konsentrasi Pelarut (n-Heksana) terhadap Rendemen Hasil Ekstraksi Minyak Biji Alpukat untuk Pembuatan Krim Pelembab Kulit (Suratmin Utomo).” 5–8.
- Wahyuni, Ari, Abd Kadir, dan Ahmad Najib. 2012. “isolasi dan identifikasi komponen kimia fraksi n-Heksan daun jeringau (*Acorus calamus* Linn.).” *Jurnal Ilmiah As-Syifaa* 4(1):58–64. doi: 10.33096/jifa.v4i1.143.
- Wayan, A. S., Kusmiati, dan D. Handayani. 2017. “Antibacterial Activity and Fatty Acid Compounds Identification from Microalgae Lyngbya sp. Biopropal Industri, 8(2),99-107.”
- Widayanti, Elok, Jasmine Mar’ah Qonita, Retno Ikyanti, dan Nurma Sabila. 2023. “Pengaruh Metode Pengeringan terhadap Kadar Flavonoid Total pada Daun Jinten (*Coleus amboinicus* Lour).” *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education* 3(2):219–25. doi: 10.37311/ijpe.v3i2.19787.

