

**ANALISIS KADAR SAPONIN DAN AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN PUDING
HITAM (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff)**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat
untuk mencapai Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)



Oleh:

Yulis Anggrani

20132031

**YAYASAN AL FATHAH
PROGRAM STUDI S1 FARMASI KLINIS DAN
KOMUNITAS
SEKOLAH TINGGI KESEHATAN AL-FATAH
BENGKULU
2024**

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan di bawah ini adalah :

Nama : Yulis Anggrani

NIM : 21132031

Program Studi : Sarjana (1) Farmasi

Judul : Analisis Kadar Saponin Dan Aktivitas Antioksidan
Ekstrak Etanol Daun Puding Hitam (*Graptophyllum pictum*
(L.) Griff)

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Skripsi 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, Oktober 2024



Yulis Anggrani

LEMBAR PENGESAHAN

SKRIPSI DENGAN JUDUL
ANALISIS KADAR SAPONI DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKRTAK
ETANOL DAUN PUDING HITAM (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff)

Oleh :
Yulis Anggrani
20132031

Skripsi Ini Telah Dipertahankan Di Hadapan Dewan Penguji Sebagai Salah
Satu Syarat Untuk Menempuh Ujian Sarjana (S1) Farmasi
Di Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu.
Pada tanggal : 06 September 2024

Dewan Penguji:

Pembimbing I

(Devi Novia, M.Farm., Apt)

NIDN : 0212058202

Pembimbing II

(Gina Lestari, M.Farm., Apt)

NIDN : 0206098902

Penguji

(Luky Dharmayanti, M.Farm., Apt)

NIDN : 0211018504

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO :

“Apabila ingin melakukan perubahan dalam hidup. Mulailah dengan perlahan,
karena arah lebih penting dari pada kecepatan”

(Paulo Coelho)

“Tidak Ada Kekayaan yang lebih utama dari pada akal, tidak ada keadaan yang
lebih menyedihkan dari pada kebodohan, dan tidak ada warisan yang lebih baik
dari pada pendidikan”

(Ali Bin Abi Thalib)

PERSSEMBAHAN :

Dengan rasa syukur yang mendalam, penulis mempersembahkan Skripsi ini
kepada :

1. Allah SWT, semoga Skripsi ini menjadi salah satu bentuk ibadah yang dapat bermanfaat di dunia dan akhirat.
2. Kepada orang tua saya, Bapak Amril dan Ibu Elisa yang telah memberikan dukungan baik secara materi serta doa yang tiada henti. Segala perjuangan saya hingga titik ini saya persembahkan pada dua orang paling berharga dalam hidup saya. Terimakasih karena selalu menjaga saya dalam doa dan selalu ada dalam kondisi apapun.

3. Kakak saya Andesta Gali Utama, Adik saya Reza dan Andres yang senantiasa memberikan dukungan, semangat, senyum dan doanya untuk keberhasilan ini, terima kasih dan sayang ku untuk kalian.
4. Support system saya, Ilham Berliawan Akbar yang selalu meluangkan tenaga, waktu dan pikiran, serta senantiasa memberikan dukungan, semangat dan mau mendengarkan keluh kesah saya, dan menjadi motivasi dalam menyelesaikan Skripsi ini. Terimakasih karena selalu ada dalam kondisi apapun.
5. Pembimbing Skripsi saya Ibu Devi Novia,M.Farm.,Apt dan Ibu Gina Lestari,M.Farm.,Apt, atas bimbingan, ilmu, arahan dan dukunganya.
6. Penguji Skripsi, Ibu Luky Dharmayanti,M.Farm.,Apt terimakasih atas kritik dan saran yang diberikan untuk Skripsi ini.
7. Sahabat seperjuangan saya Nurlela, Maya, Silvia dan Utari. Terimakasih atas nasihat, dukungan dan bantuan serta kerjasama selama perkuliahan dan pengerjaan Skripsi ini. Dan terimakasih karena sudah membuktikan bahwasanya perteman di perkuliahan tidak seburuk itu.
8. Teman-teman seperjuangan angkatan 1 Program Studi S1 Farmasi, terimakasih atas kerjasama dan pengalaman bersama selama di kampus.
9. Almamater tercinta STIKES AL-Fatah Bengkulu yang telah membentuk saya menjadi lebih baik hingga saat ini.
10. Dosen-dosenku dan semua pihak yang telah membantu dan mendukung baik secara moril maupun materil sehingga Skripsi ini dapat terselesaikan tepat pada waktunya.

KATA PENGANTAR

Puji Syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyusun Skripsi yang berjudul “**Analisis Kadar Saponin Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Puding Hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff)**”. Tepat pada waktunya. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan S1 Farmasi Klinis & Komunitas di Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu. Ucapan terima kasih yang terbesar penulis persembahkan kepada kedua orang tua, karena dengan doa dan kasih sayangnya telah mengiringi perjalanan penulis dalam penyusunan Skripsi. Penulis juga ingin mengucapkan rasa terima kasih yang sedalam-dalamnya atas bantuan dan dukungannya kepada:

1. Devi Novia, M.Farm., Apt selaku pembimbing pertama yang telah memberi waktu dan bimbingannya.
2. Ibu Gina Lestari, M.Farm., Apt selaku pembimbing kedua yang telah memberi waktu dan bimbingannya.
3. Ibu Luky Dharmayanti, M.Farma., Apt selaku Penguji.
4. Bapak Tri Yanuarto, M.Farm., Apt selaku Pembimbing Akademi.
5. Bapak Drs. Djoko Triyono, Apt., MM selaku ketua yayasan Al-Fatah Bengkulu.
6. Ibu Yuska Noviyanty, M.Farm., Apt selaku Ketua STIKES Farmasi Al-fatah Bengkulu.
7. Para dosen dan staf karyawan STIKES Farmasi Al-Fatah Bengkulu yang telah memberikan ilmu pengetahuan kepada penulis.

8. Rekan-rekan seangkatan di STIKES Farmasi Al-Fatah Bengkulu dan
Semua pihak yang telah membantu hingga terselesaikannya Skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa Proposal ini masih banyak terdapat kekurangan.
Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun.
Akhir kata penulis berharap semoga Skripsi yang penulis susun ini dapat
memberikan manfaat untuk pembangunan ilmu pengetahuan khususnya tentang
farmasi dan bagi pembaca sekalian

Bengkulu, Januari 2024

Yulis Anggrani

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	Error! Bookmark not defined.
LEMBAR PERSETUJUAN	Error! Bookmark not defined.
PERSEMBAHAN DAN MOTO.....	iii
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
BAB 1	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Batasan Masalah	3
1.3 Rumusan Masalah.....	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB II	5
TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Kajian Teori.....	5
2.1.1 Tumbuhan Daun Puding Hitam (<i>Graptophyllum Pictum</i> (L.) Griff).....	5
2.1.2 Saponin	7
2.1.3 Tinjauan tentang Simpilisia	8
2.1.4 Tinjauan tentang Pelarut.....	11
2.1.5 Tinjauan tentang Ekstrak.....	12
2.1.6 Tinjauan tentang Ekstraksi	13
2.1.7 Skrining Fitokimia	16
2.1.8 Kromatografi Lapis Tipis	19
2.1.9 Spektrofotometri UV-Vis	21
2.1.10 Antioksidan.....	25
2.1.11 Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH	28
2.2. Kerangka Konsep	30
BAB III.....	32

METODE PENELITIAN	32
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	32
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	32
3.2.1 Alat.....	32
3.2.2 Bahan.....	32
3.3 Prosedur Kerja Penelitian.....	33
3.3.1 Penyiapan sampel.....	33
3.3.2 Ekstraksi sampel daun puding hitam (<i>Graptophyllum Pictum</i> (L.) Griff).....	33
3.3.3 Skrining fitokimia.....	34
3.3.5 Identifikasi saponin secara kualitatif menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis.....	44
3.3.6 Analisa kadar saponin secara kuantitatif menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis.....	45
3.3.7 Pengujian Antioksidan secara kuantitatif dengan metode DPPH menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.....	46
3.4 Analisis Data	48
BAB IV.....	50
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	50
4.1 Hasil dan Pembahasan.....	50
4.1.1 Verifikasi Tanaman.....	50
4.1.2 Hasil pembuatan ekstrak.....	51
4.1.3 Hasil Skrining Fitokimia.....	53
4.1.4 Hasil uji penegasan KLT.....	54
4.1.5 Hasil uji penetapan kadar saponin.....	55
4.1.6 Hasil uji aktivitas Antioksidan.....	56
BAB V.....	60
KESIMPULAN DAN SARAN.....	60
5.1 Kesimpulan.....	60
5.2 Saran.....	60
5.2.1 Bagi Akademik.....	60

5.1.2 Bagi Peneliti Lanjutan.....	60
5.1.3 Bagi Masyarakat.....	61
DAFTAR PUSTAKA.....	52
LAMPIRAN.....	66

DAFTAR TABEL

Table I. Hasil pembuatan ekstrak	51
Table II. Hasil uji Organoleptis	51
Table III .Hasil uji bobot jenis.....	52
Tabel IV. HasilUji Rendemen	52
Table V. Hasil Skrining fitokimia.....	53
Table VI. Hasil Uji Penegasan	54
Table VII. Hasil uji penetapan kadar saponin	55
Table VIII. Konsentrasi larutan sampel + Dpph dan absorbansi.....	56
Table IX. Persentase perendaman	57
Table X Nilai IC ₅₀	59
Table XI. Sifat Antioksidan berdasarkan nilai IC ₅₀	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Daun Puding Hitam (<i>Graptophyllum pictum</i> (L.) Griff)	5
Gambar 2. Rumus bangun saponin	7
Gambar 3. Pembacaan spektrofotometri	29
Gambar 4. Reaksi Dpph dan Antioksidan.....	30
Gambar 5. Kerangka konsep	31
Gambar 6. Reaksi Saponint	54
Gambar 7. Kurva standar	55
Gambar 8. Kurva Regresi Linier	58
Gambar 9. Surat Verifikasi Tanaman.....	67
Gambar 10. Skema Kerja	68
Gambar 11. Skema Kerja Ekstraksi.....	69
Gambar 12. Skema Kerja Pembuatan Simplisia.....	69
Gambar 13. Skema kerja skrining fitokimia	70
Gambar 14. Skema kerja KLT.....	71
Gambar 15. Skema kerja Analisis kadar saponi.....	72
Gambar 16. Skema Kerja Antioksidan.....	73
Gambar 17. Ilustrasi pengerjaan KLT.....	74
Gambar 18. Alat.....	75
Gambar 19. Bahan.....	79
Gambar 20. Pembuatan simplisia.....	82
Gambar 21. Pembuatan Ekstrak.....	83
Gambar 22. Skrining senyawa Saponin	84
Gambar 23. Uji penetapan KLT	85
Gambar 24. Penetapan kadar Saponin	85
Gambar 25. Uji Antioksidan	86
Gambar 26. Hasil spektrofotometri Antioksidan.....	87

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Hasil Verifikasi Tanaman	67
Lampiran 2. Skema Kerja.....	68
Lampiran 3. Ilustrasi Pengerjaan KLT	74
Lampiran 4. Alat	75
Lampiran 5. Bahan.....	79
Lampiran 6. Proses Pembuatan Simplisia	82
Lampiran 7. Pembuatan Ekstrak.....	83
Lampiran 8. Skrining Fitokimia Senyawa Saponin	84
Lampiran 9. KLT.....	85
Lampiran 10. Penetapan Kadar Saponin	86
Lampiran 11. Uji Antioksidan.....	87
Lampiran 12. Hasil Spektrofotometri Antioksidan Ekstrak Etanol daun Puding Hitam.....	88
Lampiran 13. Hasil Spektrofotometri Antioksidan Ekstrak Etanol daun Puding Hitam.....	89
Lampiran 14. Hasil Penetapan Kadar Saponin.....	90
Lampiran 15. Sertifikat Dpph.....	91
Lampiran 16. Sertifikat Sapogenin.....	92
Lampiran 17. perhitungan	93

INTI SARI

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. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar senyawa saponin dan juga aktivitas antioksidan (IC_{50}) pada ekstrak daun puding hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff).

Metode pembuatan ekstrak dengan maserasi. Dengan uji pendahuluan yaitu uji parameter spesifik yaitu organeleptis dan parameter non spesifik yaitu bobot jenis dan rendemen, kemudian dilakukan skrining fitokimia serta uji penegasan dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Lalu penetapan kadar saponin dan uji Antioksidan metode *1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.

Hasil skrining fitokimia senyawa saponin yang didapat pada ekstrak etanol daun puding hitam, didapatkan hasil positif saponin. Lalu hasil uji penegasan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada ekstrak etanol daun puding hitam saponin di dapatkan hasil positif dengan nilai R_f sampel 0,75 dan baku pembandingan sapogenin 0,78. Kemudian hasil penetapan kadar senyawa saponin pada ekstrak etanol daun puding hitam yaitu 0,2638 % b/v. Dan hasil uji antioksidan metode Dpph pada ekstrak etanol daun puding hitam menunjukkan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*) konsentrasi 500mg sebesar 214,16 ppm (lemah) dan konsentrasi 1gr sebesar 7,7 $\mu\text{g/ml}$ (tergolong sangat kuat).

Kata Kunci : Ekstrak daun puding hitam, Saponin, DPPH, Antioksidan.

Daftar Acuan : 51 (2000-2023)

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia negara yang kaya akan keanekaragaman hayati, kekayaan alam ini merupakan suatu berkah dari Allah swt yang sangat besar potensinya untuk dikembangkan dalam bidang ekonomi, kesehatan, maupun dalam pengembangan ilmu pengetahuan. Daun puding hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff), tumbuhan perdu berumum menahun dengan tinggi sekitar 2 m merupakan salah satu tanaman obat yang secara empiris sering digunakan untuk pengobatan (Tukiran, Suyanto, 2014).

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, pencakar, dan kanker. Menurut beberapa penelitian, Daun Puding Hitam memiliki efek anti-implantasi dan oksitoksik pada tikus (Hilmarni, 2020)

Salah satu senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam daun puding hitam yaitu saponin, senyawa pelarut polar dengan berat jenis yang tinggi, maka diperlukan pelarut polar seperti air, etanol, dan metanol untuk dapat menguraikannya secara sempurna. Salah satu cara untuk mengetahui jumlah metabolit sekunder pada suatu tanaman adalah dengan menggunakan metode pendekatan. Segala jenis zat, misalnya saponin, dapat dipahami dengan

metode fitokimia (Minarno, 2016). Saponin juga banyak terdapat pada daun karena sintesis saponin pada tumbuhan dilakukan di daun (Faizal & Geelen, 2013). senyawa saponin juga memiliki aktivitas antioksidan karena kelompok glikosida yang memiliki aglikon berupa steroid dan pembentukan intermediet hiperoksida sehingga mampu mencegah kerusakan biomolekuler oleh radikal bebas (Hasan, 2012).

Antioksidan disebut zat penghambat reaksi oleh radikal bebas yang bisa menyebabkan kerusakan asam lemak tak jenuh, pembuluh darah, basa DNA dan jaringan lipid sehingga menimbulkan penyakit (Sie, 2013). Hasil penelitian (Muhammad Zulfian, Muhammad Akhmal., 2023) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun puding hitam memiliki aktifitas antioksidan yang sangat kuat (nilai $IC_{50} < 50$).

Menurut Tamboto dalam (Moito dkk., 2023) selain dapat menghitung kadar senyawa, Spektrofotometer UV-Vis juga menganalisis aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (*2,2 Diphenyl 1-1 Pickrylhydrazyl*). Metode DPPH *2,2 (Diphenyl 1-1 Pickrylhydrazyl)* merupakan metode mudah sederhana dan cepat serta memerlukan sedikit sampel. Parameter yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan adalah IC_{50} dengan menggunakan spektrofotometri uv-vis pada panjang gelombang 519 nm.

Berdasarkan uraian diatas maka penulis terdorong untuk melakukan uji analisis kadar saponin dan aktivitas antioksidan terhadap ekstrak etanol daun puding hitam.

1.2 Batasan Masalah

Penelitian ini dibatasi masalah yaitu:

1. Dalam penelitian ini sampel yang digunakan hanya daun puding hitam
2. Skrining fitokimia yang dilakukan yaitu mengskriningsenyawa saponin
3. Analisa kadar saponin menggunakan KLT dan Spektrofotometri UV-Vis
4. Uji aktivitas antioksidan hanya menggunakan metode DPPH

1.3 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang, maka diambil rumusan masalah sebagai berikut :

1. Berapakah nilai Rf senyawa saponin daun puding hitam menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ?
2. Berapakah kadar senyawa saponin pada daun puding hitam menggunakan spektrofotometri UV-Vis ?
3. Apakah ekstrak daun puding hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) memiliki aktivitas antioksidan dan berapa nilai IC₅₀ nya?

1.4 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui nilai Rf senyawa saponin yang diuji menggunakan Kromatografi Lapis Tipis.

2. Untuk mengetahui kadar saponin yang terdapat pada daun puding hitam yang diuji menggunakan spektrofotometri UV-Vis.
3. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan nilai IC50 dari daun puding hitam.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Manfaat bagi Akademik, penelitian ini dapat menambah wawasan serta pengetahuan bagi perkembangan akademik dan dapat digunakan sebagai referensi.
2. Manfaat bagi peneliti yaitu dapat menambah wawasan, pengetahuan sesuai dengan bidang ilmu yang ditekuni serta dapat menjadi acuan untuk penelitian lebih lanjut.
3. Manfaat bagi masyarakat yaitu dapat dijadikan sebagai landasan teori dalam mengaplikasikan tumbuhan puding hitam sebagai tumbuhan yang dapat dijadikan sebagai antioksidan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kajian Teori

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



Gambar 1. Daun puding hitam

a. Klasifikasi tanaman daun puding hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff)

Kerajaan : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Bangsa : Scorpulariales

Keluarga : Acanthaceae

Marga : Graptophyllum

Jenis : *Graptophyllum pictum*

(L.) Griff (Rani dkk., 2022).

b. Nama daerah daun puding hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff)

Pada masing-masing daerah tumbuhan ini dikenal dengan nama pudin (Sumatra), daun ungu (Jawa tengah), handeleum (Sunda), karaton (Madura), dongo-dongo (Tidore), temen (Bali), kadi-kadi (Ternate) (Tukiran, Suyanto, 2014)

c. Morfologi tumbuhan daun puding hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff)

Daun puding hitam merupakan tumbuhan perdu, berumur menahun, dengan tinggi sekitar 2m. Tumbuhan ini berbatang tegak, berkayu, berbentuk silindris, dengan warna ungu kehijauan, serta bagian dalam solid memiliki permukaan licin dan percabangan simpodial (batang utama tidak tampak jelas), dengan arah cabang miring ke atas. Tumbuhan ini berdaun tunggal, tersusun saling berhadapan (*folia opposita*), berwarna ungu tua, dengan panjang 15-

25 cm dan lebar 5-11 cm, dengan helaian daun tipis tegar, berbentuk bulat telur dengan ujung runcing dan pangkal meruncing (*acuminatus*), memiliki tepi rata, pertulangan menyirip (*pinnate*) dan permukaan mengkilat (*nitidus*).

Bunga tanaman ini majemuk dan muncul dari ujung batang (terminalis). Tumbuhan ini memiliki buah yang berbentuk kotak sejati (capsula) dan lonjong, berwarna ungu kecoklatan, dan bentuk bijinya bulat berwarna putih. Akar tunggang tumbuhan ini tingginya hanya mencapai tiga

meter dan biasanya tumbuh liar di pedesaan atau ditanam sebagai tanaman hias (Tukiran, Suyanto, 2014)

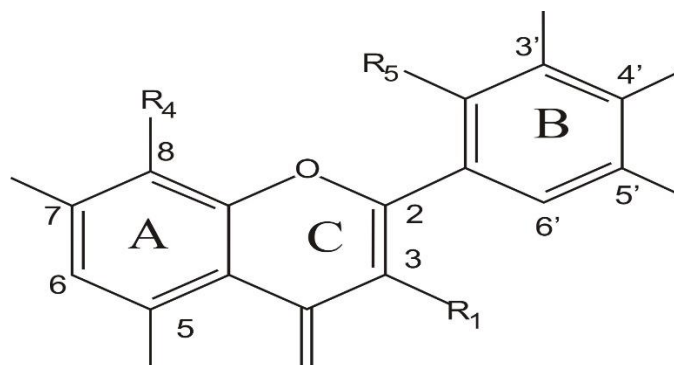
d. Kandungan kimia daun puding hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff)

Tumbuhan ini memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu alkaloid non toksik, flavonoid, glikosid, steroid, saponin, tanin (Saragih dkk., 2023)

e. Manfaat daun puding hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff)

Daun ungu atau puding hitam memiliki khasiat sebagai antiinflamasi, peluruh air seni, mempercepat pemasukan bisul, pencahar ringan, pelembut kulot kaki, melunakan feses dan mengempiskan wasir. (Tukiran, Suyanto, 2014)

2.1.2 Saponin



Gambar 2. Rumus bangun saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks, yang didefinisikan sebagai senyawa yang menghasilkan kondensasi gula dengan suatu senyawa

hidroksil organik. Apabila dihidrolisis, senyawa ini menghasilkan gula (glikon), non-gula (aglikon), dan busa. Ini adalah busa yang muncul yang memudahkan indikasi adanya saponin selama pemeriksaan fitokimia. Jenis saponin ini adalah saponin triterpenoid dan saponin steroid. Salah satu jenis saponin yang banyak digunakan oleh manusia adalah untuk tujuan mencuci kain (batik) dan sebagai shampoo. Metode ekstraksi dan isolasi dapat digunakan untuk mendapatkan saponin dari tumbuhan (Tukiran, Suyanto, 2014).

2.1.3 Tinjauan tentang Simplisia

a. Pengertian simplisia

Menurut Depkes RI 1995, Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengelolaan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan (Khorani, 2013).

Menurut “Materia Medika Indonesia” Depkes RI 1995 dalam jurnal saifudin 2011, simplisia dibedakan menjadi tiga, yaitu; simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelican (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan ialah isi sel secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau senyawa nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya dan belum berupa senyawa kimia murni (Khorani, 2013).

Simplisia dibagi menjadi 3 golongan yaitu: simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral).

1. Simplisia Nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman/eksudat tanaman. Yang dimaksud dengan eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya.(Khorani, 2013).

2. Simplisia Hewani

Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimiamurni.(Khorani, 2013).

3. Simplisia Pelikan (mineral)

Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Khorani, 2013).

b. Syarat-syarat Simplisis

Menurut peraturan badan pengawa obat dan makanan (BPOM), simplisia mempunyai beberapa persyaratna yaitu:

1. Lolos uji organoleptis yang meliputi warna, bau, bentuk dan rasa.
2. Kadar air harus kurang dari 10%
3. Adanya keseragaman bobot.
4. Tidak ada cemaran mikroba sesuai dengan nilai yang telah ditentukan.

5. Aflatoksin total, kadar aflatoksin total (B1, B2, G1 dan G2) $\leq 20 \mu\text{g/kg}$ dengan syarat B1 $\leq 5 \mu\text{g/kg}$.
6. Cemaran logam berat
 - Pb : $\leq 10 \text{ mg/kg}$
 - Cd : $\leq 0,3 \text{ mg/kg}$
 - As : $\leq 5 \text{ mg/kg}$
 - Hg : $\leq 0,5 \text{ mg/kg}$
7. Bahan tambahan, tidak boleh mengandung pengawet, pengharum dan pewarna. Dapat digunakan pemanis sesuai dengan yang ditetapkan (BPOM, 2014).

c. Persiapan simplisia

Pada umumnya pembuatan simplisia melalui tahapan sebagai berikut :

1. Pengumpulan bahan baku: kualitas bahan baku simplisia sangat dipengaruhi beberapa faktor, seperti umur tumbuhan atau bagian tumbuhan pada waktu panen, bagian tumbuhan, waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh.
2. Sortasi basah: dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya setelah dilakukan pencucian dan perajangan.
3. Pencucian: dilakukan untuk menghilangkan tanah dan kotoran lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih.
4. Perajangan

5. Pengeringan: mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatis akan dicegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia.
6. Sortasi kering: tujuannya untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering.
7. Pengepakan.
8. Penyimpanan dan pemeriksaan mutu (Depkes, 1985)

2.1.4 Tinjauan tentang Pelarut

Terdapat tiga golongan pelarut yaitu :

1. Pelarut Polar

Pelarut polar adalah senyawa dengan rumus umum ROH, yang atom hidrogennya menyerang atom elektronegatif (oksigen). Pelarut dengan polaritas tinggi merupakan pelarut polar, namun pelarut tersebut dapat menarik senyawa dengan polaritas rendah. Contoh pelarut polar; air, metanol, etanol, asam asetat (Marjoni, 2016).

2. Pelarut Semi Polar

Pelarut semi polar adalah pelarut yang molekulnya tidak mengandung ikatan O-H. Pelarut semipolar mempunyai kepolaran lebih rendah dibandingkan pelarut polar. Pelarut ini cocok untuk melarutkan senyawa semi polar pada tumbuhan. Contoh pelarut semi polar; aseton, etil asetat, diklorometon (Marjoni, 2016).

3. Pelarut Non Polar

Pelarut semi polar adalah pelarut yang molekulnya tidak mengandung ikatan O-H. Pelarut semipolar mempunyai kepolaran lebih rendah dibandingkan pelarut polar. Pelarut ini cocok untuk melarutkan senyawa semi polar pada tumbuhan. Contoh pelarut non polar; heksana, kloroform dan eter (Marjoni, 2016).

2.1.5 Tinjauan tentang Ekstrak

Merupakan produk yang diperoleh dengan mengekstraksi bahan aktif melalui proses ekstraksi pelarut, dimana pelarut bekas diuapkan kembali sehingga bahan aktif ekstrak menjadi pekat. Bentuk ekstrak yang diperoleh dapat berupa ekstrak kental maupun ekstrak kering, tergantung banyaknya pelarut yang diuapkan (Marjoni, 2016).

Ekstrak terbagi menjadi tiga bagian, yaitu: (Marjoni, 2016)

1. Ekstrak cair

Ekstrak cair adalah ekstrak yang diperoleh dengan penyulingan bahan alami yang juga mengandung pelarut.

2. Ekstrak kental

Ekstrak kental merupakan ekstrak yang telah melalui proses penguapan dan tidak lagi mengandung pelarut, namun komposisinya tetap cair pada suhu kamar.

3. Ekstrak kering

Ekstrak kering merupakan ekstrak evaporasi yang tidak lagi mengandung pelarut dan berbentuk padat (kering).

2.1.6 Tinjauan tentang Ekstraksi

Pengambilan satu atau lebih komponen (zat terlarut) dari jaringan dengan menggunakan pelarut selektif dikenal sebagai ekstraksi. (Mukhrani, 2014). Bahan aktif yang disebut ekstrak diekstraksi dengan menggunakan teknik ekstraksi pelarut di mana pelarut diuapkan kembali untuk memekatkan bahan aktif. Struktur Bisa jadi ekstrak pekat atau kental atau ekstrak kering, tergantung pada tingkat penguapan pelarut (Laksmi, L. P., Karta, 2020).

Sifat komponen zat aktif yang akan digunakan dan pelarut yang akan digunakan adalah dua hal yang harus dipertimbangkan saat proses ekstraksi. Setelah campuran dilakukan, ekstrak dan pelarut yang diekstraksi harus dapat dipisahkan dengan cepat. Saat memilih pelarut, harga, ketersediaan, sifat tidak mudah terbakar, suhu kritis rendah, dan tekanan kritis harus dipertimbangkan untuk mengurangi biaya pengoperasian dan reaktivitas toksisitas (Kurniawati, 2017). Tumbuhan yang berfungsi sebagai obat dapat menambah nilai melalui pemrosesan berbagai jenis produk seperti serbuk, simplisia, minyak atsiri, ekstrak kental, ekstrak kapsul, tablet, sirup, permen, kering, atau instan (Kartika, 2017). Teknik ekstraksi ada 4 yang paling umum dilakukan yaitu meliputi maserasi, remaserasi, perkolasi, dan soxletasi.

Beberapa metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut dibagi menjadi dua cara, yaitu cara panas dan cara dingin (Ditjen POM, 2000). Ekstraksi cara dingin dapat dibedakan sebagai berikut :

1. Maserasi

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang paling umum dilakukan dan proses mengekstraksinya sederhana karena simplisia cukup direndam dalam pelarut atau campuran pelarut pada suhu kamar selama waktu tertentu dan terlindung dari cahaya. Maserasi adalah proses merendam bahan dalam pelarut yang sesuai dengan bahan aktif yang akan digunakan. Waktu ekstraksi memiliki pengaruh besar pada senyawa yang dihasilkan. Waktu perendaman yang tepat menghasilkan pencampuran yang optimal. bila waktu maserasi terlalu singkat, tidak semua senyawa akan larut dalam pelarut yang digunakan dan ekstraksi metabolit sekunder ini dapat memakan waktu hingga seminggu untuk menjadi optimal (Ratih & Habibah, 2022). Lalu, hasil larutan maserasi tersebut diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapat ekstrak pekat atau ekstrak kental. Pemanasan pada evaporasi dilakukan maksimum pada suhu 40-50°C karena pada penguapan yang terlalu panas dan berlebihan (Badaring, dkk., 2020).

2. Remaserasi

Remaseasi merupakan suatu metode ekstraksi dengan cara mengulangi proses tersebut dan penambahan pelarut setelah filtrasi rendam awal, dll. pelarut kesua, sebanyak pelarut pertama yang ditambahkan. celupkan lagi dimaksudkan untuk menghilangkan sisa bahan perendaman pertama setelah remaserasi penguapan pelarut dengan *rotary evaporator* (Ningsih dkk., 2015).

3. Perkolasi

Perkolasi adalah proses ekstraksi dingin zat aktif melalui solvent untuk menyederhanakan secara terus menerus selama periode waktu tertentu. proses perkolasi biasanya berlangsung pada suhu kamar. perkolat bebas dari parameter bahan aktif sementara penambahan pelarut dihentikan. namun, keefektifan metode ini lebih baik digunakan hanya untuk senyawa organik mudah larut dalam pelarut yang digunakan (Hasrianti, Nururrahmah, 2016). Ekstraksi cara panas dapat dibedakan sebagai berikut.

1. Soxletasi

Ekstraksi soxletasi adalah ekstraksi zat padat dari cairan menggunakan alat soxlet khusus digunakan untuk memastikan ekstraksi berkelanjutan dengan adanya pendinginan ulang. ekstraksi ini menempatkan sampel dan pelarut secara terpisah. intinya fungsinya agar ekstraksi bersifat kontinyu atau kuantitatif terus menerus pelarut yang relatif sedikit. ketika ekstraksi selesai, pelarut dapat diuapkan menarik diri bersama-sama pelarut yang digunakan adalah pelarut yang mudah didididat meresap atau becak didididnya rendah (Syahwiranto & Theresih, 2018).

2. Refluks

Refluks adalah ekstraksi yang menggunakan pelarut pada temperatur titik didididnya, pada waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Ditjen POM, 2000).

3. Infus

Infus merupakan ekstraksi dengan air sebagai pelarut pada suhu 90°C selama 15 menit. Infus adalah ekstraksi dengan pelarut berair pada suhu penangas air, dimana infus direndam dalam penangas air mendidih, suhu yang digunakan (96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Direktorat Jenderal POM, 2000)). Metode ini menghasilkan larutan encer dari komponen yang mudah larut (Tiwari, dkk., 2011).

4. Dekok

Dekok merupakan suatu proses yang berlangsung lama (≥ 30 °C) dan mempunyai suhu sampai titik didih air (Direktorat Jenderal Badan POM, 2000). Hasil rebusan diekstraksi dengan air sebagai pelarut pada suhu 90 °C selama 30 menit. Metode ini digunakan untuk mengekstrak bahan yang larut dalam air dan tahan panas (Tiwari, dkk., 2011).

5. Digesti

Digesti merupakan perendaman kinetik pada suhu diatas suhu kamar, biasanya dilakukan pada suhu 40-50 °C (Ditjen POM, 2000). Disintegrasi adalah perendaman dengan pengadukan terus-menerus pada suhu di atas suhu kamar (biasanya 25-30 °C). Ini adalah jenis maserasi yang menggunakan suhu sedang selama proses ekstraksi (Tiwari, dkk., 2011).

2.1.7 Skrining Fitokimia

Fitokimia adalah studi ilmiah tentang sifat kimia dan interaksi metabolit sekunder tanaman. Analisis metabolit sekunder membantu isolasi yang lebih baik dan mengidentifikasi senyawa bioaktif (Julianto, 2019).

Skrining fitokimia adalah percobaan uji melibatkan identifikasi kualitatif senyawa dari ekstrak yang disiapkan dari pelarut yang berbeda. percobaan ini didasarkan pada perubahan warna, terbentuknya ekstrak atau endapan setelah penambahan reagen tertentu (Minarno, 2015). Uji kualitatif ini membantu mengetahui ada tidaknya senyawa tertentu yang menarik. keterbatasan pengujian ini adalah identifikasi senyawa awal berdasarkan identifikasi warna dengan bahan aktif seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan terpenoid (Goggi, A. & Malpathak, 2017).

Metabolit sekunder atau kandungan senyawa yang terdapat di dalam tanaman meliputi :

1. Senyawa Flavonoid

Salah satu metabolit sekunder yang banyak tersebar dari senyawa fenolat adalah flavonoid (Wahyuni, dkk., 2020) flavonoid merupakan senyawa yang dapat menjadi inhibitor siklooksigenase, sehingga aktivitas antipiretik diduga terlibat didalamnya (Samiun, dkk., 2020). Hal ini karena flavonoid mempunyai menghambat siklooksigenase dan ini adalah langkah pertama dalam eikosanoid misalnya protaglandin dan tromboksan. Flavonoid termasuk senyawa fenolik alami berpotensi sebagai antioksidan dan memiliki bioaktivitas sebagai obat. Senyawa ini terdapat pada batang, daun dan bunga (Samiun et al., 2020).

2. Senyawa Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder paling umum yang di dalamnya terkandung atom nitrogen, karbon, hidrogen, oksigen dan

ditemukan pada 14 jaringan tumbuhan dan hewan (Mira Yanti, dkk., 2020). Walaupun senyawa alkaloid yang efektif melawan diare, diabetes, kuman dan malaria, beberapa senyawa golongan alkaloid bersifat racun sehingga hal ini harus dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa alkaloid yang mungkin diketahui kegunaannya (Ningrum, dkk., 2016). Efek fisiologi senyawa alkaloid sangat bermanfaat perlakuan sifat ini bergantung pada keberadaan pasangan elektron internal nitrogen sebagai bahannya (Kapondo, dkk., 2020).

3. Senyawa Terpenoid

Indonesia dikenal sebagai satu negara yang memiliki keanekaragaman hayati berupa tumbuhan yang banyak dimanfaatkan dibandingkan pengobatan konvensional. Tanaman obat juga biasa dibicarakan memiliki senyawa terpenoid. Beberapa metabolit sekunder ini adalah komponen minyak mudah menguap, resin dan aktif secara biologis (Yassir & Asnah, 2019). Roumondang, dkk., (2013) menemukan bahwa terpenoid juga memiliki efek antibakteri dan penghambatan sel kanker, penghambatan sintesis kolesterol, anti inflamasi, gangguan menstruasi. Selain itu dapat mengobati akibat gigitan ular, penyakit kulit, kerusakan liver, dan malaria (Dwisari, dkk., 2016).

4. Senyawa Saponin

Saponin termasuk metabolit sekunder yang ditemukan pada tumbuhan. Menurut (Dumanau, dkk., 2015) senyawa jenis ini termasuk dalam golongan senyawa organik dengan potensi steroid yang baik. Senyawa metabolit

sekunder saponin dapat ditemukan pada Semua organ tanaman, seperti buah-buahan, bunga, daun, batang dan akar. struktur molekul saponin yang terdiri dari rangkaian atom c dan H sedangkan senyawa ini mempunyai efek biologis sebagai agen antibakteri. Senyawa saponin digunakan dalam dunia medis karena diketahui berperan sebagai bahan anti jamur, anti bakteri dan antitumor (Ngginak dkk., 2021).

5. Senyawa Tanin

Selain flavonoid, tanin juga metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada tumbuhan. Tanin memiliki efek astringen, polifenol dan memiliki rasa pahit sering digunakan dalam pengibatan penyakit kulit, antibakteri diare , hemostasis dan wasir (Nyoman Jirna & Ayu Made Ratih, 2021).Tanin merupakan salah satu senyawa yang termasuk dalam golongan polifenol (Irna Prasetiari ,dkk., 2020).Tanin adalah baham organik yang sangat kompleks yang juga terdiri dari senyaw fenolik yang juga sulit diisolasi dan dikristalkan, protein yang mengendap dari larutan dan berikatan dengan protein tersebut (Malangngi ,dkk., 2012).

2.1.8 Kromatografi Lapis Tipis

Menurut Gritter *et al* (1991) KLT merupakan teknik yang menguntungkan karena tingkat sensitifitasnya sangat tinggi sehingga jumlah sampelnya lebih sedikit. Fase gerak yang dikenal sebagai eluen pengembang atau cairan pengelusi akan bergerak melewati fase diam baik melalui pemuain naik atau melalui pemuain menurun secara gravitasi.Selain kromatografi kertas dan elektroforesis, kromatografi lapis tipis adalah bentuk

kromatografi planar, fase diam pada KLT berupa lapisan yang seragam (ununiform) permukaan bidang datar dan didukung oleh lempeng kaca, pelat alumunium atau pelat plastik. Walau demikian, kromatografi planar ini merupakan bentuk terbuka dari kromatografi kolom. KLT dapat digunakan untuk dua tujuan. Pertama, digunakan untuk mencapai hasil kualitatif, kuantitatif atau preparatif. Kedua digunakan untuk mempelajari sistem buffer dan sistem pelarut yang akan digunakan dalam kromatografi kolom (Prawirodihardjo, 2014).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan cara pemisahan campuran senyawa menjadi senyawa murni dan mengetahui kualitasnya. Kromatografi juga merupakan analisis cepat yang memerlukan bahan sangat sedikit, baik penyerap dari pelarut. Prinsip kromatografi lapis tipis untuk memisahkan komponen-komponen atas dasar perbedaan adsorpsi atau partisi oleh fase diam (sifat lapisan) dan fase gerak (larutan pengembang).

Kromatografi lapis tipis (KLT) telah banyak digunakan dalam analisis ekstrak suatu bahan alam dan juga memanfaatkan bagian penting dalam fraksinasi, isolasi dan deteksi senyawa aktif dalam ekstrak tanaman. Dibandingkan dengan metode kromatografi lainnya, KLT merupakan metode sederhana dan murah untuk mendeteksi adanya senyawa aktif dalam suatu tanaman dan sampel yang peralatan yang digunakan dan juga sedikit tidak membutuhkan waktu analisis yang lama (Hartini & Erna, 2016).

Kemurnian suatu senyawa bisa dilihat dari jumlah bercak yang terjadi pada KLT atau jumlah puncak pada kromatogram KLT (Handayani *et*

al., 2005). Fase diam yang digunakan dalam kromatografi lapis tipis adalah bahan penyerap yang umum nya digunakan adalah silica gel, aluminium oksida, kiselgur, selulosa dan turunannya. Ada dua sifat yang penting dari penyerapan adalah besar partikel dan homogenitasnya yang semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam maka semakin baik kinerja kromatografi lapis tipis dalam hal efisiensinya dan resolusinya (Rohman, 2007). Fase gerak yang dikenal sebagai pelarut.

pengembang akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh kapiler pada pengembangan secara naik (*ascending*), atau karena pengaruh gravitasi pada pengembangan menurut (*descending*). Fase gerak adalah medium angkut dan terdiri atas satu pelarut atau lebih dari satu pelarut. Dalam fase diam adanya gaya kapiler (Rohman, 2007). Atau dua senyawa dikatakan identik jika mempunyai nilai R_f (*Retention Faktor*) yang sama jika diukur pada kondisi kromatografi lapis tipis (KLT) dengan jarak pengembangan senyawa pada kromatografi biasanya dinyatakan dengan angka R_f :

Perhitungan nilai R_f dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh substansi}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

2.1.9 Spektrofotometri UV-Vis

Menurut Harborne (1987) Spektrum serapan kandungan tumbuhan dapat diukur dalam larutan yang sangat encer menggunakan spektrofotometer

dengan blanko pelarut. Senyawa tak berwarna diukur pada panjang gelombang 200-400 nm, senyawa berwarna pada panjang gelombang 400-800 nm. Prinsip kerja spektrofotometer UV adalah interaksi radiasi ultraviolet, atau cahaya tampak, dengan molekul sampel. Energi cahaya mengeksitasi elektron terluar molekul ke orbit yang lebih tinggi (Prawirodihardjo, 2014).

Menurut Day & Underwood (1980) Pada keadaan ini, elektron tidak stabil dan dapat melepaskan energi untuk kembali ke tingkat dasar, dan disertai emisi cahaya. Banyaknya penyerapan cahaya sebanding dengan molekul, sesuai dengan hukum Lambert-Beer :

$$A = \epsilon B C$$

Keterangan:

A = serapan

ϵ = absorptivitas molar

B = tebal tempat komponen

C = konsentrasi komponen

(Prawirodihardjo, 2014).

Menurut Gandjar dan Rohman, (2007) Hal-hal yang harus diperhatikan dalam analisis spektrofotometri UV-Vis sebagai berikut:

1. Penentuan panjang gelombang maksimum

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang dimana serapan maksimum terjadi. Untuk mencari

panjang gelombang serapan maksimum, perbandingan serapan terhadap panjang gelombang larutan standar pada konsentrasi tertentu.

2. Pembuatan kurva kalibrasi

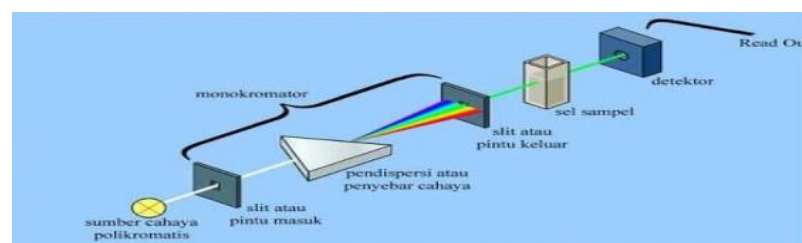
Serangkaian larutan standar dengan konsentrasi berbeda dibuat dari bahan yang dianalisis. Absorbansi masing-masing larutan pada konsentrasi yang berbeda diukur, kemudian dibuat kurva yang merupakan perbandingan serapan terhadap konsentrasi. Jika hukum Lambert-Beer terpenuhi, kurva kalibrasi berupa garis lurus.

3. Pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan

Absorbansi yang dibaca oleh spektrofotometer hendaklah antara 0,2 dan 0,6. Rekomendasi ini didasarkan pada asumsi bahwa kesalahan fotometrik pada kisaran nilai serapan ini minimal (Prawirodihardjo, 2014).

Secara sederhana instrument spektrofotometri yang disebut spektrofotometer terdiri dari :

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



Gambar 3. Pembacaan spektrofotometri (Putri,2017)

Fungsi masing-masing bagian :

1. Sumber sinar

Untuk senyawa-senyawa yang menyerap dispektrum daerah ultraviolet, digunakan lampu deuterium. Deuterium merupakan salah satu

isotop hidrogen, suatu lampu deuterium merupakan sumber energi tinggi yang mengemisikan pada panjang gelombang 200-370 nm dan digunakan untuk semua spektroskopi dalam daerah spectrum ultraviolet (Alfiyani, 2017).

2. Monokromator

Monokromator berfungsi untuk mendapatkan radiasi monokromatis dari sumber radiasi yang memancarkan radiasi polikromatis (Alfiyani, 2017).

3. Sel sampel

Sel sampel berfungsi sebagai tempat meletakkan sampel :

- a) UV, VIS dan UV-VIS menggunakan kuvet sebagai tempat sampel. Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa atau gelas, namun kuvet dari kuarsa yang terbuat dari silika memiliki kualitas yang lebih baik. Hal ini disebabkan yang terbuat dari kaca dan plastik dapat menyerap UV sehingga penggunaannya hanya pada spektrofotometer sinar tampak (VIS). Kuvet biasanya berbentuk persegi panjang dengan lebar 1 cm (Lestari, 2020).
- b) IR, untuk sampel cair dan padat (dalam bentuk pasta) biasanya dioleskan pada dua lempeng natrium klorida. Untuk sampel dalam bentuk larutan dimasukan ke dalam sel natrium klorida. Sel ini akan dipecahkan untuk mengambil kembali larutan yang dianalisis, jika sampel yang dimiliki sangat sedikit dan harganya mahal (Lestari, 2020).

4. Detektor

Detektor biasanya merupakan kepingan elektronik yang dimaksud dengan tabung pengganda foton, yang bereaksi untuk mengubah intensitas bekas sinar kedalam sinyal elektrik yang dapat diukur dengan mudah, juga bereaksi sebagai pengganda (amplifier) untuk meningkatkan kekuatan sinyal (Alfiyani, 2017).

5. *Read out*

Read out merupakan suatu sistem baca yang menangkap besarnya isyarat listrik yang berasal dari detector (Lestari, 2020). Adapun hal-hal yang harus diperhatikan dalam spektrofotometri adalah :

- a) Pada saat pengenceran alat alat pengenceran harus betul-betul bersih tanpa adanya zat pengotor.
- b) Dalam penggunaan alat-alat harus betul-betul steril.
- c) Jumlah zat yang dipakai harus sesuai dengan yang telah ditentukan.
- d) Dalam penggunaan spektrofotometri uv, sampel harus jernih dan tidak keruh.
- e) Dalam penggunaan spektrofotometri uv-vis, sampel harus berwarna (Lestari, 2020).

2.1.10 Antioksidan

Radikal bebas adalah atom, molekul atau senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan yang sangat reaktif dan tidak stabil (Surai, 2003). Untuk menstabilkannya, radikal bebas membutuhkan elektron dari pasangan elektron di sekitarnya untuk

mentransfer elektron dari molekul donor ke molekul radikal agar radikal menjadi stabil (Simanjuntak, dkk., 2012).

Antioksidan adalah segmen yang bisa membantah balasan gaham berasal agresif mengaso atau Reactive Oxygen Species (ROS) yang bangkit roma seperti imbas berasal metabolisme oksidatif yaitu imbas berasal eksekseks matematika dan alat metabolik yang kelahirannya bagian dalam tubuh. Senyawa antioksidan bisa berdenyut seperti penyandera agresif mengaso, menuang kegandrungan pakai ferum-ferum peroksida dan seperti rancangan pereduksi (Goldberd, 2003).

Banyak proses fisiologi dan biokimia dalam tubuh manusia (endogen) dapat menghasilkan radikal bebas dan senyawa oksigen (ROS) lainnya seperti proses autooksidasi, aktivitas oksidasi, dan sistem transpor electron. Saat produksi radikal bebas tersebut bisa menimbulkan kerusakan oksidatif pada biomolekul (seperti lipid, protein, DNA) dan akhirnya menimbulkan berbagai penyakit kronis, antaranya anterosklerosis, kangker, diabetes dan penyakit debeneratif lainnya pada manusia (Ivanišová, *et al.*, 2013). Sumber radikal bebas tidak hanya dari dalam tubuh, radikal bebas juga dapat bersumber dari luar tubuh manusia (eksogen) meliputi asap rokok, polusi lingkungan, radiasi, sinar ultraviolet, obat-obatan, pestisida, anestetik, pelarut industri, dan ozon (Langseth, 1995).

Antioksidan dapat menangkap radikal bebas sehingga dapat menghambat mekanisme oksidatif yang merupakan penyebab penyakit-penyakit kronis dan degeneratif seperti penyakit jantung, kangker, katarak,

disfungsi otak dan artritis (Miller, *et al.*, 2000). Prosedur kerja antioksidan mempunyai beberapa fungsi. Fungsi utama dari antioksidan yaitu memberikan atom hidrogen yang berasal dari gugus hidroksi senyawa fenol sehingga terbentuk senyawa yang stabil. Antioksidan yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Antioksidan tersebut dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibandingkan radikal lipida.

Fungsi kedua merupakan mekanisme fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil. Senyawa-senyawa ini mempunyai kemampuan untuk mendekomposisi hidroperoksida menjadi produk akhir yang stabil. Tipe antioksidan ini pada umumnya digunakan untuk menstabilkan poliolefin resin. Contohnya, asam tiodipropionat dan dilauriltiopropionat (Gordon, 1990).

Fungsi ketiga adalah sebagai *Oxygen scavengers*, yaitu senyawa-senyawa yang berperan sebagai pengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi. Dalam hal ini, senyawa tersebut akan mengadakan reaksi dengan oksigen yang berada dalam sistem sehingga jumlah oksigen akan berkurang. Contoh dari senyawa-senyawa kelompok ini adalah vitamin C (asam askorbat), askorbilpalminat, asam eritorbat, dan sulfit (Gordon, 1990).

Antioxidative Enzyme merupakan enzim yang berperan mencegah terbentuknya radikal bebas. Contohnya glukose oksidase, superoksidase

dismutase (SOD), glutathione peroxidase, dan katalase. Selain itu, ada juga senyawa-senyawa yang mampu mengikat logam seperti besi dan tembaga yang mampu mengkatalis reaksi oksidasi lemak. Senyawa-senyawa ini disebut juga dengan *Chelators sequestrants*, yang termasuk didalamnya adalah asam sitrat, asam amino, ethylenediaminetetra acetid acid (EDTA), dan fosfolipid (Gordon, 1990).

Berdasarkan sumber perolehannya, ada 2 macam antioksidan yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan (sintetik). Antioksidan sintetis seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA) dan *butylated hydroxytoluene* (BHT) banyak digunakan karena efektif dan lebih murah dari pada yang alami. Namun, keamanan dan toksisitas antioksidan sintetis telah mendapatkan perhatian yang serius. Oleh karena itu, penggunaan antioksidan alami yang juga mungkin memiliki sifat gizi menyebabkan penggunaannya meningkat (Ivanišová, *et al.*, 2013).

2.1.11 Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Senyawa DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil dalam larutan air atau metanol dan mempunyai warna ungu. Senyawa DPPH stabil dalam bentuk radikal, sehingga aktivitas antioksidan dapat diukur dengan metode DPPH yang sederhana, cepat dan sensitif untuk menguji aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak tumbuhan. (Tristantini, dkk., 2016).

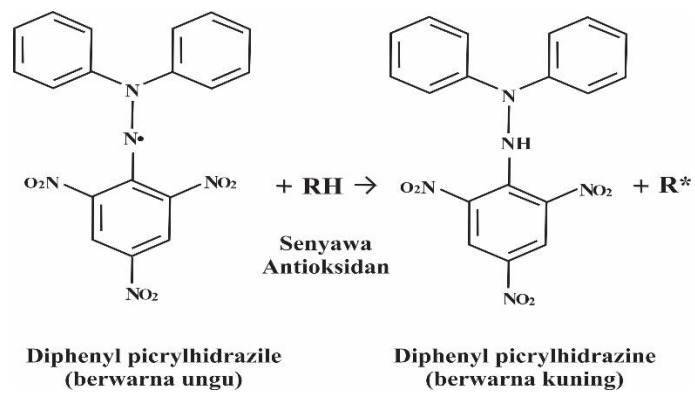
Metode DPPH atau *1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl* merupakan suatu metode yang menguji suatu sampel yang diduga memiliki aktivitas

antioksidan dengan menggunakan radikal DPPH. Aktivitas antioksidan pada metode DPPH dinyatakan dalam IC50 (konsentrasi penghambatan). IC50 merupakan angka yang menunjukkan konsentrasi yang mampu menghambat aktivitas DPPH sebesar 50%, semakin rendah nilai IC50 maka aktivitas antioksidannya semakin besar. Untuk metode DPPH, nilai IC50 adalah konsentrasi sebagai nilai X dan % antioksidan sebagai nilai Y sesuai perubahan waktu (Tristantini, dkk., 2016).

Metode DPPH dilakukan dengan cara merendam sampel dalam larutan DPPH *1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*, setelah itu diukur serapannya dengan spektrofotometri UV-Vis dan ditentukan nilai IC50. Metode DPPH merupakan metode sederhana, cepat dan mudah untuk menguji aktivitas penangkapan radikal beberapa senyawa. Selain itu, cara ini terbukti akurat dan praktis. Antioksidan berinteraksi dengan DPPH baik melalui transfer radikal elektron maupun hidrogen, yaitu dengan menetralkan radikal bebas DPPH dan membentuk DPPH tereduksi. Ketika semua elektron DPPH tidak berpasangan, warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning cerah. (Neot, 2018).

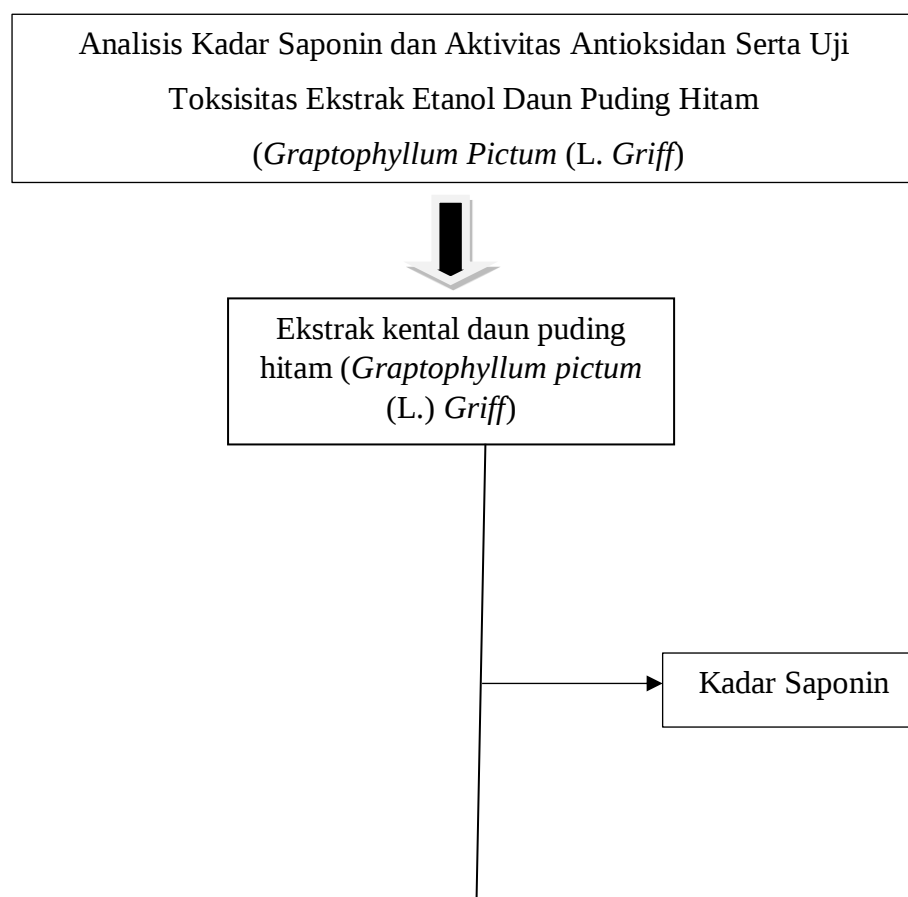
Aktivitas antioksidan dapat dinyatakan dengan satuan % aktivitas. Nilai ini didapat dengan rumus sebagai berikut (Ghosal & Mandal, 2012)

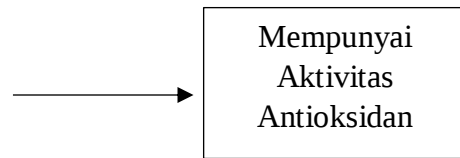
$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100 \% =$$



Gambar 4. Reaksi DPPH dan Antioksidan

2.2. Kerangka Konsep





Gambar 5. Kerangka Konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, Penelitian dilakukan di laboratorium Fitokimia, laboratorium kimia dan laboratorium farmakologi, Program Studi Farmasi Klinis Dan Komunitas, Stikes Al-Fatah kota Bengkulu. Waktu penelitian dari bulan April sampai dengan Agustus 2024.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat serta instrumen yang digunakan pada penelitian ini antar lain timbangan analitik, blender, aluminium foil, plastik, kertas saring, labu erlenmeyer, *becker glass*, gelas ukur, corong, tabung reaksi, spatula, batang pengaduk, pipet tetes, kaca arloji, botol kaca, krus porselen, gelas ukur, pipa kapiler, plat KLT, *chamber*, silica gel, oven, spektrofotometri UV-Vis, *Rotary evaporator*, vial, vortex, pisau, talenan, baskom, nampan, hotplate.

3.2.2 Bahan

Daun puding hitam, etanol 96%, metanol, kloroform, aquadest, etanol p.a, DPPH, peraksi LB, HCL 2N, batu es, H₂SO₄ 25%, H₂SO₄ 50%, eter, Anisaldehyde.

3.3 Prosedur Kerja Penelitian

3.3.1 Verifikasi Tanaman

Verifikasi daun puding hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) dilakukan pada bulan januari 2024 di lab Biologi Universitas Bengkulu.

3.3.2 Penyiapan sampel

Sampel daun puding hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) diperoleh dari Kota Bengkulu. Daun puding hitam dikumpulkan pada bulan desember 2023. Sebanyak kg daun puding hitam segar disortasi basah, lalu dicuci dengan air mengalir. Kemudian sampel dirajang dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Kemudian sampel yang telah kering dan di haluskan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk simplisia kering sebanyak 300-500gr.

3.3.3 Ekstraksi sampel daun puding hitam (*Graptophyllum Pictum* (L.) Griff)

Serbuk kering daun puding hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) diekstraksi dengan menggunakan metode sebagai berikut :

1. Metode Maserasi

Menurut Depkes RI, Pembuatan ekstrak memakai metode maserasi. Sebanyak 10 bagian (300-500 gram) serbuk simplisia dimasukkan ke dalam bejana maserator, kemudian dituangkan 75 bagian etanol 96% (3750 ml) ditutup rapat serta di diamkan selama lima hari terlindung dari cahaya

matahari, sesering mungkin dikocok, lalu disaring sehingga di dapat maserat I (Saragih et al., 2023).

2. Remaserasi

Kemudian ampas yang diperoleh diremaserasi dengan 25 bagian etanol (1250 ml) sehingga di dapat maserat II, maserat I dan II pindahkan ke bejana tertutup serta diamkan di tempat yang sejuk terlindung dari cahaya matahari selama 2 hari, kemudian di enaptuangkan dan diperoleh ekstrak cair, lalu dipekatkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu tidak lebih dari 50 derajat celcius hingga diperoleh ekstrak kental (Saragih dkk., 2023)

3.3.4 Skrining fitokimia

Skrining fitokimia dilakuan untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung didalam ekstrak kental etanol 96% daun puding hitam (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff). Metabolit skunder yang diuji secara kualitatif ini yaitu saponin

1. Uji Saponin (Uji busa)

Sebanya 0,5 gram ekstrak dilarutkan dalam 20 ml aquadest, kemudian larutan dikocok dalam labu ukur selama 2 menit, kemudian ditambahkan HCL 2 N sebanyak 1 tetes. Terbentuknya busa setinggi 1-3 cm selama 30 detik mengindikasikan adanya senyawa saponin (Salamah, dkk., 2011).

3.3.5 Parameter ekstrak

a) Parameter spesifik

1. Organoleptik

Ekstrak dideskripsikan menggunakan panca indera untuk mengetahui bentuk, warna, bau, dan rasa (Depkes RI, 2000).

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).

$$d = \frac{W2 - W0}{W1 - W0}$$

Keterangan :

d : bobot jenis

W0 : bobot jenis piknometer kosong

W1 : bobot piknometer + air

W2 : bobot piknometer + ekstrak

2. Uji Rendemen

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

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat serbuk simplisia}} \times 100\% =$$

3.3.6 Identifikasi penegasan senyawa saponin secara kualitatif menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis

Fase Gerak : Kloroform : Methanol : Air (13:7:2)

(Harborne, 1989)

Penampakan Noda : *Lieberman Bouchardat*

Baku Pembanding : Saponin Murni

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

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh substansi}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

3.3.7 Analisa kadar saponin secara kuantitatif menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis

1. Pembuatan kurva baku standar

Standar saponin sebanyak 10 mg ditimbang lalu tambah aquades 5 ml, lalu diaduk menggunakan magnetic stirer 5 menit. Kemudian sebanyak 50μ anisaldehyd ditambah, diamkan sekitar 10 menit sesudah dilakukan pengocokan, lalu sebanyak 2 ml asam sulfat 50% ditambah, dipanaskan pada

penangas aquades disuhu 60°C. Sekitar 10 menit, lalu di addkan menggunakan air sampai 10 ml pada labu takar, encerkan standar diawali dari 50, 100, 150, 200,250 ppm. Baca serapan dipanjang gelombang 435 nm.

2. Penetapan uji total saponin

Dilakukan penimbangan standar saponin sebanyak 100 mg, sebanyak 2 ml H₂SO₄ 25% ditambahkan, diautoclave dengan lama 120 menit yang suhunya 110°C, lalu diekstraksi menggunakan eter, filtrat kemudian dikeringkan, sebanyak 1 m aquades l ditambahkan, kemudian diaduk menggunakan magnetic stirer selama 5 menit, addkan 50 µ anisaldehyd, diamkan sekitar 10 menit setelah dilakukan pengocokan. Menambahkan 2 ml asam sulfat 50% lalu dipanaskan pada penangas aquades disuhu 60 °C sekitar 10 menit. Lalu di addkan dengan aquades sampai 10 ml, baca serapan dipanjang gelombang 435 nm.

Kadar saponin dapat dihitung dengan rumus:

$$Y = bx + a$$

3.3.8 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Puding Hitam

1. Pembuatan Larutan DPPH

Larutan stock DPPH dibuat dengan menimbang 5 mg padatan DPPH kemudian dilarutkan dalam 100 mL metanol p.a sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 50 ppm (Tristantini et al., 2016).

2. Pembuatan Larutan Uji Sampel

Ekstrak ditimbang sebanyak 500 mg kemudian dilarutkan dalam 50 mL etanol 96% sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan uji dengan konsentrasi 10.000 ppm. Selanjutnya dilakukan pengenceran lagi dengan membuat 5 seri konsentrasi larutan 3000 ppm, 3500 ppm, 4000 ppm, 4500 ppm, dan 5000 ppm (Tristantini et al., 2016).

3. Pengukuran Absorban Blanko

Larutan blanko terdiri dari 2 mL DPPH 50 ppm dan 2 mL Etanol p.a. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit di tempat gelap. Kemudian diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-VIS pada panjang gelombang 517 nm (Parwati, 2014; Tristantini et al., 2016).

4. Penentuan Aktivitas Antioksidan

Masing-masing konsentrasi larutan uji ekstrak etanol daun puding hitam dipipet sebanyak 2 mL dengan mikropipet masukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH 50 ppm. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit di tempat gelap. Kemudian diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Parwati, 2014; Tristantini et al., 2016).

3.4 Analisis Data

Data yang didapat berupa data primer meliputi absorbansi larutan pembanding standar yang dibuatkan kurva kalibrasi serta didapat persamaan regresi linear, juga absorban larutan sampel yang akan dimasukkan kedalam

persamaan regresi linear ($y=bx+a$), yang mana y = variabel terikat, b = koefisien regresi, x = variabel bebas, a = konstanta, sehingga diperoleh kadar saponin.

Penentuan aktivitas antiradikal sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase (%) inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus (Molyneux, 2004):

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel})}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Absorban blanko : Serapan radikal DPPH pada panjang gelombang (517 nm)

Absorban sampel : Serapan sampel dalam radikal DPPH pada panjang gelombang (517 nm)

Nilai IC50 ekstrak daun puding hitam dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier. Konsentrasi ekstrak sebagai sumbu X dan nilai % inhibisi sebagai sumbu Y. Dari persamaan:

$$Y = bx + a$$

Penentuan nilai IC50 dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$IC50 = \frac{(50 - a)}{b} =$$

Keterangan:

Y = % inhibisi (50)

a = Intercept (perpotongan garis di sumbu Y)

b = Slope (Kemiringan)

X = Konsentrasi

DAFTAR PUSTAKA