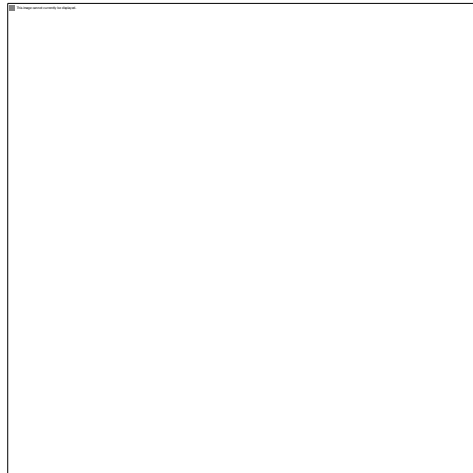


**SKRINING FRAKSI ALKALOID, FLAVONOID DAN
SAPONIN DAUN PUDING HITAM (*Graptophyllum pictum*
(L.)Griff) DENGAN MENGGUNAKAN METODE
KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS**

KARYA TULIS ILMIAH

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



Oleh:

Zelika Ridha Esti
21141079

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

2024

LEMBAR PENGESAHAN

**SKRINING FRAKSI ALKALOID, FLAVONOID DAN SAPONIN
DAUN PUDING HITAM (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff)
DENGAN MENGGUNAKAN METODE KROMATOGRAFI
LAPIS TIPIS**

Oleh:
Zelika Ridha Esti
21141079

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

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

Pembimbing II

Dewi Winni Fauziah, M. Farm., Apt
NIDN.0205019201

Penguji

Gina Lestari, M.Farm., Apt
NIP.2013.09.014

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan di bawah ini adalah :

Nama : Zeliha Ridha Esti

NIM : 21141079

Program Studi : Diploma (DIII) Farmasi

Judul : Skrining Fraksi Alkaloid, Flavonoid Dan Saponin Daun
Puding Hitam (*Griptophyllum pictum* (L.)Griff) Dengan
Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis.

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

 
Zeliha Ridha Esti

HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN

❖ MOTTO

“ Some things are up to us, some things are not up to us. “
-Epictus

❖ PERSEMBAHAN

Pertama-tama saya panjatkan puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga saya diberikan kemudahan untuk menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini dengan baik dan lancar.

Dengan penuh rasa syukur dan cinta Karya Tulis Ilmiah ini saya persembahkan kepada:

1. Kedua orang tua saya, ibu Sri Endang dan bapak Alm.Kari Ari Fandi atas doa yang selalu menyertai, cinta yang tiada batas, dukungan yang tak pernah surut dan segala pengorbanan yang tidak ternilai harganya yang telah menghantarku hingga ke titik ini, semoga saya bisa terus membanggakan kalian.
2. Ibu Nurwani Purnama Aji, M.Farm.,Apt selaku pembimbing 1, Ibu Dewi Winni Fauziah, M.Farm.,Apt. selaku Pembimbing 2 dan Ibu Gina Lestari M.Farm.,Apt. selaku penguji. Saya mengucapkan terima kasih atas waktu, ilmu dan kesabarannya dalam membimbing hingga saya dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
3. Untuk sahabat dan teman-teman seperjuangan yang selalu memberikan semangat dan kebersamaan dalam melewati masa-masa sulit selama perkuliahan.
4. Tak lupa, karya ini kupersembahkan untuk almamater kebanggaanku. Sebagai tempat yang telah memberiku ilmu, pengetahuan, pengalaman berharga dan kesempatan untuk berkembang. Terima kasih telah menjadi wadah pembelajaran dan pembentukan karakter, serta memberikan ruang mimpi dan aspirasiku untuk tumbuh.
5. *Last but no least, I wanna thank me. I wanna thank me for believing in me, I wanna thank me for all doing this hard work, I wanna thank me for having no days off.*

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-nya, sehingga penulis dapat menyusun Karya Tulis Ilmiah (KTI) yang berjudul **Skrining Fraksi Alkaloid, Flavonoid Dan Saponin Daun Puding Hitam (*Graptophyllum pictum* (L.)Griff) Dengan Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis** tepat pada waktunya. Karya Tulis Ilmiah disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Ahli Madya Farmasi di Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fathah Bengkulu.

1. Ibu Nurwani Purnama Aji, M.Farm.,Apt. selaku Pembimbing 1 yang telah tulus memberikan bimbingan dan arahan kepada saya dalam penyusunan Proposal Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini.
2. Ibu Dewi Winni Fauziah, M.Farm.,Apt. selaku Pembimbing 2 yang telah tulus memberikan bimbingan dan arahan kepada saya dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini.
3. Ibu Gina Lestari,M.Farm.,Apt selaku penguji
4. Ibu Devi Novia, M.Farm.,Apt selaku Pembimbing Akademik Stikes Al-Fatah Bengkulu.
5. Bapak Drs. Djoko Triyono, Apt., MM Selaku Ketua Yayasan Stikes Al-Fatah Bengkulu.
6. Para Dosen dan Staf Karyawan Stikes Al-Fatah Bengkulu yang telah memberikan ilmu pengetahuan kepada penulis selama menempuh pendidikan di Stikes Al-Fatah Bengkulu.
7. Rekan-rekan seangkatan di Stikes Al-Fatah Bengkulu, yang tidak bisa saya

sebutkan satu- per satu.

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

Bengkulu, Juli 2024

Zelika ridha esti

INTISARI

Sejak lama, masyarakat Indonesia telah mengenal dan memanfaatkan tumbuhan sebagai obat untuk mengobati berbagai penyakit. Pengetahuan tentang tumbuhan obat telah diwariskan dari nenek moyang ke generasi berikutnya. Obat tumbuhan lebih baik daripada obat paten buatan sintetis. Untuk menyembuhkan penyakitnya. Salah satu tanaman obat yang biasa digunakan adalah daun puding hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, didalam fraksi (n-heksan, etil asetat dan aquadest) daun puding hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff).

Metode pembuatan ekstrak dengan maserasi dan diuapkan dengan *Rotary evaporator* lalu dilakukan fraksinasi dengan menggunakan tiga pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu polar (aquadest), semipolar (etil asetat) dan non polar (n-heksana). Lalu dilakukan uji organeleptis, rendemen, kemudian dilakukan skrining fitokimia serta uji penegasan dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Hasil skrining fitokimia yang didapat pada fraksi aquadest, etil asetat dan n-heksana tidak didapatkan mengandung senyawa alkaloid pada fraksi aquadest dan etil asetat di dapatkan hasil positif flavonoid dan saponin. Sedangkan hasil uji penegasan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada fraksi aquadest uji flavonoid di dapatkan hasil positif dengan nilai Rf sampel 0,65 dan baku pembanding kuarsetin 0,66 dan pada fraksi aquadest uji saponin di dapatkan hasil positif dengan nilai Rf sampel 0,76 dan baku pembanding sapogenin 0,78.

Kata Kunci : Ekstrak Daun Puding Hitam, Fraksinasi, Skrining Fraksi, Kromatografi Lapis Tipis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL	1
DAFTAR GAMBAR.....	2
DAFTAR LAMPIRAN	3
BAB I PENDAHULUAN.....	4
1.1 Latar Belakang	4
1.2 Batasan Masalah.....	6
1.3 Rumusan Masalah	6
1.4 Tujuan Penelitian.....	7
1.5 Manfaat Penelitian.....	7
1.5.1 Bagi Akademik.....	7
1.5.2. Bagi Penelitian Lanjutan	7
1.5.3. Bagi Masyarakat.....	8
1.5.4. Bagi Peneliti Lain.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Kajian Teori.....	6
2.1.1 Kandungan Daun Puding Hitam	6
2.1.2 Klasifikasi Daun Puding Hitam	7
2.1.3 Morfologi Daun Puding Hitam	7
2.1.4 Simplisia.....	8
2.2 Metode Ekstraksi.....	11
2.2.1 Ekstrak	15
2.2.2 Jenis Ekstrak	19
2.2.3 Fraksinasi	20
2.1.6 Skrining Fitokimia	20
2.2.4 Kromatografi Lapis Tipis.....	24

2.5 Kerangka Konsep	24
BAB III METODE PENELITIAN	25
3.1. Metode Penelitian.....	25
3.2.Tempat dan Waktu Penelitian	26
3.2.1. Waktu Penelitian	26
3.3. Verifikasi Tanaman.....	26
3.4. Alat dan Bahan Penelitian.....	26
3.4.1. Alat Penelitian.....	26
3.4.2. Bahan Penelitian.....	26
3.4.1. Pengambilan Sampel.....	27
3.4.2. Pembuatan Simplisia.....	27
3.4.3.Pembuatan ekstrak Daun Puding Hitam	28
3.4.4.Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Puding Hitam.....	29
3.4.5 Pemeriksaan Fraksinasi.....	30
3.4.6 Pembuatan Larutan Pereaksi	30
3.4.7 Uji Fitokimia dari fraksi (n-heksana, etil asetat dan aquadest).....	31
3.5 Metode Kromatografi Lapis Tipis.....	32
3.6 Analisis Data	33
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	Error! Bookmark not defined.
4.1 Hasil Dan Pembahasan Penelitian	Error! Bookmark not defined.
4.1.1. Hasil Dan Pembahasan Verifikasi Tanaman.....	Error! Bookmark not defined.
4.1.2. Hasil Dan Pembahasan Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Puding Hitam	Error! Bookmark not defined.
4.1.3. Hasil dan Pembahasan Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Puding Hitam	Error! Bookmark not defined.
4.1.4. Hasil Dan Pembahasan Pemeriksaan Fraksinasi Daun Puding Hitam	Error! Bookmark not defined.
4.1.5. Hasil Dan Pembahasan Uji Skrining Fitokimia Daun Puding Hitam	Error! Bookmark not defined.

4.1.6 Hasil Dan Pembahasan Uji Penegasan Fraksi Daun Puding Hitam..**Error!**
Bookmark not defined.

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN Error! Bookmark not defined.

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

5.2.1 Bagi Akademik..... **Error! Bookmark not defined.**

5.2.2 Bagi Peneliti Lanjutan..... **Error! Bookmark not defined.**

5.2.3 Bagi Masyarakat..... **Error! Bookmark not defined.**

DAFTAR PUSTAKA 34

DAFTAR TABEL

Tabel I. Pelarut Polar.....	17
Tabel II. Pelarut Semi Polar	18
Tabel III. Pelarut Non Polar	18
Tabel IV. Hasil Pembuatan Ekstrak Daun Puding Hitam	Error! Bookmark not defined.
Tabel V. Uji Organeleptis Ekstrak Etanol 96% Daun Puding Hitam	Error! Bookmark not defined.
Tabel VI. Uji Bobot Jenis Ekstrak Etanol 96% Daun Puding Hitam	Error! Bookmark not defined.
Tabel VII. Hasil Uji Rendemen Ekstrak Etanol Daun Puding Hitam.....	Error! Bookmark not defined.
Tabel VIII. Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Puding Hitam ...	Error! Bookmark not defined.
Tabel IX. Hasil Uji Organeleptis fraksi Ekstrak Etanol Daun Puding Hitam.....	Error! Bookmark not defined.
Tabel X. Hasil Uji Skrining Fitokimia Alkaloid dari Fraksi Daun Puding Hitam	Error! Bookmark not defined.
Tabel XI. Hasil Uji Skrining Fitokimia Flavonoid Fraksi Daun Puding Hitam ..	Error! Bookmark not defined.
Tabel XII. Hasil Uji Skrining Fitokimia Saponin Fraksi Daun Puding Hitam ...	Error! Bookmark not defined.
Tabel XIII. Hasil Uji Penegasan Senyawa Flavonoid Fraksi Daun Puding Hitam	Error! Bookmark not defined.
Tabel XIV. Hasil Uji Penegasan Senyawa Saponin Fraksi Daun Daun Puding ..	Error! Bookmark not defined.

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Daun Puding Hitam (<i>Graptophyllum pictum</i> (L.)Griff).....	6
Gambar 2. Stuktur Alkaloid	22
Gambar 3. Struktur flavonoid	23
Gambar 4. Struktur saponin	24
Gambar 5. Kerangka konsep	25
Gambar 6. Reaksi Flavonoid dengan Serbuk Mg dan Hcl Pekat.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 7. Reaksi Saponin.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 8. Hasil Verifikasi Daun Puding Hitam	Error! Bookmark not defined.
Gambar 9. Skema Pembuatan simplisia Daun Puding Hitam..	Error! Bookmark not defined.
Gambar 10. Skema Pembuatan Estrak Daun Puding Hitam	Error! Bookmark not defined.
Gambar 11. skema Fraksinasi Ekstrak Daun Puding Hitam	Error! Bookmark not defined.
Gambar 12. Skema Kerja Skrining Fraksi Daun Puding Hitam	Error! Bookmark not defined.
Gambar 13. Ilustrasi Pengerjaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	Error! Bookmark not defined.
Gambar 14. Alat.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 15. Bahan.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 16. Proses Pembuatan Simplisia.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 17. Proses Pembuatan Ekstrak	Error! Bookmark not defined.
Gambar 18. Proses fraksinasi.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 19. Uji skrining fitokimia flavonoid,alkaloid dan saponin.	Error! Bookmark not defined.
Gambar 20. Uji Penegasan KLT	Error! Bookmark not defined.

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Hasil Verifikasi Daun Puding Hitam..... **Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 2. Skema Pembuatan simplisia Daun Puding Hitam**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 3. Skema Pembuatan Estrak Daun Puding Hitam**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 4. Skema Fraksinasi Ekstrak Daun Puding Hitam**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 5. Skema Kerja Skrining Fraksi Daun Puding Hitam**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 6. Ilustrasi Pengerjaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 7. Alat **Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 8. Bahan **Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 9. Proses Pembuatan Simplisia..... **Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 10. Proses Pembuatan Ekstrak..... **Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 11. Proses fraksinasi **Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 12. Uji skrining fitokimia flavonoid,alkaloid dan saponin**Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 13. Uji Penegasan KLT **Error! Bookmark not defined.**
- Lampiran 14. Perhitungan..... **Error! Bookmark not defined.**

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sejak lama, masyarakat Indonesia telah mengenal dan memanfaatkan tumbuhan sebagai obat untuk mengobati berbagai penyakit. Pengetahuan tentang tumbuhan obat telah diwariskan dari nenek moyang ke generasi berikutnya. Obat tumbuhan lebih baik daripada obat paten buatan sintetis. Untuk menyembuhkan penyakitnya, mereka percaya obat herbal lebih aman untuk dikonsumsi dan tidak memiliki efek samping yang tidak diinginkan. (hilmarni, 2016).

Daun Puding Hitam adalah salah satu tanaman obat yang sering digunakan. Ada banyak senyawa kimia di daun puding hitam (*Graptophyllum pictum* (L.)Griff), termasuk alkaloid, pektin, asam format, steroid, saponin,

tannin, flavonoid, dan alkohol. Secara tradisional, daun ini digunakan untuk menyembuhkan sembelit, rematik, menstruasi, wasir, penyakit telinga, pencahar, dan kanker. Menurut beberapa penelitian, Daun Puding Hitam memiliki efek anti-implantasi dan oksitoksik pada tikus (Hilmarni,2020).

Pada penelitian (Sri Natalia Saragih *et al.*, 2023) pada uji skrining fitokimia, ditemukan bahwa serbuk dan ekstrak etanol daun puding hitam (*Graptophyllum pictum* (L.)Griff) memiliki metabolit sekunder, yang terdiri dari alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan glikosida. Metabolit sekunder ini menunjukkan bahwa daun puding hitam (*Graptophyllum pictum* (L.)Griff) memiliki efek farmakologis dan dapat digunakan sebagai obat. Dengan begitu saya ingin melanjutkan tentang ekstraksi senyawa bioaktif dari daun puding hitam menggunakan metode fraksinasi dengan n-heksan dan etil asetat alasannya karena dapat mengembangkan metode ekstraksi, penelitian lebih lanjut dapat membantu mengembangkan dan mengoptimalkan metode ekstraksi untuk memastikan bahwa semua senyawa bioaktif, termasuk alkaloid, flavonoid dan saponin, dapat diekstraksi secara efisien. Dengan mencoba pelarut lain atau metode ekstraksi bertingkat dan hasil yang lebih akurat dan komprehensif dapat dicapai.

.Menurut (Hoa, dkk., 2007) Pada proses ekstraksi, pelarut dipilih karena pelarut memiliki kemampuan untuk melarutkan senyawa yang akan diekstrak, mudah dipisahkan (menguap), dan dimurnikan kembali. Sifat kepolaran, kelarutan, dan transfer massa senyawa yang diekstrak menentukan penggunaan pelarut organik. Kepolaran, momen dipol, polarisabilitas, dan ikatan hidrogen

mherupakan faktor penting dalam menentukan kelarutan senyawa.

Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh ekstraksi bertingkat secara fraksinasi dengan pelarut yang berbeda tingkat kepolaran seperti (aquadest, n-heksan, dan etil asetat) terhadap ekstrak etanol Daun Puding Hitam (*Graptophyllum pictum* (L.)Griff). Proses ekstraksi dan fraksinasi dengan pelarut organik yang berbeda berdasarkan tingkat kepolaran untuk mengambil kadar senyawa bioaktif sehingga didapatkan senyawa dengan menggunakan beberapa pelarut (Sousa dkk., 2008).

Dari uraian di atas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian yang berjudul Skrining Fraksi Alkaloid, Flavonoid Dan Saponin Daun Puding Hitam (*Graptophyllum pictum* (L.)Griff) Dengan Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis sehingga dapat mengembangkan argument dan pembenaran yang lebih kuat dalam pembahasan KTI saya nanti.

1.2 Batasan Masalah

Berdasarkan uraian diatas maka batasan masalah dalam penelitian ini yaitu:

- a. Sampel yang digunakan dalam penelitian kali ini menggunakan Daun Puding Hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff).
- b. Metode ekstraksi yang digunakan pada Daun Puding Hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) adalah metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%

- c. Fraksinasi metode ekstraksi cair-cair dengan menggunakan pelarut aquadest, n-heksana dan etil asetat.
- d. Identifikasi senyawa metabolite sekunder dari fraksi aquadest, etil asetat dan n-heksana.

1.3 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas rumusan masalah dalam penelitian ini adalah

- a. Apakah senyawa metabolit sekunder Alkaloid, flavonoid dan saponin terdapat didalam fraksi (n heksana, etil asetat dan aquadest) dari fraksi etanol Daun Puding Hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) ?
- b. Berapakah nilai RF dari metabolit sekunder yang terdapat pada fraksi (n-heksana, etil asetat dan aquadest) dari fraksi etanol Daun Puding Hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) ?

1.4 Tujuan Penelitian.

Adapun tujuan penelitian yang di miliki adalah sebagai berikut:

- a. Untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder apa yang terdapat didalam fraksi (n-heksana, etil asetat dan aquadest) dari fraksi etanol Daun Puding Hitam (*Graptophyllum pictum* (L.)Griff).
- b. Untuk menentukan nilai RF dari senyawa metabolit sekunder yang diperoleh dari fraksi (n-heksana, etil asetat dan aquadest) etanol Daun Puding Hitam (*Graptophyllum pictum* (L.)Griff).

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1 Bagi Akademik

Dengan adanya penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah dan bermanfaat bagi mahasiswa terhadap Skrining Fraksi Alkaloid, Flavonoid Dan Saponin Daun Puding Hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) Dengan Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis.

1.5.2. Bagi Penelitian Lanjutan

Dengan adanya penelitian ini diharapkan dapat menjadi salah satu sumber informasi bagi calon peneliti selanjutnya sebagai tambahan referensi.

1.5.3. Bagi Masyarakat

Memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat tentang Uji Skrining Fraksi Alkaloid, Flavonoid Dan Saponin Daun Puding Hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) Dengan Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis.

1.5.4. Bagi Peneliti Lain

Karya tulis ini dapat digunakan sebagai referensi dan informasi ilmiah bagi peneliti selanjutnya guna mengembangkan ilmu kefarmasian dalam teknologi, khususnya penelitian berkenaan dengan Skrining Fraksi Alkaloid, Flavonoid Dan Saponin Daun Puding Hitam (*Graptophyllum*

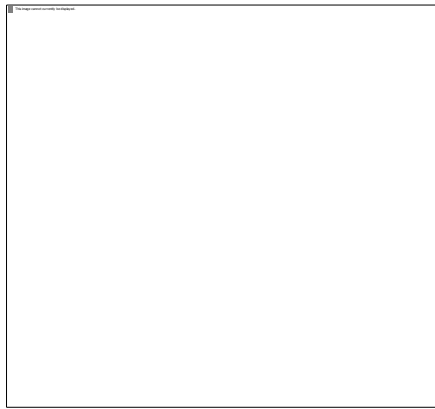
pictum (L.) Griff) Dengan Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kajian Teori

2.1.1 Kandungan Daun Puding Hitam (*Graptophyllum pictum* (L.)Griff)



Gambar 1. Daun Puding Hitam (*Graptophyllum pictum* (L.)Griff)

Di Indonesia, Daun Puding Hitam secara tradisional digunakan untuk mengobati menstruasi, wasir, infeksi saluran kencing, kudis, bengkak, luka, dermatitis, penyakit telinga, pencahar, dan kanker (Hilmarni, Yohana Yane, 2020).

Salah satu tanaman yang digunakan sebagai antibakteri adalah daun puding hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) yang digunakan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan KHM 0,23 µg/mL dengan kandungan yang diketahui sebagai antibakteri adalah alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, dan glikosida (Rikomah dkk., 2017).

Daun Puding Hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) diketahui

mengandung berbagai senyawa kimia, diantaranya alkaloid, pektin, asam format, steroid, saponin, tannin, flavonoid serta alkohol (hilmarni, 2016).

2.1.2 Klasifikasi Daun Puding Hitam

Menurut United States Department of Agriculture (USDA) (2008), klasifikasi tumbuhan puding hitam sebagai berikut:

Subkingdom	: <i>Plantae</i>
Superdivisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>
Subkelas	: <i>Asteridae</i>
Ordo	: <i>Scrophulariales</i>
Family	: <i>Acanthaceae</i>
Genus	: <i>Graptophyllum</i> <i>Spesies</i>
Spesies	: <i>Graptophyllum pictum</i> (L.) Griff

2.1.3 Morfologi Daun Puding Hitam

Puding hitam adalah tumbuhan perdu yang memiliki batang tegak dari kayu. Daun berwarna ungu kehitaman dengan satu daun dan tangkai pendek. Daunnya berbentuk bulat seperti telur dengan ujung dan pangkal runcing, tepi bergelombang, dan berlendir berwarna ungu kehitaman di permukaannya. Batang dengan bercak putih berubah menjadi hijau muda. Pembungaan majemuk keluar dari ujung batang dan tersusun dalam rangkaian tandan

panjangnya 3-12 cm berwarna merah keunguan. Bagian tumbuhan yang dimanfaatkan masyarakat yaitu bagian daun dengan pengolahannya daun direbus kemudian airnya diminum. Manfaat dari tumbuhan ini yaitu berkhasiat untuk mengobati wasir, rematik, batu empedu dan hepatitis (Aguayo Torrez, 2021).

2.1.4 Simplisia

Menurut Farmakope Herbal Indonesia edisi pertama (2009), simplisia adalah bahan alam yang telah di keringkan yang di gunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan kecuali dinyatakan lain, suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60°C.

A. Menurut Materi Medika Indonesia (1989), simplisia dapat digolongkan dalam tiga kategori yaitu:

1. Simplisia Nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang terdiri dari tanaman utuh, bagian tanaman, atau eksudat. Eksudat adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dipisahkan dari tanaman dengan cara tertentu tanpa mengandung zat kimia.

2. Simplisia Hewani

Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa atau bagian hewan zat-zat yang di hasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Contoh : minyak ikan (*oleum jecorisasseli*) dan madu (*meldeparntum*).

3. Simplisia Pelikan atau mineral

Simplisia pelikan adalah simplisia yang berupa bahan-bahan pelican (mineral) yang belum di olah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia. Contoh : serbuk seng, dan serbuk tembaga (Agoes, 2007)

B. Pengelolaan Simplisia

Jumlah bagian tanaman yang digunakan, umur tanaman atau bagian tanaman saat panen, waktu panen, dan lingkungan tempat tumbuh memengaruhi pengumpulan bahan baku kadar senyawa aktif dalam simplisia. Waktu panen erat terkait dengan pembentukan senyawa aktif di area tanaman yang akan dipanen. Waktu panen adalah saat bagian tanaman mengandung senyawa aktif yang paling banyak (Agoes, 2007).

1. Sortasi Basah

Sortasi basah adalah pemilihan hasil panen ketika tanaman masih segar. Sortasi dilakukan terhadap tanah dan kerikil, rumput-rumputan, dan tanaman lain atau bagian lain dari tanaman yang tidak digunakan serta bagian tanaman yang rusak (dimakan ulat atau sebagainya) (Agoes, 2007).

2. Pencucian

Pencucian bertujuan untuk menghilangkan kotoran dan mengurangi mikroba-mikroba yang menempel pada bahan. Pencucian harus dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin untuk menghindari larut dan terbuangnya zat yang terkandung dalam simplisia. Pencucian harus

menggunakan air bersih, seperti air dari mata air, sumur atau PAM (Agoes, 2007).

3. Perajangan

Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, dengan alat perajang khusus sehingga diperoleh rajangan tipis atau dengan potongan ukuran yang dikehendaki. Semakin tipis bahan yang dikeringkan semakin cepat penguapan air, sehingga mempercepat proses pengeringan simplisia (Agoes, 2007).

4. Pengeringan

Tujuan pengeringan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatis akan dicegah penurunan atau kerusakan simplisia (Agoes, 2007).

5. Sortasi Kering

Sortasi setelah pengeringan merupakan tahap akhir pembuatan simplisia. Tujuan sortasi kering untuk memisahkan benda-benda asing dan pengotor-pengotor lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering (Agoes, 2007).

6. Pengepakan atau penyimpanan

Berbagai faktor luar dan dalam, seperti cahaya, oksigen, reaksi kimia, penyerapan air, pengotoran, serangga, dan kapang, dapat membuat simplisia rusak atau berubah kualitasnya selama penyimpanan. Penyimpanan dapat dilakukan di wadah tertutup baik, rapat, atau kedap. (Agoes, 2007).

2.2 Metode Ekstraksi

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

Ekstraksi dibagi menjadi dua, yaitu:

1. Cara Dingin

a . Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokkan atau pengadukan pada temperatur ruangan kamar (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000). Maserasi memiliki keuntungan, yaitu mudah dilakukan, peralatannya murah, dan mudah digunakan. Kelemahan maserasi termasuk waktu yang diperlukan untuk mengekstraksi bahan yang cukup lama, penyarian yang kurang sempurna, dan penggunaan pelarut yang banyak jika dilakukan remaserasi (Badan Pengawasan Obat dan Makanan, 2013).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya

terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) (Sanuki, 2020)

2. Cara Panas

a). Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

b). Sokletasi

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

c). Digesti

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

d). Infundasi

Infundasi adalah proses penyarian yang umumnya dilakukan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Proses ini dilakukan pada suhu 90°C selama 15 menit.

e). Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air, yakni 30 menit pada suhu 90-100°C (Sanuki, 2020).

f). Fraksinasi

"Fraksinasi" berasal dari kata "fraction" atau "bagian", dan secara harfiah berarti proses memilah atau memisahkan suatu kelompok atau entitas menjadi beberapa bagian. Istilah "fraction" juga dapat digunakan untuk menggambarkan proses pembagian kelompok secara lebih sederhana. Sebuah ekstrak tanaman dapat mengandung puluhan atau ratusan senyawa, tergantung pada proses fraksinasi. Misalnya, ekstrak 100 senyawa dapat dibagi menjadi empat fraksi atau kelompok (fraksi A, B, C, dan D), masing-masing dengan sekitar 25 jenis senyawa. Setelah itu dapat dilakukan pembagian kelompok tahap ke dua, dengan melakukan fraksinasi pada kelompok target/terpilih. Misalkan berdasarkan hasil pertimbangan atau hasil pengujian bahwa fraksi B menjadi fraksi terpilih, maka fraksi B difraksinasi kembali untuk dibagi menjadi lima fraksi/kelompok yang lebih kecil (sebagai contoh: B1, B2, B3, B4, dan B5), di mana masing-masing fraksi memiliki senyawa sekitar 5 jenis. Kemudian dilakukan pengujian lagi untuk mendapatkan fraksi yang terpilih. Andaikan fraksi B3 menjadi fraksi terpilih, maka fraksi B3 dengan anggotanya yang berjumlah 5 jenis senyawa, secara teknis cukup memungkinkan untuk dilakukan pemisahan dari salah satu senyawanya misalkan B3-2 (senyawa nomor 2 dari lima senyawa anggota fraksi B3).

Fraksinasi memiliki banyak tujuan. Salah satu tujuan fraksinasi adalah untuk mendapatkan fraksi (bagian) tertentu dari suatu ekstrak, yang merupakan fraksi aktif dan harus terpisah dari fraksi lain yang kurang aktif. Tujuan lain adalah untuk mendapatkan ekstrak yang lebih murni, yang menghilangkan senyawa lain yang mengotori atau mengganggu. Untuk memisahkan atau

mengisolasi satu senyawa metabolit sekunder, vaksinasi juga diperlukan. Seperti yang ditunjukkan di atas, fraksinasi memudahkan pemisahan senyawanya. Beberapa metode yang dapat digunakan untuk melakukan vaksinasi termasuk ekstraksi cairan-cairan (ekstraksi cairan-cairan) atau penggunaan kolom kromatografi dengan fase diam dan fase gerak tertentu (Arel Afdhil dkk,2023).

A. Fraksinasi dengan liquid-liquid extraction (cairan-cairan)

Adalah pemisahan sekelompok senyawa dari kumpulan senyawa dalam sebuah ekstrak yang telah dilarutkan pada suatu pelarut dengan cara menambahkan jenis pelarut lain yang memiliki polaritas berbeda dan tidak dapat bercampur antara keduanya (immiscible). Pada umumnya fraksinasi dengan metode ini dilakukan dengan menggunakan labu pemisah (separating funnel). Hadirnya dua pelarut (pelarut awal dan pelarut tambahan) yang berbeda sifat, baik polaritas maupun masa jenisnya, pada sebuah sistem dalam labu pemisah menyebabkan terbentuknya dua fase/fraksi yang terpisah pada bagian atas dan bawah. Kedua fase tersebut terbentuk setelah kedua pelarut beserta ekstrak yang ada di dalamnya itu dicampur dengan cara dikocok dan kemudian didiamkan selama beberapa saat. Fase bagian atas ditempati oleh pelarut yang memiliki masa jenis lebih rendah, dan fase bagian bawah ditempati oleh pelarut dengan masa jenis lebih tinggi. Senyawa-senyawa dari ekstrak tersebut akan bergerak dan terpisah dengan dua kecenderungan mengikuti kedekatan sifat dari senyawa dengan pelarutnya. Sejumlah senyawa akan bergabung bersama fase bagian atas dan ada sejumlah senyawa lainnya akan

bergabung dengan fase bagian bawah. Penggunaan labu pemisah memungkinkan kedua fase/fraksi tersebut dapat dipisahkan dengan mudah. Dengan demikian akan diperoleh dua fraksi yang berbeda, di mana masing-masing fraksi memiliki anggota senyawa yang berbeda jenisnya.

Dengan demikian sebuah proses fraksinasi telah dilakukan. Setelah masing-masing fraksi tersebut dipisahkan maka tahap selanjutnya adalah pengentalan atau pengeringan fraksi dengan cara evaporasi menggunakan evaporator untuk memisahkan pelarut dari fraksi ekstraknya. Biasanya hasil proses evaporasi menggunakan rotary vacuum evaporator berupa pasta atau cairan kental. Untuk mengeringkannya dapat menggunakan freeze dryer sehingga akan didapatkan fraksi ekstrak berbentuk padatan (solid) (apt. Afdhil Arel dkk., 2023)

B. Fraksinasi dengan kolom kromatografi

Teknik fraksinasi lainnya adalah dengan metode kromatografi kolom. Pada dasarnya, prinsip kerjanya hampir sama dengan liquid-liquid extraction, yang membedakan adalah media yang digunakan. Pada fraksinasi dengan kromatografi kolom, maka proses pembagian fraksinya dilakukan pada sebuah kolom dengan menggunakan prinsip-prinsip kromatografi di mana sama-sama mengaplikasikan prinsip tingkat kepolaran/polaritas, prinsip yang sama seperti pada liquid-liquid extraction (Agung Nugroho, 2017).

2.2.1 Ekstrak

Menurut Farmakope Indonesia Edisi IV (Depkes RI, 1995), Ekstrak

kering adalah sediaan yang berasal dari tanaman atau hewan yang dibuat dengan memecahkan dan mengeringkan ekstrak cair sampai mencapai konsentrasi yang diinginkan. Ekstrak kental diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani dengan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan, dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Dalam kebanyakan kasus, pengaturan didasarkan pada jumlah bahan aktif dengan menambah bahan tambahan inert. Pengeringan adalah proses menghilangkan pelarut dari bahan sehingga menghasilkan serbuk atau masa kering-rapuh, tergantung pada proses yang digunakan dan peralatan yang digunakan (Zulharmitta dkk., 2017).

Cara Pembuatan ekstrak :

1. Pembuatan serbuk simplisia

Proses awal pembuatan ekstrak yaitu tahapan pembuatan serbuk simplisia kering. Dari simplisia kering dibuat serbuk simplisia dengan peralatan tertentu sampai derajat kehalusan tertentu. Semakin halus serbuk simplisia, maka proses ekstraksi semakin efisien dan efektif, akan tetapi semakin rumit tahapan filtrasi (Ikhlas, 2013).

2. Cairan pelarut

Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak yang optimal untuk senyawa kandungan aktif sehingga senyawa tersebut dapat dipisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak yang mengandung

sebagian besar kandungan yang diinginkan. Dalam ekstrak total, maka cairan pelarut dipilih yang melarutkan hampir semua metabolite sekunder yang terkandung. Faktor utama untuk pertimbangan pada pemilihan cairan penyari adalah selektivitas, kemudahan bekerja, ekonomis, ramah lingkungan dan keamanan (Ikhlas, 2013). Terdapat tiga golongan pelarut yaitu (Simangunsong, 2018).

a) Pelarut polar

Pelarut polar adalah senyawa yang memiliki rumus umum ROH dan menunjukkan adanya atom hydrogen yang menyerang atom elektronegatif (oksigen). Pelarut dengan tingkat kepolaran yang tinggi merupakan pelarut yang baik untuk semua jenis zat aktif (universal) karena disamping menarik senyawa yang bersifat polar, pelarut polar juga tetap dapat menarik senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran lebih rendah. Contoh pelarut polar diantaranya adalah: air, metanol, etanol, dan asam asetat.

Pelarut	Rumus Kimia	Titik Didih	Konstanta Dielektrik	Bobot Jenis
As.Asetat	CH ₂ COOH	118°C	6.2	1,049 g/ml
Etanol	CH ₃ CH ₂ -OH	79°C	30	0,789 g/ml
Metanol	CH ₃ s-OH	65°C	33	0,791 g/ml
Air	H ₂ O	100°C	80	1,000 g/ml

Tabel I. Pelarut Polar

b) Pelarut semi polar

Pelarut semi polar adalah pelarut yang memiliki molekul yang tidak mengandung ikatan O-H. Pelarut semi polar memiliki tingkat kepolaran yang lebih rendah dibandingkan pelarut polar. Pelarut ini baik digunakan untuk

melarutkan senyawa senyawa yang bersifat semi polar dari tumbuhan contoh :

Aseton, etil asetat, diklormeton.

Pelarut	Rumus Kimia	Titik Didih	Bobot Jenis
Aseton	$\text{CH}_3\text{-C(=O)-CH}_3$	56°C	0,786 g/ml
Etil asetat	$\text{CH}_2\text{-Cl}_2$	40°C	1,326 g/ml
Diklormeton	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$	77,1°C	0,898 g/ml

Tabel II. Pelarut Semi Polar

c) Pelarut non polar

Pelarut non polar merupakan senyawa yang memiliki konstanta dielektrik yang rendah dan tidak larut dalam air. Pelarut ini baik digunakan untuk menarik senyawa-senyawa yang sama sekali tidak larut dalam pelarut polar seperti minyak contoh : n-heksana, kloroform, dan eter.

Pelarut	Rumus Kimia	Titik Didih	Konstanta Dielektrik	Bobot Jenis
N-heksan	C_6H_{14}	69	2.1	0,655 g/ml
Kloroform	CHCl_3	61	4.8	1,498 g/ml
Eter	CH_3OCH_3	111	2.4	0,867 g/ml

Tabel III. Pelarut Non Polar

3. Separasi dan pemurnian

Tujuan dari tahapan ini adalah menghilangkan (memisahkan senyawa) yang tidak dikehendaki semaksimal mungkin tanpa berpengaruh pada 14 senyawa kandungan yang dikehendaki, sehingga diperoleh ekstrak yang lebih murni (Ikhlas, 2013).

4. Pemekatan

Pemekatan berarti peningkatan jumlah partikel solut (senyawa terlarut)

dengan cara menguapkan pelarut tanpa sampai menjadi kondisi kering. Ekstrak hanya menjadi kental/pekat (Ikhlas, 2013).

5. Pengeringan ekstrak

Pengeringan berarti menghilangkan pelarut dari bahan sehingga menghasilkan serbuk, masa kering-rapuh, tergantung proses dan peralatan yang digunakan. Ada berbagai proses pengeringan ekstrak, yaitu pengeringan dengan cara evaporasi, vaporasi, sublimasi, konveksi, kontak, radiasi dan dielektrik (Ikhlas, 2013).

6. Rendemen

Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal (Ikhlas, 2013).

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

2.2.2 Jenis Ekstrak

Menurut Badan Pengawasan Obat dan Makanan (2012) jenis ekstrak dibagi menjadi tiga, yaitu:

1. Ekstrak cair adalah ekstrak yang berbentuk cair yang diperoleh dari hasil penyarian atau tanpa proses penguapan penyari, hingga memenuhi persyaratan yang ditetapkan.
2. Ekstrak kering adalah ekstrak berbentuk kering yang diperoleh dari hasil penguapan penyari dengan atau tanpa tambahan, hingga memenuhi persyaratan yang ditetapkan.

3. Ekstrak kental adalah ekstrak yang berbentuk kental diperoleh dari proses penguapan sebagian penyari, hingga memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan.

2.2.3 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 n-heksan, etil asetat untuk menarik senyawa semi polar, sedangkan metanol untuk menarik 15 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 (Cahyani, 2018).

2.1.6 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian fitokimia yang bertujuan memberi gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang diteliti. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna (Simaremare, 2014).

Skrining Fitokimia dibagi menjadi dua :

a. Metabolit Primer

Metabolit primer merupakan senyawa yang dihasilkan oleh tanaman yang berperan sebagai sumber kelangsungan hidup tanaman Tersebut. Senyawa ini dikelompokkan menjadi 4 kelompok makromolekul yaitu karbohidrat, protein, lipid, dan asam nukleat (Julianto, 2019).

b. Metaboli Sekunder.

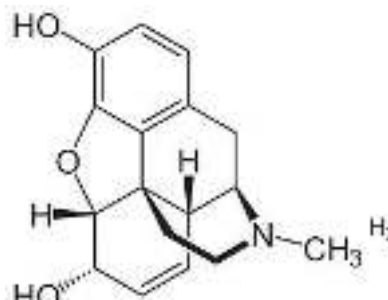
Metabolit sekunder merupakan senyawa organik alami yang berasal dari tumbuhan dimana senyawa ini bertindak sebagai pelindung dari gangguan lingkungan. Senyawa ini memiliki struktur kimia yang kompleks dimana senyawa ini produk buangan (waste product) dari suatu biosintesis. Senyawa ini dapat diisolasi melalui tahapan proses seperti penghalusan, pengeringan ataupun liofilisasi buah dan sayuran dengan dengan cara perendaman dan selanjutnya diekstrak dengan pelarut (Kumalasari *et al*, 2019).

Metabolisme sekunder menghasilkan sejumlah besar senyawa-senyawa khusus (kurang lebih 200.000 senyawa) yang secara fungsi tidak memiliki peranan dalam membantu pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan namun diperlukan oleh tumbuhan untuk bertahan dari keadaan lingkungannya. Bagaimanapun, keseimbangan yang baik antara produk metabolisme primer dan sekunder adalah yang terbaik untuk pertumbuhan dan perkembangan optimal tumbuhan serta untuk mengatasi secara efektif kondisi lingkungan yang sering berubah. Senyawa khusus yang terkenal diantaranya alkaloid, polifenol termasuk flavonoid, dan terpenoid. Manusia menggunakan cukup banyak senyawa ini, atau tumbuhan dari mana mereka berasal, untuk tujuan pengobatan

dan nutrisi (Julianto, 2019).

a) Alkaloid

Suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam adalah alkaloid. Hampir semua senyawa alkaloida berasal dari tumbuh tumbuhan dan ditemukan di banyak jenis tumbuhan. Alkaloida yang ada di alam memiliki sifat biologis tertentu, beberapa sangat beracun, sementara yang lain sangat bermanfaat untuk pengobatan. Contohnya adalah kuinin, morfin, dan stiknin. Alkaloid ada di berbagai bagian tumbuhan, seperti biji, daun, ranting, dan kulit batang. Alkaloida 7 biasanya hanya ada dalam jumlah kecil dan perlu dibedakan dari kombinasi senyawa kompleks yang berasal dari jaringan tumbuhan. (Gustina, A. Y., 2017).

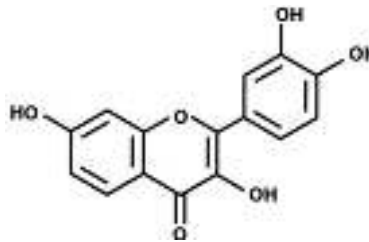


Gambar 2. Stuktur Alkaloid

b) Flavonoid

Flavonoid, yang termasuk dalam golongan senyawa phenolik, adalah salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak

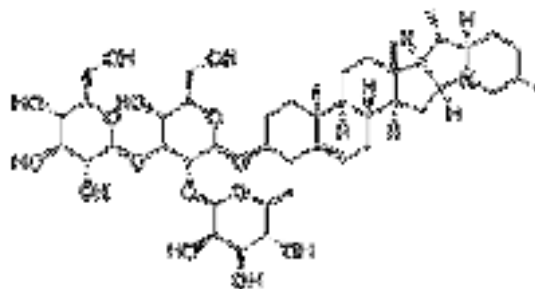
ditemukan di jaringan tanaman. Fenol mampu mengikat protein. Fotosintesis mengurangi jumlah flavonoid pada daun tanaman, sehingga daun muda tidak memiliki banyak flavonoid. Secara biologis, flavonoida memainkan peran penting dalam proses penyerbukan serangga terhadap tanaman. Sebagian flavonoida memiliki rasa pahit, yang membuatnya bersifat menolak ulat tertentu (Gustina, A. Y., 2017).



Gambar 3. Struktur flavonoid

c) Saponin

Saponin adalah jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan dan terdiri dari aglikon baik steroid atau triterpenoid dengan satu atau lebih rantai gula atau glikosida dengan masa molekul besar. Steroid memiliki 27 atom karbon dan triterpenoids memiliki 30 atom karbon. (Gunawan dan Hendra, 2018).



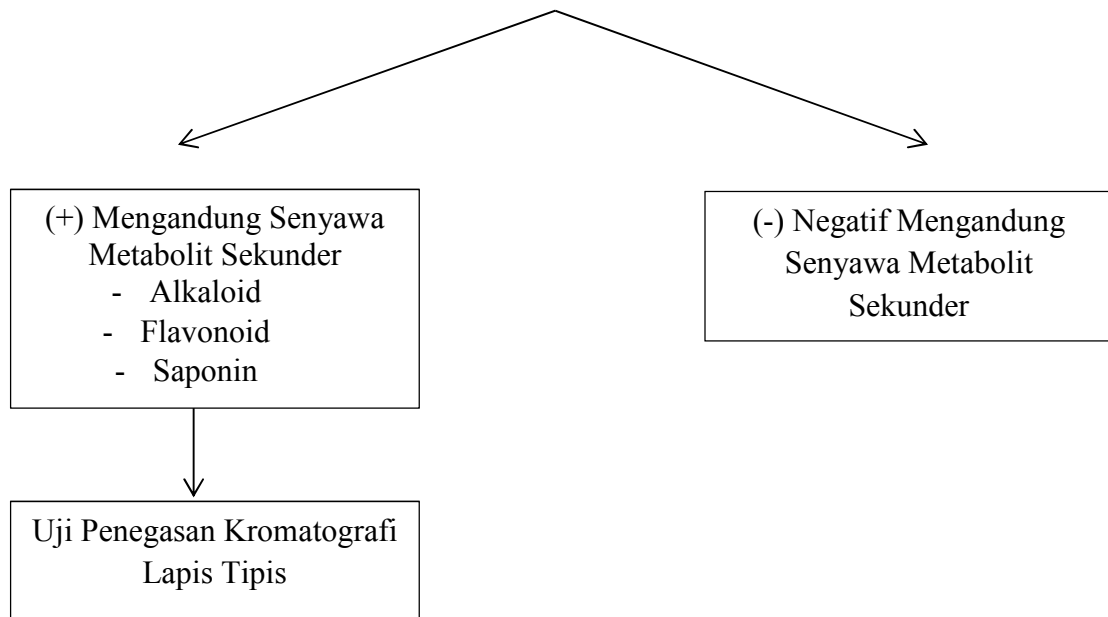
Gambar 4. Struktur saponin

2.2.4 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan cara pemisahan campuran senyawa menjadi senyawa murninya. Identifikasi pemisahan komponen dapat dilakukan dengan pereaksi warna, fluore-sensi, atau dengan radiasi menggunakan sinar ultra violet (Hadisoebroto & Budiman, 2019).

2.5 Kerangka Konsep

Fraksi Ekstrak Puding Hitam (<i>Graptophyllum Pictum</i> (L)Griff) dengan (n-heksana, etil asetat dan aquadest)
--



Gambar 5. Kerangka konsep

BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Metode Penelitian

Jenis penelitian dilakukan secara eksperimental di laboratorium.

3.2.Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Farmakognosi dan kimia Stikes Al-Fatah Bengkulu.

3.2.1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Januari sampai dengan juni 2024.

3.3. Verifikasi Tanaman

Dilakukan verifikasi tanaman dengan tujuan untuk menetapkan kebenaran mengenai (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff). Verifikasi dilakukan di Laboratorium Biologi dan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu.

3.4. Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Timbangan analitik (luckyscale), pisau, botol kaca warna gelap, beacker gelas, erlemeyer, rotary evarator, whaterbath, chamber, corong pisah, batang pengaduk, kaca arloji, gelas ukur, cawan penguap, rak tabung reaksi, plat silica gel, tabung reaksi, pipet tetes, kertas saring, lampu UV-254 nm, masker, dan handscoon, beaker glass .

3.4.2. Bahan Penelitian

Daun Puding Hitam (*Graptophyllum Pictum*(L.)Griff), Etanol 96%, n-heksana (C₆H₁₄), etil asetat (C₄H₈O₂), aquadest, kloroform (CHCl₃), serbuk

magnesium, pereaksi mayer (KI, HgCl₂), dragendorf (bismuth nitrat, asam nitrat (HNO₃), KI, air suling (H₂O), wegner (Hgcl₂, Ki, Aquadest), 21 amonia (NH₃), asam asetat anhidrat (CH₃CO)₂O, HCL pekat, H₂SO₂ 2N, silica gel GF254, AlCl₃, sapogenin dan N-Butanol.

3.4.1. Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah Daun Puding Hitam (*Graptophyllum Pictum* (L.) Griff) yang diambil dari kota Bengkulu. Bagian tumbuhan yang akan diambil adalah bagian daun yang sudah tua dan pengambilan daun Puding Hitam dilakukan pada pagi hari di Daerah Surabaya Kota Bengkulu. Daun dibersihkan dari kotoran yang menempel lalu dikeringkan yang selanjutnya akan dibuat untuk pembuatan ekstrak Daun Puding Hitam (*Graptophyllum Pictum* (L.) Griff).

3.4.2. Pembuatan Simplisia

Daun Puding Hitam (*Graptophyllum Pictum* (L.) Griff) segar yang telah diambil, dicuci untuk dibersihkan kotoran yang menempel kemudian dirajang dengan menggunakan pisau stainless stell. Daun puding hitam (*Graptophyllum Pictum* (L.) Griff) yang telah dirajang, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan ditempat yang teduh dan terlindungi dari sinar matahari kurang lebih selama 5-7 hari. Selanjutnya dilakukan sortasi kering, untuk memisahkan kotoran dan benda-benda yang tidak diinginkan. lalu setelah kering di bender sampai halus (Fatimatuzzahra, 2013).

3.4.3. Pembuatan Ekstrak Daun Puding Hitam

Simplisia yang didapat sejumlah 500 mg simplisia ditempatkan dalam wadah kaca gelap hingga simplisia terendam kemudian wadah di tutup. Pertama-tama dimaserasi dengan etanol 96% selama 3x24 jam sambil terus sesekali dilakukan pengadukan agar mendapatkan hasil ekstrak yang lebih optimal., Setelah 3 hari diserakai, diperas sehingga diperoleh filtrate. Tambahkan sisa pelarut (1000 mL) rendaman disaring dengan kertas saring, ampasnya dipisahkan dan maserat I yang melalui ampas hingga didapat 5000 ml, filtrat kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 70°C dengan kecepatan 70 rpm sehingga didapatkan ekstrak kental (Elmitra & Rikomah, 2018).

a. parameter spesifik

1. organoleptik

Pemeriksaan organoleptik merupakan pemeriksaan yang dilakukan dengan menggunakan panca indera untuk mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa fraksi yang diperoleh. Tujuan pemeriksaan ini adalah untuk identifikasi awal fraksi secara sederhana (Anwar & Triyasmono, 2016).

b. Parameter Non Spesifik

1. Bobot Jenis

Penentuan bobot jenis bertujuan untuk memberi batasan tentang besarnya massa persatuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai menjadi ekstrak kental yang masih dapat dituang. Piknometer yang

sudah dibersihkan dikalibrasi dengan cara menentukan bobot piknometer dan bobot air yang dididihkan dengan suhu 25°C lalu ditimbang (W1). Kemudian ekstrak cair dimasukkan kedalam piknometer dan atur suhu nya menjadi kurang lebih 25°C dan lakukan penimbangan (W2) (Najib *et al.*, 2018).

$$d = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0}$$

Keterangan :

d : bobot jenis

W0 : bobot jenis piknometer kosong

W1 : bobot piknometer + air

W2 : bobot piknometer + ekstrak

c. Uji Rendemen

Fraksi Rendemen merupakan perbandingan berat ekstrak yang dihasilkan dengan berat serbuk simplisia yang digunakan (Anwar & Triyasmono, 2016).

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

3.4.4. Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Puding Hitam.

Fraksinasi Ekstrak Daun Puding Hitam (*Graptophyllum Pictum*(L.)Griff), Ekstrak kental Daun Puding Hitam (*Graptophyllum Pictum*(L.)Griff) difraksinasi menggunakan pelarut dengan berbagai tingkat kepolaran, sebanyak 10 gram ekstrak dilarutkan dengan aquadest sebanyak 100 ml dan dilarutkan dengan pelarut nonpolar (n-heksan) 100 ml kemudian dimasukkan kedalam corong pisah lalu dikocok selama 30 menit hingga terbentuk dua lapisan.

Lapisan bawah (lapisan etanol-air) dan lapisan atas (lapisan n-heksan). Lapisan etanol-air selanjutnya ditambahkan pelarut semi polar (etil asetat) 100 ml kemudian masukkan kedalam corong pisah lalu dikocok dan diamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan (bawah etanol air) dan atas (lapisan etil asetat). Selanjutnya ketiga fraksi tersebut dievaporasi sehingga diperoleh tiga fraksi yaitu fraksi n-heksana (F1), fraksi etil asetat (F2) dan fraksi etanol air (F3) (Novia *et al*, 2019).

3.4.5 Pemeriksaan Fraksinasi

b. parameter spesifik

2. organoleptik

Pemeriksaan organoleptik merupakan pemeriksaan yang dilakukan dengan menggunakan panca indera untuk mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa fraksi yang diperoleh. Tujuan pemeriksaan ini adalah untuk identifikasi awal fraksi secara sederhana (Anwar & Triyasmono, 2016).

3.4.6 Pembuatan Larutan Pereaksi

a. Larutan Pereaksi Mayer Sebanyak 5 gram KI (Kalium Iodida) dalam 10 ml aquadest kemudian ditambahkan larutan 1,36 gram HgCl_2 (merkuri (II)) klorida dalam 60 ml aquadest. Larutan dikocok dan ditambahkan hingga 100 ml aquadest (Noviyanty & Linda, 2020).

b. Larutan Pereaksi Wagner Ambil sebanyak 6 gram KI dan 2 gram I_2 , dan larutkan KI dalam I_2 aquadest sebanyak 100 ml (Gustman *at al*, 2020).

c. Larutan Pereaksi Dregendrof Bismut (III) nitrat 8 gr dilarutkan kedalam asam nitrat 200 ml. Pada wadah lain ditimbang sebanyak 27,2 gr KI dilarutkan dalam 50 ml aquadest, kemudian didiamkan sampai memisah sempurna. Larutan yang jernih diambil dan diencerkan dengan aquadest sampai 100 ml (Gustman *et al*, 2020).

3.4.7 Uji Fitokimia Dari Fraksi (N-Heksana, Etil Asetat Dan Aquadest)

a. Uji Alkaloid

Fraksi Ekstrak Daun Puding Hitam (*Graptophyllum Pictum*(L.)Griff) dilarutkan dengan 5 ml HCL 2N. Larutan yang didapatkan kemudian dibagi menjadi 3 tabung reaksi. Mayer, wagner dan dragendroff sebanyak 3 tetes. Hasil positif alkaloid bila terbentuk endapan putih dengan pereaksi mayer, endapan coklat dengan pereaksi wagner dan jingga dengan pereaksi dregendroff (Simaremare, 2014).

b. Uji Flavonoid

Fraksi daun Puding Hitam (*Graptophyllum Pictum*(L.)Griff) ditambah asam klorida klorida pekat dan logam Mg. Tes positif bila terbentuk warna merah-jingga (Afriani *et al*, 2016) .

c. Uji Saponin

Uji Saponin dilakukan dengan mengocok lapisan air dalam tabung reaksi bila terbentuk busa yang tahan selama lebih kurang 15 menit berarti positif untuk uji saponin (Afriani *et al*, 2016).

3.5. Metode Kromatografi Lapis Tipis

Uji penegasan dilakukan dengan cara kromatografi lapis tipis.

a. Kromatografi lapis tipis (KLT) Fase diam yang digunakan pada KLT adalah silika gel GF254 sedangkan fase gerak dan penampang noda sebagai berikut :

1. Identifikasi Senyawa Golongan Alkaloid

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

Baku pembanding : Piperin.

Jika timbul warna coklat jingga setelah penyemprotan pereaksi *dragendorff* menunjukkan adanya alkaloid, bila tanpa pereaksi kimia, dibawah lampu UV 254 nm, alkaloid akan berfluoresensi biru, biru-hjau, atau ungu.(Harbone, 1987)

2. Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid

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

Baku Pembanding : Kuersetin.

Jika tampak bercak noda warna kuning kehijauan pada penyemprotan pereaksi alumunium (III) Klorida 5%. Bila tanpa pereaksi kimia, dibawah lampu UV 254 nm, flavonoid akan berfluoresensi biru, kuning atau hijau, tergantung dari strukturnya (Nirwana, A.P., 2015).

Hasil yang diperoleh dari kromatografi lapis tipis berupa noda atau bercak yang teridentifikasi sebagai harga Rf (*Retention factor*). Harga Rf dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$Rf = \frac{\text{jarak yang di tempuh senyawa dari titik asal}}{\text{jarak yang di tempuh pelarut dari titik asal}}$$

3. Identifikasi Senyawa Saponin

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

Baku pembanding : Sapogenin.

Jika tampak warna hijau setelah penyemprotan Liberman Bourchardat menunjukkan adanya senyawa saponin jenis steroid dalam ekstrak (Pratama dkk, 2012).

3.6.J Analisis Data

Analisa data penelitian ini dibuat dengan cara menggambarkan secara deskriptif dan selanjutnya dalam bentuk gambar dan tabel.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G. (2007). Seri Farmasi Industri : Teknologi Bahan Alam. Institut Teknologi Bandung.
- Aguayo Torrez, M. V. (2021). Kandungan Bioaktivitas Tumbuhan Obat Pada Masyarakat Di Sekitar Hutan Adat Bukit Selebu. Universitas Jambi.
- Agung Nugroho. (2017). Teknologi Bahan Alam. Lambung Mangkurat University.
- Andi akbar, nunuk hariani sukamto, furdaus, bahrn. (2022). Total phenolics and flavonoids level of n-hexane, ethyl acetate and methanol extracts of *Sargassum sp.* along with their antioxidant activity by DPPH method. *Research Article*, Volume 263(1).
- Arel, Afdhil, Muhammad Basri Lailiyatus Syafah, Ristia Aprisida Rahmawati, Susiloningrum, Dwi Ricka islamiyati, D. E. M. S. H. C. (2023). *Buku Ajar Teknologi Bahan Alam*.
- Astuti, P., Rohama, R., & Budi, S. (2023). Profil Kromatografi Dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Fraksi N-Heksan Daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Journal Pharmaceutical Care and Sciences*, 3(2), 30–41.
- Cahyani, lia dwi. (2018). Fraksi Senyawa Antituberkolosis Dari Ekstrak Larut N-heksan Daun Jati merah (*tectona grandis L F*). Universitas Islam N egeri Alaudin.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Farmakope Indonesia, Edisi IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia*.
- Elmitra, E., & Rikomah, S. E. (2018). Formulasi Sediaan Krim Ekstrak Etanol Daun Puding Hitam (*Graptophyllum Pictum* (L.) Griff). *Jurnal Katalisator*, 3(1), 43.
- Fatimatuzzahra, F. (2013). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum canum* Sims) Terhadap *Larva Artemia salina* Leach Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Skripsi FKIK, Universitas Islam Negri Syarif Hidayatullah Jakarta, 1–64.
- Hadisoebroto, G., & Budiman, S. (2019). Determination of Salicylic Acid in Anti Acne Cream which Circulated Around Bandung City Using Ultra Violet Spectrophotometry Method. *Jurnal Kartika Kimia*, 2(1), 51–56.
- Harbone. (1987). Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan,

- Terjemah Padmawinata, K.Dansoediro, L.,Edisill,. ITB,Bandung.
- Hilmarni, Yohana Yane, H. R. D. (2020). Research of Applied Science and Education V9.i4 (282-293). *Jurnal Ipteks Terapan*, 15(March), 34–47.
- hilmarni, (2016). Uji Toksisitas Ekstrak Daun Wungu (*Graptophyllum Pictum*) Terhadap Profil Hematologi Mencit Putih. *Jurnal Iptek Terapan*, 10(4).
- Julianto, T. S. (2019). Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining fitokimia. In *Jakarta penerbit buku kedokteran EGC* (Vol. 53, Issue 9).
- Nirwana, A.P. (2015). Aktivitas Antiproliferasi Ekstrak Etanol Daun Benalu Kersen (*Dendrophloe Pentandra* L. Miq.) Terhadap Kultur Sel Kanker Nasofaring (Vol. 36, Issue June). universitas sebelas maret.
- noviyanty, yuska. (2022). Fraksinasi Dan Skrining Fraksi Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten) Steenis) Dengan Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Ilmiah Pharmacy*, 9.
- Pratama dkk. (2012). Pratama, M.A., Hosea J.E., dan Jovie M.D. 2012 Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Saponin Dari Ekstrak Metanol Batang Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *sapientum* L.). *E-Journal, pharmacon*, 86–92.
- Putri, D. M., & Lubis, S. S. (2020). Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum). *Amina*, 2 (3)(3), 120–125.
- Rikomah, S. E., Noviyanti, Y., & Juarsah, W. (2017). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Puding Hitam (*Graptophyllum pictum* L . Giff) pada Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Sains Dan Teknologi Farmasi*, 19(01), 22–26.
- Rina Wahyuni, Guswandi, H. R. (2014). Pengaruh Cara Pengeringan Dengan Oven, Kering Angin dan Cahaya Matahari Langsung Terhadap Mutu Simplisia Herba Sambiloto. Fakultas Farmasi Universitas Andalas (UNAND) Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang, 6(2), 126–133.
- Riwanti, P., & Izazih, F. (2019). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 96% *Sargassum polycystum* dan Profile dengan Spektrofotometri Infrared. *Acta Holistica Pharmaciana*, 2(1), 34–41.
- Sanuki, yesa christine. (2020). Uji Pendahuluan Anti Kanker Dari Ekstrak Etanol Biji Keblul (*Caesalpinia Bonduc* (L) Roxb) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (Bslt). L. Akademi Farmasi Al-Fatah, Bengkulu
- Sartika, S., & Indradi, R. B. (2021). Berbagai Aktivitas Farmakologi Tanaman Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff). *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*, 1(2), 88.

- Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (2020). The rendement of boiled water extract of mature leaves of mangrove *Sonneratia alba*. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1), 9.
- Simaremare, E. S. (2014). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Pharmacy*, 11(01), 98–107.
- Sousa, A., Ferreira, I. C. F. R., Barros, L., Bento, A., & Pereira, J. A. (2008). Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential of traditional stoned table olives “alcaparras.” *Lwt*, 41(4), 739–745.
- Sri Natalia Saragih, M Pandapotan Nasution, Haris Munandar Nasution, & Rafita Yuniarti. (2023). Skrining Fitokimia Dan Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol Daun Ungu (*Graptophyllum Pictum* (L.) Griff) Dengan Metode Bslt. *Farmasainkes: Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*, 2(2), 170–177.
- Tzanova, M. Atanasov, V. Yaneva, Z. Ivanova, D. Dinev, T. (2020). Selectivity of Current Extraction Techniques for Flavonoids from Plant Materials. *Processes*, 8, 1222.
- Werdiningsih, W., Tia Pratiwi, N., & Yulianti Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri, N. (2022). Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol 70% Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* [Ten] Steenis) Di Desa Pelem, Tanjunganom, Kab. Nganjuk Determination Of 70% Ethanol Extract Flavonoid Total Levels Binahong (*Anredera Cordifolia* [Ten] Steenis) Leaves In Pele. *J. Sintesis Submitted: 12 Desember, 2022*(2), 54–61.
- Zulharmitta, Z., Kasypiah, U., & Rivai, H. (2017). Pembuatan Dan Karakterisasi Ekstrak Kering Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Farmasi Higea*, 4(2), 147–157.