

**ANALISIS KADAR FLAVONOID FRAKSINASI ETIL
ASETAT SAWI TANAH (*Nasturtium Montanum*)
DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI VISIBLE**

PROPOSAL KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat

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



Disusun oleh:

ELIN AFRIANI

20131023

YAYASAN AL-FATAH

PROGRAM STUDI DIII FARMASI

SEKOLAH TINGGI KESEHATAN AL-FATAH

BENGKULU TAHUN 2022

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Elin Afriani

NIM : 20131023

Program Studi : D III Farmasi

Judul : Analisis Kadar Flavonoid Fraksinasi Etil Asetat Sawi Tanah
(*Nasturtium montanum*) Dengan Metode Spektrofotometri
Visible.

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah ini merupakan hasil karya sendiri dan sepengetahuan penulis tidak berisikan materi yang dipublikasi atau ditulis orang lain kecuali untuk bagian-bagian tertentu yang dipakai sebagai acuan.

Apabila terbukti pernyataan ini tidak benar, sepenuhnya menjadi tanggung jawab penulis.

Bengkulu, Desember 2022

Yang Membuat Pernyataan

Elin Afriani

LEMBAR PERSETUJUAN UJIAN PROPOSAL

PROPOSAL KARYA TULIS ILMIAH DENGAN JUDUL

ANALISIS KADAR FLAVONOID FRAKSINASI ETIL ASETAT SAWI

TANAH (*Nasturtium Montanum*) DENGAN METODE

SPEKTROFOTOMETRI VISIBLE

Oleh:

ELIN AFRIANI

20131023

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

Dewan Penguji:

Pembimbing I

Pembimbing II

Syauqul Jannah, M.Farm., Apt

NIDN : 0220029203

Elly Mulyani, M. Farm., Apt

NIDN : 0217108902

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga saya dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini tepat pada waktunya. Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Ahli Madya Farmasi di Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu. Dengan tidak mengurangi rasa hormat, penulis ucapkan terima kasih atas bantuan dan dukungannya kepada :

1. Ibu Densi Selpia Sopianti, M.Farm.,Apt Selaku Ketua Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Kota Bengkulu.
2. Bapak Drs. Djoko Triyono, Apt., MM Selaku Ketua Yayasan Al-fathah Sekolah Tinggi Al-Fatah Bengkulu.
3. Bapak Syauqul Jannah, M. Farm., Apt Selaku Pembimbing 1 yang telah tulus memberikan bimbingan dan arahan kepada saya dalam penyusunan Proposal Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini.
4. Ibu Elly Mulyani, M.Farm.,Apt, selaku Pembimbing 2 dan sekaligus Dosen Pembimbing Akademik yang telah tulus memberikan bimbingan dan arahan kepada saya dalam penyusunan Proposal Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini.

5. Ibu Herlina, M.Si selaku penguji Karya Tulis Ilmiah yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah.
6. Para dosen dan staf karyawan Sekolah Tinggi 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 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

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Sawi merupakan salah satu tanaman sayuran yang dibudidayakan di iklim sub-tropis, namun mampu beradaptasi dengan baik pada iklim tropis. Sawi pada umumnya banyak ditanam di dataran rendah, namun dapat pula di dataran tinggi. Pada saat ini, kebutuhan akan sawi semakin lama semakin meningkat seiring dengan peningkatan populasi manusia dan manfaat mengkonsumsi sawi bagi kesehatan. Sawi mempunyai nilai ekonomis tinggi (Sinica, 2016).

Tanaman sawi (*Nasturtium montanum*) memberikan banyak manfaat bagi kesehatan seperti meredakan gatal di tenggorokan bagi penderita batuk. Menyembuhkan sakit kepala, pembersih darah, meningkatkan fungsi ginjal, serta memperbaiki dan memperlancar pencernaan. Kandungan yang ada di dalam sawi adalah protein, lemak, karbohidrat, Ca, P, Fe, Vitamin A, Vitamin B, dan Vitamin C (Cahyono, 2015).

Flavonoid merupakan suatu senyawa metabolit sekunder yang terbentuk dari jalur sikimat dan diproduksi dari unit sinnamoil-CoA dengan perpanjangan rantai 3 malonil-CoA (Dewick, 2002). Selain itu, flavonoid memiliki potensi sebagai antioksidan, antiinflamasi dan antibakteri (Lipinski, 2011)

Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti sangat tertarik untuk melakukan skrining fitokimia terhadap daun sawi tanah, yang akan menjadi lanjutan untuk penetapan kadar ekstrak etanol dari sawi tanah. Sehingga penelitian ini diberikan judul “Analisis Kadar Flavonoid Fraksinasi Etil Asetat Sawi Tanah (*Nasturtium montanum*) dengan metode Spektrofotometri Uv-Visible.

1.2 .Batasan Masalah

Berdasarkan batasan masalah tersebut adapun batasan masalah yang terdiri dari :

- a. Sampel yang digunakan adalah sawi tanah (*Nasturtium montanum*).
- b. Metode pengambilan ekstrak fraksinasi etil asetat sawi tanah (*Nasturtium montanum*) yaitu menggunakan metode fraksinasi.
- c. Penelitian ini menggunakan uji kromatografi lapis tipis untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid.
- d. Penelitian ini hanya melakukan penetapan kadar senyawa flavonoid herba sawi tanah (*Nasturtium montanum*) dengan menggunakan spektrofotometri UV-Visible

1.3. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini antara lain, sebagai berikut :

- a. Apakah fraksinasi etil asetat ekstrak etanol sawi tanah (*Nasturtium montanum*) mengandung flavonoid dengan metode kromatografi lapis tipis?

- b. Berapa kadar senyawa flavonoid dari fraksinasi etil asetat ekstrak etanol sawi tanah (*Nasturtium montanum*) menggunakan spektrofotometri UV-Visible?

1.4. Tujuan Penelitian

- a. Untuk mengetahui kandungan flavonoid dari fraksinasi etil asetat ekstrak etanol sawi tanah (*Nasturtium montanum*) dengan metode kromatografi lapis tipis.
- b. Untuk mengetahui berapa kadar total flavonoid ekstrak fraksinasi etil asetat ekstrak etanol sawi tanah (*Nasturtium montanum*) dengan metode Spektrofotometri Uv-Visible.

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1. Bagi Akademik

Penelitian ini diharapkan bisa menjadi wawasan dan menambah ilmu pengetahuan untuk perkembangan akademik dan bisa digunakan sebagai referensi untuk mahasiswa STIKES AL-FATAH Bengkulu.

1.5.2. Bagi Peneliti Lanjutan

Sebagai sumber data ilmiah atau rujukan untuk peneliti lanjutan, peneliti lainnya dan mahasiswa tentang uji flavonoid yang terdapat pada sawi tanah (*Nasturtium montanum*).

1.5.3. Bagi Masyarakat

Sebagai sumber informasi untuk masyarakat tentang kandungan flavonoid yang terdapat pada fraksinasi etil asetat sawi tanah (*Nasturtium montanum*).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kajian Teori

2.1.1. Tanaman Sawi Tanah (*Nasturtium montanum*)



*Gambar 1. Tanaman Sawi Tanah (*Nasturtium montanum*)*

A. Deskripsi Sawi Tanah (*Nasturtium montanum*)

Sawi tanah (*Nasturtium montanum*) adalah herba semusim yang bebatang tegak yang mencapai 55cm. Ia juga termasuk flora indonesia. Spesies ini berkerabat dengan selada air, yang berasal dari genus yang sama. Tumbuhan ini

juga dikenal dengan sebutan sawi lemah, sawi taneuh, jukut sakti, rom taroman, tempuyung, kemandilan, dan maru-maru (Dalimartha, Setiawan 2008).

B. Klasifikasi tumbuhan Sawi tanah (*Nasturtium montanum*)

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Sub Kingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Sub Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Sub Kelas	: <i>Dileniidae</i>
Ordo	: <i>Capparales</i>
Familia	: <i>Brassicaceae</i>
Genus	: <i>Nasturtium</i>
Spesies	: <i>Nasturtium montanum</i>

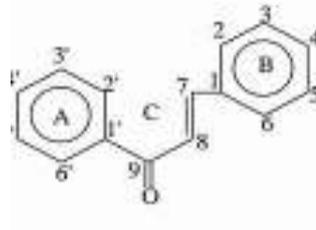
C. Kandungan Sawi Tanah (*Nasturtium montanum*)

Menurut penelitian Maulidina dkk (2015), sawi tanah (*Nasturtium montanum*) mengandung golongan metabolit sekunder flavanoid, fenol, alkaloid, steroid, triterpenoid dan antioksidan.

a) Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar di alam. Banyaknya senyawa flavonoid ini karena banyaknya jenis tingkat hidroksilasi, alkoksilasi dan

glikosilasi pada strukturnya. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon yang membentuk susunan C₆-C₃-C₆.



Gambar 2. Struktur Dasar Senyawa Flavonoid

Lebih dari 2000 flavonoid yang berasal dari tumbuhan tumbuhan telah diidentifikasi, diantaranya senyawa antosianin, flavonol, dan flavon. Antosianin (dari bahasa Yunani anthos = bunga, kyanos, biru tua) adalah pigmen berwarna yang umumnya terdapat di bunga berwarna merah, ungu, dan biru. Pigmen ini juga terdapat di berbagai bagian tumbuhan lain, misalnya buah tertentu, batang, daun dan bahkan akar. Flavonoid sebagian besar terhimpun dalam vakuola sel tumbuhan walaupun tempat sintesisnya ada di luar vakuola (Julianto, 2018).

Secara individual kelarutan senyawa flavonoid sangat bermacam-macam, sesuai dengan golongan dan substitusi yang terjadi. Flavonoid merupakan senyawa polar, karena mempunyai gugus hidroksi yang tak tersulih atau suatu gula, maka umumnya flavonoid cukup larut dalam pelarut seperti methanol, air, butanol, etanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetil formida (Mursyidi, 1990).

b) 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 dan beberapa kecil. Alkaloid khas yang berasal dari sumber tumbuhan, senyawa ini bersifat basa, mengandung satu atau lebih atom nitrogen (biasanya dalam cincin heterosiklik) (Julianto, 2018).

c) Fenol

Fenol merupakan senyawa yang hanya memiliki satu gugus hidroksil pada penyusunnya. Fenol termasuk senyawa metabolit sekunder yang merupakan turunan dari pentosa fosfat, shikimate serta fenilpropanoid yang terdapat pada tanaman (Nair *et al*, 2008).

d) Triterpenoid

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang kebanyakan berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat (Harborne, 1996).

e) Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif adalah radikal bebas, senyawa ini terbentuk di dalam tubuh dan dipicu oleh bermacam-macam faktor (Winarsi, 2007).

Sadikin (2001) berpendapat bahwa serangan radikal bebas terhadap molekul sekelilingnya akan menyebabkan terjadinya reaksi berantai, yang kemudian menghasilkan senyawa radikal baru. Dampak reaktivitas senyawa radikal bebas mulai dari kerusakan sel atau jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif, hingga kanker. Oleh karena itu tubuh memerlukan substansi penting, yakni antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dengan meredam dampak negatif senyawa radikal bebas tersebut (Karyadi, 1997).

f) Steroid

Steroid merupakan terpenoid lipid yang dikenal dengan empat cincin kerangka dasar karbon yang menyatu. Struktur senyawanya pun cukup beragam. Perbedaan tersebut disebabkan karena adanya gugus fungsi teroksidasi yang terikat pada cincin dan terjadinya oksidasi cincin karbonnya (Samejo dkk., 2013).

D. Manfaat sawi tanah (*Nasturtium montanum*)

Tanaman Sawi tanah (*Nasturtium montanum*) secara historis digunakan sebagai obat radang saluran nafas, batuk berdahak, tuberkulosis, panas, campak, sakit tenggorokan, rematik, hepatitis, bisul, memar, luka dan sakit kepala (Sudirga, 2012). Dianggap efektif dalam menjaga vitalitas, mencegah dan mengobati berbagai penyakit, dan meningkatkan kesehatan kekebalan secara keseluruhan. Sawi tanah (*Nasturtium montanum*) digunakan dalam perawatan perut kembung, diare, demam, dan pembengkakan, dalam pengobatan batuk dan penyakit kulit kronis. Sawi tanah (*Nasturtium montanum*) memiliki berbagai aktivitas farmakologis yang berkaitan dengan respon imunologis seperti peradangan, nyeri, infeksi, penyembuhan luka, penyakit hati, asma, dan bronchitis

(Saraphanchotiwitthayaa dan Sripalakit, 2015). Dan mengobati demam, panas, batuk, disentri, hepatitis, bisul, digigit ular, susah tidur (Kartika, 2017). Menurut Bashar dan Ibrahim (2014) Sawi tanah (*Nasturtium montanum*) dapat digunakan untuk mengobati beberapa penyakit gastrointestinal.

2.1.2. Ekstraksi

A. Tinjauan Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai. Kemudian semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2014).

Berdasarkan sifatnya ekstrak dapat dibagi menjadi empat, yaitu ekstrak encer, ekstrak kental, ekstrak kering, dan ekstrak cair.

1. Ekstrak encer (*Extractum tenue*)

Merupakan sediaan yang memiliki konsistensi seperti cairan madu yang mudah mengalir.

2. Ekstrak kental (*Extractum spissum*)

Merupakan sediaan kental yang apabila dalam keadaan dingin dan kecil kemungkinan bisa dituang. Kandungan airnya berjumlah sampai dengan 30%.

3. Ekstrak kering (*Extractum siccum*)

Merupakan sediaan yang memiliki konsistensi kering dan mudah dihancurkan dengan tangan. Melalui penguapan dan pengeringan

sisanya akan terbentuk suatu produk, yang sebaiknya memiliki kandungan lembab tidak lebih dari 5%.

4. Ekstrak cair (*Extractum fluidum*)

Merupakan sediaan dari simplisia nabati yang mengandung etanol sebagai pelarut atau sebagai pengawet atau sebagai pelarut dan pengawet. Jika tidak dinyatakan lain pada masing-masing monografi tiap ml ekstrak mengandung bahan aktif dari 1 g simplisia yang memenuhi syarat (Depkes RI, 2014).

Perhitungan randemen ekstrak :

$$\% \text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{bobot ekstrak yang dihasilkan}}{\text{bobot awal simplisia}} \times 100\%$$

B. Jenis – jenis ekstrak

Ekstrak dapat dibedakan berdasarkan konsistensinya, komposisi dan senyawa aktif yang terkandung di dalamnya:

a) Ekstrak encer (*Extractum tenue*)

Ekstrak ini bertekstur cair dan memiliki konsistensi yang mudah untuk dituang.

b) Ekstrak kental (*Extractum spissum*)

Extractum siccum Merupakan ekstrak cair yang sebagian besar pelarutnya diuapka sehingga kandungan pelarutnya tersisa 10 % dan sulit untuk dituang.

c) Ekstrak kering (*Extractum siccum*)

Ekstrak ini mempunyai konsistensi kering.

C. Metode Ekstraksi

Cara penyarian atau metode ekstraksi yang umum digunakan antara lain maserasi. Metode penyarian yang akan digunakan tergantung dari wujud dan kandungan bahan yang akan disari. Selain itu, pemilihan metode penyarian disesuaikan dengan kepentingan untuk memperoleh kandungan kimia yang diinginkan.

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia dihaluskan (umumnya dipotong-potong atau berupa serbuk halus), disatukan dengan bahan pengekstraksi. Selanjutnya rendaman tersebut disimpan ditempat yang terlindung cahaya langsung selama 5 hari sambil sering dikocok. Kemudian disaring, diperas, dan ampasnya dicuci dengan cairan penyari. Hasil ekstraksi disimpan sejuk selama beberapa hari, lalu cairan dituang dan disaring.

Terdapat dua tipe maserasi yaitu sederhana, ultrasonik dan kinetik atau pengadukan. Maserasi sederhana dapat dilakukan dengan merendam bagian simplisia secara utuh atau yang sudah digiling kasar dengan pelarut dalam bejana tertutup, yang dilakukan pada suhu kamar selama sekurang-kurangnya tiga hari dengan pengadukan berulang kali sampai semua bagian tanaman dapat melarut dalam cairan pelarut. Proses ekstraksi dihentikan ketika telah tercapai kesetimbangan senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Selanjutnya campuran di saring dan ampasnya diperas agar diperoleh bagian cairnya saja. Cairan jernih disaring atau didekantasi dan dibiarkan selama dalam waktu tertentu (Mukhairini, 2014).

2.1.3. Skrining Fitokimia dan Metabolit Sekunder

Skrining fitokimia merupakan suatu tahap awal untuk mengidentifikasi kandungan suatu senyawa dalam simplisia atau tanaman yang akan diuji. Fitokimia atau kimia tumbuhan mempelajari anekaragam senyawa organik yang di bentuk dan ditimbun oleh tumbuhan, yaitu mengenai struktur kimianya, biosintesisnya, penyebarannya secara ilmiah serta fungsi biologinya. Senyawa senyawa kimia yang merupakan hasil metabolisme sekunder pada tumbuhan sangat beragam dan dapat diklasifikasikan dalam beberapa golongan senyawa bahan alam, yaitu saponin, steroid, tanin, flavonoid dan alkaloid (Dewati sari *et al*, 2018) .

Metabolisme merupakan seluruh perubahan kimia yang terjadi dalam sel hidup yang meliputi pembentukan dan penguraian senyawa kimia. Metabolit sekunder adalah senyawa yang dihasilkan dalam jalur metabolisme lain yang dibutuhkan tapi dianggap tidak penting peranannya dalam pertumbuhan walaupun suatu tumbuhan metabolit sekunder peranan bagi tumbuhan dalam jangka waktu yang panjang, seringkali sebagai tujuan pertahanan, serta memberikan karakteristik yang khas dalam bentuk senyawa warna. Hormon tumbuhan yang merupakan metabolit sekunder sering kali digunakan untuk mengatur aktivitas metabolisme sel dan pertumbuhan suatu tumbuhan. Metabolit sekunder membantu tumbuhan mengelola sebuah sistem keseimbangan yang rumit dengan lingkungan, beradaptasi mengikuti kebutuhan lingkungan. Metabolisme sekunder menghasilkan sejumlah besar senyawa khusus (kurang lebih 200.000 senyawa) yang secara fungsi tidak memiliki peranan dalam mebantu pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan

namun diperlukan oleh tumbuhan untuk bertahan dari keadaan lingkungannya (Julianto, 2019).

2.1.4. Fraksinasi

Fraksinasi pada prinsipnya adalah proses penarikan senyawa pada suatu ekstrak dengan menggunakan dua macam pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang umumnya dipakai untuk fraksinasi adalah n-heksan, etil asetat, dan metanol. Untuk menarik lemak dan senyawa non polar digunakan nheksan, etil asetat untuk menarik senyawa semi polar, sedangkan methanol untuk menarik senyawa-senyawa polar. Dari proses ini dapat diduga sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan. Sebagaimana diketahui bahwa senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang non polar sedangkan senyawa senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar juga (Mutiasari, 2012).

2.1.5. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi merupakan suatu teknik pemisahan yang menggunakan fase diam (*stationary phase*) dan fase gerak (*mobile phase*). Kromatografi memisahkan dan menguantifikasikan berbagai macam komponen yang kompleks baik organik maupun anorganik (Rohman, 2007). Pada prinsipnya KLT dilakukan berdasarkan pada penggunaan fasa diam untuk menghasilkan pemisahan yang lebih baik. Fasa diam yang biasa digunakan dalam KLT adalah serbuk silika gel, alumina, tanah diatomeda selulosa.

Menurut Anwar (1994), adapun cara kerja dari KLT yakni larutan cuplikan sekitar 1% diteteskan dengan pipet mikro pada jarak 1-2 cm dari batas plat. Setelah eluen atau pelarut dari noda cuplikan menguap, plat siap untuk dikembangkan dengan fasa gerak (*eluen*) yang sesuai hingga jarak eluen dari batas plat mencapai 10-15 cm. Mengeringkan sisa eluen dalam plat dengan didiamkan pada suhu kamar. Noda pada plat dapat diamati langsung dengan menggunakan lampu UV atau dengan menggunakan pereaksi semprot penampak warna. Setelah noda dikembangkan dan divisualisasikan, identitas noda dinyatakan dengan harga Rf (*retardation factor*) (Harborne, 1987).

Tujuan mendapatkan identitas noda dengan harga Rf untuk mencari pelarut untuk kromatografi kolom, analisis fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom, menyigi arah atau perkembangan reaksi seperti hidrolisis atau metilasi, identifikasi flavonoid secara kromatografi kolom dan isolasi flavonoid murni skala kecil.

Fasa diam pada KLT mempunyai beberapa penyerap yang digunakan, diantaranya yaitu:

a. Silika gel

Merupakan penyerap yang paling banyak dipakai dan bersifat agak sedikit asam, maka asam agak sedikit mudah dipisahkan dengan meminimalkan reaksi asam-basa antara penyerap dan senyawa yang dipisahkan.

b. Alumina

Bersifat sedikit basa dan sering digunakan untuk memisahkan basa dengan meminimumkan reaksi asam-basa.

c. Selulosa

Merupakan bahan penyangga lapisan zat cair yang dipakai dalam Kromatografi Cair-Cair (KCC), digunakan untuk memisahkan senyawa polar seperti asam amino, karbohidrat, nukleotida dan berbagai senyawa hidrofil. lainnya. Untuk pendeteksian senyawa yang dipisahkan dapat digunakan berbagai macam cara. Deteksi yang paling sederhana adalah jika senyawa menunjukkan penyerapan di daerah UV gelombang pendek (254 nm) atau jika senyawa dapat dieksitasi ke fluoresensi radial UV gelombang panjang (365 nm). Jika senyawa tidak dapat menyerap sinar UV maka pendeteksian dapat dilakukan dengan menggunakan reaksi kimia baik dengan pemanasan atau tanpa pemanasan.

Keuntungan kromatografi lapis tipis adalah dapat memisahkan senyawa yang sangat berbeda seperti senyawa organik alam dan senyawa organik sintesis, kompleks organik dan anorganik serta ion anorganik dalam waktu singkat menggunakan alat yang tidak terlalu mahal. Metode ini kepekaannya cukup tinggi dengan jumlah cuplikan beberapa mikrogram. Kelebihan metode ini jika dibandingkan dengan kromatografi kertas adalah dapat digunakan pereaksi asam sulfat pekat yang bersifat korosif, kelemahannya adalah harga RF yang tidak tetap

Nilai R_f berguna untuk identifikasi senyawa, pada senyawa murni dapat di bandingkan dengan nilai R_f dari senyawa standar. Nilai R_f dapat didefinisikan

sebagai jarak yang ditempuh oleh senyawa dari titik asal dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut dari titik asal. KLT dapat digunakan untuk perhitungan kualitatif dalam pengujian sampel dengan menggunakan nilai Rf dimana nilai Rf dinyatakan dengan rumus :

$$R_f = \frac{\text{jarak senyawa yang terelusi}}{\text{jarak pelarut yang mengelusi}}$$

2.1.5. Spektrofotometri

Spektrofotometri UV-Visible adalah alat yang digunakan untuk mengukur serapan yang di hasilkan dari interaksi kimia antara radiasi elektromagnetik 15 dengan molekul atau atom dari suatu zat kimia pada daerah UV-Visible (FI edisi IV 1995). Spektrofotometri Sinar Tampak (UV-Visible) adalah pengukuran energi cahaya oleh suatu sistem kimia pada panjang gelombang tertentu (Day, 2002). Sinar ultraviolet (UV) mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm, dan sinar tampak mempunyai panjang gelombang 400-750 nm.

Pengukuran spektrofotometri menggunakan alat spektrofotometer yang melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometer UV-Visible lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif. Spektrum UV-Visible sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer (Rohman, 2007).

Prinsip dari spektrofotometri UV-Visible adalah mengukur jumlah cahaya yang diabsorpsi atau ditransmisikan oleh molekul-molekul di dalam larutan. Ketika

panjang gelombang cahaya ditransmisikan melalui larutan, sebagian energi cahaya tersebut akan diserap (diabsorpsi). Besarnya kemampuan molekul-molekul zat terlarut untuk mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu dikenal dengan istilah absorbansi (A), yang setara dengan nilai konsentrasi larutan tersebut dan panjang berkas cahaya yang dilalui (biasanya 1 cm dalam spektrofotometri) ke suatu point dimana presentase jumlah cahaya yang ditransmisikan atau absorpsi diukur dengan phototube (Susanti, 2010).

Spektrofotometri UV-Visible dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Pada umumnya sampel harus diubah menjadi suatu larutan yang jernih Untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang dipakai antara lain:

- 1) Harus melarutkan sampel dengan sempurna.
- 2) Pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel)
- 3) Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis Kemurniannya harus tinggi (Suhartati, 2017)



Gambar 3. Spektrofotometri

Secara garis besar Spektrofotometer terdiri dari beberapa bagian yaitu :

A. Sumber sumber lampu

Lampu deuterium digunakan untuk daerah UV dengan panjang dari 200-400nm. Sementara itu lampu halogen 1 kuarsa atau lampu tungsten digunakan untuk daerah visible (pada panjang gelombang antara 400-800 nm).

B. Monokromator

Digunakan untuk memperoleh sumber sinar yang monokromatis, alatnya dapat berupa prisma ataupun mengarahkan sinar monokromatis yang diinginkan dari hasil penguraian.

Fungsi: sebagai penyeleksi panjang gelombang yaitu cahaya.

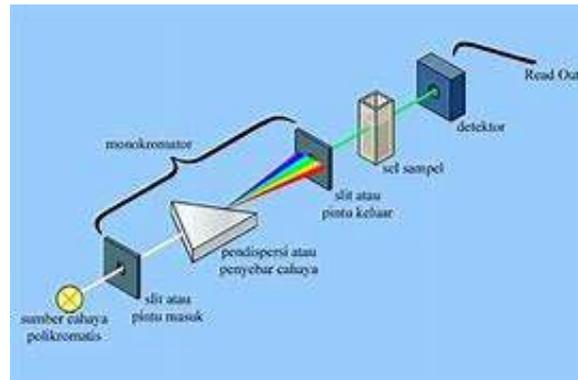
C. Kuvet

Pada pengukuran daerah hambatan tampak, kuvet kaca atau 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 10 nm, tetapi lebih kecil ataupun yang lebih besar dapat digunakan. Sel biasa digunakan berbentuk persegi, tetapi bentuk pelarut organik, sel yang baik adalah kuarsa atau gelas hasil leburan yang homogenya.

D. Detektor

Peranan detektor penerima adalah memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai gelombang.

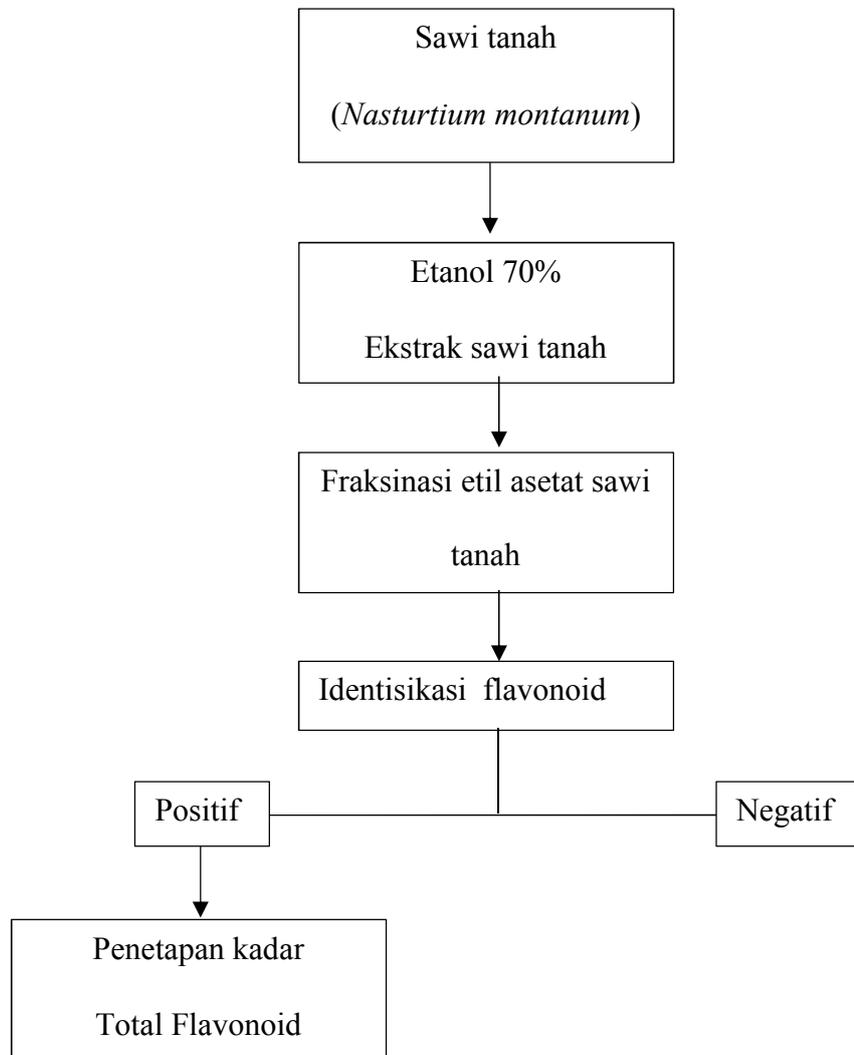
Fungsi : Mengangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik (Kristianingrum, 2014).



Gambar 4. Komponen Penyusun Spektrofotometri

2.2.Kerangka Konsep

Kerangka konsep dalam penelitian ini dapat dilihat pada gambar



Gambar 5.Kerangka Konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Kimia dan Laboratorium Fitokimia Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Kota Bengkulu bulan Desember 2022 sampai Juni 2023.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Peralatan yang digunakan antara lain, seperangkat alat *rotary evaporator* (BIOBASE), neraca analitik (SHIMADZU), batang pengaduk, serbet, erlemeyer, labu ukur, corong pisah, kertas saring, bejana kromatografi lapis tipis, plat silica 60 F254, mikropipet, spektrofotometeri UV-Vis (SHIMADZU).

3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sawi tanah, etanol 70%, etanol 96%, Quercetin, aquadest, etilasetat, asam asetat gasial, n-butanol, n-heksan, aluminium klorida 10%.

3.3. Prosedur Kerja Penelitian

3.3.1. Verifikasi Tanaman

Verifikasi bertujuan untuk mengetahui keaslian identitas dari tanaman yang akan digunakan pada penelitian yaitu Sawi Tanah (*Nasturtium montanum*). Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Bengkulu.

3.3.2. Preparasi sampel

Sampel atau bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah herba sawi tanah (*Nasturtium montanum*), bahan yang digunakan diambil pada daerah kota Bengkulu. Bagian tumbuhan yang digunakan adalah seluruh tumbuhan yang berada di atas tanah, tidak termasuk akar dan tumbuhan yang diambil yang masih segar. Sampel yang telah terkumpul dicuci bersih selanjutnya dilakukan sortasi kering. Dibersihkan selanjutnya diangin-anginkan untuk dijadikan serbuk simplisia. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air dengan cara dianginkan atau tidak dipanaskan dengan sinar matahari langsung. Sortasi kering dilakukan untuk memilih sampel yang telah kering bebas dari kotoran dan kerusakan. Setelah itu dilakukan perajangan untuk memperluas permukaan herba sawi tanah guna meningkatkan bidang kontak antara cairan pelarut dengan simplisia. (Maulidina, 2015).

3.3.3. Prosedur Ekstraksi

A. Maserasi

Langkah-langkah ekstraksi secara maserasi (Sulaiman dan Suriani, 2016): Sawi tanah (*Nasturtium montanum*) di cuci dengan air mengalir lalu dikering anginkan. Sawi tanah (*Nasturtium montanum*) dihaluskan dan ditimbang sebanyak 250 gram kemudian dimasukkan ke dalam botol maserasi yang berwarna gelap. Tambahkan pelarut 2 liter etanol 70% hingga sampel terendam seluruhnya dan ada selapis etanol diatasnya. Biarkan selama 5 hari di tempat gelap terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk atau dikocok. Pengadukan atau pengocokan dilakukan minimal tiga kali dalam sehari selama 15 menit. Setelah 5 hari saring cairan penyari dan ampasnya diperas dan ditampung ke wadah lain (filtrat 1). Sedangkan ampas di remaserasi dengan penambahan etanol 1 liter etanol 70% selama 2 hari. Setelah hari ke-2 dilakukan penyaringan dengan kertas saring, lakukan hal yang sama pada proses remaserasi. kemudian hasil filtrat yang diperoleh dicampur dengan filtrat 1. Setelah itu hasil maserasi dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapat ekstrak kental dari sawi tanah (*Nasturtium montanum*).

B. Fraksinasi

Ekstrak etanol 10 gram dilarutkan dengan etanol 10 ml dan air suling sebanyak 20 ml. kemudian dipartisi dengan dengan 30 ml pelarut n-heksana dalam corong pisah dan ekstrak n-heksana diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental n-heksana. Dengan menggunakan jumlah pelarut yang sama selanjutnya residu dipartisi dengan pelarut etil asetat. Setelah itu ekstrak etil asetat

dan ekstrak air diuapkan pelarutnya hingga diperoleh ekstrak kental etil asetat dan air (Ritna, 2016).

3.3.4. Prosedur Pengujian

A. Kromatografi Lapis Tipis

Dilakukan dengan cara baku kuersetin dan fraksasi etil asetat ekstrak sawi tanah ditotolkan pada plat silika gel GF254. Dielusi menggunakan eluen nbutanol: asam asetat : air (4:1:5). Bercak pada plat diamati secara visual, kemudian diamati kembali bercak di bawah sinar UV. Flavonoid akan berfluoresens biru, kuning, atau hijau tergantung strukturnya (Hayati, 2010).

$$R_f = \frac{\text{jarak senyawa yang terelusi}}{\text{jarak pelarut yang mengelusi}}$$

B. Penetapan kadar flavonoid dengan metode Spektrofotometri Uv-Visible

Penelitian ini mengacu pada penelitian Nurmila dkk (2019),

1. Pembuatan Larutan Baku Induk Kuersetin 1000 ppm

Ditimbang sebanyak 25 mg baku standar kuersetin dilarutkan dengan 25 mL etanol 96%.

2. Pembuatan Larutan Baku Kerja Kuersetin 100 Ppm

Larutan baku induk dipipet 1 mL dicukupkan volumenya sampai 10 mL untuk 100 ppm.

3. Penentuan Panjang Gelombang

Pengukuran dilakukan panjang gelombang pada 400 – 800 nm (Rachmawati, 2017).

4. Pembuatan Larutan Seri Konsentrasi

Dari larutan standar kuersetin 100 ppm dibuat menjadi beberapa seri konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Dari masing-masing larutan standar kemudian dipipet sebanyak 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1 mL. Pipet 5,6 mL aquadest, 2 mL AlCl₃ 10% dan 2 mL asam asetat glasial dan diencerkan dengan aquadest sampai tanda batas. Dikocok homogen lalu dibiarkan selama waktu optimum, diukur absorbannya pada panjang gelombang 424 nm.

5. Penetapan Kadar Flavonoid Dalam Ekstrak

Sebanyak 25 mg fraksinasi etil asetat kental dilarutkan kedalam etanol 96% sampai 25 mL. kemudian larutan dipipet 5 ml dari masing-masing ekstrak ke dalam labu ukur 25 mL lalu. Lalu 1 mL dan dicukupkan volumenya sampai 10 ml. Kemudian tambahkan 3 ml etanol 96%, 0,2 AlCl₃, 0,2 ml asam asetat glasial, dan 5,6 aquades. Dikocok homogen lalu dibiarkan selama waktu optimum, lalu serapan diukur pada panjang gelombang maksimal. Absorban yang dihasilkan dimasukkan ke dalam persamaan regresi dari kurva standar kuersetin, pnegujian di lakukan secara triplo.

3.4. Analisa Data

Untuk menghitung kadar flavonoid yang terdapat pada fraksinasi etil asetat ekstrak etanol sawi tanah dapat dihitung dari nilai absorbansi yang didapat dari 6 konsentrasi kuersetin, dengan memasukkan ke dalam persamaan regresi linier yaitu:

$$y = a + bx$$

keterangan :

y = serapan (absorbansi)

a = intersep (titik potong kurva terhadap sumbu y)

b = kemiringan (slope) kurva linier

x = konsentrasi (ppm)

Kemudian dihitung flavonoid total dengan rumus :

Keterangan :

F = Jumlah flavonoid

C = Kesetaraan kuersetin (ppm)

V = Volume total ekstrak

f = faktor pengenceran

m = Berat sampel (g)

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