

**IDENTIFIKASI DAN PENETAPAN KADAR ALKALOID
DARI EKSTRAK ETANOL DAUN LEMPIPI
(*Pergularia brunonianawigh & Arn*) MENGGUNAKAN
METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-Vis**

KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat

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



Oleh:

Yolanda Prenty

21141074

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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang betanda tangan di bawah ini adalah :

Nama : Yolanda Prenty

NIM : 21141074

Program Studi : Diploma (DIII) Farmasi

Judul : Identifikasi Dan Penetapan Kadar Alkaloid Dari Ekstrak
Etanol Daun Lempipi (*Pergularia bramoniana wigh & Arn*)
Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis

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, Juli 2024



Yolanda Prenty

LEMBAR PENGESAHAN

KARYA TULIS ILMIAH DENGAN JUDUL
IDENTIFIKASI DAN PENETAPAN KADAR ALKALOID DARI EKSTRAK
ETANOL DAUN LEMPIPI (*Pergularia brunonlanawigh & Ara*)
MENGGUNAKAN
METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

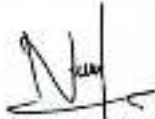
Oleh:

Yolanda Prenty
21141074

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

Pada Tanggal 30 Agustus
2024

Pembimbing I



Nurwani Purnama Aji M.Farm., Apt
NIDN.0208028801

Pembimbing II



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

Penguji



Yuska Novivandy, M.Farm., Apt
NIDN.0212118201

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Motto:

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan. Sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan.”

“Q.S Al-Insyirah, 94: 5-6”

“I feel like the possibility of all those possibilities being possible is just another possibility that can possibly happen.”

-Mark Lee-

“Do things what you want to do, do the things you thought were right, do the things you like. And if what you want to do doesn’t work out, just keep going until you can.”

-Na Jaemin-

Persembahan:

Karya Tulis Ilmiah Ini penulis persembahkan kepada:

- Allah SWT, yang telah memberikan nikmat kesehatan, kekuatan, kelancaran, dan segala kemudahan.
- Kedua orang tua saya Ayahanda Sabudin dan Ibunda Liti Suharti yang selalu memberikan do’a, semangat, cinta dan kasih sayang, serta materi demi keberhasilan dan masa depan saya.
- Kakak saya Elisyah Crismonica dan Adik saya Wahyu Ferizan yang senantiasa memberikan semangat dan dorongan kepada saya untuk menyelesaikan tugas akhir ini.
- Diri saya sendiri, terimakasih sudah bertahan dan berjuang sejauh ini. Terimakasih tetap memilih hidup dan berusaha walau seringkali merasa tertinggal atas segala pencapaian. Bahagialah dimanapun kamu berada, Untuk diriku “apapun kurang dan lebih mu mari merayakan sendiri”
- Untuk pembimbing I Ibu Nurwani Purnama Aji, M.Farm.,Apt dan Untuk pembimbing II Ibu Devi Novia, M.Farm.,Apt dan Untuk Penguji Ibu Yuska

Noviyanty, M,Farm.,Apt., terimakasih telah meluangkan waktu dan tenaga untuk membimbing saya dalam menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.

- Teman seperjuangan Nurbayu Rezky Rahmadani, Reffi Tri Andayani, Sindy Oktarina, dan Kevin Putra Hanafi terimakasih sudah selalu membantu dalam proses penyelesaian Karya Tulis Ilmiah ini maupun diluar hal ini terimakasih banyak. Dan seluruh teman kelas C1 D3 Farmasi yang sudah berjuang bersama selama pendidikan. Semoga kalian Sukses selalu teman.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (KTI) yang berjudul : **IDENTIFIKASI DAN PENETAPAN KADAR ALKALOID DARI EKSTRAK ETANOL DAUN LEMPIPI (*Pergularia brunonianawigh & Arn*) MENGGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-Vis** 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. Bapak Drs. Djoko Triyono, Apt.,MM Selaku Ketua Yayasan Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu.
2. Ibu Yuska Noviyanty, M.Farm.,Apt Selaku Ketua Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu.
3. Ibu Nurwani Purnama Aji, M.Farm.,Apt Selaku Pembimbing 1 yang telah tulus memberikan bimbingan dan arahan kepada saya dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini.
4. Ibu Devi Novia, M.Farm.,Apt Selaku Pembimbing 2 yang telah tulus memberikan bimbingan dan arahan kepada saya dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini.
5. Ibu Yuska Noviyanti, M.Farm.,Apt Selaku Penguji

6. Para dosen dan staf karyawan Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu yang telah memberikan ilmu pengetahuan kepada penulis selama menempuh pendidikan di Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu.
7. Rekan-rekan 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, Juli 2024

Penulis

Yolanda Prenty

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	Error! Bookmark not defined.
LEMBAR PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR TABEL	xii
INTISARI	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	15
1.1. Latar Belakang	15
1.2. Batasan Masalah.....	16
1.3. Rumusan Masalah	16
1.4. Tujuan Penelitian	16
1.5. Manfaat Penelitian	17
1.5.1. Bagi Akademik	17
1.5.2. Bagi Peneliti Lanjutan.....	17
1.5.3. Bagi Instansi/Masyarakat	17
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	18
2.1. Klasifikasi Tanaman.....	18
2.1.1. Taksonomi.....	18
2.1.2. Morfologi Tanaman	18
2.1.3. Kandungan Daun Lempipi (<i>Pergularia brunoniana wigh&Arn</i>)	19
2.2. Simplisia.....	21
2.2.1. Jenis jenis simplisia.....	21
2.2.2. Proses Pembuatan Simplisia	22

2.3. Ekstrak	24
2.3.1. Pengertian Ekstrak Dan Ekstraksi	23
2.3.2. Tujuan Ekstraksi	23
2.3.3. Jenis Jenis Metode Ekstrak	24
2.3.4. Ekstraksi Cara Dingin	25
2.3.4. Ekstraksi Cara Panas	25
2.4. Skrining Fitokimia	27
2.5. Kafein	27
2.6. Parameter spesifik	28
2.7. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	30
2.8. Spektrofotometri Uv-Vis	31
2.9. Kerangka Konsep	35
BAB III METODE PENELITIAN	36
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	36
3.1.1. Tempat Penelitian	36
3.1.2. Waktu Penelitian	36
3.2. Alat dan Bahan	36
3.3. Metode Penelitian	37
3.3.2. Pengambilan Sampel	37
3.3.3. Pengelolaan Sampel	37
3.3.4. Proses Ekstraksi	39
3.3.5. Pemeriksaan ekstrak	39
3.3.6. Identifikasi senyawa alkaloid	40
3.3.7. Uji penegasan metabolit sekunder dengan KLT	40
3.3.8 . Penetapan Kadar Senyawa Alkaloid	41
3.4. Analisis Data	40
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	44
4.1 Hasil Penelitian	44
4.1.1. Hasil Verifikasi Tanaman	44

4.1.2. Tahapan Pengolahan Sampel Daun Lempipi (<i>Pergularia brunoniana</i> <i>wigh & Arn</i>)	45
4.1.3. Hasil Pembuatan Ekstrak Daun Lempipi (<i>Pergularia brunoniana</i> <i>wigh & Arn</i>)	42
4.1.4. Hasil evaluasi ekstrak Daun Lempipi (<i>Pergularia brunoniana</i> <i>wigh & Arn</i>)	43
4.1.5. Hasil Rendemen ekstrak Daun Lempipi (<i>Pergularia brunoniana</i> <i>wigh & Arn</i>)	44
4.1.6. Hasil Uji Identifikasi Alkaloid	44
4.1.7. Uji Penegasan Klt ekstrak Daun Lempipi (<i>Pergularia brunoniana</i> <i>wigh & Arn</i>)	49
4.1.8. Penetapan Kadar Alkaloid	51
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	52
5.1. Kesimpulan	52
5.2. Saran	53
5.2.1. Bagi Akademik	56
5.2.2. Bagi Peneliti Lanjutan	57
5.2.3. Bagi Masyarakat	53
DAFTAR PUSTAKA	54
L A M P I R A N	62

DAFTAR TABEL

Tabel I. Hasil ekstrak Daun Lempipi (<i>Pergularia brunoniana wigh & Arn</i>)	44
Tabel II. Uji Organoleptis	45
Tabel III. Uji Rendemen ekstrak Daun Lempipi (<i>Pergularia brunoniana wigh & Arn</i>)	44
Tabel IV. Hasil Identifikasi Alkaloid	44
Tabel V. Hasil uji Kromotografi Lapis Tipis	46
Tabel VI. Hasil Nilai Absorbansi Larutan Standar Kafein Pada Panjang Gelombang 273 nm	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman Daun Lempipi (<i>Pergularia brunoniana</i> Wigh&Arn)	17
Gambar 2. Rumus Alkaloid	19
Gambar 3. Struktur Kafein.....	28
Gambar 4. Diagram Alat Spektrofotometer Uv-Vis	32
Gambar 5. Kerangka Konsep	34
Gambar 6. Reaksi dugaan alkaloid dengan pereaksi Mayer	48
Gambar 7. Kurva Standar Kafein Pada Panjang Gelombang 273 nm	50
Gambar 8. Hasil Verifikasi Tanaman Daun Lempipi (<i>Pergularia brunoniana</i> <i>wigh&Arn</i>)	61
Gambar 9. Skema Kerja Pembuatan Simplisia Daun Lempipi (<i>Pergularia</i> <i>brunoniana wigh&arn</i>)	62
Gambar 10. Skema Pembuatan Ekstrak Daun Lempipi (<i>Pergulariaburniana</i> <i>Wigh&Arn</i>)	63
Gambar 11. Skema Pengelolaan Sampel	62
Gambar 12. Proses Pembuatan Simplisia Daun Lempipi (<i>Pergulariaburniana</i> <i>Wigh&Arn</i>)	63
Gambar 13. Pembuatan Ekstrak Daun Lempipi (<i>Pergularia brunoniana</i> <i>Wigh&Arn</i>).....	66
Gambar 14. Uji Identifikasi Kandungan Alkaloid Ekstrak Daun Lempipi (<i>Pergularia burniana Wigh&Arn</i>)	66
Gambar 15. Uji Penegasan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	67
Gambar 16. Uji Penetapan Kadar Alkaloid.....	70
Gambar 17. Panjang gelombang	73
Gambar 18. Kurva baku	74
Gambar 19. Penetapan kadar.....	75

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Verifikasi Tanaman Daun Lempipi (<i>Pergularia brunoniana wigh&Arn</i>)	61
Lampiran 2. Skema Kerja Pembuatan Simplisia Daun Lempipi (<i>Pergularia burniana wigh&arn</i>)	62
Lampiran 3. Skema Pembuatan Ekstrak Daun Lempipi (<i>Pergularia burniana Wigh&Arn</i>).....	63
Lampiran 4. Skema Pengelolaan Sampel.....	64
Lampiran 5. Proses Pembuatan Simplisia Daun Lempipi (<i>Pergularia burniana Wigh&Arn</i>).....	65
Lampiran 6. Pembuatan Ekstrak Daun Lempipi (<i>Pergularia burniana Wigh&Arn</i>).....	66
Lampiran 7. Perhitungan Hasil Evaluasi Ekstrak Daun Lempipi (<i>Pergularia burniana Wigh&Arn</i>)	67
Lampiran 8. Uji Identifikasi Kandungan Alkaloid Ekstrak Daun Lempipi (<i>Pergularia burniana Wigh&Arn</i>)	68
Lampiran 9. Uji Penegasan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	67
Lampiran 10. Uji Penetapan Kadar Alkaloid.....	70
Lampiran 11. Perhitungan Penetapan Kadar Alkaloid.....	71
Lampiran 12. Perhitungan % Kadar Alakloid.....	72
Lampiran 13. Panjang Gelombang.....	73
Lampiran 14. Kurva Baku.....	74
Lampiran 15. Penetpan Kadar.....	75

INTISARI

Tanaman Daun Lempipi (*Pergularia brunonianawigh & Arn*) digunakan sebagai bahan pangan karena berfungsi untuk sumber fitonutrisi, yang mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan penetapan kadar alkaloid pada Daun Lempipi (*Pergularia brunonianawigh & Arn*).

Simplisia Daun Lempipi (*Pergularia brunonianawigh & Arn*) diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, lalu dilakukan identifikasi alkaloid dengan penambahan reagen Mayer, Reagen Bouchardat, dan Reagen Dragendorff. Selanjutnya uji penegasan kromatografi lapis tipis. Kemudian penetapan kadar alkaloid dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis.

Hasil identifikasi alkaloid dari ekstrak etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunonianawigh & Arn*) positif mengandung alkaloid terbentuk endapan putih di reagen Mayer. Hasil uji penegasan kromatografi lapis tipis didapatkan nilai Rf sebesar 0,86 untuk sampel dan 0,83 untuk baku pembanding. Dan hasil dari penetapan kadar alkaloid dari ekstrak etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunonianawigh & Arn*) yang dilakukan dengan metode Spektrofotometri UV-Vis dengan nilai rata-rata sebesar 3,53%.

Kata Kunci : Alkaloid, Daun Lempipi (*Pergularia brunonianawigh & Arn*), Kromatografi Lapis Tipis, Spektrofotometri UV-Vis.

Daftar Acuan : 32 (2008-2023)

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara dengan keanekaragaman hayati yang melimpah. Luasnya hutan dan keberadaan iklim tropis menjadi penyebab tumbuhnya beragam flora di Indonesia. Dari berbagai flora yang tumbuh di Indonesia, salah satunya yaitu Daun Lempipi (*Pergularia brunonianawigh & Arn*) yang digunakan sebagai bahan pangan oleh masyarakat (Tuldjanah *et al.*, 2022).

Lempipi adalah daun dari jenis tanaman yang menjalar seperti pohon kacang panjang dan buncis, yang mempunyai sifat kimia berasa agak pahit, memiliki kandungan metabolit sekunder salah satunya yaitu senyawa alkaloid (Arman, 2023). Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam jaringan tumbuhan yang bersifat alkali mengandung atom nitrogen (N) dengan struktur lingkaran heterosiklik atau aromatis (Danila & Rawar, 2022)

Skrining fitokimia merupakan salah satu metode uji senyawa kimia yang meliputi analisis kualitatif kandungan di dalam tumbuhan, selain metode skrining fitokimia terdapat metode spektrofotometri Uv-Vis. Spektrofotometri Uv-Vis adalah metode analisis menggunakan panjang gelombang UV dan Visible untuk mendeteksi senyawa. (Handoyo Sahumena *et al.*, 2020).

Dari uraian latar belakang di atas peneliti tertarik untuk melakukan uji identifikasi dan penetapan kadar Alkaloid dari ekstrak etanol tanaman Daun Lempipi (*Pergularia brunonianawigh & Arn*) dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis.

1.2 Batasan Masalah

- a. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Daun Lempipi (*Pergularia brunonianawigh & Arn*)
- b. Metode ekstraksi yang digunakan dalam membuat ekstrak etanol dari Daun Lempipi (*Pergularia brunonianawigh & Arn*) adalah dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%
- c. Senyawa metabolit sekunder yang diidentifikasi yaitu senyawa Alkaloid
- d. Uji penegasan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)
- e. Metode penetapan kadar Alkaloid yang digunakan yaitu metode Spektrofotometri Uv-Vis

1.3 Rumusan Masalah

- a. Apakah ekstrak etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunonianawigh & Arn*) mengandung senyawa metabolit sekunder Alkaloid ?
- b. Berapakah nilai Rf dari uji penegasan pada ekstrak etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunonianawigh & Arn*)
- c. Berapakah kadar Alkaloid yang terdapat dalam ekstrak etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunonianawigh & Arn*) menggunakan metode Spektrofotometri Uv-Vis ?

1.4 Tujuan Penelitian

- a. Untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa Alkaloid dalam ekstrak etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunonianawigh & Arn*)

- b. Mengetahui nilai Rf dari uji penegasan pada ekstrak etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunonianawigh & Arn*)
- c. Untuk mengetahui berapa kadar Alkaloid dalam ekstrak etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunonianawigh & Arn*) dengan menggunakan metode Spektrofotometri Uv-Vis.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Bagi Akademik

Penelitian ini diharapkan bermanfaat sebagai data Karya Tulis Ilmiah (KTI) mengenai identifikasi dan penetapan kadar Alkaloid dari ekstrak etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunonianawigh & Arn*) dengan metode Spektrofotometri UV-Vis.

1.5.2 Bagi Peneliti Lanjutan

Dapat di manfaatkan sebagai acuan referensi untuk peneliti selanjutnya, juga dapat menambah pengetahuan dan wawasan untuk penelitian. Khususnya yang berhubungan dengan identifikasi dan penetapan kadar Alkaloid dari ekstrak etanol daun lempipi (*Pergularia brunonianawigh & Arn*) dengan metode Spektrofotometri UV-Vis.

1.5.3 Bagi Instansi/Masyarakat

Diharapkan dapat memberikan informasi dan pengetahuan mengenai manfaat Alkaloid yang terdapat pada Daun Lempipi (*Pergularia brunonianawigh & Arn*) serta kelebihan dan kandungan yang terdapat pada tanaman Daun Lempipi (*Pergularia brunonianawigh & Arn*) kepada masyarakat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Klasifikasi Tanaman



Gambar 1. Tanaman Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana* Wigh&Arn)

2.1.1 Taksonomi

Klasifikasi Daun berikut :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisio	: <i>Magnoliophyta</i>
Class	: <i>Magnoliopsida</i>
Ordo	: <i>Gentianales</i>
Familia	: <i>Apocynaceae</i>
Genus	: <i>Marsdenia</i>
Sinonim	: <i>Pergularia brunoniana wigh&Arn</i>

2.1.2 Morfologi Tanaman

Tanaman Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*) memiliki batang yang melilit atau menjalar tinggi di sekitar pohon dan panjangnya berkisar mencapai 70-250 cm, termasuk dalam golongan tumbuhan higrofit. Batang mudah patah daun helaian tunggal, helaian daun menyirip, pangkal membulat dan

melengkung menyerupai bentuk jantung dan setiap masing-masing ujungnya licin dan lurus meruncing.

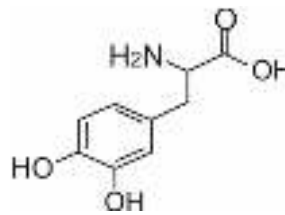
Tangkai daun memiliki panjang 3-4 cm berwarna hijau ujung daun meruncing dan tulang menyirip berbentuk alur, batang bulat dengan panjang 1-2 cm dan lebar 3-6 cm warnanya kehijauan sampai hijau tua bunga tampak berbentuk untaian bunga bersusun muncul pada pucuk tangkai batang berwarna putih dan ungu. Tanaman lempipi mempunyai aroma bau yang khas dan rasa agak sedikit pahit (Arman, 2023).

2.1.3 Kandungan Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*)

Lempipi adalah daun dari sejenis tumbuhan merambat atau menjalar seperti pohon kacang panjang dan buncis. Tumbuhan memiliki sifat kimia berasa agak pahit, yang memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu senyawa alkaloid, tanin dan flavonoid. Tanaman Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*) saat ini hanya digunakan sebagai penambah rempah masakan (Arman, 2023)

a. Alkaloid

Alkaloid adalah golongan senyawa metabolit sekunder yang memiliki satu atau lebih atom nitrogen, umumnya dalam sistem siklik. Golongan senyawa ini biasanya menunjukkan aktivitas farmakologi pada manusia dan hewan. Alkaloid umumnya berbentuk padat (kristal), namun ada pula yang berbentuk cair pada suhu kamar (misalnya nikotin), mempunyai bidang cahaya terpolarisasi yang diputar, mempunyai rasa pahit, larut dalam air dalam bentuk garam, dan mempunyai bentuk bebas atau basa (Sciences, 2016)



Gambar 2. Rumus Alkaloid

Untuk uji skrining fitokimia pada alkaloid dilakukan dengan menguji sampel dengan menggunakan pereaksi berikut (Arman, 2023)

1) Pereaksi mayer

Dicampurkan dan diencerkan terlebih dahulu dengan air suling mencapai 100 ml. Pereaksi ini disimpan didalam botol kaca yang berwarna coklat, agar tidak rusak akibat cahaya. 1,36g HgCl_2 dilarutkan dalam 60 ml menggunakan air suling. Pada bagian lain dilarutkan 5 gram KI dalam 10 ml air suling.

2) Pereaksi Dragendorf

Sebanyak 8 gram KI dilarutkan dalam 20 ml menggunakan air suling, sedangkan untuk bagian lain 0,85 gram bismut sub nitrat dilarutkan ke dalam 10 ml asam asetat glasial dan 40 ml air suling. Kedua larutan tersebut dicampurkan. Larutan ini disimpan dalam botol kaca berwarna coklat. Dalam penggunaannya satu larutan ini diencerkan dengan 2/3 bagian dalam larutan 20 ml asam asetat glasial dan 100 ml air suling

3) Pereaksi wagner

Sebanyak 1,27 gram iodium dan 2 gram KI dilarutkan kedalam 5 ml menggunakan air suling. Kemudian larutan ini diencerkan menjadi 100 ml dengan air suling. Endapan yang terbentuk disaring lalu disimpan ke dalam botol kaca yang berwarna coklat

4) Pereaksi Liebermann-Burchard

Pereaksi Liebermann-Burchard terdiri dari asam asetat anhidrida dan asam sulfat pekat dengan perbandinganya 3:1.

2.2 Simplisia

Simplisia atau herbal adalah bahan alam yang dikeringkan dan digunakan untuk pengobatan, kecuali dinyatakan lain, tidak melalui pengolahan apa pun, tidak diubah bentuknya atau tetap dalam bentuk aslinya, serta dikeringkan pada suhu tidak lebih dari 60°C. (Hartini & Wulandari, 2016).

2.2.1 Jenis jenis simplisia

Simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia mineral (Susanti, 2016).

1. Simplisia Nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman, atau eksudat tanaman. eksudat tanaman adalah kandungan isi sel yang secara alamiah terdapat pada suatu tanaman atau dikeluarkan dari selnya, atau bahan tanaman lain yang terpisah dari tanaman dan belum merupakan zat kimia murni.

2. Simplisia Hewani

Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian-bagian hewan, atau zat-zat bermanfaat yang dihasilkan oleh hewan, dan belum merupakan zat kimia murni.

3. Simplisia Mineral (pelikan)

Simplisia mineral adalah Simplisia dalam bentuk pelikan atau mineral yang belum diolah atau diolah secara sederhana dan belum berupa zat kimia murni.

2.2.2 Proses Pembuatan Simplisia

Pengambilan sampel yaitu suatu proses pengumpulan sampel dari populasi yang digunakan dalam suatu penelitian. Tahapan dalam pembuatan simplisia (Ryan *et al.*, 2013)

1. Sortasi basah

Sortasi basah adalah proses pemilihan hasil panen yang dilakukan untuk memisahkan kotoran dan benda asing lainnya dari bahan simplisia. Contohnya termasuk tanah, kerikil, rumput liar, batang, daun, akar rusak, dan kotoran atau benda asing lainnya yang perlu dihilangkan.

2. Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan kotoran dan mengurangi mikroba lain yang menempel pada bahan Simplisia. Pencucian hendaknya dilakukan dengan air bersih yang mengalir dan dilakukan sesingkat mungkin untuk menghindari larut dan terbuangnya zat-zat yang terkandung dalam Simplisia.

3. Perajangan

Beberapa jenis Simplisia perlu dilakukan perajangan untuk memperoleh proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Semakin tipis bahan yang dikeringkan maka semakin cepat air menguap dan semakin singkat waktu pengeringannya. Namun jika irisan terlalu tipis maka nutrisinya akan berkurang atau hilang dan mudah menguap sehingga mempengaruhi komposisi, aroma dan rasa yang diinginkan.

4. Pengeringan

Selama proses pengeringan, proses enzimatik di dalam sel dapat berhenti ketika kadar air mencapai kurang dari 10%. Proses pengeringan harus memperhatikan suhu pengeringan, kelembaban, waktu pengeringan, dan permukaan bahan. Suhu pengeringan optimal adalah di bawah 60 °C. Namun, bahan aktif yang tidak stabil atau mudah menguap harus dikeringkan pada suhu serendah mungkin, misalnya 30 °C hingga 45 °C.

Terdapat dua macam cara pengeringan, yaitu pengeringan alami dengan menggunakan sinar matahari langsung atau diangin-anginkan, dan pengeringan buatan dengan menggunakan peralatan.

5. Sortasi Kering

Sortasi setelah pengeringan sebenarnya merupakan langkah terakhir dalam pembuatan Simplisia. Tujuan dari sortasi kering adalah untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan dan kontaminan lain yang masih ada di dalam Simplisia.

6. Penyimpanan

Setelah tahap pengeringan dan sortasi kering selesai, letakkan Simplisia pada wadah tersendiri agar tidak tercampur. Persyaratan wadah yang digunakan sebagai pengemas Simplisia adalah bersifat inert, artinya tidak bereaksi dengan bahan lain dan tidak beracun. Melindungi bahan Simplisia dari pengaruh kontaminasi mikroba, kotoran, serangga, penguapan bahan aktif, cahaya, oksigen, dan uap air.

2.3 Ekstrak

2.3.1 Pengertian Ekstrak Dan Ekstraksi

Ekstrak merupakan hasil ekstraksi bahan aktif melalui proses ekstraksi menggunakan pelarut, dimana pelarut yang digunakan diuapkan kembali dan bahan aktif dipekatkan ke dalam ekstrak. Bentuk ekstrak yang dihasilkan dapat berupa ekstrak kental maupun ekstrak kering, tergantung banyaknya pelarut yang diuapkan. (Wahyu, 2018)

Ekstraksi merupakan proses pengambilan bahan aktif dari setiap bagian tanaman obat, dengan tujuan untuk mengekstraksi komponen kimia yang terdapat pada setiap bagian tanaman obat. Selama ekstraksi, komponen dipisahkan dari campuran menggunakan pelarut tertentu. Ini adalah metode mengekstraksi bahan aktif dari bahan alami dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Pelarut khusus digunakan untuk menghilangkan senyawa dari tumbuhan, hewan, dan lain-lain. (Wahyu, 2018)

2.3.2 Tujuan Ekstraksi

Tujuan ekstraksi adalah untuk menghilangkan seluruh komponen kimia yang ada pada Simplisia. Ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan massa

komponen padat ke dalam pelarut, dimulai dari lapisan antarmuka dan kemudian berdifusi ke dalam pelarut.

2.3.3 Jenis Jenis Metode Ekstrak

Metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut memiliki beberapa metode yang terbagi dalam 2 cara, yaitu dengan cara panas dan dengan cara dingin.

2.3.4 Ekstraksi Cara Dingin

1. Maserasi

Maserasi merupakan proses ekstraksi sederhana dengan menggunakan pelarut dan diaduk beberapa kali pada suhu kamar. Prosedur ini dilakukan dengan cara merendam Simplisia dalam pelarut yang sesuai dalam wadah tertutup. Tujuan pengadukan adalah untuk meningkatkan laju ekstraksi. Kekurangan dari maserasi adalah prosesnya yang sangat memakan waktu yang sangat lama.

Ekstraksi menyeluruh memerlukan pelarut dalam jumlah besar dan dapat mengakibatkan hilangnya metabolit. Tergantung pada senyawanya, ekstraksi mungkin tidak dapat dilakukan secara efisien jika kelarutannya pada suhu kamar (27°C) Ekstraksi dengan cara maserasi dilakukan pada suhu kamar (27 °C), sehingga tidak terjadi degradasi metabolit yang tidak tahan panas. (Wahyu, 2018)

2. Perkolasi

Perkolasi adalah proses yang menggunakan pelarut untuk mengekstraksi senyawa terlarut dari jaringan seluler simplisia dengan

pelarut yang dilakukan pada suhu ruangan. Prosesnya terdiri dari sesi pengembangan bahan, sesi infiltrasi perantara, dan tahap infiltrasi sebenarnya (bejana ekstrak) hingga diperoleh jumlah ekstrak infiltrasi yaitu 1 hingga 5 kali dari bahan. (Wahyu, 2018)

2.3.4 Ekstraksi Cara Panas

1. Soxhletasi

Metode ekstraksi Soxhlet merupakan metode ekstraksi yang didasarkan pada prinsip pemanasan dan perendaman sampel. Akibatnya, dinding sel dan membran sel runtuh karena perbedaan tekanan antara bagian dalam dan luar sel, dan metabolit sekunder di sitoplasma larut dalam pelarut organik. Larutannya kemudian menguap ke atas dan melewati pendingin udara. Dimana uap mengembun menjadi tetesan dan dikumpulkan kembali. Sirkulasi terjadi ketika larutan mengalir melalui lubang pipa pada sisi soxhlet, Ekstrak berkualitas tinggi dihasilkan dengan sirkulasi berulang.

Penarikan komponen kimia yang dilakukan dengan cara bubuk simplisia ditempatkan pada klonsong yang sudah dilapisi kertas saring sedekimian rupa, cairan penyari dipanaskan pada labu alas bundar sehingga menguap.

2. Digesti

Digesti merupakan maserasi dinamis (dengan pengadukan konstan) pada suhu di atas suhu kamar, biasanya pada suhu 40-50 °C. (Wahyu, 2018)

3. Refluks

Refluks merupakan ekstraksi menggunakan pelarut pada suhu titik didih. Ekstraksi dengan metode ini pada dasarnya adalah ekstraksi kontinyu. Zat yang akan diekstraksi direndam dalam filtrat labu alas bulat yang dilengkapi kondensor dan dipanaskan hingga mendidih. Cairan dalam filter diuapkan dan uapnya dikondensasikan menggunakan kondensor tegak dan digunakan kembali untuk menyaring bahan aktif Simplisia. Ekstraksi ini biasanya dilakukan tiga kali, masing-masing berlangsung selama empat jam.

4. Infudasi

Infudasi merupakan ekstraksi dengan menggunakan air sebagai pelarut pada suhu 90°C selama 15 menit. Infudasi adalah ekstraksi dengan pelarut air dalam jangka waktu tertentu (15-20 menit) pada suhu penangas air (wadah infudasi direndam dalam penangas air mendidih, pada suhu 96-98 °C).

5. Dekokta

Dekok merupakan infus dengan durasi lebih lama (≤ 30 °C) selama 30 menit pada suhu mencapai titik didih air yaitu 90 °C.

2.4 Skrining Fitokimia

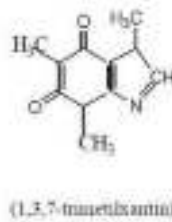
Skrining fitokimia adalah metode untuk mengidentifikasi zat aktif bioaktif yang belum terdeteksi melalui pengujian atau pemeriksaan, dan memungkinkan pemisahan secara cepat bahan alam yang mengandung fitokimia tertentu dari bahan alam yang tidak mengandung fitokimia tertentu.

Skrining fitokimia merupakan langkah awal dalam penelitian fitokimia yang bertujuan untuk memberikan gambaran mengenai jenis-jenis zat yang ada pada tanaman yang diteliti. Metode penyaringan fitokimia menggunakan reagen warna untuk menguji reaksi warna. Salah satu hal terpenting yang berperan penting dalam skrining fitokimia adalah pemilihan pelarut dan metode ekstraksi. (Khotimah, 2016).

2.5 Kafein

Kafein merupakan salah satu jenis alkaloid yang terdapat pada biji kopi, daun teh, dan biji coklat. Kafein memiliki efek farmakologis positif dengan merangsang sistem saraf pusat, merelaksasi otot polos terutama otot polos bronkus, dan merangsang otot jantung (Rialita, Kesia, 2013).

Kafein merupakan senyawa alkaloid dengan rumus kimia $C_8H_{10}N_4O_2$. Kafein dapat meningkatkan kinerja psikomotorik dan menjaga tubuh tetap terjaga. Selain itu, kafein memiliki efek fisiologis meningkatkan energi. (Nur, Khomah, 2023)



Gambar 3. Struktur Kafein

Kafein digunakan sebagai pembanding karena termasuk dalam golongan senyawa “metilxantine”. Metilxantin merupakan senyawa alami yang berasal dari xantin yaitu golongan senyawa alkaloid. (Fitriani, 2020).

2.6 Parameter spesifik

Penentuan parameter spesifik merupakan aspek kualitatif kandungan zat kimia dan aspek kuantitatif kadar senyawa yang bertanggung jawab langsung terhadap aktivitas farmakologi tertentu. Parameter spesifik ekstrak meliputi (Dini, 2019)

a. Identitas simplisia

Parameter identitas Simplisia meliputi nama latin tumbuhan, bagian tumbuhan yang digunakan dan nama daerah tumbuhan. Penentuan parameter ini dilakukan guna memberikan identitas obyektif dari nama dan spesifik identitas senyawa, yaitu suatu senyawa tertentu yang menjadi indikator tertentu dengan menggunakan metode tertentu.

b. Uji organoleptis

Parameter organoleptis simplisia meliputi deskripsi bentuk, warna, bau, dan rasa dengan menggunakan panca indera. Penentuan parameter ini dilakukan untuk memberikan pengenalan awal yang paling sederhana dan obyektif.

c. Senyawa terlarut dalam pelarut tertentu

Melarutkan ekstrak dalam pelarut (alcohol atau air) untuk ditentukan volume larutan sama dengan jumlah senyawa yang terkandung. Tujuannya adalah untuk memberikan gambaran awal jumlah kandungan senyawa.

2.7 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

2.5.1 Definisi

Kromatografi adalah metode pemisahan campuran komponen. Pemisahan campuran komponen didasarkan pada distribusi komponen dalam fase gerak dan fase diam. Kromatografi lapis tipis umumnya digunakan untuk tujuan analisis kualitatif, kuantitatif, dan preparatif. Sistem KLT terdiri dari fase diam dan fase gerak.

a. fase diam

Fase diam adalah lapisan tipis bahan padat yang diaplikasikan pada permukaan penyangga datar menggunakan bahan pengikat. Bahan yang digunakan sebagai fase diam pada kromatografi lapis tipis antara lain silika gel, alumina, kieselghur, dan selulosa. Fase diam harus mengandung air sekecil mungkin karena air menembus semua tempat penyerapan dan tidak ada senyawa yang menempel. Sebelum digunakan, plat KLT harus diaktifkan dengan cara dipanaskan pada suhu 110°C selama 30 menit.

b. fase gerak

Fase gerak terdiri dari satu atau lebih pelarut, dan sistem pelarut campuran dapat digunakan jika diinginkan. Saat memisahkan senyawa

organik, campuran pelarut umumnya digunakan untuk mendapatkan sistem pengembangan yang sesuai untuk hasil pemisahan senyawa yang lebih baik.

2.8 Spektrofotometri Uv-Vis

2.7.1 Definisi

Spektrofotometri UV-Vis adalah bagian dari teknik analisis spektroskopi, dan spektrofotometer menggunakan sumber SEM (radiasi elektromagnetik) dalam rentang ultraviolet dekat (190-380 nm) dan sumber cahaya tampak (380-780 nm). Spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk analisis kuantitatif daripada kualitatif karena spektrofotometri UV-Vis memerlukan energi elektronik dalam jumlah besar dalam molekul yang dianalisis. (Eka Putri., 2017)

Spektrofotometri UV-Vis adalah metode analisis yang menggunakan panjang gelombang UV dan Visible untuk mendeteksi senyawa. Senyawa yang dapat diidentifikasi dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis yaitu senyawa yang mempunyai gugus kromofor dan auksokrom. Pengujian dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis merupakan metode yang sederhana dan dapat dikatakan cepat dibandingkan metode lainnya (Handoyo Sahumena *et al.*, 2020). Panjang gelombang untuk daerah ultraviolet yaitu 180 nm–380 nm, sedangkan untuk daerah visible yaitu 380 nm–780 nm. (Ahriani *et al.*, 2021)

Keuntungan utama pemilihan metode spektrofotometri yaitu bahwa metode ini memberikan metode sangat sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil.

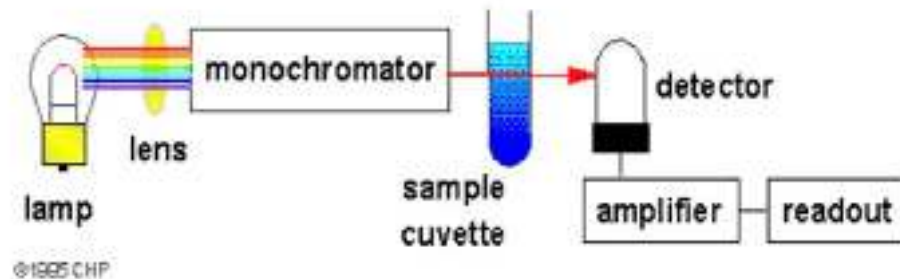
2.7.2 Prinsip kerja

Spektrum elektromagnetik dibagi menjadi beberapa daerah cahaya. Daerah ini diserap oleh atom atau molekul, dan panjang gelombang cahaya yang diserap memberikan informasi tentang struktur senyawa yang diperiksa. Spektrum elektromagnetik mencakup rentang panjang gelombang yang luas, dari sinar gamma gelombang pendek berenergi tinggi hingga panjang gelombang gelombang mikro. Spektrum serapan dalam rentang ultraviolet dan tampak umumnya terdiri dari satu atau lebih pita serapan lebar, dan semua molekul dapat menyerap radiasi dalam rentang ultraviolet hingga tampak

Oleh karena itu, ia mengandung elektron yang dapat tereksitasi ke tingkat yang lebih tinggi, baik digunakan bersama atau tidak. Panjang gelombang terjadinya penyerapan bergantung pada seberapa erat ikatan elektron di dalam molekul. Karena elektron dalam ikatan kovalen tunggal terikat erat, diperlukan radiasi energi tinggi atau radiasi dengan panjang gelombang pendek. (Yahya, 2013)

Keuntungan utama memilih spektrofotometri adalah menyediakan metode yang sangat sederhana untuk mengukur jumlah zat yang sangat kecil. Selain itu, pembacaannya langsung dicatat oleh detektor sehingga hasil yang didapat sangat akurat. Secara sederhana spektrofotometer terdiri dari:

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



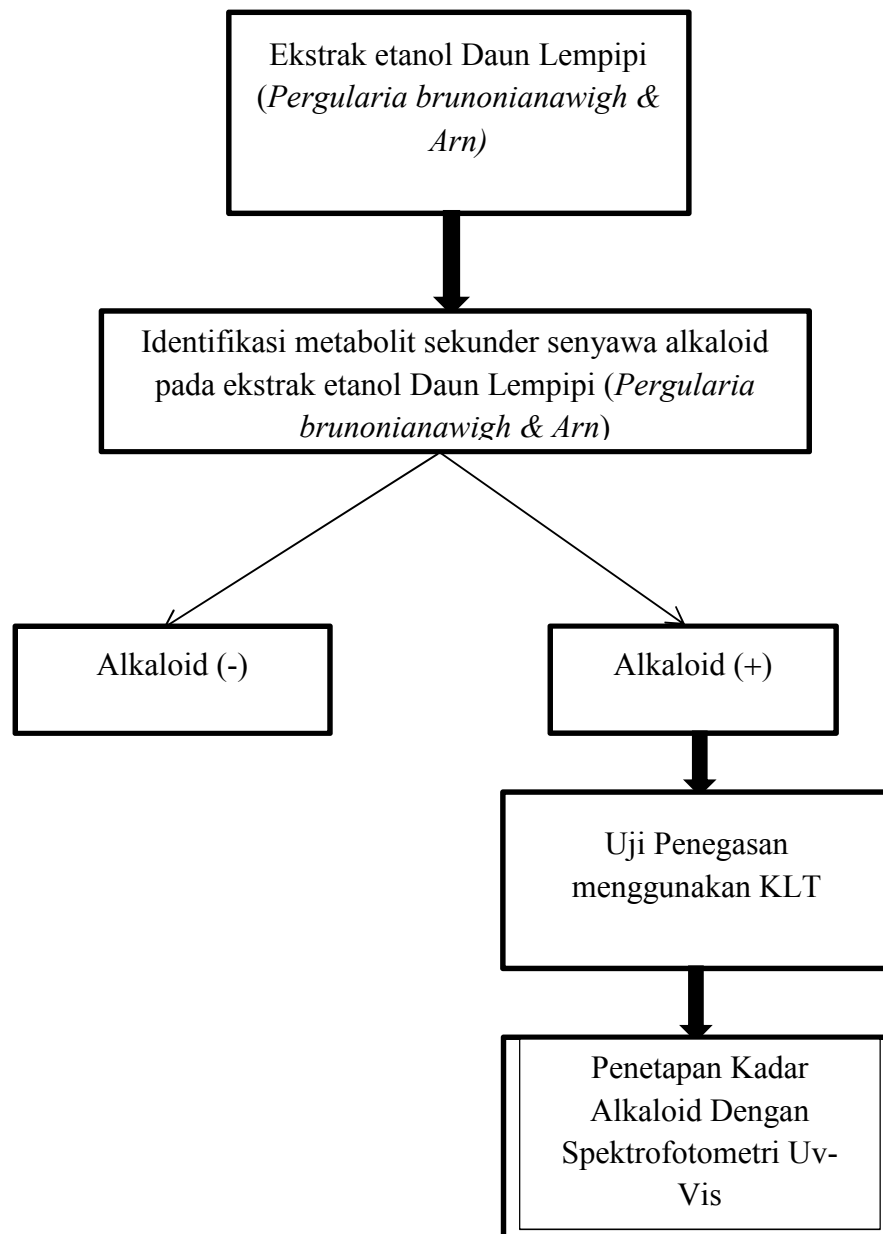
Gambar 4. Cara kerja alat Spektrofotometer Uv-Vis

Fungsi masing-masing bagian :

1. Sumber cahaya polikromatik adalah sumber cahaya polikromatik dengan rentang panjang gelombang berbeda.
2. Monokromator berfungsi sebagai pemilih panjang gelombang. Dengan kata lain, ia mengubah cahaya dari sumber cahaya polikromatik menjadi cahaya monokromatik. Pada gambar di atas disebut zat pendispersi atau pendispersi atau light diffusing agent. Dengan adanya dispersan, hanya satu jenis cahaya atau satu panjang gelombang cahaya yang mengenai sel sampel. Pada gambar di atas, hanya lampu hijau yang melewati pintu keluar
3. Sel sampel berfungsi sebagai tempat meletakkan sampel UV, VIS, dan UV-VIS, menggunakan kuvet berfungsi sebagai tempat sampel. Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa atau kaca.
4. Fungsi detektor adalah menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik

5. Read Out adalah sistem pembacaan yang mendeteksi kekuatan sinyal listrik yang berasal dari detector.

2.9 Kerangka Konsep



Gambar 5. Kerangka Konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

3.1.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Kimia Sekolah Tinggi Kesehatan AL-Fatah Bengkulu

3.1.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei –Juli tahun 2024

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat Spektrofotometri Uv-Vis, *Rotary Evaporator*, timbangan analitik, botol gelap untuk maserasi, beaker glass, gelas ukur, erlenmeyer, rak tabung reaksi, tabung reaksi, corong, penjepit kayu, pipet tetes, kertas saring, plat silica gel F254, aluminium foil, kaca arloji.

3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*), etanol 96%, aquadest, HCl 2N, kafein, mayer, bouchardat, dragendorf, klorofom, larutan BCG (Bacillus Calmette Guerin),daparposfat,methanol

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Verifikasi Tanaman

Verifikasi tanaman Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*) dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Bengkulu.

3.3.2 Pengambilan Sampel

Sampel dalam penelitian yang digunakan adalah sampel Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*) diambil pada pagi hari sebanyak 4 kg di daerah Sekunyit Kecamatan Kaur Selatan Kabupaten Kaur.

3.3.3. Pengelolaan Sampel

1. Pengambilan sampel

Pengambilan sampel adalah suatu proses pengumpulan sampel dari populasi yang akan di gunakan dalam sebuah penelitian

2. Sortasi basah

Sortasi basah dilakukan dengan cara Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*) yang sudah dikumpulkan kemudian dilakukan pemisahan atau pemilihan tanaman Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*) yang masih segar serta sisa-sisa tanaman seperti benda asing, ranting, dan tanah yang menempel pada tanaman.

3. Pencucian

Setelah sortasi basah, sampel dicuci dengan air bersih atau air mengalir untuk mencegah kotoran yang menempel.

4. Perajangan

Perajangan dilakukan dengan menggunakan pisau yang tajam agar tidak menempel pada sampel. Perajangan melibatkan pemotongan tanaman menjadi potongan-potongan kecil untuk memudahkan proses pengeringan.

5. Pengeringan

Pengeringan dilakukan dalam oven pada suhu di bawah 50°C mengikuti prosedur pengeringan sederhana yang dianjurkan.

6. Sortasi kering

Sortasi kering merupakan pemisahan zat-zat asing yang tertinggal di dalam Simplisia setelah proses pengeringan. Simplisia kemudian dihaluskan untuk memudahkan penyimpanan.

7. Penyimpanan

Penyimpanan dilakukan dengan cara menyimpan simplisia yang sudah kering dan dihaluskan ke dalam wadah yang tertutup agar mutu simplisia tetap baik

3.3.4. Proses Ekstraksi

Pembuatan ekstrak Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh & Arn*) dengan berat basah 3 kg dan berat kering yang didapat 188 gram. Simplisia yang digunakan untuk pembuatan ekstrak sebanyak 188 gram dalam 7000 ml etanol 96% dilakukan selama 7x24 jam, termasuk satu kali maserasi ulang atau remaserasi

dimasukkan pada botol tertutup berwarna gelap sambil dikocok satu kali. Ekstrak tersebut kemudian disaring hingga diperoleh ekstrak cair. Ekstrak yang dihasilkan dilarutkan menggunakan *rotary evaporator*. Dapatkan ekstrak kental dengan kecepatan 60 rpm.

3.3.5. Pemeriksaan ekstrak

1. Parameter spesifik

a. Organoleptis

Pada dasarnya parameter pengujian organoleptik menggunakan panca indera: bentuk (padat, kering, serbuk, kental, cair), warna (merah, coklat, dll), bau (tidak khas, dll), dan rasa (pahit, asin, dll). pengenalan dilakukan dengan sangat sederhana dan seobjektif mungkin (RI, 2000)

b. Rendemen

Tujuan rendemen untuk mengetahui perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia.

$$\%Rendemen = \frac{\text{Berat Ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat Sampel yang digunakan}} \times 100\%$$

3.3.6 Identifikasi senyawa alkaloid

Sampel 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Tambahkan 1 mL HCl 2N dan 9 mL air suling dan panaskan dalam penangas air (waterbath) selama 2-3 menit. Setelah larutan sampel mendingin, saring filtratnya. Hasil filtrat ditampung dalam tiga tabung reaksi yang berbeda. Larutan Mayer, larutan Bouchardat, dan larutan Dragendorff. Reaksi positif terhadap alkaloid terjadi bila terbentuk

endapan putih, coklat, atau jingga setelah penambahan larutan Mayer, Bochardat, dan Dragendrof. (Arman, 2023)

$$\% \text{ Alkaloid} = \frac{\text{Konsentrasi} \times \text{Volume}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

3.3.7 Uji penegasan metabolit sekunder dengan KLT

Fase diam : Silika gel F254

Fase gerak : Kloroform, metanol (9 : 1)

Pembanding : Kafein

Deteksi : UV 254

pereaksi semprot Dragendroff (Purnama, 2020)

Jika timbul warna jingga kecoklatan setelah disemprotkan reagen Dragendorff, hal ini menunjukkan adanya alkaloid. Tanpa reagen kimia, alkaloid berfluoresensi biru, biru-hijau, atau ungu di bawah lampu UV 254 nm (Purnama, 2020).

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh noda}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

3.3.8 Penetapan Kadar Senyawa Alkaloid

Pembuatan Larutan Bromocresol green (BCG)

Bromocresol green (BCG) sebanyak 6,9802 mg ditimbang lalu tambahkan dengan 3 ml NaOH 2N dan 5 ml air suling, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml, Lalu ditambahkan air suling hingga mencapai tanda batas. (Desi Suyono Saputri & Septiani Besthari, 2023)

Pembuatan Dapar phospat pH 4,7

Dapar fosfat pH 4,7 dibuat dalam 50 ml dengan mencampurkan 3,2788 gram natrium fosfat 0,2 M (Na_2HPO_4) dan 3,8424 gram asam sitrat 0,2 M ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$) hingga mencapai pH 4,7. (Desi Suyono Saputri & Septiani Besthari, 2023)

Pembuatan larutan baku kafein

Sebanyak 50 gram kafein yang dilarutkan dalam etanol 96% dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml hingga konsentrasi mencapai 1000 ppm. Selanjutnya dipipet 2,5 ml ke dalam labu takar 25 ml dan ditambahkan air suling sampai tanda batas hingga konsentrasi mencapai 100 ppm. (Karim *et al.*, 2022)

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks}) Kafein

Panjang gelombang maksimum larutan kafein 100 ppm yang ditambah dengan 2 mL buffer fosfat dan 2 mL larutan BCG (bromocresol green) kemudian ditentukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200 hingga 400 nm (Karim *et al.*, 2022). Hasil panjang gelombang maksimum standar baku kafein berada pada 273 nm. Panjang gelombang maksimum tersebut digunakan untuk mengukur serapan dari sampel ekstrak etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*) (Wahyuni & Marpaung, 2020)

Pembuatan Kurva Standar Kafein

Mengambil 1ml; 1,5 ml; 2 ml; 2,5 ml; dan 3 ml larutan kafein yang telah diencerkan hingga 10ml untuk mendapatkan konsentrasi larutan masing-masing. Artinya, 10 ppm; 15 ppm; 20 ppm; 25 ppm; dan 30 ppm. Kemudian ukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum kafein yang telah ditentukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Karim *et al.*, 2022)

Penentuan Kadar Alkaloid Ekstrak Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*)

Penentuan kadar alkaloid dilakukan dengan mengambil sampel sebanyak 2 ml. Tambahkan 2 ml buffer fosfat (pH 4,7) dan 2 ml larutan BCG (bromocresol green) dan ekstrak tiga kali menggunakan vorteks dengan 3 mL kloroform. Fase kloroform yang dihasilkan dilarutkan dalam 10 ml kloroform. Ukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum kafein (Karim *et al.*, 2022)

3.4 Analisis Data

Penentuan kadar alkaloid ditentukan dengan mencari nilai regresi dan menghitung koefisien variasi regresi linier. Rumus $y = bx + a$ selanjutnya digunakan untuk menghitung kadar alkaloid total ekstrak etanol daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*). Rumus ini digunakan untuk menentukan kandungan alkaloid total dan nilai standar deviasi (SD).

$$Y = bx + a$$

Keterangan :

Y = Nilai Absorbansi

bx = Konsentrasi (C)

a = Nilai Regresi

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Telah dilakukan penelitian tentang “Identifikasi dan penetapan kadar Alkaloid dari ekstrak etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunonianawigh&Arn*) dengan metode Spektrofotometri Uv-Vis” diperoleh data sebagai berikut:

4.1.1 Hasil Verifikasi Tanaman

Verifikasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Matematika Universitas Bengkulu. Verifikasi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman sampel berdasarkan ciri-ciri tanaman dan keasliannya, agar tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan bahan atau dalam pencampuran bahan. Hasil verifikasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini benar-benar Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh &Arn*) dengan nomor surat : 144/UN30.28.LAB.BIOLOGI/AM/2024

Klasifikasi tanaman sebagai berikut :

Ordo	: <i>Gentianales</i>
Familia	: <i>Apocynaceae</i>
Nama Ilmiah	: <i>Marsdenia brunoniana Wight&Arn.</i>
Sinonim	: <i>Pergularia brunoniana (Wight&Arn) D.Dietr</i>
Nama Daerah	: <i>Lempipi</i>

4.1.2 Tahapan Pengolahan Sampel Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh & Arn*)

Tahap pengolahan simplisia Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh & Arn*) yang sudah di ambil dibersihkan dari sisa kotoran dengan air mengalir. Selanjutnya dilakukan proses perajangan untuk mempercepat proses pengeringan. Tujuannya adalah untuk menambah luas permukaan sampel. Semakin besar luas permukaan sampel, maka semakin kuat interaksi antara sampel dengan pelarut, sehingga semakin optimal pula proses ekstraksi yang dilakukan.

Sampel kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi. Metode ekstraksi maserasi dipilih karena pengerjaan dan peralatannya sederhana, serta tidak memerlukan pemanasan. Hal ini mencegah bahan aktif yang ada dalam sampel terdegradasi oleh pengaruh suhu atau oleh senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan. Proses maserasi dilakukan selama 7 x 24 jam, meliputi maserasi ulang atau penggantian pelarut baru yang disebut re-maserasi, untuk menjamin terekstraksinya senyawa-senyawa dalam sampel secara sempurna. Maserasi dilakukan secara berulang-ulang dengan menggunakan sedikit pelarut, hal ini lebih efisien dibandingkan dengan menggunakan pelarut dalam jumlah banyak sekaligus.. (Wendersteyt *et al.*, 2021)

4.1.3 Hasil Pembuatan Ekstrak Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh & Arn*)

Tabel I. Hasil ekstrak Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh & Arn*)

Sampel yang digunakan	Berat simplisia kering (gr)	Pelarut Etanol 96%	Berat ekstrak hasil maserasi (gr)
Daun <i>Lempipi</i>	188 gr	7000 ml	70 gr

Pembuatan ekstrak Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh & Arn*)

dengan berat basah 3 kg dan berat kering 188 gram dilakukan selama 7 x 24 jam dengan menggunakan 188 gram ekstrak dalam 7000 ml etanol 96%. termasuk satu kali maserasi ulang atau re-maserasi. Etanol digunakan sebagai pelarut karena bersifat universal, polar, dan mudah didapat. Etanol 96% dipilih karena bersifat selektif, tidak beracun, mempunyai daya serap yang baik dan kapasitas filtrasi yang tinggi sehingga mampu menyaring senyawa nonpolar, semipolar, dan polar. (Sukadiasa *et al.*, 2023). Pelarut etanol 96% lebih mudah menembus dinding sel sampel dibandingkan pelarut etanol dengan konsentrasi lebih rendah, sehingga menghasilkan ekstrak pekat (Wendersteyt *et al.*, 2021) Kemudian hasil maserasi, diuapkan menggunakan *Rotary Evaporatur* pada suhu 60°C sehingga diperoleh ekstrak kental.

4.1.4 Hasil evaluasi ekstrak Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh & Arn*)

Tabel II. Uji Organoleptis

Sediaan	Organoleptis			
	Konsistensi	Rasa	Bau	Warna
Ekstrak Daun <i>Lempipi</i>	Ekstrak kental	Pahit	Khas	Hijau kehitaman

Ekstrak Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh & Arn*) dilakukan uji organoleptis simplisia meliputi deskripsi bentuk, warna, bau, dan rasa menggunakan panca indera. Parameter ini ditentukan dengan tujuan memberikan pengenalan awal yang sederhana dan seobjektif mungkin (Marpaung & Septiyani,

2020). Pada uji organoleptis ekstrak yang dihasilkan berwarna hijau kehitaman rasa pahit dan mempunyai bau yang khas.

4.1.5 Hasil Rendemen ekstrak Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh & Arn*)

Tabel III. Uji Rendemen ekstrak Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh & Arn*)

Berat simplisia yang digunakan	Berat ekstrak yang diperoleh	Rendemen (%)
188 gr	70 gr	37,234 %

Rendemen ekstrak merupakan perbandingan antara berat ekstrak yang diperoleh setelah proses pemekatan dengan berat awal Simplisia. Tujuan penentuan rendemen adalah untuk menentukan perkiraan jumlah Simplisia yang dibutuhkan untuk menghasilkan ekstrak pekat dalam jumlah tertentu (Kartikasari *et al.*, 2014). Dari 188 gr simplisia Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh & Arn*) dilarutkan ke dalam 7000 ml etanol 96% dilakukan selama 7 x 24 jam, termasuk satu kali maserasi ulang atau remaserasi, didapatkan hasil ekstrak sebanyak 70 gr.

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari proses pembuatan ekstrak simplisia Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh & Arn*) yaitu diperoleh rendemen sebesar 37,234%, nilai rendemen yang baik tidak boleh kurang dari 10%. Besar kecilnya presentase rendemen menunjukkan keefektifan proses ekstraksi dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan (Purnama, 2020).

4.1.6 Hasil Uji Identifikasi Alkaloid

Tabel IV. Hasil Identifikasi Alkaloid

			Hasil
--	--	--	--------------

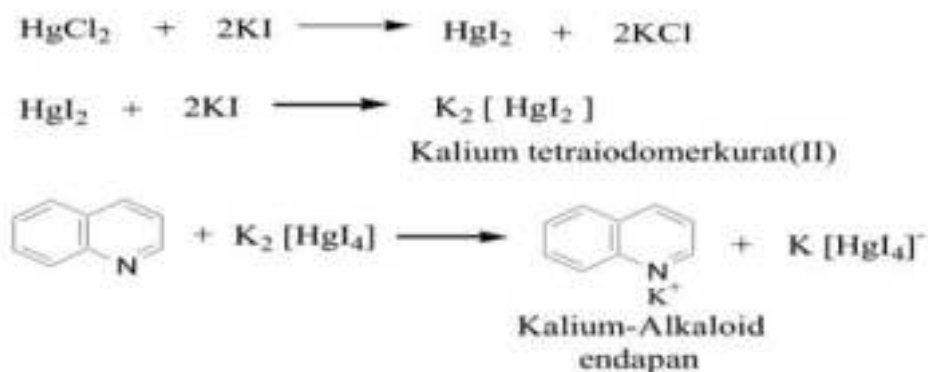
Nama senyawa	Reagen	Reaksi warna	(+)	(-)
Alkaloid	Ekstrak+HCL 2 N+aquadest+Mayer	Endapan putih/kekuningan	(+)	
Alkaloid	Ekstrak+HCL 2 N+aquadest+Bouchardat	Endapan coklat kemerahan		(-)
Alkaloid	Ekstrak+HCL 2 N+aquadest+Dragendrof	Endapan jingga		(-)

Pada identifikasi senyawa alkaloid menggunakan tiga pereaksi yaitu reagen Mayer, reagen Bouchardat, dan reagen Dragendorff. Hasil identifikasi pereaksi Mayer positif mengandung alkaloid karena terbentuknya endapan putih/kuning. Sedangkan hasil identifikasi menggunakan pereaksi Bouchardat negatif karena tidak menghasilkan endapan coklat dan pereaksi Dragendorff tidak menghasilkan endapan merah jingga.

Senyawa alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basa. Uji alkaloid menggunakan pereaksi Bouchardat dan Dragendorff tidak menghasilkan endapan yang terbentuk dari pergantian ligan. Pengendapan ini terjadi karena atom nitrogen alkaloid dengan pasangan elektron bebas secara kovalen menggantikan ion iodium dalam pereaksi Bouchardat dan Dragendorff (Wullur Adeanne, 2013).

Endapan dalam pereaksi Mayer diperkirakan endapan tersebut merupakan kompleks kalium alkaloid. Pembuatan reagen sampel Mayer. Larutan merkuri(II) klorida dan KI bereaksi dan terbentuk endapan merah merkuri(II) iodida. Penambahan KI berlebih menghasilkan kalium tetraiodomerkurat (II). Alkaloid mengandung atom nitrogen dengan pasangan elektron bebas, sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan ion logam. Pada uji alkaloid menggunakan pereaksi Mayer, diperkirakan bahwa nitrogen dalam alkaloid bereaksi dengan ion logam K^+ kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks

kalium-alkaloid yang mengendap (Silvia, 2020). Reaksi yang terjadi pada uji mayer dapat dilihat pada gambar dibawah ini :



Gambar 6. .Reaksi dugaan alkaloid dengan pereaksi Mayer

4.1.7 Uji Penegasan Klt ekstrak Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh & Arn*)

Tabel V. Hasil uji Kromatografi Lapis Tipis

Senyawa	Fase gerak	Bp	Jarak yang ditempuh pelarut	Jarak yang ditempuh noda (Sp)	Jarak yang ditempuh noda (Bp)	Rf (Sp)	Rf (Bp)	Hasil
Alkaloid	Kloroform; methanol (9:1)	Kafein	8	6,9	6,7	0,86	0,83	(+)

Selanjutnya dilakukan uji penegasan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Kromatografi lapis tipis merupakan metode kromatografi yang paling umum digunakan. Bahan yang diperlukan untuk pemisahan dan analisis senyawa metabolit sekunder sangat sederhana dan terdiri dari dua fase: fase gerak (eluen) dan fase diam (plat KLT) (Pratiwi *et al.*, 2023).

Pada proses pemisahan penelitian ini digunakan silica gel GF 254 sebagai fase diam. Hal ini disebabkan silica gel GF 254 berfluoresensi baik di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dengan adanya gugus kromofor yang akan menunjukkan noda yang berwarna (Pujiati *et al.*, 2023) Plat silica gel berukuran 10 cm x 3 cm di aktifkan dengan cara di oven pada suhu 110 °C selama 30 menit, agar plat silica gel menyerap dan mengikat sampel selama elusi. Baku pembanding yang digunakan yaitu kafein yang termasuk golongan alkaloid, untuk mengetahui nilai *R_f* yang diperoleh, fase gerak yang digunakan yaitu Klorofom; methanol dengan perbandingan (9:1) di jenuhkan terlebih dahulu. Tujuannya yaitu agar eluen memenuhi chamber dan berfungsi sehingga fase gerak kromatografi dapat bekerja dengan baik.

Hasil ekstrak etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*) dilihat menggunakan sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm. Alkaloid positif berfluoresensi biru, biru-hijau, atau ungu. dilakukan dengan penyemprotan reagen Dragendroff (Purnama, 2020), kemudian didapatkan hasil nilai *R_f* sampel sebesar 0,83 sedangkan hasil *R_f* baku pembanding Kafein sebesar 0,86. Menurut Pratiwi (2023) mengatakan bahwa nilai *R_f* berada pada rentang 0,2-0,8. Sehingga ekstrak etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*) positif mengandung senyawa alkaloid dengan dibuktikan adanya penampak bercak berwarna biru dan nilai *R_f* yang memenuhi rentang.

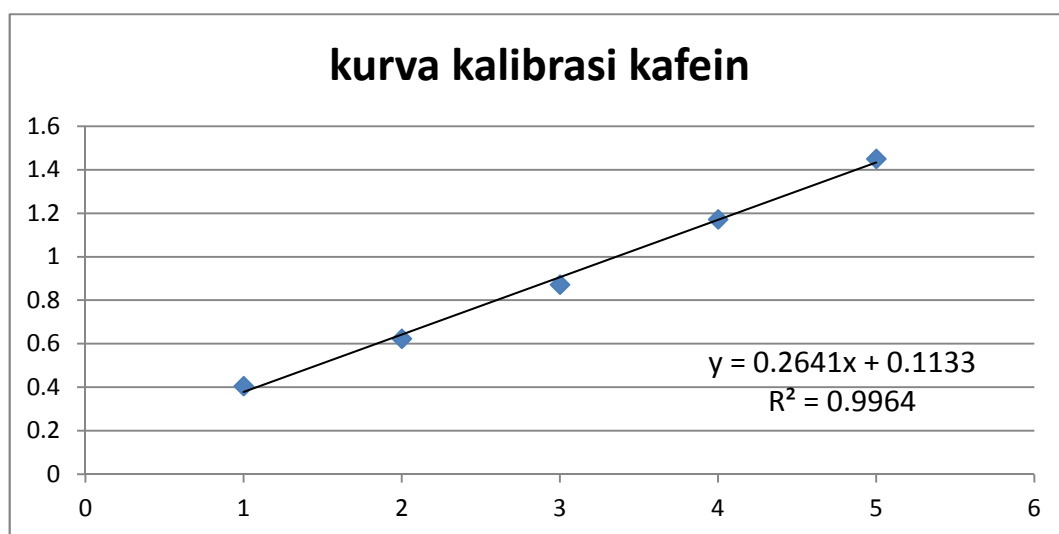
4.1.8 Penetapan Kadar Alkaloid

a. Konsentrasi Baku Pembanding Kafein secara Spektrofotometri UV;Vis

Tabel VI. Hasil Nilai Absorbansi Larutan Standar Kafein Pada Panjang Gelombang 273 nm

No	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1	10 ppm	0,406
2	15 ppm	0,624
3	20 ppm	0,873
4	25 ppm	1,173
5	30 ppm	1,452

b. Kurva Larutan Alkaloid Ekstrak Etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh & Arn*)



Gambar 7. Kurva Standar Kafein Pada Panjang Gelombang 273 nm

c. Penetapan Kadar Alkaloid Ekstrak Etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh & Arn*)

Replikasi	Absorbansi	Kandungan alkaloid	Rata-rata kandungan alkaloid
-----------	------------	--------------------	------------------------------

Replikasi 1	0,567	3,51 %	3,53 %
Replikasi 2	0,578	3,52 %	
Replikasi 3	0,568	3,58 %	

Selanjutnya dilakukan penelitian kuantitatif untuk mengetahui kadar kandungan alkaloid tanaman daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*) menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Spektrofotometri merupakan suatu metode pengukuran kandungan senyawa dalam suatu sampel. Spektrofotometri UV-Vis berada pada rentang 200 – 400 nm untuk sinar ultraviolet dan 400 – 800 nm untuk visible (Karim et al., 2022). Dalam penelitian ini, kafein dengan konsentrasi 100 ppm digunakan sebagai larutan standar. Panjang gelombang standar maksimum untuk kafein adalah 273 nm. Panjang gelombang maksimum ini digunakan untuk mengukur serapan sampel ekstrak etanol dari Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*) (Wahyuni & Marpaung, 2020)

Setelah didapatkan panjang gelombang maksimum dilanjutkan dengan membuat kurva standar yang bertujuan untuk menentukan hubungan antara konsentrasi kafein dan kekuatan serapan. Pembuatan larutan dengan konsentrasi 10ppm, 15ppm, 20ppm, 25ppm, dan 30ppm dari larutan standar 100ppm. Kemudian diukur pada panjang gelombang maksimumnya menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Tujuan dari pembuatan kurva standar kafein adalah untuk dapat menentukan kandungan senyawa alkaloid dalam suatu sampel menggunakan persamaan regresi linier dari kurva standar kafein (Karim *et al.*, 2022). Dari hasil pengukuran spektrofotometri UV-Vis, dapat dibuat persamaan regresi linear yaitu $y = 0,2641 x + 0,1133$, dimana y = kekuatan serapan, x =

konsentrasi dan koefisien korelasi $r^2 = 0,9964$, Nilai r yang mendekati 1 menunjukkan kurva kalibrasi linier dan terdapat hubungan antara konsentrasi larutan Kafein dengan nilai serapan. Dari pengukuran tersebut dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin tinggi pula adsorbansi yang diperoleh. (Meiky, 2023). Kemudian ditambahkan 2 ml buffer fosfat pH 4,7 dan 2 ml bromocresol green (BCG) ke dalam sampel. Alkaloid terpotensi oleh asam lemah dan oleh karena itu dapat bereaksi dengan bromocresol green (BCG) untuk membentuk senyawa kompleks. Sampel kemudian diekstraksi tiga kali dengan kloroform, Tujuannya adalah untuk memastikan bahwa hanya alkaloid yang terbentuk dalam larutan akhir. (Karim *et al.*, 2022)

Penetapan kadar dilakukan pada sampel dengan konsentrasi 100 ppm dengan menggunakan perlakuan yang sama dengan rangkaian konsentrasi larutan Kafein. Data serapan sampel yang digunakan ditentukan dari pengukuran sampel yang dilakukan replikasi tiga kali dan dimasukkan ke dalam regresi linier $y = 0,2641 x + 0,1133$ larutan standar Kafein. Selanjutnya dilakukan perhitungan kandungan alkaloid dari ekstrak etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*) dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dan diperoleh nilai rata-rata sebesar 3,53 %. Maka ekstrak etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*) memiliki potensi sebagai obat tradisional. Hal ini didasarkan karena secara farmakologi, alkaloid dapat berperan sebagai anti-leukemia, anti-tumor, anti-virus, dan anti-malaria. (Alzanando *et al.*, 2022)

Pada penelitian yang dilakukan oleh Karim *et al.*, (2022) kekuatan serapan sampel didapatkan hasil penetapan kadar alkaloid total dari tanaman daun ungu

(*Graptophyllum pictum L.*) dengan metode spektrofotometri UV-Vis didapatkan hasil kadar alkaloid total daun ungu (*Graptophyllum pictum L.*) sebesar 0,1305%. Berdasarkan hasil penelitian Danila & Rawar, (2022) diperoleh kadar alkaloid dalam ekstrak bunga lawang (*Illicium verum Hook.f*) yaitu 35,04 dengan persentase 3,50%. Hasil dari penelitian Ifantri & Rawar, (2023) pada ekstrak etanol daun mint (*Mentha Piperita L.*) kadar yang didapat yaitu sebesar 30,28 mg/g dengan persentase 3,03 %. Tuldjanah *et al.*, (2022) pada ekstrak daun alpukat (*Persea americana Mill.*) kadar total alkaloid dilakukan perhitungan didapatkan rata-rata hasil sebesar 0,187% b/b.

Menurut hasil penelitian Setyaningrum (2022) terhadap ekstrak etanol daun pepaya menunjukkan hasil kadar alkaloid lebih rendah yaitu 16,56 % dibandingkan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Nugraha *et al.* (2020) diperoleh kadar alkaloid dari ekstrak etanol daun pepaya sebesar 26,115 %. Perbedaan kadar tersebut dapat disebabkan oleh faktor-faktor yang mempengaruhi senyawa yang dihasilkan, seperti: Metode yang digunakan dan jenis pelarut yang digunakan. Faktor yang mempengaruhi perbedaan tersebut mungkin juga timbul dari perbandingan antara lamanya waktu ekstraksi dan perbandingan antara jumlah sampel dengan jumlah pelarut yang digunakan. Selain itu, kandungan metabolit sekunder bergantung pada berbagai faktor biotik dan abiotik seperti suhu, kualitas tanah, iklim, dan sinar matahari (Setyaningrum & Susanti, 2022).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka didapatkan kesimpulan bahwa :

- a. Ekstrak etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*) positif mengandung senyawa alkaloid.
- b. Pada uji penegasan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ekstrak etanol ekstrak etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*) positif

mengandung senyawa alkaloid dengan nilai Rf sebesar 0,83 sedangkan hasil Rf baku pembanding Kafein sebesar 0,86.

- c. Penetapan kadar alkaloid ekstrak etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*) dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis mengandung senyawa alkaloid dengan kadar 3.53 %.

5.2 Saran

5.2.1 Bagi Akademik

Penelitian ini memberikan tambahan pengetahuan dan bimbingan kepada mahasiswa serta sebagai referensi diskusi perkuliahan dan dokumentasi tentang identifikasi dan penetapan kadar ekstrak etanol Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*) menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis.

5.2.2 Bagi Peneliti Lanjutan

Dapat di manfaatkan sebagai acuan referensi untuk peneliti selanjutnya, juga dapat menambah pengetahuan dan wawasan untuk penelitian.

5.2.3 Bagi Masyarakat

Untuk memberikan informasi kepada masyarakat mengenai manfaat Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana wigh&Arn*) yang dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif. Sebagai tumbuhan yang banyak dikenal dan dimanfaatkan masyarakat serta ilmunya diwariskan secara turun temurun.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahriani, Zelviani, S., Hernawati, & Fitriyanti. (2021). Analisis nilai absorbansi untuk menentukan kadar flavonoid daun jarak merah (*Jatropha gossypifolia* L.) menggunakan spektrofotometer UV-Vis. *Jurnal Fisika Dan Terapannya*, 8(2), 56–64.
- Alzanando, R., Yusuf, M., & M.Si, T. (2022). Analisis Kadar Senyawa Alkaloid dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi Malahayati*, 5(1), 108–120.
- Arman, B. (2023). skrining fitokimia fraksi etanol ekstrak etanl darri daun lempipi (*Pergularia brunonianawigh & Arn*) dengan metode klt.
- Danila, D., & Rawar, E. A. (2022). penetapan kadar alkaloid total dalam ekstrak etanol bunga lawang (*Illicium verum* Hook.f) secara spektrofotometri uv-vis. *Duta Pharma Journal*, 2(2), 102–106.
- Desi Suyono Saputri, A., & Septiani Besthari, N. (2023). Penetapan Kadar Alkaloid

- Total Pada Ekstrak Kasar Dan Ekstrak Terpurifikasi Bunga Cengkeh (*Syzigium aromaticum*) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Ilmiah Farmasi Simplisia*, Juli, 2023(1), 28–37.
- Dini, R. (2019). penetapan parameter non spesifik ekstrak batang parang romang (*Boehmeria virgata (Fors) Guill.*). *Rabit : Jurnal Teknologi Dan Sistem Informasi Univrab*, 1(1), 2019.
- Eka Putri, L., & Konsentrasi Senyawa Berwarna KMnO₄, P. (2017). Penentuan Konsentrasi Senyawa Berwarna KMnO₄ Dengan Metoda Spektroskopi UV Visible. *Natural Science Journal*, 3(1), 391–398.
- Fitriani, L. N. (2020). Analisis dan Penetapan Kadar Alkaloid Total Pada Ekstrak Etanol Biji Kopi Arabika (*Coffea arabica*) Dengan Metode KLT-Densitometri. *July*, 1–23.
- Handoyo Sahumena, M., Ruslin, R., Asriyanti, A., & Nurrohwindu Djuwarno, E. (2020). Identifikasi Jamu Yang Beredar Di Kota Kendari Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 2(2), 65–72.
- Hartini, Y. S., & Wulandari, E. T. (2016). Buku Panduan Praktikum Farmakologi Fitokimia. *Jurnal Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma*, 0–22.
- Ifantri, D., & Rawar, E. A. (2023). penetapan kadar alkaloid totak dalam ekstrak etanol daun mint (*Mentha Piperita L.*) secara spektrofotometri uv-vis. *Duta Pharma Journal*, 3(1), 42–45.
- Karim, A., Adnan, J., & Irmawati. (2022). Penentuan Kadar Alkaloid Total Ekstrak Etanol Daun Ungu (*Graptophyllum pictum L.*) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Farmasi Pelamonia*, 2(2), 42–47.
- Kartikasari, D., Pramono, S., Farmasi, F., Ahmad, U., Farmasi, F., Gadjah, U., & Yogyakarta, M. (2008). karakterisasi simplisia dan ekstrak etanol daun bertoni (*Stevia rebaudiana*) dari tiga tempat tumbuh. 145–151.
- Khotimah, K. (2016). Skrining Fitokimia dan Identifikasi Metabolit Sekunder Senyawa Karpain Pada Ekstrak Metanol Daun Carica pubescens Lenne dan K. Koch Dengan LC/MS. *Uin Maulana Malik Ibrohim Malang*, 1–69.
- Marpaung, M. P., & Septiyani, A. (2020). penentuan parameter spesifik dan non spesifik ekstrak kental etanol batang akar kuning (*Fibraurea chloroleuca Miers*) *Journal of Pharmacopolium*, 3(2), 58–67.
- Meiky, 2023. (n.d.). penetapan kadar flavonoid dari ekstrak etanol daun lempipi (*Pergularia brunoniana Wight & Arn*).
- Nur, Khomah, S. (2023). Klt- Densitometri Pada Produk Teh Analisis Kadar Kafein

Dengan Metode Klt- Densitometri Pada Produk Teh.

- Pratiwi, S. A., Februyani, N., Basith, A., Program,), Fakultas, S. F., Kesehatan, I., Nahdlatul, U., Sunan, U., Bojonegoro, G., Yani, A., 10, N., Bojonegoro, K., Timur, J., & Bojonegoro, K. (2023). Skrining dan Uji Penggolongan Fitokimia dengan Metode KLT pada Ekstrak Etanol Kemangi (*Ocimum basilicum L*) dan Sereh Dapur (*Cymbopogon ciratus*). *Pharmacy Medical Journal*, 6(2), 140–147.
- Pujiati, L., Sugiyanto, S., & Hasana, A. R. (2023). Uji Identifikasi Rhodamin B Pada Liptint Di Toko Kosmetik Kota X Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis.senti. *Jurnal Riset Ilmiah*, 2(11), 4554–4564.
- Purnama, I. M. S. A. (2020). Pena Medika. *Jurnal Kesehatan Pena Medika*, 10(2), 24–39.
- Rialita, Kesia, M. (2013). Frequently Asked Questions about Caffeine. *Jurnal*, 2(4), 123.
- Ryan, Cooper, & Tauer. (2013). Kombinasi Serbuk Kulit Pisang Ambon Giring sebagai Zat Pewarna Alami Sediaan Bedak Tabur. *Paper Knowledge . Toward a Media History of Documents*, L, 12–26.
- Sciences, H. (2016). Tumbuhan Halay. 4(1), 1–23.
- Setyaningrum, L., & Susanti, D. A. (2022). penetapan kadar alkaloid total pada ekstrak n-heksan dan etanol biji ketumbar (*Coriandrum sativum*) menggunakan spektrofotometri uv-vis. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 4(3), 353–365.
- Silvia, E. (2020). identifikasi dan penetapan kadar senyawa alkaloid total pada ekstrak etanol akar biduri (*Calotropis gigantea L*) metode gravimetri.
- Sukadiasa, P. I. K., Wintariani, N. P., & Putra (2023). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Tanaman Gonda (*Sphenoclea zeylanica Gaertn*) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 9(1), 61–69.
- Susanti, N. (2016). Sumber Belajar Penunjang PLPG Farmasi. Kementerian Pendidikan Dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Guru Dan Tenaga Pendidikan, 3–4.
- Tuldjanah, M., Refanti Fajarizki, G., & Tandj, J. (2022). Penetapan Kadar Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana Mill.*) Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Farmakologika Jurnal Farmasi*, 19(1), 31–42.
- Wahyu, B. (2018). identifikasi senyawa flavonoid pada Ekstrak etanol herba tali putri (*Cuscuta australis R. Br.*) (69), 5–24.
- Wendersteyt, N. V., Wewenggang, D. S., & Abdullah, S. S. (2021). uji aktivitas

antimikroba dari ekstrak dan fraksi asicidian (*Herdmania momus*) dari perairan pulau bangka likupang terhadap pertumbuhan mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* DAN *Candida albicans*. *Pharmacon*, 10(1), 706.

Wullur Adeanne, Schaduw Jonathan, W. A. (2013). Identifikasi alkaloid pada daun sirsak (*Annona muricata* L.). *JIF-Jurnal Ilmiah*, 3(2), 54–56.

Yahya, S. (2013). *Spektrofotometri uv-vis*. 3–15. Jakarta Erlangga.

**L
A
M
P
I
R
A
N**

Lampiran 1. Hasil Verifikasi Tanaman Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana* wigh&Arn)



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS BENGKULU
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM
LABORATORIUM BIOLOGI
Jln. WR Supratman Kandang Liman Bengkulu Tel. (0736) 20199 ex. 205

Surat Keterangan
Nomor : Jlp./UN30.28.LAB.BIOLOGI/AM/2024

Telah dilakukan verifikasi taksonomi tumbuhan :

Ordo	: Gentianales
Familia	: Apocynaceae
Nama ilmiah	: <i>Marsdenia brunoniana</i> Wight & Arn.
Sinonim	: <i>Pergularia brunoniana</i> [Wight & Arn.] D. Dietr.
Nama daerah	: lempipi
Pelaksana	: Dra. RR Sri Astuti, M.S. 19610328 198901 2 001
Pengguna	: Resi Puspitasari 20132033 Silvia Andriani 20132022 Utari Oktarina 20132027 Dwi Novitasari 21141018 Rafif Nugraha 21141043 Yolanda Prenty 21141074

Demikian Surat Keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Mengetahui,
Kepala Laboratorium Biologi



Dedi Satriawan
NIP. 19841206 200801 1002

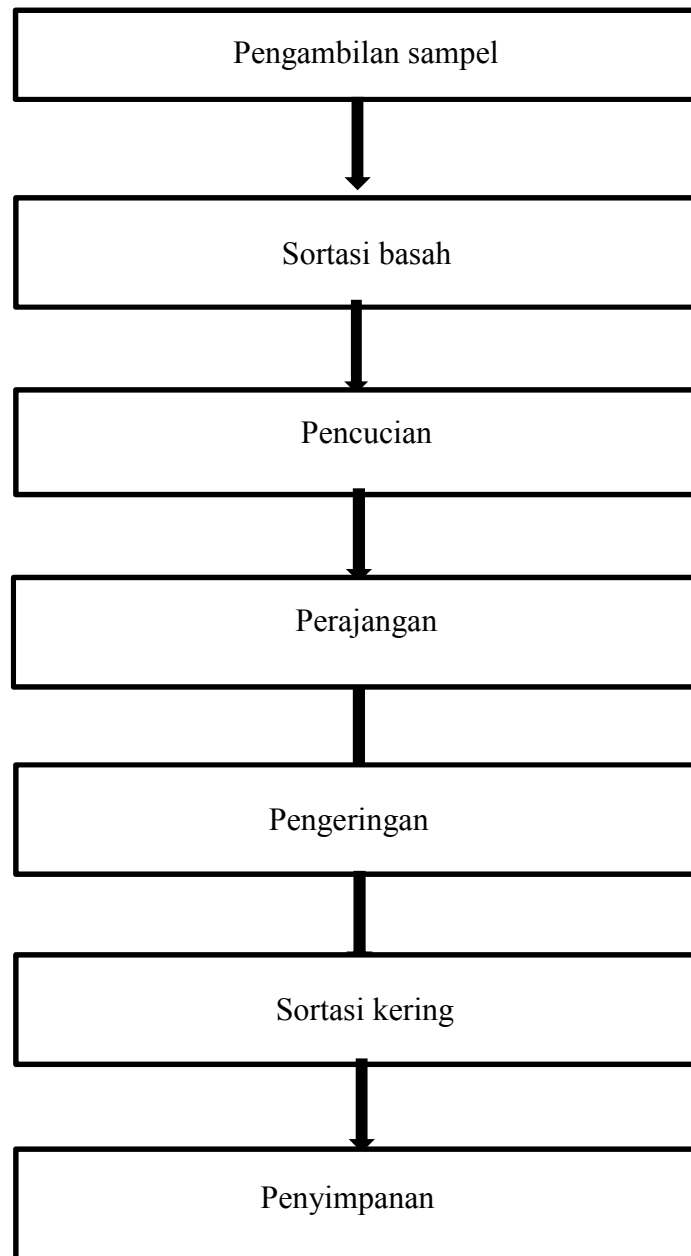
12 Februari 2024
Pelaksana,



RR Sri Astuti
NIP. 19610328 198901 2001

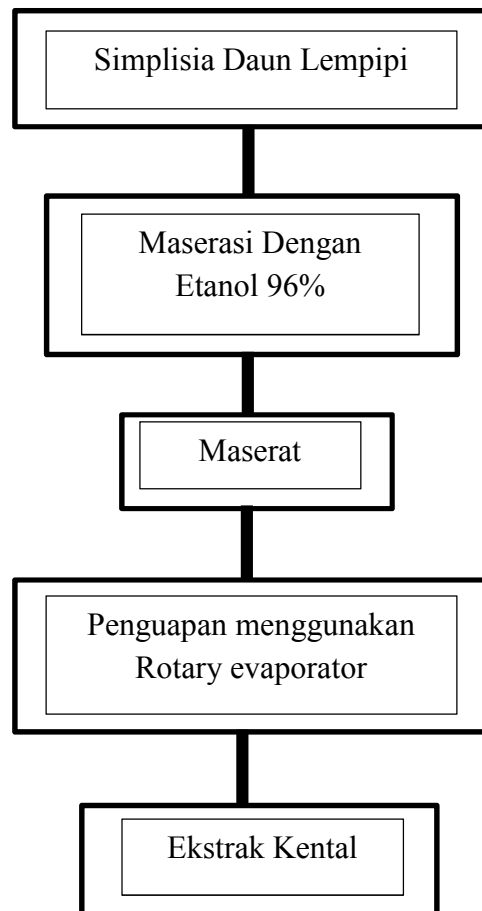
Gambar 8. Hasil Verifikasi Tanaman Daun Lempipi (*Pergularia brunoniana* wigh&Arn)

Lampiran 2. Skema Kerja Pembuatan Simplisia Daun Lempipi (*Pergularia burniana wigh&arn*)



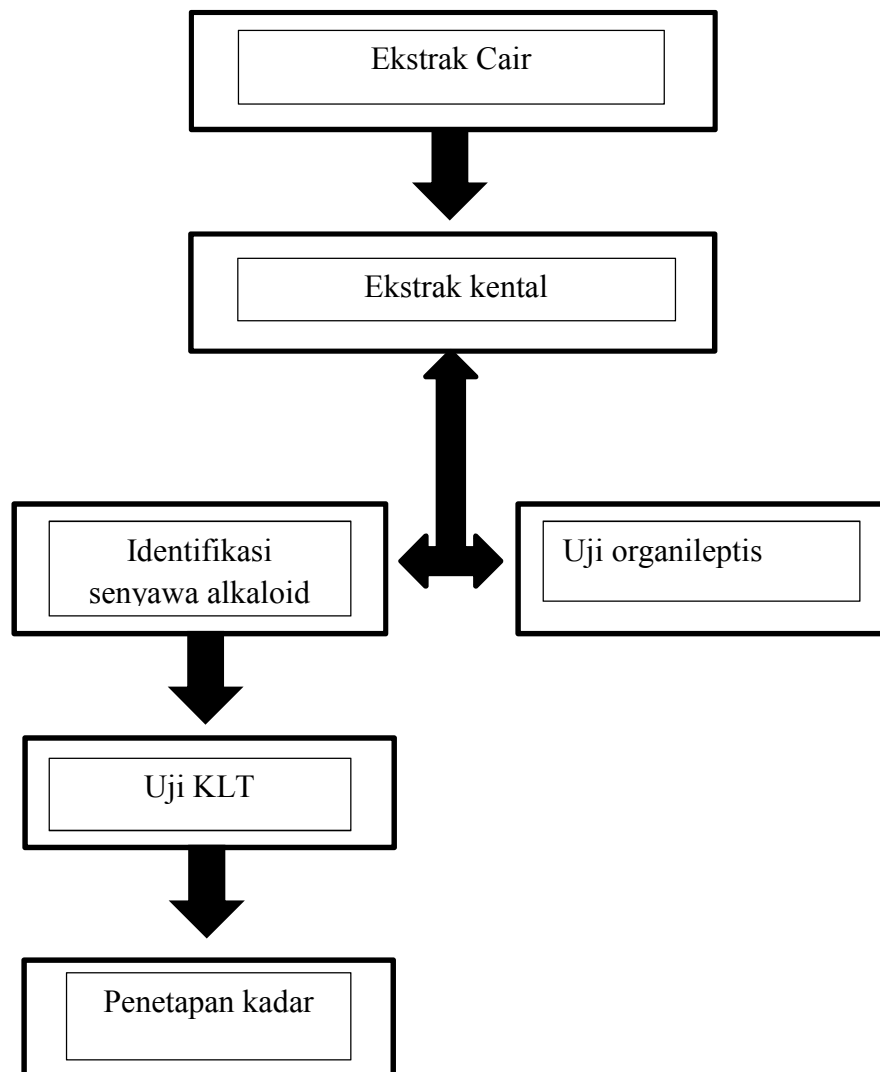
Gambar 9. Skema Kerja Pembuatan Simplisia Daun Lempipi (*Pergularia burniana wigh&arn*)

Lampiran 3. Skema Pembuatan Ekstrak Daun Lempipi (*Pergularia burniana* Wigh&Arn)



Gambar 10. Skema Pembuatan Ekstrak Daun Lempipi (*Pergularia burniana* Wigh&Arn)

Lampiran 4. Skema Pengelolaan Sampel



Gambar 11. Skema Pengelolaan Sampel

Lampiran 5. Proses Pembuatan Simplisia Daun Lempipi (*Pergularia burniana* Wigh&Arn)



Gambar 12. Proses Pembuatan Simplisia Daun Lempipi (*Pergularia burniana* Wigh&Arn)

Lampiran 6. Pembuatan Ekstrak Daun Lempipi (*Pergularia burniana* Wigh&Arn)



Gambar 13. Pembuatan Ekstrak Daun Lempipi (*Pergularia burniana* Wigh&Arn)

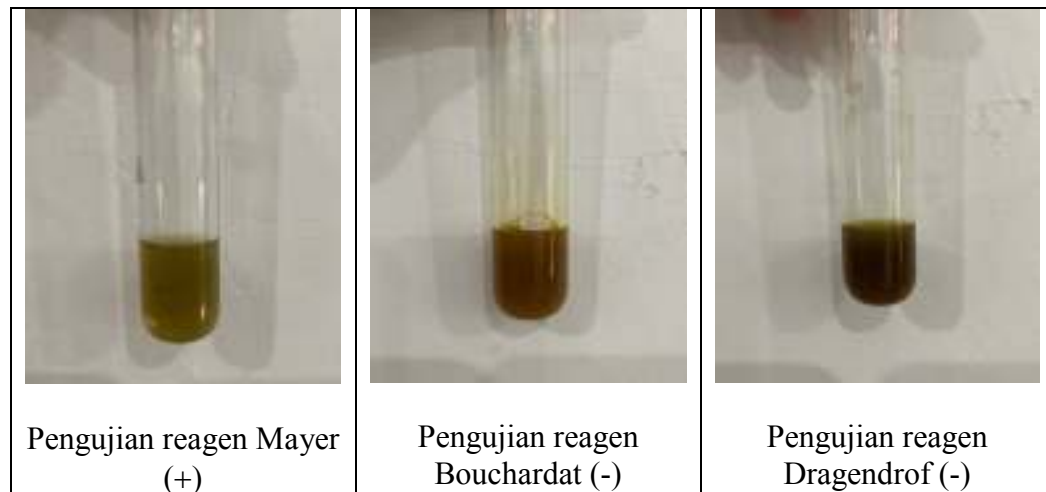
Lampiran 7. Perhitungan Hasil Evaluasi Ekstrak Daun Lempipi (*Pergularia burniana Wigh&Arn*)

a. Rendemen

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat simplisia yang digunakan}} \times 100\%$$

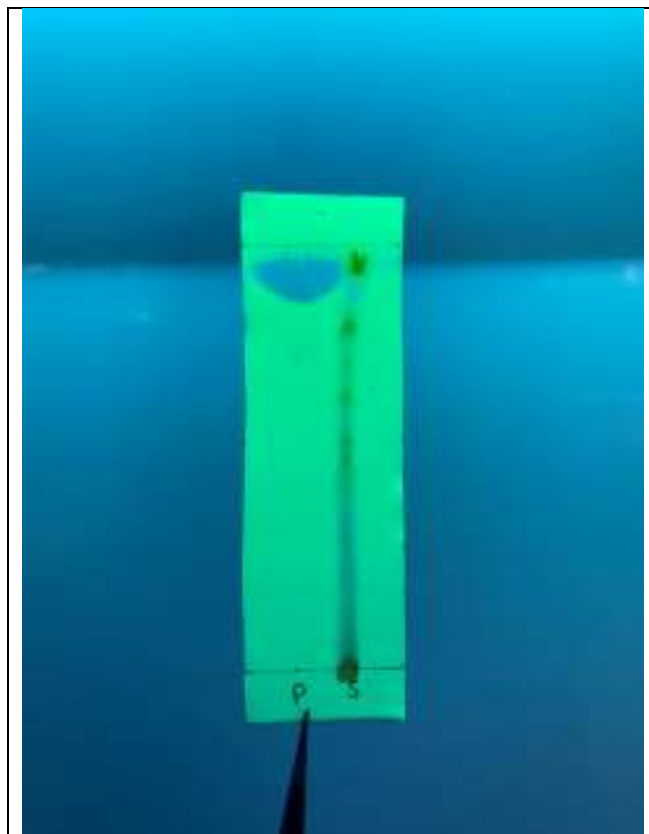
$$\text{Rendemen} = \frac{70 \text{ gr}}{188 \text{ gr}} \times 100\% = 37,23\%$$

**Lampiran 8. Uji Identifikasi Kandungan Alkaloid Ekstrak Daun Lempipi
(*Pergularia burniana* Wigh&Arn)**



**Gambar 14. Uji Identifikasi Kandungan Alkaloid Ekstrak Daun Lempipi
(*Pergularia burniana* Wigh&Arn)**

Lampiran 9. Uji Penegasan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)



Gambar 15. Uji Penegasan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Lampiran 10. Uji Penetapan Kadar Alkaloid

		 Larutan konsentrasi 10, 15, 20, 25, dan 30 ppm
Timbang Kafein	Larutan stok 1000 ppm	
		
Timbang ekstrak	Larutan stok 1000 ppm	Larutan stok 100 ppm

Gambar 16. Uji Penetapan Kadar Alkaloid

Lampiran 11. Perhitungan Penetapan Kadar Alkaloid

Perhitungan Penetapan Kadar Alkaloid

- a. Konsentrasi ppm

$$\text{Kafein} = \frac{50 \text{ mg}}{50 \text{ ml}} \times 1000 = 1000$$

- b. Perhitungan Kurva Baku

Pengenceran konsentrasi

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

Ket :

V1 = volume sebelum pengenceran

N1 = konsentrasi sebelum pengenceran

V2 = volume setelah pengenceran

N2 = konsentrasi setelah pengenceran

Perhitungan :

1. 10 ppm

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

$$V1 \times 1000 \text{ ppm} = \frac{50 \times 10}{1000} = 0,5 \text{ ml}$$

2. 15 ppm

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

$$V1 \times 1000 \text{ ppm} = \frac{50 \times 15}{1000} = 0,75 \text{ ml}$$

3. 20 ppm

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

$$V1 \times 1000 \text{ ppm} = \frac{50 \times 20}{1000} = 1 \text{ ml}$$

4. 25 ppm

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

$$V1 \times 1000 \text{ ppm} = \frac{50 \times 25}{1000} = 1,25 \text{ ml}$$

5. 30 ppm

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

$$V1 \times 1000 \text{ ppm} = \frac{50 \times 30}{1000} = 1,5 \text{ ml}$$

c. Perhitungan kadar alkaloid (persamaan regresi linier)

$$y = bx + a$$

ket :

y = Absorbansi

x = Konsentrasi (C) μ /ml

b = Slope (kemiringan)

a = Intersep

Replikasi I = 0,579

$$y = bx + a$$

$$y = 0,579$$

$$y = 0,05282x + 0,1508$$

$$0,579 = 0,05282x + 0,1508$$

$$x = \frac{0,05282 + 0,1508}{0,579} = 0,351$$

Replikasi II = 0,578

$$y = bx + a$$

$$y = 0,579$$

$$y = 0,05282x + 0,1508$$

$$0,578 = 0,05282x + 0,1508$$

$$x = \frac{0,05282 + 0,1508}{0,578} = 0,352$$

$$\text{Replikasi III} = 0,568$$

$$y = bx + a$$

$$y = 0,568$$

$$y = 0,05282x + 0,1508$$

$$0,579 = 0,05282x + 0,1508$$

$$x = \frac{0,05282 + 0,1508}{0,568} = 0,358$$

Lampiran 12. Perhitungan % Kadar Alakloid

$$\% \text{ Alkaloid} = \frac{\text{Konsentrasi} \times \text{Volume (ml)}}{\text{Berat Sampel (mg)}} \times 100\%$$

Replikasi I

$$\% \text{ Alkaloid} = \frac{0,351 \times 10 \text{ ml}}{100 \text{ mg}} \times 100 = 3,51\%$$

Replikasi II

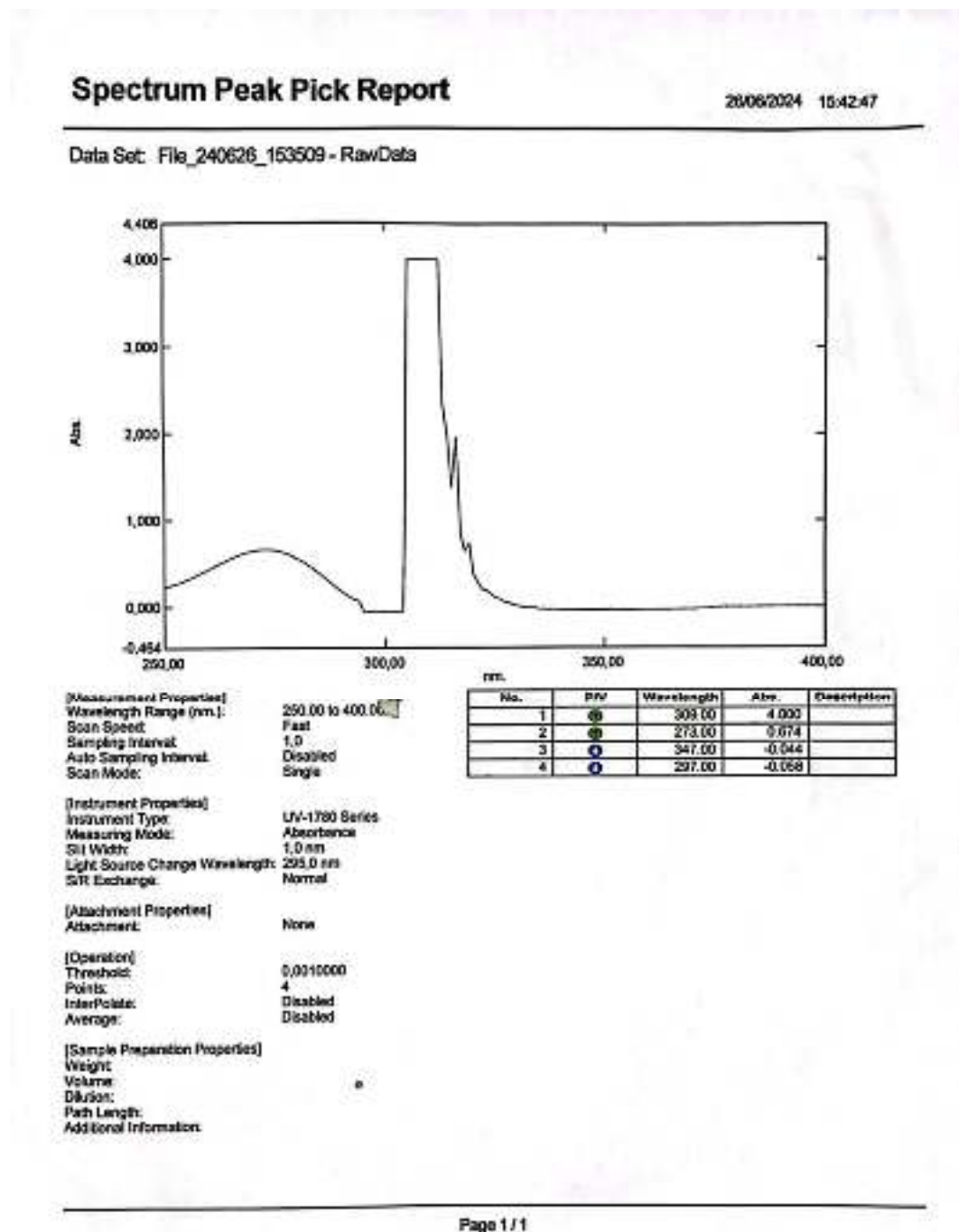
$$\% \text{ Alkaloid} = \frac{0,352 \times 10 \text{ ml}}{100 \text{ mg}} \times 100 = 3,52\%$$

Replikasi III

$$\% \text{ Alkaloid} = \frac{0,358 \times 10 \text{ ml}}{100 \text{ mg}} \times 100 = 3,58\%$$

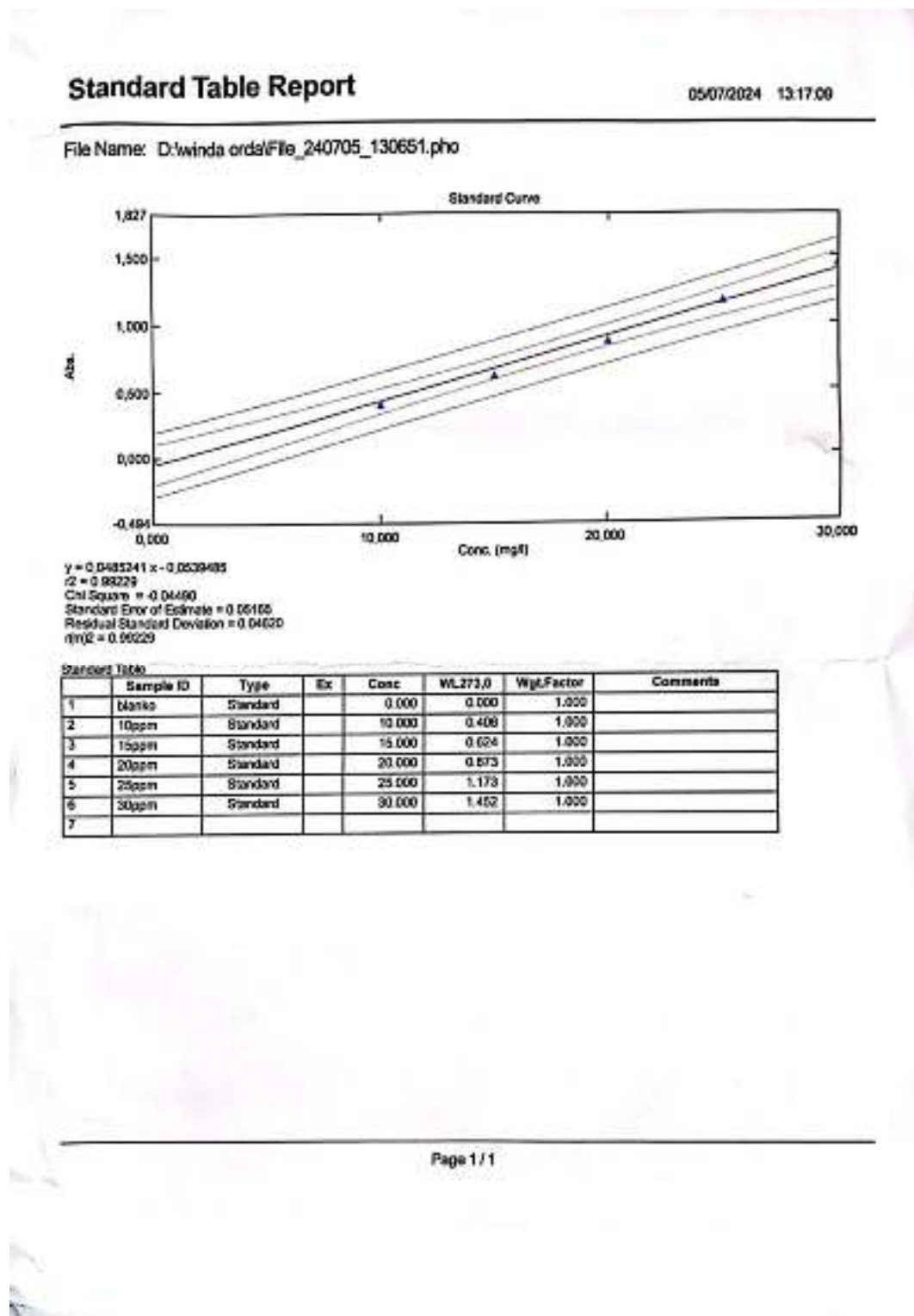
$$\text{Rata - rata } \% \text{ Alkaloid} = \frac{3,51\% + 3,52\% + 3,58\%}{3} = 3,53\%$$

Lampiran 13. Panjang Gelombang



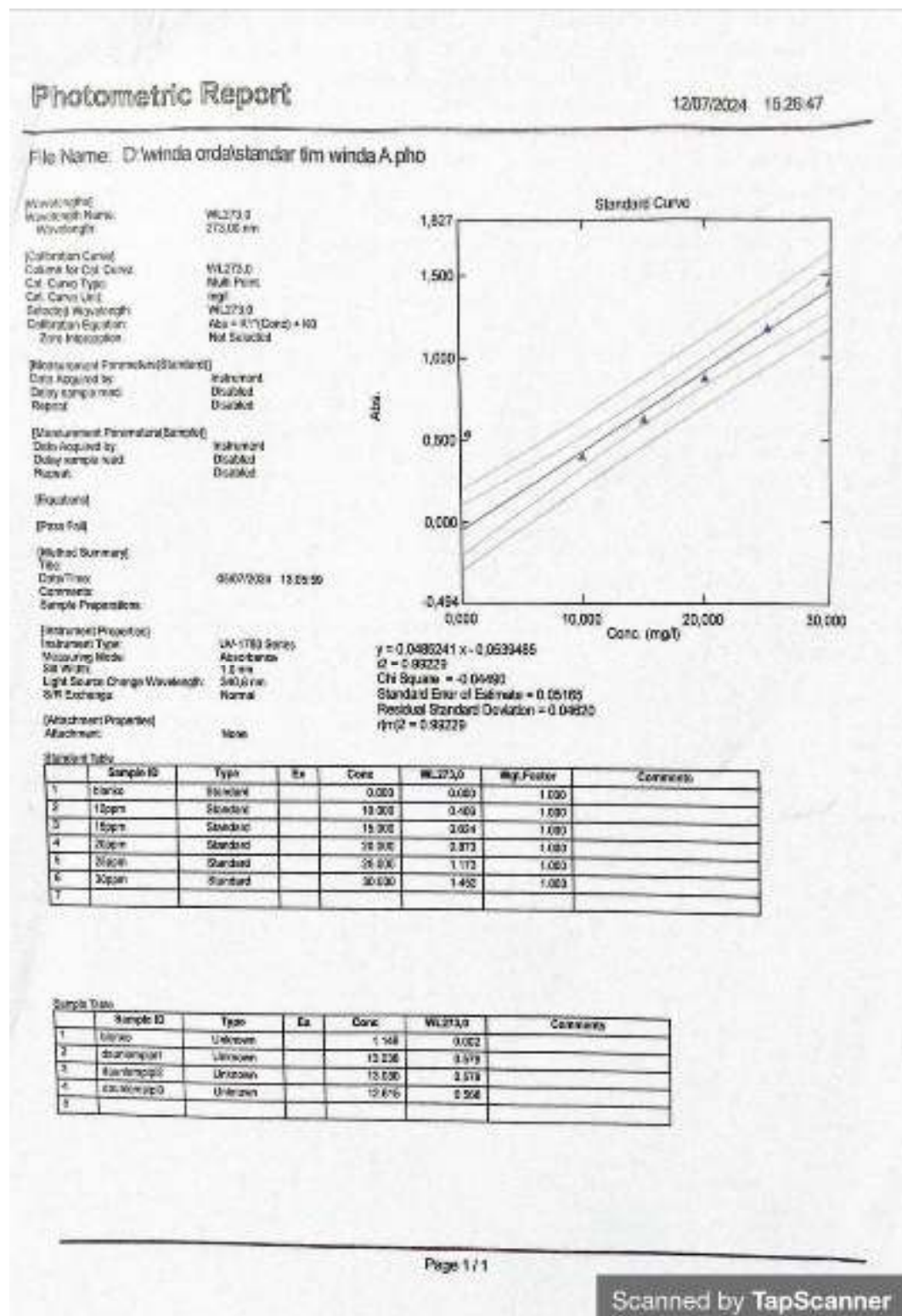
Gambar 17. Panjang gelombang

Lampiran 14. Kurva Baku



Gambar 18. Kurva baku

Lampiran 15. Penetapan Kadar



Gambar 19. Penetapan kadar