

SKRIPSI

OKTA DWIANA RIZQA

STANDARDISASI SIMPLISIA DAUN *Justicia gendarussa*

Burm f. DARI BERBAGAI TEMPAT TUMBUH

(Daerah Mojokerto lahan 1, Mojokerto lahan 2, dan Ponorogo)



FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS AIRLANGGA

DEPARTEMEN FARMAKOLOGI DAN FITOKOMIA

SURABAYA

2010

LEMBAR PENGESAHAN

**STANDARDISASI SIMPLISIA DAUN *Justicia gendarussa* Burm f.
DARI BERBAGAI TEMPAT TUMBUH
(Daerah Mojokerto lahan 1, Mojokerto lahan 2, dan Ponorogo)**

SKRIPSI

**Dibuat Untuk Memenuhi Syarat
Mencapai Gelar Sarjana Farmasi Pada
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga**

2010

Oleh :

**OKTA DWIANA RIZQA
NIM : 050610081**

Disetujui Oleh :

Pembimbing Utama

Pembimbing Serta

**Dr. Bambang Prajogo E.W., MS
NIP : 195612171985031004**

**Drs. Herra Studiawan, MS.
NIP : 19570310 198601 1 001**

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puja dan puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT, karena berkat rahmat dan ridho-Nya saya bisa menyelesaikan skripsi berjudul ” STANDARDISASI SIMPLISIA DAUN *Justicia gendarussa* Burm f. DARI BERBAGAI TEMPAT TUMBUH (Daerah Mojokerto lahan 1, Mojokerto lahan 2, dan Ponorogo)” ini dengan sebaik-baiknya. Tidak lupa juga saya ucapkan sholawat dan salam bagi Nabi Muhammad SAW junjungan kita atas semua bimbingan dan suri tauladannya.

Banyak pihak yang telah membantu saya dalam pengerjaan skripsi ini, oleh karena itu dalam kesempatan ini saya mengucapkan banyak terima kasih dan penghargaan yang sedalam-dalamnya kepada :

1. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya, Prof.Dr. H. Achmad Syahrani, MS
2. Dr. Bambang Prajogo E.W., MS. Apt. selaku dosen pembimbing utama yang telah banyak memberikan masukan dan motivasi dalam penyusunan skripsi ini.
3. Drs. Herra Studiawan, MS. selaku dosen pembimbing serta yang telah memberi bimbingan dan saran-saran selama pengerjaan skripsi ini.
4. Dra. Rakhmawati, MSi dan Tutik Sri Wahyuni, SSi., MSi selaku dosen penguji yang telah memberi kritik dan saran yang bermanfaat bagi skripsi saya.
5. Dra. Wiwied Ekasari, MSi. Selaku dosen pembimbing yang telah memberikan saran dan motivasi dalam penyusunan skripsi ini
6. Kepada keluarga yaitu, Bapak Sumadi dan Ibu Mutmainah di Sidoarjo, atas kasih sayang, bimbingan, doa, dan pendidikan yang telah dicurahkan dengan tulus ikhlas kepada saya, juga kepada kakak Riza Hardiansah dan adik Bobby Rahmatullah atas doa dan dukungan serta canda tawa sehingga meningkatkan motivasi menyusun skripsi.
7. Kepada orang tersayang Setyoadhi Arif Kurniawan terima kasih atas semua waktu, doa, dukungan, dan sarannya.
8. Teman-teman yang bergabung dalam tim gendarussa 2006 (Firman, Taufik,

Dinda, Erma, Ridwan, Indro, Bakty, Revi, Reyner, dan Ian), teman-teman satu Lab. Farmakognosi dan Fitokimia (Westy, Fera, Mia dan lainnya yang tak dapat disebut namanya satu persatu), juga teman-teman angkatan 2006 terutama kelas Non Reg A (QQ, Ranti, Dessi, Yurista) makasih ya atas semua support dan kerjasamanya.

9. Buat Mas Irving, Mbak Yeyen, dan Mbak Dian terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya.

10. Tenaga Kependidikan di Departemen Farmakognosi dan Fitokimia yaitu Pak Parto, Pak Jarwo, Mas Iwan, Pak Lismo, Pak Sukadi dan Mas Mahfud; Tenaga Kependidikan di Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Unair beserta segenap karyawan khususnya Pak Kus; Tenaga Kependidikan di Laboratorium TDC Bu Wahyu dan Mas Heri terima kasih atas semua bantuannya selama ini.

11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, atas segala bantuannya dalam penyusunan dan penyelesaian skripsi ini.

Akhir kata, semoga Allah SWT membalas kebaikan bapak, ibu dan teman-teman sekalian dengan pahala yang berlipat ganda.

Surabaya, Agustus 2010

Penulis

RINGKASAN

STANDARISASI SIMPLISIA DAUN *Justicia gendarussa* Burm f. DARI BERBAGAI TEMPAT TUMBUH (Daerah Mojokerto Lahan 1, Mojokerto Lahan 2, dan Ponorogo)

Okta Dwiana Rizqa

Daun *Justicia gendarussa* Burm f merupakan salah satu tanaman obat berkhasiat. Salah satu khasiatnya adalah sebagai obat kontrasepsi pria. Telah dilakukan penelitian bahwa senyawa yang terkandung dalam daunnya adalah gendarusin A yang mempunyai rumus kimia 6,8-di- α -L-arabinopiranosil-4',5,7-trihidroksi-flavon dapat menyebabkan antifertilitas. Cara kerja senyawa ini adalah mencegah penetrasi spermatozoa dengan menurunkan aktivitas enzim hialuronidase spermatozoa. Dalam pemanfaatannya simplisia daun *J. gendarussa* diharapkan bisa digunakan sebagai produk fitofarmaka. Oleh karena itu untuk menjamin produk akhir mempunyai nilai parameter tertentu yang konstan (ajeg) terlebih dahulu diperlukan suatu proses standarisasi.

Pada skripsi ini dilakukan penelitian mengenai standarisasi simplisia daun *J. gendarussa* dari daerah Mojokerto lahan 1, Mojokerto lahan 2, dan Ponorogo. Daun dibersihkan dari kotoran, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan kemudian dibuat serbuk. Setelah itu dilakukan standarisasi berdasarkan parameter spesifik dan non spesifik. Parameter spesifik terdiri dari uji makroskopik dan mikroskopik, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, minyak atsiri, dan penetapan kadar gendarusin A. Sedangkan Parameter non spesifik terdiri dari kadar abu, kadar abu larut air, kadar abu tidak larut asam, susut pengeringan, kadar air, cemaran logam berat, residu pestisida, dan cemaran mikroba.

Pada uji makroskopik dilakukan pengamatan terhadap daun *J. gendarussa* untuk mengetahui ciri-ciri khusus morfologi, ukuran, dan warna simplisia. Uji mikroskopik dilakukan untuk mempelajari anatomi dan histologi sediaan daun dengan mengamati irisan daun segar pada medium kloralhidrat yang dipanaskan dengan pewarnaan phloroglusin HCl. Pengamatan fragmen serbuk daun dilakukan untuk mengetahui ciri-ciri fragmen pengenalan sebagai identifikasi.

Kadar sari larut air sampel Mojokerto lahan 1 adalah $(40,92 \pm 0,17)\%$, sampel Mojokerto lahan 2 adalah $(48,28 \pm 0,26)\%$, dan sampel Ponorogo adalah $(42,76 \pm 1,29)\%$. Sedangkan kadar sari larut etanol sampel Mojokerto lahan 1 adalah $(4,92 \pm 0,07)\%$, sampel Mojokerto lahan 2 adalah $(7,40 \pm 0,45)\%$, dan sampel Ponorogo adalah $(5,61 \pm 0,39)\%$. Penetapan kadar minyak atsiri menggunakan alat Stahl dengan prosedur sesuai dengan Materia Medika Indonesia. Pada penelitian ini didapatkan kadar minyak atsiri daun *J. gendarussa* sebesar $0,04\%$

Pada parameter non spesifik diperoleh kadar abu simplisia sampel Mojokerto lahan 1 sebesar $(12,02 \pm 0,10)\%$, sampel Mojokerto lahan 2 sebesar $(13,99 \pm 0,86)\%$, dan sampel Ponorogo sebesar $(13,99 \pm 0,86)\%$. Sedangkan Kadar abu yang tidak larut asam sampel Mojokerto lahan 1 sebesar $(0,91 \pm 0,05)\%$,

sampel Mojokerto lahan 2 sebesar $(0,67 \pm 0,06)\%$, dan sampel Ponorogo sebesar $(0,71 \pm 0,04)\%$.

Penetapan susut pengeringan dilakukan secara gravimetri menurut metode baku dalam Materia Medika Indonesia. Susut pengeringan pada simplisia daun *J. gendarussa* sampel Mojokerto lahan 1 adalah $(14,84 \pm 0,10)\%$, sampel Mojokerto lahan 2 adalah $(14,76 \pm 0,12)\%$, dan sampel Ponorogo adalah $(14,81 \pm 0,14)\%$. Penetapan kadar air dilakukan dengan cara destilasi, kemudian didapatkan kadar air simplisia daun gendarusa sampel Mojokerto lahan 1 adalah $(10,22 \pm 0,39)\%$, sampel Mojokerto lahan 2 adalah $(12,89 \pm 0,20)\%$, dan sampel Ponorogo adalah $(10,11 \pm 0,19)\%$.

Penetapan cemaran logam berat dilakukan dengan menggunakan AAS (*Atomic Absorption Spectroscopy*). Pada sampel Mojokerto lahan 1 diperoleh kadar cemaran timbal (Pb) sebesar 0,382 ppm, merkuri (Hg) tidak terdeteksi, arsen (As) tidak terdeteksi, dan kadmium (Cd) 0,107 ppm. Pada sampel Mojokerto lahan 2 diperoleh kadar cemaran timbal (Pb) sebesar 0,427 ppm, merkuri (Hg) tidak terdeteksi, arsen (As) tidak terdeteksi, dan kadmium (Cd) 0,098 ppm. Sedangkan, pada sampel Ponorogo kadar cemaran timbal (Pb) tidak terdeteksi, merkuri (Hg) 1,829 ppm, arsen (As) tidak terdeteksi, dan kadmium (Cd) 0,438 ppm.

Pada penetapan mikroba diperoleh nilai angka lempeng total (ALT) sebesar 36.700 dan ALT kapang sebesar 700. Sedangkan, pada sampel Mojokerto lahan 2 nilai angka lempeng total (ALT) sebesar 26.700 dan ALT kapang sebesar 780, pada sampel Ponorogo nilai angka lempeng total (ALT) sebesar 27.700 dan ALT kapang sebesar 800. Pemeriksaan lainnya, yaitu ALT khamir pada ketiga sampel tersebut sebesar 0, serta pemeriksaan bakteri *Salmonella*, *E.coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan hasil negatif

Penentuan kadar gendarusin A dalam simplisia daun *J. gendarussa* dilakukan dengan metode HPLC dengan menggunakan alat HPLC LC 10 AT, Fase gerak Metanol-air dengan perbandingan 30 : 70, kecepatan alir 1 mL/menit, dan pada panjang gelombang 270 nm. Sebelum dilakukan penetapan kadar dilakukan validasi metode. Linieritas metode pada penelitian ini ditentukan dari regresi linier area puncak gendarusin A terhadap konsentrasi gendarusin A. Persamaan regresi yang didapat yakni $y = 31,7535x - 1,2151$ (r hitung = 0,9919), yang lebih besar dari r tabel = 0,8114 ($n-1 = 4$, $\alpha = 0,05$). Sedangkan pada penentuan presisi didapatkan harga KV = 3,95%.

Pada penentuan akurasi metode dilakukan spiking, dengan cara menambahkan standar gendarusin A ke dalam sampel. Harga % recovery rata-rata sampel Mojokerto lahan 1 dengan adisi standar gendarusin A 2,5 ppm sebesar 112,42%, dengan adisi standar gendarusin A 5 ppm sebesar 104,13%, dan dengan adisi standar 10 ppm sebesar 98,09%. Sedangkan, harga % recovery rata-rata sampel Mojokerto lahan 2 dengan adisi standar gendarusin A 2,5 ppm sebesar 88,61%, dengan adisi standar gendarusin A 5 ppm sebesar 113,91%, dan dengan adisi standar 10 ppm sebesar 100,79%. Kemudian, harga % recovery rata-rata sampel Ponorogo dengan adisi standar gendarusin A 2,5 ppm sebesar 101,25%, dengan adisi standar gendarusin A 5 ppm sebesar 95,92%, dan dengan adisi standar 10 ppm sebesar 100,75%.

Kadar gendarusin A rata-rata yang diperoleh dari penelitian sampel Mojokerto lahan 1 sebesar $(0,15 \pm 0,01)\%$, sedangkan sampel Mojokerto lahan 2 sebesar $0,21\%$, dan sampel Ponorogo sebesar $(0,27 \pm 0,01)\%$.

Diharapkan proses pengeringan serta penyimpanan serbuk simplisia diberikan perhatian lebih karena bila disimpan atau dikeringkan ditempat yang lembab maka serbuk rentan untuk ditumbuhi jamur maupun bakteri lainnya. Selain itu, diadakan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui metode HPLC yang sesuai untuk penetapan kadar Gendarusin A sehingga diperoleh selektivitas yang lebih baik.



ABSTRACT

STANDARDIZATION OF LEAF SIMPLICIA *Justicia gendarussa* Burm f. FROM VARIOUS GROW PLACES (Region Mojokerto Land 1, Mojokerto Land 2, and Ponorogo)

Okta Dwiana Rizqa

Leaf of *Justicia gendarussa* Burm f represent one of useful drug crop. One of benefit is as drug of man contraception. Major compound which implied in its leaf is gendarusin A having chemical formula 6,8-di- α -L-arabipopiranosil-4',5,7-trihidroksi-flavon can cause the antifertilitas. In its exploiting is leaf gendarusa be used as by product fitofarmaka. Therefore to guarantee the final product have the constant certain parameter value is beforehand needed by an process standardize.

The goal of the study is to do standardization leaf of *J. gendarussa* Burm f from Mojokerto land 1, Mojokerto land 2, and Ponorogo. Its consists of specific and non-specific parameters. Specific Parameters are include macro-microscopic, assay dissolve gist in water and ethanol obtained, essential oil, and gendarusin A. While parameter of non specific that is obtained by dusty rate, dusty rate dissolve in water and not dissolve in acid, drying shrinkage, rate irrigate, heavy metal contamination, pesticide residues, and microbial contamination.

Assay of gendarusin A in leaf simplicia conducted with the method HPLC by using appliance of HPLC LC 10 AT, Eluen Methanol - irrigate with the comparison 30 : 70, sped emit a stream of 1 mL / minute, and at wavelength 254 nm. originally made by a permanent curve between rate and wide of area and optaincd by equation of regression $y = 31,7535x - 1,2151$ with the correlation efficient 0,9919 .Then sample solution is tested and got wide of area. From obtained by permanent curve equation of rate of gendarusin A in sample Mojokerto land 1 is $(0,15 \pm 0,01)\%$, Mojokerto land 2 is 0,21%, and Ponorogo is $(0,27 \pm 0,01)\%$

It was expected that process of drying and storage of simplicia powder is given more attention because when stored or dried in damp place it was prone to overgrown with fungi and other bacteria. In addition, a further study to find out an appropriate HPLC method for determination of Gendarusin A in order to obtain better selectivity.

Keywords: *Justicia gendarussa* Burm. f, Standardization, SImplicia, HPLC, Gendarusin A

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
RINGKASAN	v
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tinjauan tentang <i>Justicia gendarussa</i> Burm. f.	5
2.1.1 Klasifikasi Tanaman	5
2.1.2 Nama Daerah	5
2.1.3 Penyebaran Tanaman.....	6
2.1.4 Morfologi Tanaman	6
2.1.5 Kandungan Kimia Tanaman	7
2.1.6 Kegunaan Tanaman.....	8
2.1.7 Penelitian tentang <i>J. gendarussa</i> Burm. f.	9
2.2 Tinjauan Tentang Simplisia	10
2.2.1 Klasifikasi Simplisia	10
2.2.2 Tahap Pembuatan	11
2.3 Tinjauan tentang Standardisasi	14
2.3.1 Parameter Standardisasi simplisia	14
2.3.2 Persyaratan Parameter Spesifik dan Non Spesifik	19
2.4 Tinjauan tentang Kandungan Kimia	20
2.4.1 Tinjauan tentang Minyak Atsiri	20
2.4.2 Tinjauan tentang Flavonoid	22
2.5 Tinjauan tentang Kromatografi	25
2.5.1 Kromatografi secara Umum.....	25
2.5.2 Tinjauan tentang HPLC	25
2.5.3 Tinjauan tentang AAS (<i>Atomic Absorbtion Spectroscopy</i>)	30
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	32
3.1 Landasan Teoritik.....	32
3.2 Skema Kerangka Konseptual	33

BAB IV. BAHAN, ALAT, DAN METODE PENELITIAN	34
4.1. Bahan Penelitian	34
4.2. Bahan Kimia	34
4.3. Alat Penelitian	35
4.4. Metode Penelitian	35
4.4.1 Uji Makroskopik	35
4.4.2 Uji Mikroskopik	36
4.4.3 Identifikasi Serbuk	37
4.4.4 Penetapan Kadar Abu	37
4.4.5 Penetapan Kadar Abu yang Tidak larut dalam Asam	38
4.4.6 Penetapan Kadar Abu yang Larut Air	38
4.4.7 Penetapan Kadar Sari yang Larut dalam Air	38
4.4.8 Penetapan Kadar Sari yang Larut dalam Etanol	38
4.4.9 Penetapan Kadar Air	39
4.4.10 Penetapan Susut Pengerinan	40
4.4.11 Penetapan Cemaran Logam Berat	40
4.4.12 Penetapan Residu Pestisida	41
4.4.13 Penetapan Cemaran Mikroba	42
4.4.14 Penetapan Kadar Minyak Atsiri	44
4.4.15 Gendarusin A	45
4.4.16 Skema Penelitian	46
 BAB V HASIL PENELITIAN	 51
5.1 Hasil Pengamatan Parameter Spesifik serbuk daun <i>J. gendarussa</i> Burm f	 51
5.1.1 Hasil Pengamatan Uji Makroskopik	51
5.1.2 Hasil Pengamatan uji Mikroskopik	52
5.1.3 Hasil Pengamatan Identifikasi Serbuk	56
5.1.4 Hasil Penetapan Kadar Sari yang Larut Dalam Air	58
5.1.5 Hasil Penetapan Kadar Sari yang Larut Dalam Etanol	60
5.1.6 Hasil Penetapan Kadar Minyak Atsiri	61
5.1.7 Hasil Penetapan Kadar Gendarusin A Dalam Simplisia	63
5.2 Hasil Parameter Non Spesifik serbuk daun <i>J. gendarussa</i> Burm f.	73
5.2.1 Hasil Penetapan Kadar Abu	73
5.2.2 Hasil Penetapan Kadar Abu yang larut Air	75
5.2.3 Hasil Penetapan Kadar Abu yang Tidak Larut Asam	77
5.2.4 Hasil Penetapan Susut Pengerinan	79
5.2.5 Hasil Penetapan Kadar Air	80
5.2.6 Hasil Penetapan Kadar Cemaran Logam Berat	82
5.2.7 Hasil Penetapan Kadar Residu Pestisida	83
5.2.8 Hasil Penetapan Cemaran Mikroba	83
 BAB VI PEMBAHASAN	 86

BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	94
DAFTAR PUSTAKA	96
LAMPIRAN	99



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 4.1 Pengamatan Morfologi.....	36
Tabel 4.2 Pengamatan Anatomi Daun.....	37
Tabel 5.1 Hasil pengamatan morfologi daun	52
Tabel 5.2 Irisan melintang melalui ibu tulang daun	53
Tabel 5.3 Irisan melintang tidak melalui ibu tulang daun	54
Tabel 5.4 Sayatan membujur epidermis atas dan bawah daun	56
Tabel 5.5 Fragmen serbuk daun <i>Justicia gendarussa</i> Burm. f.	58
Tabel 5.6 Hasil penetapan kadar sari yang larut dalam air sampel Mojokerto lahan 1	58
Tabel 5.7 Hasil penetapan kadar sari yang larut dalam air sampel Mojokerto lahan 2	59
Tabel 5.8 Hasil penetapan kadar sari yang larut dalam air sampel Ponorogo	59
Tabel 5.9 Hasil penetapan kadar sari yang larut dalam etanol sampel Mojokerto lahan1	60
Tabel 5.10 Hasil penetapan kadar sari yang larut dalam etanol sampel Mojokerto lahan 2	60
Tabel 5.11 Hasil penetapan kadar sari yang larut dalam etanol sampel Ponorogo	61
Tabel 5.12 Hasil penetapan kadar minyak atsiri sampel Mojokerto lahan 1	62
Tabel 5.13 Hasil penetapan kadar minyak atsiri sampel Mojokerto lahan 2	62
Tabel 5.14 Hasil penetapan kadar minyak atsiri sampel Ponorogo	63
Tabel 5.15 Kondisi Terpilih HPLC LC 10 AT	63
Tabel 5.16. Faktor Selektivitas (α) dan Derajat Keterpisahan (Rs) sampel Mojokerto lahan 1	64
Tabel 5.17 Faktor Selektivitas (α) dan Derajat Keterpisahan (Rs) sampel Mojokerto lahan 2	64

Tabel 5.18 Faktor Selektivitas (α) dan Derajat Keterpisahan (R_s) sampel Ponorogo	64
Tabel 5.19 Konsentrasi gendarusin A ($\mu\text{g/ml}$) Vs Area (mAU*s)	66
Tabel 5.20 Penentuan LOD dan LOQ gendarusin A	67
Tabel 5.21 Harga ketelitian gendarusin A	68
Tabel 5.22 Persen perolehan kembali (% Rekoveri) Gendarusin A dalam simplisia daun <i>J. gendarussa</i> Burm f.....	69
Tabel 5.23 Kadar gendarusin A dalam simplisia sampel Mojokerto lahan 1.....	71
Tabel 5.24 Kadar gendarusin A dalam simplisia sampel Mojokerto lahan 2	72
Tabel 5.25 Kadar gendarusin A dalam simplisia sampel Ponorogo	73
Tabel 5.26 Hasil penetapan kadar abu sampel Mojokerto lahan 1	74
Tabel 5.27 Hasil penetapan kadar abu sampel Mojokerto lahan 2	74
Tabel 5.28 Hasil penetapan kadar abu sampel Ponorogo	75
Tabel 5.29 Hasil penetapan kadar abu yang larut air sampel Mojokerto lahan 1...	75
Tabel 5.30 Hasil penetapan kadar abu yang larut air sampel Mojokerto lahan 2...	76
Tabel 5.31 Hasil penetapan kadar abu yang larut air sampel Ponorogo	77
Tabel 5.32 Hasil penetapan kadar abu tidak larut asam sampel Mojokerto lahan 1	77
Tabel 5.33 Hasil penetapan kadar abu tidak larut asam sampel Mojokerto lahan 2	78
Tabel 5.34 Hasil penetapan kadar abu tidak larut asam sampel Ponorogo	78
Tabel 5.35 Hasil penetapan susut pengeringan sampel Mojokerto lahan 1	79
Tabel 5.36 Hasil penetapan susut pengeringan sampel Mojokerto lahan 2	79
Tabel 5.37 Hasil penetapan susut pengeringan sampel Ponorogo	80
Tabel 5.38 Hasil penetapan kadar air sampel Mojokerto lahan 1	80
Tabel 5.39 Hasil penetapan kadar air sampel Mojokerto lahan 2	81
Tabel 5.40 Hasil penetapan kadar air sampel Ponorogo	81
Tabel 5.41 Hasil penetapan kadar cemaran logam berat sampel Mojokerto lahan 1	82

Tabel 5.42 Hasil penetapan kadar cemaran logam berat sampel Mojokerto lahan 2	82
Tabel 5.43 Hasil penetapan kadar cemaran logam berat sampel Ponorogo	83
Tabel 5.44 Hasil penetapan kadar cemaran mikroba sampel Mojokerto lahan 1..	84
Tabel 5.45 Hasil penetapan kadar cemaran mikroba sampel Mojokerto lahan 2 .	84
Tabel 5.46 Hasil penetapan kadar cemaran mikroba sampel Ponorogo	85



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Tanaman <i>Justicia gendarussa</i> Burm. f.....	6
Gambar 2.2 6,8-di- α -L-arabinopiranosil-4',5,7-trihidroksi-flavon atau 6,8-diarabino-silapigenin (Gendarusin A).....	7
Gambar 2.3 6-C- α -L-arabinopiranosil-4',5,7-trihidroksi-8-C- β -D-siliporanosilflavon atau 6-C- α -L-arabinosil-8-C- β -D-silosilapigenin (Gendarusin B).....	8
Gambar 2.4 Struktur molekul alkaloid dalam daun <i>J. Gendarussa</i>	8
Gambar 2.5. Sistem penomoran untuk turunan flavonoid.....	23
Gambar 4.1 Daun <i>J. gendarussa</i> Burm. f	34
Gambar 4.2 Rangkaian alat untuk penetapan kadar air cara destilasi.....	40
Gambar 4.3 Rangkaian alat untuk penetapan kadar minyak atsiri	44
Gambar 4.4 Diagram proses pembuatan serbuk kering daun <i>J. gendarussa</i> Burm. f	45
Gambar 4.5 Kromatogram Standar Gendarusin A (tR = 7,966)	46
Gambar 4.6 Spektra 2D (A) dan 3D (B) gendarusin A yang menunjukkan panjang gelombang maksimum	47
Gambar 5.1 Pengamatan morfologi daun	51
Gambar 5.2 Irisan melintang melalui ibu tulang daun	53
Gambar 5.3 Irisan melintang tidak melalui ibu tulang daun	54
Gambar 5.4 Sayatan membujur epidermis atas	55
Gambar 5.5 Sayatan membujur epidermis bawah	55
Gambar 5.6 Fragmen serbuk daun <i>J. gendarussa</i> Burm. f.	57
Gambar 5.7 Kromatogram HPLC gendarusin A pada berbagai kadar. (a) standar gendarusin A 2,5 ppm; (b) standar gendarusin A 5 ppm; (c) standar gendarusin A 10 ppm; (d) standar gendarusin A 15 ppm; (e) standar gendarusin A 20 ppm.	65

Gambar 5.8 Kurva Area gendarusin A (mAU*s) terhadap konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	66
Gambar 5.9 Kromatogram HPLC standar gendarusin A 10 ppm.	
(a) penyuntikan standar gendarusin A ke-1;	
(b) penyuntikan gendarusin A ke-2;	
(c) penyuntikan gendarusin A ke-3;	
(d) penyuntikan standar gendarusin A ke-4;	
(e) penyuntikan standar gendarusin A ke-5;	
(f) penyuntikan standar gendarusin A ke-6	68
Gambar 5.10 Kromatogram HPLC simplisia <i>J.gendarussa</i> .	
sampel Mojokerto lahan 1.1 (A), sampel Mojokerto lahan 1.2 (B),	
sampel Mojokerto lahan 1.3 (C)	71
Gambar 5.11 Kromatogram HPLC simplisia <i>J.gendarussa</i> .	
sampel Mojokerto lahan 2.1 (A), sampel Mojokerto lahan 2.2 (B),	
sampel Mojokerto lahan 2.3 (C)	72
Gambar 5.12 Kromatogram HPLC simplisia <i>J.gendarussa</i> .	
sampel ponorogo 1 (A), sampel Ponorogo 2 (B),	
sampel Ponorogo 3 (C)	73

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN	HALAMAN
Lampiran 1 Perhitungan Kadar Sari Larut Air	99
Lampiran 2 Perhitungan Kadar Sari Larut Etanol	101
Lampiran 3 Perhitungan Kadar Minyak Atsiri	103
Lampiran 4 Perhitungan Susut Pengerangan	105
Lampiran 5 Perhitungan Kadar air	107
Lampiran 6 Perhitungan Kadar Abu	109
Lampiran 7 Perhitungan Kadar Abu Yang Larut Air	111
Lampiran 8 Perhitungan Kadar Abu Yang Tidak Larut Asam	113
Lampiran 9 Perhitungan Faktor Selektivitas (α) dan Derajat Keterpisahan (Rs)	115
Lampiran 10 Perhitungan Prosen Perolehan Kembali Gendarusin A	116
Lampiran 11 Kromatogram Adisi Gendarusin A dan Sampel	128
Lampiran 12 Perhitungan Kadar Gendarusin A	135
Lampiran 13 Tabel Koefisien Korelasi Linier	138
Lampiran 14 Laporan Hasil Penetapan Kadar Cemarkan Logam Berat Sampel Mojokerto Lahan 1	139
Lampiran 15 Laporan Hasil Penetapan Kadar Cemarkan Logam Berat Sampel Mojokerto Lahan 2	140
Lampiran 16 Laporan Hasil Penetapan Kadar Cemarkan Logam Berat Sampel Ponorogo	141
Lampiran 17 Laporan Hasil Pemeriksaan Mikrobiologi Sampel Mojokerto Lahan 1	142
Lampiran 18 Laporan Hasil Pemeriksaan Mikrobiologi Sampel Mojokerto Lahan 2	143
Lampiran 19 Laporan Hasil Pemeriksaan Mikrobiologi Sampel Ponorogo	145
Lampiran 20 Laporan Prosedur Ekstraksi dan Evaporasi	147
Lampiran 21 Gambar Serbuk dan Penampang Melintang Daun <i>J. gendarussa</i> Burm f. Berdasarkan MMI	148
Lampiran 22 Data Parameter Spesifik dan Non Spesifik	149

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Permasalahan

Penggunaan bahan alam sebagai obat tradisional di Indonesia telah dilakukan oleh nenek moyang kita sejak berabad-abad yang lalu terbukti dari adanya naskah lama pada daun lontar Husodo (Jawa), Usada (Bali), Lontarak pabbura (Sulawesi Selatan), dokumen Serat Primbon Jampi, Serat Racikan Boreh Wulang Dalem dan relief candi Borobudur yang menggambarkan orang sedang meracik obat (jamu) dengan tumbuhan sebagai bahan bakunya (Sukandar E Y, 2006).

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut, yang secara turun-temurun telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman (BPOM RI, 2005)

Salah satu tanaman yang bisa dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah *J. gendarussa*. Tanaman suku Acanthaceae ini merupakan tanaman setengah perdu tegak, tinggi 0,7-1,8 m, sering bercabang banyak. Batang segiempat tumpul atau cukup bulat, yang muda berwarna ungu, yang tua coklat muda. Daun tunggal, tangkai daun 5-8 mm, helaian daun serupa kulit tipis, bentuk lanset, ujung meruncing, pinggir beringgit lebar dan tidak dalam. (Depkes RI, 1995).

Daun *J. gendarussa* secara tradisional sudah banyak digunakan untuk pemakaian mengobati rematik, melancarkan peredaran darah, antidotum orang mabuk, keracunan makanan, fraktura tulang, nyeri punggung, keseleo, sakit kuning, mual, tidak datang bulan.

Kandungan zat kimia yang terdapat dalam tanaman ini, antara lain : flavonoid, justicin, steroid, triterpen, dan tannin 0,4 %. (Depkes RI, 1995).

Dari hasil penelitian, pada tanaman ini terdapat 12 komponen flavonoid dengan komponen mayor 6,8-di- α -i-arabinopiranosil-4',5,7-trihidroksiflavon yang kemudian dikenal sebagai gendarusin A, salah satu bahan antifertilitas dengan aktivitas pencegahan penetrasi spermatozoa in

vitro dengan mekanisme penghambatan enzim hialuronidase. (Prajogo, 2002)

Obat herbal Indonesia pada dasarnya dapat dikelompokkan dalam tiga kategori, yaitu : (1) Jamu; (2) Obat Herbal Terstandar; dan (3) Fitofarmaka. Jamu adalah obat tradisional Indonesia, sedangkan obat herbal terstandar adalah sediaan obat bahan alam yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya secara ilmiah dengan uji praklinik dan bahan bakunya telah di standarisasi, sedangkan Fitofarmaka adalah sediaan obat bahan alam yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya secara ilmiah dengan uji praklinik dan uji klinik, bahan baku dan produk jadinya telah di standarisasi (BPOM RI, 2005)

Penelitian lebih lanjut mengenai *J. gendarussa*, mengarah pada pengembangan obat tradisional menjadi obat fitofarmaka. Upaya untuk menjamin mutu dan keamanan (*safety*) obat tradisional harus dilakukan kontrol sejak awal proses, mulai dari pemilihan dan penggunaan simplisia, seluruh proses produksi sampai produk-produk tersebut beredar di masyarakat. Suatu produk obat yang dibuat dari bahan alam harus dan telah memenuhi semua persyaratan sediaan modern. Untuk memenuhi persyaratan tersebut maka diperlukan proses standardisasi.

Standardisasi obat herbal Indonesia terutama standardisasi simplisia dan ekstrak mempunyai arti yang penting untuk menjaga mutu obat herbal. Batasan mengenai kadar air, jasad renik dan lain-lain sangat penting untuk menjamin keamanan penggunaan obat herbal sekaligus sebagai acuan dalam memproduksi obat herbal skala industri. Nilai tambah ekonomi dari simplisia dan ekstrak yang memenuhi standar, jauh lebih besar dibandingkan dengan yang belum distandarisasi. (Sampurno, 2007).

Standardisasi simplisia dilakukan untuk menentukan persyaratan mutu, keamanan, dan khasiat dari simplisia daun *J. gendarussa*. Persyaratan mutu simplisia terdiri atas berbagai parameter standar umum simplisia, yaitu parameter standar spesifik dan non spesifik. Parameter standar spesifik dimaksudkan sebagai tolak ukur khusus yang dapat dikaitkan dengan jenis tanaman asal simplisia tertentu. Sedangkan parameter standar non spesifik

dimaksudkan sebagai tolak ukur yang dapat berlaku untuk semua jenis simplisia tanaman tertentu

Pada penelitian terdahulu, telah dilakukan standardisasi dengan menggunakan simplisia *Gendarusa vulgaris* Nees yang berasal dari Mojokerto dan Madiun. Kesimpulan dari penelitian tersebut bahwa hasil standardisasi simplisia daun *Gendarussa vulgaris* Nees sudah memenuhi persyaratan Materia Medika yang meliputi uji makroskopik dan uji mikroskopik, sedangkan pada kandungan kimia yang meliputi kadar abu dan kadar sari yang larut dalam air belum memenuhi persyaratan Materia Medika Indonesia (Kurniasari, 2001). Telah diketahui bahwa suatu sediaan obat yang diproduksi dari bahan alam sering kali bervariasi. Variasi pada bahan alam terjadi karena beberapa faktor. Faktor-faktor tersebut misalnya genetik (bibit), lingkungan (tempat tumbuh: iklim), rekayasa agronomi (fertilizer: perlakuan selama masa tumbuh), dan panen (waktu dan pasca panen) (Depkes RI, 2000).

Berdasarkan hal di atas, maka perlu dilakukan standardisasi apabila akan melakukan penelitian dengan menggunakan simplisia yang berasal dari daerah lain. Pada penelitian ini akan digunakan simplisia yang berasal dari Mojokerto lahan 1 (Desa Dolopeto), Mojokerto lahan 2 (Desa Gondang), dan Ponorogo. Pada daerah Mojokerto dilakukan standardisasi pada dua tempat berbeda dengan kecamatan yang sama, dimana pada lahan 1 (desa Dolopeto) merupakan tanaman budidaya yang dilakukan pasca panen pada umur 5 bulan, sedangkan pada lahan 2 (desa Gondang) merupakan tanaman liar yang dilakukan pasca panen pada umur 6 bulan. Proses standardisasi dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh simplisia dengan tingkat standar berdasarkan parameter spesifik dan nonspesifik yang lebih baik dan sebagai langkah awal proses pengembangan obat tradisional dari bahan alam untuk memberikan jaminan mutu kefarmasian yang kemudian diproses lebih lanjut menjadi sediaan fitofarmaka.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana dan berapa nilai parameter standar spesifik dan nonspesifik dari simplisia daun *J.gendarussa* dengan perbandingan simplisia dari daerah Mojokerto lahan 1, Mojokerto lahan 2, dan Ponorogo.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan penelitian ini adalah melakukan identifikasi dan menentukan nilai-nilai parameter standar spesifik dan non spesifik simplisia daun *J.gendarussa* yang diperlukan dalam rangkaian standardisasi

1.3.2 Tujuan khusus

1. Melakukan identifikasi (uji makroskopik dan mikroskopik) simplisia daun *J.gendarussa*.
2. Menentukan nilai parameter standar simplisia daun *J.gendarussa* yang meliputi: kadar abu, kadar abu yang tidak larut asam, kadar sari yang larut dalam air, dan kadar sari yang larut dalam etanol berdasarkan Materia Medika Indonesia
3. Menentukan parameter standar simplisia daun *J. gendarussa* Burm.f. dari daerah Mojokerto lahan1, Mojokerto lahan 2, dan Ponorogo yang belum tercantum dalam monografi (Materia Medika Indonesia) yang meliputi kadar air berdasarkan KepMenkes No. 661, kadar cemaran logam dan cemaran mikroba berdasarkan WHO, kadar residu pestisida, susut pengeringan, kadar minyak atsiri, dan kadar Gendarusin A
4. Mengetahui simplisia dengan tingkat standar berdasarkan parameter spesifik dan non spesifik simplisia yang lebih baik dari ketiga sampel

1.4 Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini diharapkan diperoleh data-data simplisia daun *J.gendarussa* berdasarkan parameter spesifik dan non spesifik yang dapat digunakan sebagai bahan baku untuk membuat sediaan fitofarmaka yang terjamin kualitas, khasiat, dan keamanan terapinya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang *Justicia gendarussa* Burm F.

2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi	(Van Steenis, 1978; Widjayakusuma, dkk., 1992)
Divisi	: Spermatophyta
Anak divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Anak kelas	: Sympetale
Bangsa	: Schropulariales
Suku	: Acanthaceae
Marga	: <i>Justicia</i>
Jenis	: <i>Justicia gendarussa</i> Burm. F
Sinonim	: <i>Gendarussa vulgaris</i> Nees <i>Justicia dahona</i> Buch <i>Justicia nigricans</i> Lar <i>Justicia salicina</i> Vahl

2.1.2 Nama Daerah

Sumatera	: Besi-besi (Aceh), gandarusa (Melayu)
Jawa	: Gandarusa, tetaan, trus, handarusa (Sunda), gandharusa (Madura)
Nusa Tenggara	: Gandarisa (Bima)
Maluku	: Puli (Ternate)

(Heyne, 1987)

2.1.3 Penyebaran Tanaman

Distribusi : Pakistan, Sri Lanka, China, Thailand, Paninsular Malaysia, Indonesia (Jawa, Maluku) dan Filipina (Prajogo, 2002).

2.1.4 Morfologi Tanaman

Tanaman setengah perdu tegak, tinggi 0,7-1,8 m, sering bercabang banyak. batang segiempat tumpul atau cukup bulat, yang muda berwarna ungu, yang tua coklat muda. (Van Steenis, 2005). Daun tunggal, tangkai daun 5-8 mm, helaian daun serupa kulit tipis, bentuk lanset, ujung meruncing, pinggir berbinggit lebar dan tidak dalam: permukaan daun buram, licin tidak berambut, warna permukaan bawah lebih pucat. Penulangan menyirip, menonjol pada permukaan bawah, warna agak keunguan. Panjang daun 5-20 cm, lebar 1-3,5 cm; panjang tangkai 5 mm sampai 8 mm. (Depkes RI, 1995).



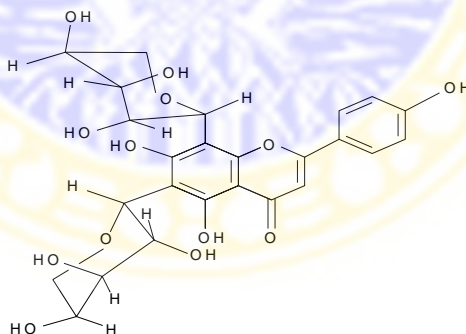
Gambar 2.1 Tanaman *J. gendarussa* Burm. f

Bunga berkumpul dalam malva yang sangat sempit, panjangnya 3-12 cm, yang tersusun dari anak payung menggarpu yang rapat. Daun pelindung kecil, sempit, runcing, dan boleh dikatakan sama. Mahkota gundul, tabung pucat, berbintik ungu. Pinggiran mahkota berbibir dua: bibir bawah berbentuk baji hingga bulat telur terbalik dengan tiga taju membulat pendek, putih, pada pangkal ungu, dan berbintik

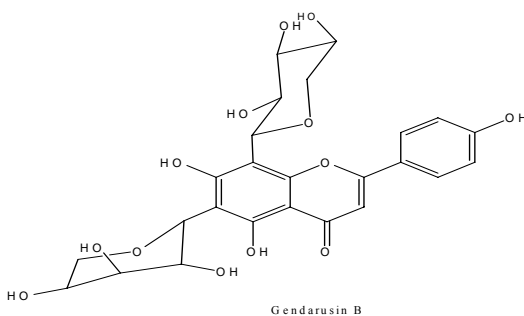
dengan lipatan miring: bibir atas segitiga, runcing, putih, berbintik ungu. Tangkai putik gundul, 6-10 mm. buah bentuk gada, berbiji 4. (Van Steenis, 1978).

2.1.5 Kandungan Kimia Tanaman

Zat kimia yang terkandung dalam tanaman *J. gendarussa*, antara lain : kalium, flavonoid justicin, steroid, triterpenoid, tannin 0,4 %. (Depkes RI, 1995). Selain itu. Tanaman ini juga mengandung alkaloid (justisina) yang sedikit beracun, dan minyak atsiri. (Anonim, 1987). Pada fraksi n-butanol diketahui terdapat 12 komponen flavonoid dengan berat molekul sama, komponen major flavonoid adalah 6,8-di- α -L-arabinopiranosil-4',5,7-trihidroksi-flavon atau 6,8-diarabino-silapigenin yang kemudian dikenal sebagai gendarusin A, dengan aktivitas pencegahan penetrasi spermatozoa *in vitro* dan salah satu komponen minor adalah 6- α -L-arabinopiranosil-4',5,7-trihidroksi-8- β -D-silopiranosilflavon atau 6-arabinopiranosil-8-silosilapigenin. Salah satu senyawa flavonoid minor daun Gendarusa adalah 6-C- α -L-arabinopiranosil-4',5,7-trihidroksi-8-C- β -D-silipiranosilflavon atau 6-C- α -L-arabinosil-8-C- β -D-silosilapigenin, diusulkan nama gendarusin B (Prajogo, 2002)

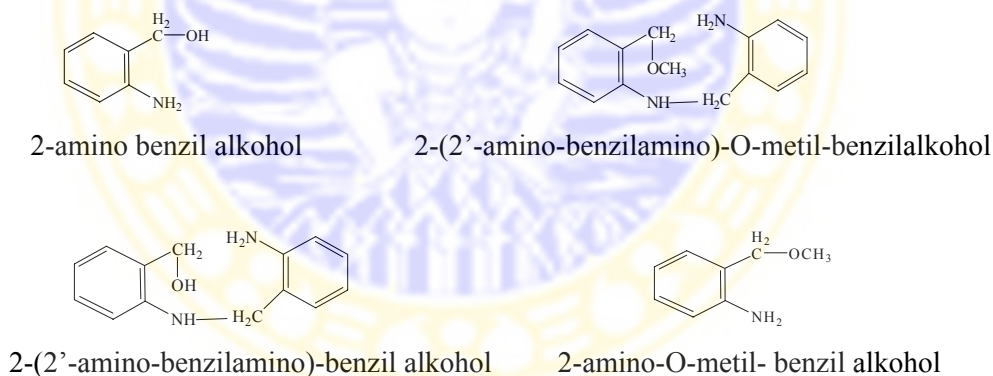


Gambar 2.2 6,8-di- α -L-arabinopiranosil-4',5,7-trihidroksi-flavon atau 6,8-diarabino-silapigenin (Gendarusin A). (Prajogo, 2002).



Gambar 2.3 6-C- α -L-arabinopiranosil-4',5,7-trihidroksi-8-C- β -D-silipiranosilflavon atau 6-C- α -L-arabinosil-8-C- β -D-silosilapigenin (Gendarusin B). (Prajogo, 2002).

Senyawa alkaloid yang ditemukan pada tanaman *J. gendarussa* antara lain 2-amino benzil alkohol; 2-(2'-amino-benzilamino)-O-metil-benzil alkohol; 2-(2'-amino-benzilamino) benzil alkohol; dan 2-amino-O-metil-benzil alkohol (Chakravarty, *et al.*,1981).



Gambar 2.4 Struktur molekul alkaloid dalam daun *J. gendarussa* (Chakravarty, *et al.*,1981)

2.1.6 Kegunaan Tanaman

Secara tradisioanal, *J. gendarussa* digunakan untuk mengobati luka terpukul (memar), tulang patah, rematik, bisul, borok, dan koreng. Di India, tanaman ini digunakan sebagai penurun panas, merangsang muntah, mengobati sakit kepala, kelumpuhan otot wajah, sakit mata, dan telinga. (Tanaman Obat Indonesia,

2008). Di Irian Jaya, air rebusan akar dan daun *J. gendarussa* diminum para suami dua kali sebulan sebagai obat kontrasepsi pria. (Moeso dan Agus, 1985).

Daunnya pun dapat dipakai untuk obat luka terpukul atau memar, parah tulang rheumatik persendian, bisul, borok, dan koreng. Kulit pohonnya dipakai untuk perangsang muntah (Widjayakusuma, dkk, 1992)

2.17 Penelitian tentang *J. gendarussa* Burm. f.

Dari beberapa studi diketahui bahwa infus daun *J. gendarussa*. dapat menurunkan kadar testosteron dalam serum darah tikus. Disamping itu Penelitian lain diketahui bahwa deteksi fraksi antiradikal bebas DPPH batang dan daun gendarusa secara spektrofotometri, membuktikan dari ekstrak methanol yang mempunyai potensi lebih besar. Selanjutnya ekstrak methanol tersebut mampu menekan derajat udemia mencit yang sebelumnya terinduksi karagen (Prajogo, 2002).

Setelah pemberian fraksi air daun *J. gendarussa* per oral dosis tunggal selama 15 hari pada kelinci jantan tidak mempengaruhi parameter makroskopis dan parameter mikroskopis ejakulat dan dapat diketahui adanya senyawa metabolit gendarusin A yakni apigenin dalam ejakulat kelinci dengan menggunakan metode HPLC (Purwantika, 2005).

Profil kromatogram fraksi air daun *J. gendarussa* pada plasma dilakukan dengan metode HPLC. Profil kromatogram fraksi air daun Gendarusa menunjukkan 12 komponen flavonoid. Komponen terbesar pada fraksi air tersebut (gendarusin A) terelusi pada waktu retensi 15,316 menit pada replikasi 1; 15,464 menit pada replikasi 2; dan 16,098 menit pada replikasi 3, dengan luas area 24658,8 pada replikasi 1; 15416,2 pada replikasi 2; dan 3534,0 pada replikasi 3 (Ifadotunnikmah, 2006).

Isolasi flavonoid pada daun *J. gendarussa* mengandung senyawa flavon-3-glikosida, dan pada ekstrak methanol diketahui mengandung 8 komponen flavonoid dan senyawa sterol dalam ekstrak kloroform (Prajogo, 2002).

2.2 Tinjauan Tentang Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat, belum mengalami pengolahan apapun, umumnya dalam keadaan kering, langsung digunakan sebagai obat dalam atau banyak digunakan sebagai obat dalam sediaan galenik tertentu atau digunakan sebagai bahan dasar untuk memperoleh bahan baku obat. Sedangkan sediaan galenik berupa ekstrak total mengandung 2 atau lebih senyawa kimia yang mempunyai aktifitas farmakologi dan diperoleh sebagai produk ekstraksi bahan alam serta langsung digunakan sebagai obat atau digunakan setelah dibuat bentuk formulasi sediaan obat tertentu yang sesuai (Depkes RI, 1995).

Dalam buku "Materia Medika Indonesia" ditetapkan definisi bahwa simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan (Depkes RI, 2000).

2.2.1 Klasifikasi Simplisia (Depkes RI 1995)

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

- **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.

- **Simplisia Hewani**

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

- **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.

2.2.2 Tahap Pembuatan (Midian, dkk, 1985)

Pada umumnya pembuatan simplisia melalui tahapan seperti berikut : pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, penyimpanan dan pemeriksaan mutu.

a. Pengumpulan bahan baku

Kadar senyawa aktif dalam suatu simplisia berbeda-beda antara lain tergantung pada:

1. Bagian tanaman yang digunakan
2. Umur tanaman atau bagian tanaman pada saat panen
3. Waktu panen
4. Lingkungan tempat tumbuh

Waktu panen sangat erat hubungannya dengan pembentukan senyawa aktif didalam bagian tanaman yang akan dipanen. Waktu panen yang tepat pada saat bagian tanaman tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah terbesar. Senyawa aktif terbentuk secara maksimal didalam bagian tanaman atau pada umur tertentu.

b. Sortasi basah

Sortasi basah dilakukan untuk menghilangkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Misalnya pada simplisia yang dibuat dari akar suatu tanaman obat, bahan-bahan asing seperti tanah, serta pengotoran lainnya harus dibuang. Tanah mengandung bermacam-macam mikroba dalam jumlah yang tinggi, oleh karena itu pembersihan simplisia dari tanah yang terikut dapat mengurangi jumlah mikroba awal.

c. Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dari pengotoran lainnya yang melekat pada simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih, misalnya air dari mata air, air sumur atau air PAM. Bahan simplisia yang mengandung zat yang mudah larut di dalam air yang mengalir, pencucian agar dilakukan dalam waktu sesingkat mungkin. Cara sortasi dan pencucian sangat mempengaruhi jenis dan jumlah awal mikroba dalam simplisia.

d. Perajangan

Beberapa jenis bahan simplisia perlu mengalami prases perajangan. Perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Tanaman yang baru diambil, jangan langsung dirajang tetapi dijemur dalam keadaan utuh selama 1 hari. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, dengan alat mesin perajang khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki. Semakin tipis bahan yang akan dikeringkan, semakin cepat penguapan air, sehingga mempercepat waktu pengeringan. Akan tetapi irisan yang terlalu tipis juga dapat menyebabkan berkurangnya atau hilangnya zat berkhasiat yang mudah menguap, sehingga mempengaruhi komposisi, bau dan rasa yang diinginkan.

e. Pengeringan

Tujuan pengeringan ialah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan dicegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia. Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan suatu alat pengering. Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan.

f. Sortasi kering

Sortasi setelah pengeringan sebenarnya merupakan tahap akhir pembuatan simplisia. Tujuan sortasi untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotor lainnya yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Proses ini dilakukan sebelum simplisia dibungkus untuk kemudian disimpan. Seperti halnya pada sortasi awal, sortasi disini dapat dilakukan dengan atau secara mekanik.

g. Pengepakan dan penyimpanan

Simplisia dapat rusak, mundur atau berubah mutunya karena berbagai faktor luar dan dalam, antara lain : cahaya, oksigen udara, reaksi kimia intern, dehidrasi, penyerapan air, pengotoran, serangga, dan kapang. Selama penyimpanan ada kemungkinan terjadi kerusakan pada simplisia. Kerusakan tersebut dapat mengakibatkan kemunduran mutu, sehingga simplisia bersangkutan tidak lagi memenuhi syarat yang diperlukan atau yang ditentukan. Oleh karena itu pada penyimpanan simplisia perlu diperhatikan beberapa hal yang dapat mengakibatkan kerusakan simplisia, yaitu cara pengepakan, pembungkusan dan pewadahan, persyaratan gudang simplisia, cara sortasi dan pemeriksaan mutu, serta cara pengawetannya. Penyebab kerusakan pada simplisia yang utama adalah air dan kelembaban.

h. Pemeriksaan mutu

Pemeriksaan mutu simplisia dilakukan pada waktu penerimaan atau pembeliannya dari pengumpul atau pedagang simplisia. Simplisia yang diterima harus berupa simplisia murni dan memenuhi persyaratan umum untuk simplisi seperti yang disebutkan dalam buku farmakope Indonesia, ekstra farmakope Indonesia ataupun Materia Medika Indonesia edisi terakhir. Apabila untuk simplisia yang bersangkutan terdapat paparannya dalam salah satu atau ketiga buku tersebut, maka simplisia tadi harus memenuhi

persyaratan yang disebutkan pada paparannya. Suatu simplisia dapat dinyatakan bermutu Farmakope Indonesia, ekstra farmakope Indonesia ataupun Materia Medika Indonesia, apabila simplisia bersangkutan memenuhi persyaratan yang disebutkan dalam buku-buku yang bersangkutan. Pada pemeriksaan mutu simplisia pemeriksaan dilakukan dengan cara organoleptik, makroskopik dan atau cara kimia. Beberapa jenis simplisia tertentu ada yang perlu diperiksa dengan uji mutu secara biologi.

2.3 Tinjauan tentang Standardisasi (Depkes RI, 2000)

Standardisasi simplisia mempunyai pengertian bahwa simplisia yang akan digunakan untuk obat sebagai bahan baku harus memenuhi persyaratan yang tercantum dalam monografi terbitan resmi pemerintah sebagai pihak Pembina dan pengawasan (Materia Medika Indonesia) yang meliputi makroskopis, mikroskopis (iris dan serbuk) serta kimia.

2.3.1 Parameter Standardisasi Simplisia (Depkes RI, 2000)

2.3.1.1 Parameter Nonspesifik

Parameter nonspesifik merupakan tolok ukur baku yang dapat berlaku untuk semua jenis simplisia, tidak khusus untuk jenis simplisia dari tanaman tertentu ataupun jenis proses yang telah dilalui. Ada beberapa parameter nonspesifik yang ditetapkan untuk simplisia dalam penelitian ini antara lain penetapan kadar abu, penetapan kadar abu yang tidak larut dalam asam, penetapan kadar abu yang larut dalam air, penetapan kadar air dan penetapan susut pengeringan.

a. Parameter kadar abu

Pengertian dan prinsip : Bahan dipanaskan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap. Sehingga tinggal unsur mineral dan anorganik.

- Tujuan : Memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya simplisia.
- Nilai : Maksimal atau rentang yang diperbolehkan. Terkait dengan kemurnian dan kontaminasi.

b. Parameter kadar sari larut dalam pelarut tertentu (etanol dan air)

Pengertian dan prinsip : Melarutkan simplisia dengan pelarut (alkohol atau air) untuk ditentukan jumlah solut yang identik dengan jumlah senyawa kandungan secara gravimetri. Dalam hal tertentu dapat diukur senyawa terlarut dalam pelarut lain misalnya heksana, diklorometan, metanol.

Tujuan : Memberikan gambaran awal jumlah senyawa kandungan.

Nilai : Nilai minimal atau rentang yang telah ditetapkan terlebih dahulu.

c. Parameter susut pengeringan

Pengertian dan prinsip : Pengukuran sisa zat setelah pengeringan pada temperatur 105°C selama 30 menit atau sampai berat konstan, yang dinyatakan sebagai nilai prosen. Dalam hal khusus (jika bahan tidak mengandung minyak menguap/atsiri dan sisa pelarut organik menguap) identik dengan kadar air, yaitu kandungan air karena berada di atmosfer/lingkungan udara terbuka.

Tujuan : Memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan.

Nilai : Minimal atau rentang yang diperbolehkan. Terkait dengan kemurnian dan kontaminasi.

d. Parameter kadar air

Pengertian dan prinsip: Pengukuran kandungan air yang berada didalam bahan, dilakukan dengan cara tepat diantara titrasi, destilasi atau gravimetri.

Tujuan : Memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air didalam bahan.

Nilai : Maksimal atau rentang yang diperbolehkan. Terkait dengan kemurnian dan kontaminasi.

e. Parameter kadar total golongan kandungan kimia

Pengertian dan prinsip: Dengan penerapan metode spektrofotometri, titrimetri, volumetri, gravimetri, atau lainnya, dapat ditetapkan kadar golongan kandungan kimia. Metode harus sudah teruji validitasnya, terutama selektivitas dan batas linearitas. Ada beberapa golongan kandungan kimia yang dapat dikembangkan dan dapat ditetapkan metodenya, yaitu :

1. Golongan minyak atsiri
2. Golongan steroid
3. Golongan tanin
4. Golongan flavonoid
5. Golongan triterpenoid (saponin)
6. Golongan alkaloid

7. Golongan antrakinon

- Tujuan : Memberikan informasi kadar golongan kandungan kimia sebagai parameter mutu simplisia dalam kaitannya dengan efek farmakologis.
- Nilai : Minimal atau rentang yang telah ditetapkan

f. Parameter cemaran logam berat

- Pengertian dan prinsip : Menentukan kandungan logam berat spektroskopi serapan atom atau lainnya yang lebih valid.
- Tujuan : Memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak mengandung logam berat tertentu (Hg,As,Cd,Pb, dll) melebihi nilai yang ditetapkan karena berbahaya (toksik) bagi kesehatan.
- Nilai : Maksimal atau rentang yang diperbolehkan.

g. Parameter sisa pestisida

- Pengertian dan prinsip : Menentukan kandungan sisa pestisida yang mungkin saja pernah ditambahkan atau mengkontaminasi pada bahan simplisia.
- Tujuan : Memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak mengandung pestisida melebihi nilai yang ditetapkan karena berbahaya (toxic) bagi kesehatan.
- Nilai : Maksimal atau rentang yang diperbolehkan. Terkait dengan kontaminasi sisa pertanian.

2.3.1.2 Parameter Spesifik

Parameter spesifik merupakan tolok ukur khusus yang dapat dikaitkan dengan jenis tanaman yang digunakan dalam proses standardisasi. Parameter spesifik yang akan ditetapkan pada penelitian ini adalah identitas simplisia, uji organoleptis (pemerian), uji mikroskopik, penetapan kadar sari yang larut dalam air, penetapan kadar sari yang larut dalam etanol, penetapan kandungan minyak atsiri, dan penetapan kadar bahan aktif simplisia.

a. Identitas simplisia

Parameter identitas simplisia meliputi nama latin tumbuhan (sistematika botani), bagian tumbuhan yang digunakan, dan nama daerah tumbuhan. Penentuan parameter ini dilakukan untuk memberikan identitas objektif dari nama dan spesifik dari senyawa identitas, yaitu senyawa tertentu yang menjadi petunjuk spesifik dengan metode tertentu (Depkes RI, 2000).

b. Uji organoleptis

Parameter organoleptis simplisia meliputi pendeskripsian bentuk, warna, bau dan rasa menggunakan pancaindra. Penentuan parameter ini dilakukan untuk memberikan pengenalan awal yang sederhana dan seobjektif mungkin (Depkes RI, 2000).

c. Uji mikroskopik dan uji makroskopik

d. Senyawa terlarut dalam pelarut tertentu

Parameter senyawa terlarut dalam pelarut tertentu ditentukan dengan cara melarutkan ekstrak dengan pelarut (alkohol atau air) untuk ditentukan jumlah solut yang identik dengan jumlah senyawa kandungan secara gravimetri. Dalam hal tertentu dapat diukur senyawa yang terlarut dalam pelarut lain, misalnya heksana, diklorometan, metanol. Penentuan parameter ini dilakukan untuk memberikan gambaran awal jumlah senyawa kandungan (Depkes RI, 2000).

e. Kadar minyak atsiri

f. Kadar senyawa kimia tertentu

Dengan tersedianya kandungan kimia yang berupa senyawa identitas atau senyawa kimia ataupun kandungan kimia lainnya, maka secara kromatografi instrumental dapat dilakukan penetapan kadar kandungan kimia tersebut. Instrumen yang dapat digunakan adalah KLT-densitometer, Kromatografi Gas, *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) atau instrumen lain yang sesuai. Metode penetapan kadar harus diuji dahulu validitasnya, yakni batas deteksi, selektivitas, linieritas, ketelitian, ketepatan dan lain-lain (Depkes RI, 2000).

2.3.2 Persyaratan Parameter Spesifik dan Nonspesifik

Berdasarkan Materia Medica Indonesia jilid IV:

- Kadar abu: tidak lebih dari 8%
- Kadar abu yang larut dalam air: tidak lebih dari 1%
- Kadar abu yang tidak larut dalam asam: tidak kurang dari 1%
- Kadar sari yang larut dalam etanol: tidak kurang dari 6%
- Kadar sari yang larut dalam air: Tidak kurang dari 24%

Berdasarkan Monografi WHO:

- Kadar logam berat:
 - ✓ Maksimum kandungan Hg = 0,5 ppm
 - ✓ Maksimum kandungan As = 5 ppm
 - ✓ Maksimum kandungan Cd = 0,3 ppm
 - ✓ Maksimum kandungan Pb = 10 ppm
- Kadar cemaran pestisida: aldrin dan dieldrin tidak lebih dari 0,05 mg/kg
- Kadar cemaran mikroba
 - ✓ *Salmonella* spp. → negatif
 - ✓ Bahan tanaman obat dengan merebus (*decoction*) :

- Bakteri aerob tidak lebih dari $10^7/g$
- Fungi tidak lebih dari $10^5/g$
- *E.coli* tidak lebih dari $10^2/g$
- ✓ Bahan tanaman obat untuk penggunaan internal :
 - Bakteri aerob maksimum $10^5/g$
 - Khamir dan Kapang maksimum $10^3/g$ atau mL
 - Enterobacteriaceae dan bakteri gram negatif tidak lebih dari $10^3/g$
 - *Escherichia coli* maksimum $10/g$

2.4 Tinjauan tentang Kandungan Kimia

2.4.1 Tinjauan tentang Minyak Atsiri

Minyak atsiri atau minyak menguap adalah masa yang berbau khas, yang berasal dari tanaman, mudah menguap pada suhu kamar tanpa mengalami peruraian. Minyak atsiri sering dikenal dengan nama *volatile oil*, *ethereal oil* atau *essential oil*. Dalam farmakope Indonesia dikenal dengan nama *Olea volatilia* (Depkes RI, 1995).

Pada umumnya minyak atsiri dalam keadaan segar tidak berwarna atau berwarna pucat, bila dibiarkan akan berwarna gelap, berbau sesuai dengan bau tanaman penghasilnya. Umumnya larut dalam pelarut anorganik dan sukar larut dalam air (Midian, dkk,1985).

2.4.1.1 Distribusi Minyak Atsiri dalam Tanaman

Dalam tanaman tergantung dari sukunya (familia), minyak atsiri terdapat dalam rambut kelenjar pada suku Lamiaceae, sel parenkim pada suku Piperaceae, Vitae pada suku Apiaceae, sel sizogen atau lisigen pada suku Pinaceae dan Rutaceae. Tanaman penghasil minyak atsiri diperkirakan berjumlah 150 sampai dengan 200 jenis, tersebar pada tanaman yang termasuk suku Pinaceae, Lamiaceae, Myrtaceae, Apiaceae, Poaceae, Rutaceae, Asteraceae, Zingiberaceae

dan lain-lain. Bagian tanaman yang mengandung minyak atsiri tergantung pada jenis tanaman.

2.4.1.2 Kegunaan Minyak Atsiri

Kegunaan minyak atsiri bagi tanamannya sendiri untuk menarik serangga yang membantu penyerbukan, sebagai cadangan makanan, untuk mencegah kerusakan tanaman oleh serangga atau hewan lain dan mempengaruhi proses transpirasi.

Dalam industri sering digunakan sebagai zat tambahan dalam sediaan kosmetika, obat, makanan, rokok dan sebagainya. Selain itu banyak digunakan sebagai obat anti kuman dan kapang.

2.4.1.3 Sifat Umum Minyak Atsiri

Minyak atsiri yang baru biasanya tidak berwarna atau berwarna kekuning-kuningan dan beberapa jenis ada yang berwarna kemerah-merahan atau biru; rasa dan bau khas. Menguap pada suhu kamar, Penguapan makin banyak bila suhu dinaikkan. Pada umumnya larut dalam etanol, dan pelarut organik lain, Kurang larut dalam etanol yang kadarnya kurang dari 70%. Daya larut lebih kecil jika minyak mengandung fraksi terpen dalam jumlah besar.

Sifat kimia minyak atsiri ditentukan oleh persyaratan kimia yang dikandungnya, terutama persenyawaan tidak jenuh (terpen), ester, asam, aldehid dan beberapa jenis persenyawaan lainnya yang termasuk dalam golongan hidrokarbon yang teroksigenasi (alkohol, eter, keton).

Perubahan sifat kimia minyak atsiri merupakan kerusakan sehingga mengakibatkan penurunan mutu. Beberapa proses dapat mengakibatkan perubahan sifat kimia minyak atsiri adalah proses oksidasi, hidrolisa, polimerisasi, pendamaran dan penyabunan.

2.4.1.4 Komposisi Minyak Atsiri

Minyak atsiri umumnya terdiri dari berbagai campuran persenyawaan kimia yang terbentuk dari unsur karbon (C), hidrogen (H) dan Oksigen (O) serta beberapa persenyawaan kimia yang mengandung unsur nitrogen (N) dan belerang (S).

Pada umumnya komponen kimia dalam minyak atsiri digolongkan menjadi 2 yaitu:

- **Golongan Hidrokarbon**

Persenyawaan yang termasuk golongan ini terbentuk dari unsur hidrogen dan karbon. Golongan hidrokarbon yang terdapat dalam minyak atsiri sebagian besar terdiri dari monoterpen, seskuioterpen, diterpen, politerpen, parafin, olefin dan hidrokarbon aromatik.

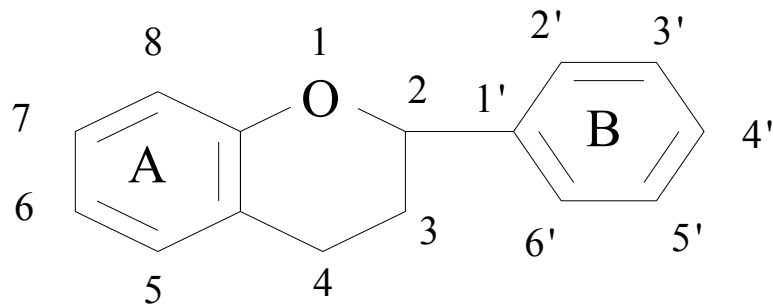
- **Golongan Hidrokarbon yang Teroksigenasi**

Persenyawaan yang termasuk golongan ini terbentuk dari unsur hidrogen, karbon dan oksigen. Persenyawaan yang termasuk golongan ini adalah alkohol, aldehyd, keton, eter, ester, dan lain-lain. Ikatan atom karbon yang terdapat dalam molekulnya dapat terdiri dari ikatan jenuh dan tidak jenuh, persenyawaan yang mengandung ikatan tidak jenuh umumnya tersusun dari terpen. Komponen lain terdiri dari persenyawaan fenol, asam organik yang terikat dalam bentuk ester, misal lakton, kumarin dan turunan furan misal kinon (Midian dkk, 1985).

2.4.2 Tinjauan tentang Flavonoid

2.4.2.1 Tinjauan Flavonoid secara Umum

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri atas 15 atom karbon, dimana dua cincin benzene (C_6) terikat pada suatu rantai propane (C_3) sehingga membentuk suatu susunan $C_6-C_3-C_6$. Sistem penomoran untuk turunan flavonoid sebagai berikut:



Gambar 2.5. Sistem penomoran untuk turunan flavonoid (Robinson, 1995)

2.4.2.2 Jenis-jenis Flavonoid

1. Aglikon Flavonoid

Aglikon flavonoid adalah flavonoid tanpa gula terikat, terdapat dalam berbagai bentuk struktur. Aglikon flavonoid yang sering dijumpai antara lain: flavon, flavonol, antosianidin, sianidin, isoflavon, flavanon, dihidroflavonol, biflavonoid, khalkon, dan auron.

2. Flavonoid O-Glikosida

Flavonoid biasanya terdapat sebagai flavonoid O-glikosida. Senyawa ini memiliki satu gugus hidroksil flavonoid (atau lebih) yang terikat pada satu gula (atau lebih) dengan ikatan hemiasetal yang tidak tahan asam. Jenis gula yang paling sering terlibat adalah glukosa, walaupun galaktosa, ramnosa, xilosa, dan arabinosa sering juga terlibat.

3. Flavonoid C-Glikosida

Adalah flavonoid dengan gula yang terikat langsung pada inti benzene dengan satu ikatan C-C yang tahan asam. Jenis gula yang terlibat ternyata jauh lebih sedikit dibanding jenis gula pada flavonoid O-glikosida. Gula yang paling sering terlibat biasanya dari jenis glukosa (Markham, 1988).

2.4.2.3 Sifat Kelarutan Flavonoid

Aglikon flavonoid adalah polifenol, karena itu memiliki sifat seperti senyawa fenol, yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Tetapi, bila dilarutkan dalam larutan basa, dengan adanya oksigen maka banyak yang akan terurai.

Flavonoid merupakan senyawa polar karena memiliki sejumlah gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi atau suatu gula. Karena itu, flavonoid larut dalam pelarut polar seperti etanol, methanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida, air, dan lain-lain.

Adanya gula yang terikat pada flavonoid menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air. Sedangkan, aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1988).

2.4.2.4 Khasiat Flavonoid

Senyawa golongan flavonoid mempunyai banyak kegunaan diantaranya kuersetin (suatu flavonol) dapat menghambat pertumbuhan kulit, sehingga senyawa ini dapat digunakan sebagai pencegahan dari pertumbuhan tumor. Flavonoid juga dapat memperbaiki kerapuhan pembuluh darah kapiler serta mencegah perdarahan kapiler, juga mempunyai efek antihipertensi, anti fungi, spermasidal, anti inflamasi dan sitotoksik (Robinson, 1991).

Menurut penelitian terbaru, secara garis besar flavonoid efektif untuk pengobatan inflamasi kronis, penyakit alergi, penyakit koronaria, dan kanker payudara (Ebadi, 2002).

Selain itu gendarusin A (glikosida flavon) pada tanaman gendarusa dapat mencegah penetrasi spermatozoa melalui mekanisme penghambatan enzim hialuronidase (Prajogo, 2002).

2.5 Tinjauan tentang Kromatografi

2.5.1 Kromatografi secara Umum

Kromatografi merupakan salah satu metode pemisahan yang memungkinkan peneliti untuk mengidentifikasi, memisahkan dan memurnikan komponen-komponen yang terdapat dalam campuran. Pemisahan dalam kromatografi ditunjang oleh adanya fase diam dan fase gerak. Prinsip dari kromatografi adalah proses penarikan komponen zat berkhasiat dan zat lain yang ada di fase diam oleh fase gerak yang berdasarkan proses partisi, adsorpsi, dan pertukaran ion. Kromatografi terbagi menjadi kromatografi kolom dan kromatografi planar. Berdasarkan fase geraknya, kromatografi kolom terbagi menjadi kromatografi cair dan kromatografi gas (Skoog, 1985). Kromatografi yang sering digunakan adalah kromatografi kolom, kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis, penyerap berpori misalnya aluminium oksida yang diaktifkan, asam silikat dan kromatografi gas. Sebagai zat penyerap, selain kertas digunakan juga zat atau silika gel, kieselgur dan harsa sintesis. Kromatografi kertas dan kromatografi lapis tipis umumnya lebih berguna untuk uji identifikasi karena cara ini khas dan mudah dilakukan untuk zat dengan jumlah sedikit (Depkes RI, 1979).

2.5.2 Tinjauan tentang HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)

2.5.2.1 Tinjauan Umum

Untuk menganalisis suatu sampel dengan matriks yang kompleks digunakan analisis dengan proses pemisahan campuran zat-zat kimia. Cara pemisahan, metode analisis, dan kecermatan penelitian akan sangat berpengaruh terhadap hasil akhir analisis. Salah satu metode analisis adalah dengan proses pemisahan kromatografi. Kromatografi adalah teknik pemisahan fisik suatu campuran berdasarkan perbedaan migrasi dari masing-masing komponen campuran pada fase diam di bawah pengaruh fase gerak (Mulja, 1995).

HPLC merupakan istilah yang umum dipakai dalam dunia internasional, mengandung dualisme pengertian yaitu *High Performance Liquid Chromatography* dan *High Performance Liquid Chromatography*. HPLC adalah suatu metode pemisahan yang didasarkan atas perbedaan afinitas senyawa terhadap dua fase, dalam hal ini fase diam dan fase gerak. Sebagai fase diam digunakan adsorben yang dikemas dalam kolom. Fase gerak dapat merupakan satu pelarut atau campuran lebih dari satu pelarut. Komponen yang akan dipisahkan diinjeksikan, kemudian akan dibawa oleh aliran fase gerak melalui fase diam. Tiap komponen akan bergerak dengan kecepatan yang berbeda dan setelah pemisahan selesai akan diperoleh puncak-puncak kromatogram yang saling terpisah.

Mekanisme pemisahan yang mendasari HPLC adalah proses adsorpsi, partisi, pertukaran ion atau permeasi gel, dimana proses pemisahannya dilaksanakan dalam kolom disertai pemakaian pelarut pengembang dengan tekanan tinggi. Dari mekanisme tersebut pada dasarnya ada satu kesamaan konsep yaitu tentang distribusi yang dinyatakan dengan koefisien distribusi (K') (Mulja, 1995).

Waktu tambat atau waktu retensi (*retention time*) adalah selang waktu yang diperlukan oleh larutan (solut) mulai saat injeksi keluar dari kolom dan sinyalnya ditangkap oleh detektor, dinyatakan sebagai t_R (Mulja, 1995).

Analisis kuantitatif dengan metode HPLC dipengaruhi oleh banyak faktor, diantaranya yaitu kepolaran fase diam, kepolaran fase gerak, laju aliran fase gerak, dan kepolaran senyawa yang dianalisis. Analisis kuantitatif terhadap senyawa yang dapat dihitung dengan membandingkan zat standar sebagai pembanding. Maksud dan tujuan analisis dengan HPLC adalah didapatnya pemisahan yang baik dalam waktu proses relatif singkat dengan keuntungan antara lain dapat dilaksanakan pada suhu kamar, detektor HPLC dapat divariasikan, dan kolom dapat dipakai berulang kali (Mulja, 1995)

2.5.2.2 Optimasi Parameter Kromatografi

Tujuan optimasi pada kromatografi secara umum adalah untuk mendapatkan kondisi yang diperlukan untuk mencapai pemisahan yang paling baik. Keberhasilan pemisahan tergantung pada pemilihan cara kromatografi yang tepat, kombinasi fase diam dan fase gerak yang sesuai dan tidak dapat diabaikan adanya aspek instrumental seperti kolom yang dipakai, penampilan detektor, kemampuan sistem pompa, dan sistem pengolahan data pada alat kromatografi. Semua hal tersebut akan mempengaruhi kualitas pemisahan.

2.5.2.3 Optimasi Fase Gerak

Pada HPLC, fase gerak memegang peranan yang sangat menonjol pada proses pemisahan. Pemilihan fase gerak selalu didasarkan pada sifat fase diam (kolom) yang dipilih setelah mempertimbangkan sifat solut yang telah diketahui.

Sebagai langkah awal untuk memilih fase gerak yang sesuai untuk analisis adalah menelusuri kepustakaan yang ada. Setelah didapat publikasi tentang cara analisis dengan metode HPLC, maka sebagai langkah selanjutnya adalah mengadakan modifikasi sesuai dengan kondisi yang dimiliki.

2.5.2.4 Validasi Metode

Supaya analisis kimia yang dilakukan memberikan hasil yang mendekati kebenaran, maka metode kromatografi yang digunakan mutlak perlu divalidasi terlebih dahulu. Parameter validasi yang umumnya diuji adalah selektifitas, Batas deteksi dan batas kuatitasi, linearitas, presisi, dan akurasi.

a. Selektifitas

Selektifitas menurut USP XXII adalah kemampuan suatu metode analisis untuk mengukur senyawa yang dianalisis dengan akurat dan spesifik, bila komponen yang dianalisis berada dengan komponen lain dari matriks sampel. Pada metode HPLC, sistem yang dipakai harus selektif untuk zat yang ditentukan. Hal ini berarti bahwa puncak zat tersebut pada kromatogram harus

terpisah dari zat lain, misalnya zat yang strukturnya mirip, komponen-komponen matriks sampel atau zat lain yang mungkin mengganggu analisis.

Selektifitas merupakan langkah awal yang harus dilakukan untuk membuktikan bahwa puncak atau noda kromatogram analit tidak terganggu dengan zat pengotor tertentu atau analit betul-betul terpisah antara satu dengan yang lainnya. Selektifitas ini salah satu parameter yang sangat menentukan untuk metode kromatografi. Selektifitas yang baik ditunjukkan dengan harga faktor selektifitas (α) >1 dan derajat keterpisahan R_s 1,2–1,5 (untuk bahan alam harga resolusi 1–1,5).

b. Batas deteksi dan batas kuantitasi

Batas deteksi adalah jumlah analit terkecil yang dapat memberi respon yang signifikan dibandingkan blanko. Sedangkan batas kuantitasi adalah jumlah analit yang terkecil yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi tertentu. Batas deteksi/kuantitasi mutlak ditentukan bila analit yang akan dianalisis konsentrasinya relatif kecil, seperti obat dalam cairan biologis, metabolit sekunder dalam kultur suspensi / kalus / bahan tanaman, sampel untuk percobaan disolusi obat – obatan, dll (Indrayanto, 1994).

Batas deteksi dan kuantitasi dapat dinyatakan dengan :

$$C = \frac{K \cdot S_b}{S}$$

Keterangan :

- C = kadar batas deteksi dan kuantitasi
- K = konstanta, untuk batas deteksi = 3, batas kuantitasi = 10
- S_b = standar deviasi dari puncak blanko $N_p - p/5$
- S = sensitivitas *slope*

c. Linieritas

Menurut USP XXV (2002) linieritas adalah kemampuan untuk merespon hasil uji secara langsung atau perhitungan menurut hubungan matematis yang sebanding dengan konsentrasi analit dalam sampel pada trayek tertentu.

Pada kondisi HPLC yang terpilih linearitas metode dapat ditunjukkan dengan adanya hubungan linier antara konsentrasi analit dan respon detektor. Untuk menyatakan adanya korelasi dipergunakan parameter koefisien korelasi (r) pada analisis regresi : $y = ax + b$.

Penentuan linieritas menurut USP XXV (2002) menggunakan minimal 5 macam konsentrasi dimana kelima macam konsentrasi tersebut berkisar antara 80-120% dari kadar analit yang diperkirakan. Kalibrasi standar harus dipreparasi dengan menggunakan matrik yang sama dengan sampel pada suatu penelitian (Lindholm, 2004)

d. Presisi

Presisi suatu metode dapat ditentukan dengan melakukan analisis sampel yang sama berulang kali. Analisis dilakukan 10 kali dan harga KV. Untuk penetapan kadar obat dalam cairan biologis dan bahan alam harga koefisien variasi 15% masih diperbolehkan (Lindholm, 2004).

e. Akurasi

Akurasi adalah hasil yang menunjukkan ketepatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Sebagai parameter untuk akurasi USP XXIII menggunakan % recovery. % recovery dapat ditentukan dengan metode adisi yaitu dengan menambahkan sejumlah analit dengan konsentrasi tertentu biasanya 80-120% dari kadar analit yang diperkirakan pada sampel yang akan diperiksa, lalu dianalisis dengan metode tersebut. Persen recovery ditentukan dengan menentukan berapa % dari analit yang ditambahkan dapat diketemukan.

2.5.2.5 Metode Evaluasi

Penetapan kadar dengan metode HPLC adalah berdasarkan pada prinsip bahwa tinggi atau luas puncak kromatogram berbanding linier dengan konsentrasi solut. Terdapat tiga metode standar yang dapat digunakan pada penetapan kadar dengan metode HPLC.

a. Metode standar eksternal

Pada metode ini dibuat kurva kalibrasi antara tinggi atau luas puncak berbanding dengan konsentrasi dari satu seri larutan standar yang konsentrasinya mendekati larutan sampel. Untuk menghitung kadar sampel dilakukan interpolasi pada kurva tersebut yang dapat dilakukan dengan komputer yang dapat langsung menghitung kadar zat dalam sampel.

b. Metode standar internal

Metode ini digunakan untuk menghindari terjadinya perbedaan hasil yang disebabkan karena perbedaan volume sampel yang diinjeksikan. Standar internal ditambahkan ke dalam sampel, kemudian dilakukan analisis simultan bersama sampel. Zat yang digunakan sebagai standar internal harus memenuhi syarat sebagai berikut, yaitu : sifat fisika dan kimianya mirip dengan sampel yang dianalisis, zat tersebut tidak boleh ada dalam sampel, dalam analisis zat tersebut harus terpisah dari senyawa lain yang ada dalam sampel dan zat tersebut harus murni dan stabil dalam penyimpanan.

c. Metode standar adisi

Pada analisis senyawa dengan kadar kecil misalnya analisis jejak (*trace*), adanya senyawa lain seringkali mempengaruhi puncak zat yang dianalisis. Misalnya terjadi pelebaran puncak, puncak yang tumpang tindih dan perolehan kembali (*recovery*) yang kurang baik. Untuk mendapatkan hasil yang memuaskan perlu ditambahkan zat yang sama dan diketahui kadarnya dalam sampel.

2.5.3 Tinjauan tentang *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS)

Teknik spektroskopik adalah salah satu teknik analisis fisikokimia yang mengamati tentang interaksi atom atau molekul dengan radiasi elektromagnetik (REM). Pada prinsipnya, interaksi REM dengan molekul akan menghasilkan satu atau dua macam dari tiga macam kejadian yang mungkin terjadi yaitu hamburan (*scattering*), adsorpsi (*adsorption*), dan emisi (*emission*) REM oleh atom atau molekul yang diamati.

Pada *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS) digunakan untuk analisis logam dalam sampel yang dianalisis dengan menggunakan obyek nyala api pembakar dimana setiap unsur akan memberikan nyala api pada gas pembakar. Pada metode ini terjadi penyerapan sumber radiasi (diluar nyala) oleh atom-atom netral dalam keadaan gas yang berada dalam nyala. Nyala api unsur logam akan mengabsorpsi sumber radiasi eksternal dan memberikan spektrum absorpsi atom yang khas (Mulya, 1995).

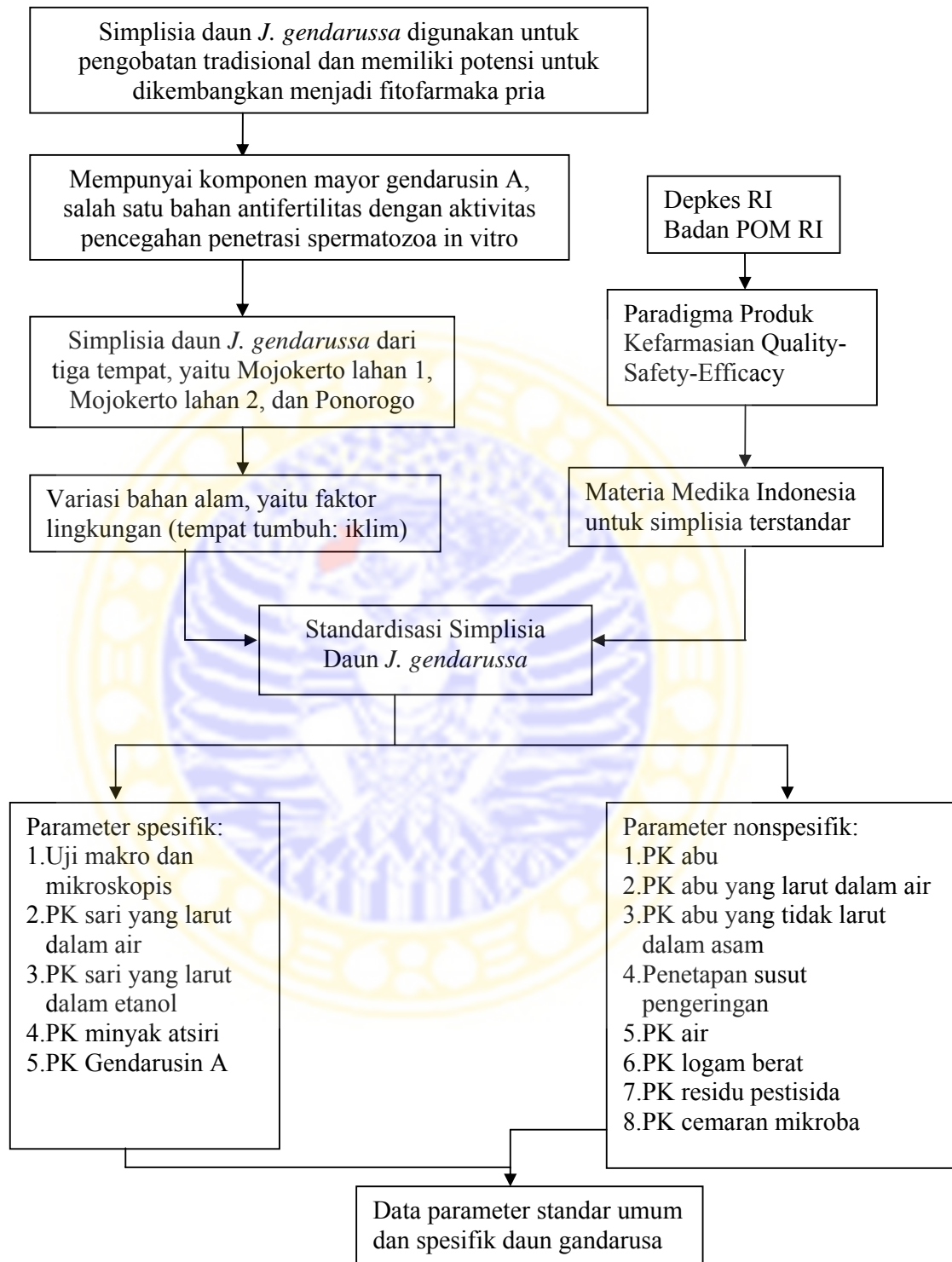
BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Landasan Teoritik

- a. Daun *J. gendarussa* secara tradisional digunakan untuk pengobatan tradisional dan memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi fitofarmaka
- b. Pada *J. gendarussa* terdapat 12 komponen flavonoid dengan komponen mayor 6,8-di- α -i-arabinopiranosil-4',5,7-trihidroksiflavon yang kemudian dikenal sebagai gendarusin A, salah satu bahan antifertilitas dengan aktivitas pencegahan penetrasi spermatozoa in vitro dengan mekanisme penghambatan enzim hialuronidase. (Prajogo, 2002)
- c. Pada penelitian terdahulu telah dilakukan standardisasi simplisia *Gendarusa vulgaris* Nees yang berasal dari Mojokerto dan Madiun (Kurniasari, 2001).
- d. Standardisasi simplisia mempunyai pengertian bahwa simplisia yang akan digunakan untuk obat sebagai bahan baku harus memenuhi persyaratan yang tercantum dalam monografi terbitan resmi Departemen kesehatan (Materia Medika Indonesia).
- e. Suatu sediaan obat yang diproduksi dari bahan alam sering kali bervariasi sehingga perlu dilakukan standarisasi. Variasi pada bahan alam terjadi karena beberapa faktor. Faktor-faktor tersebut misalnya genetik (bibit), lingkungan (tempat tumbuh: iklim), rekayasa agronomi (fertilizer: perlakuan selama masa tumbuh), dan panen (waktu dan pasca panen) (Depkes RI, 2000).
- f. Dalam penelitian ini akan dilakukan standardisasi terhadap simplisia daun *Gendarussa* dari tiga daerah berbeda, yaitu dari Mojokerto lahan 1, Mojokerto lahan 2, dan Ponorogo. Hal ini dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh simplisia dengan tingkat standar berdasarkan parameter spesifik dan nonspesifik yang lebih baik dan sebagai langkah awal proses pengembangan obat tradisional untuk memberikan jaminan mutu kefarmasian.

3.2 Skema Kerangka Konseptual



Gambar Skema kerangka konseptual

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah serbuk daun dari tanaman *J. gendarussa* Burm.f. yang dikumpulkan pada bulan Februari 2009 dari tiga tempat, yaitu Mojokerto lahan 1, Mojokerto lahan 2, dan Ponorogo. Daun yang diambil sebagian digunakan untuk uji makroskopis dan mikroskopis (irisan), sisanya disortasi, dicuci, dikeringkan dengan menggunakan oven dengan suhu 40°C, dan kemudian dibuat serbuk dengan menggunakan mesin penggiling.



Gambar 4.1 Daun *J. gendarussa* Burm. F

4.2 Bahan Kimia

1. Aquadest
2. Asam klorida encer p
3. Asam klorida pekat p
4. Etanol (95%)
5. Asam Sulfat P
6. Pereaksi uji logam berat
7. Metanol
8. Kloroform

9. Toluene P
10. Ethyl Acetate
11. Methanol pro HPLC (J.T. Baker)
12. Standard Gendarusin A (Isolat 6,8-di- α -L-arabinopyranosyl-4',5,7-trihydroxy-flavone)
13. Gas Nitrogen
14. Asam Fosfat p.a.

4.3 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain :

- Pendingin balik (refluks)
- Alat-alat gelas
- Oven
- Timbangan listrik
- Furnace
- Waterbath
- Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) Shimadzu LC 10 AT
- Atomic Absorption Spectroscopy (AAS)
- Desikator
- Seperangkat alat mikroskop dilengkapi dengan kamera
- Alat untuk penetapan kadar minyak atsiri
- Alat untuk penetapan kadar air

4.4 Metode Penelitian

4.4.1 Uji Makroskopik (Midian dkk, 1987)

Dilakukan penelitian morfologi dengan mengamati daun segar yang dilakukan dengan menggunakan kaca pembesar atau tanpa menggunakan alat. Cara ini digunakan untuk mencari kekhususan morfologi, ukuran dan warna simplisia yang diuji.

Tabel 4.1 Pengamatan Morfologi

No	Uraian	Hasil Pengamatan
1	Helaian daun : Bentuk Daun Ujung daun Pangkal daun Permukaan daun Pinggir daun Tulang daun	
2	Ukuran : Panjang daun Lebar daun	
3	Warna daun	
4	Tangkai daun	

4.4.2 Uji Mikroskopik (Midian dkk, 1987)

Dilakukan dengan menggunakan mikroskop yang derajat pembesarnya disesuaikan dengan keperluan untuk mempelajari anatomi dan histolog sediaan daun. Dibuat sediaan daun yang langsung diamati dalam media air dalam mikroskop. Selanjutnya dilakukan reaksi warna dalam medium kloralhidrat (dipanaskan) dengan pewarnaan floroglusin HCl. Sediaan yang diamati adalah irisan melintang melalui ibu tulang daun, irisan melintang mesofil daun, sayatan membujur epidermis atas, dan sayantan membujur epidermis bawah daun.

Tabel 4.2 Pengamatan Anatomi Daun

No	Susunan	Jaringan
1	Epidermis atas	Sel litosis Sistolit Rambut kelenjar Rambut Penutup Stomata
2	Epidemis bawah	Rambut kelenjar Rambut Penutup Stomata
3	Mesofil	Palisade Bunga karang Berkas pembuluh

4.4.3 Identifikasi Serbuk (Depkes RI, 2000)

Serbuk diidentifikasi berdasarkan fragmen pengenal yaitu fragmen rambut penutup terdiri dari satu sel, dinding tampak keriting, fragmen lamina daun, hablur kalsium oksalat bentuk prisma, fragmen epidermis atas, fragmen epidermis bawah terpotong tangensial dengan stomata dan rambut penutup, fragmen serabut hablur dan fragmen berkas pembuluh.

4.4.4 Penetapan Kadar Abu (Depkes RI, 2000)

Lebih kurang 2 g sampai 3 g zat yang telah digerus ditimbang seksama. Dimasukkan dalam krus porselen yang telah dipijarkan dan ditara. Dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, didinginkan dan ditimbang. jika dengan cara ini arang tidak dapat dihilangkan, ditambahkan air panas, disaring melalui kertas saring bebas abu. Sisa dan kertas saring dipijarkan dalam krus yang sama. Dimasukkan filtrat kedalam krus, diuapkan, dipijarkan hingga bobot tetap, ditimbang. Dihitung kadar abu terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara.

4.4.5 Penetapan Kadar Abu yang Tidak Larut dalam Asam (Depkes RI, 2000)

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu, dididihkan dengan 25 ml asam klorida encer P selama 5 menit, dikumpulkan bagian yang tidak larut dalam asam, disaring melalui kertas saring bebas abu, dicuci dengan air panas, dipijarkan hingga bobot tetap, ditimbang. Dihitung kadar air yang tidak larut dalam asam terhadap bahan yang dikeringkan diudara.

4.4.6 Penetapan Kadar Abu yang Larut Air (WHO, 1998)

Dalam krus yang mengandung abu total, ditambahkan 25 ml air dan dididihkan selama 5 menit. Zat yang tidak larut disaring dengan menggunakan krus sinterglass atau dengan ketrans saring bebas abu. Dicuci dengan air panas dan dipijarkan dalam krus selama 15 menit pada suhu tidak lebih dari 450°C. Bobot residu dikurangkan dengan bobot abu total. Dihitung bobot abu yang larut dalam mg per g terhadap bahan yang dikeringkan diudara.

4.4.7 Penetapan Kadar Sari yang Larut dalam Air (Depkes RI, 2000)

Serbuk dikeringkan diudara, dimaserasi selama 24 jam 5,0 g serbuk dengan 100 ml air kloroform P, menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Disaring, diuapkan 20 ml filtrat hingga kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara, dipanaskan sisa pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Dihitung kadar dalam persen sari yang larut dalam air, dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan diudara.

4.4.8 Penetapan Kadar Sari yang Larut dalam Etanol (Depkes RI, 2000)

Serbuk dikeringkan diudara, dimaserasi selama 24 ajm 5,0 g serbuk dengan 100 ml etanol (95%), menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Disaring cepat dengan menghindarkan penguapan etanol (95%), Diuapkan 25 ml filtrat hingga kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara, dipanaskan sisa pada

suhu 105°C hingga bobot tetap. Dihitung kadar dalam persen sari yang larut dalam etanol (95%), dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan diudara.

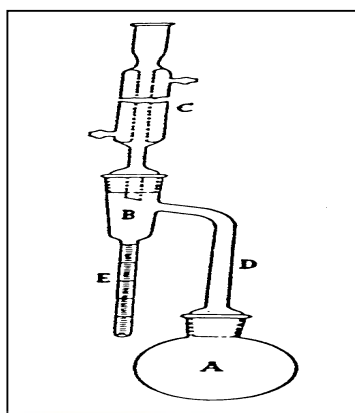
4.4.9 Penetapan Kadar Air (Depkes RI, 2000)

Alat : Sebuah labu 500 ml dihubungkan dengan pendingin air balik dengan pertolongan alat penampung. Tabung penerima 5 ml, bersekala 0,1 ml. Pemanas yang digunakan sebaiknya pemanas listrik yang suhunya dapat diatur atau tangas minyak. Bagian atas labu tabung penyambung sebaiknya dibungkus asbes.

Pereaksi: Toluena. Sejumlah toluena P, dikocok dengan sedikit air, dibiarkan memisah, dibuang lapisan air suling.

Cara penetapan : Dibersihkan tabung penerima dan pendingin dengan air, dikeringkan dalam lemari asam. Kedalam labu kering dimasukkan sejumlah zat yang ditimbang seksama yang diperkirakan mengandung 2 ml sampai 4 ml air. Jika zat berupa pasta, ditimbang dalam sehelai lembaran logam dengan ukuran yang sesuai dengan leher labu. Untuk zat yang dapat menyebabkan gejala mendadak, ditambahkan pasir kering yang telah dicuci secukupnya hingga mencukupi dasar labu atau sejumlah tabung kapiler, panjang kurang lebih 100 mm yang salah satu ujungnya tertutup. Dimasukkan lebih kurang 200 ml toluena kedalam labu, alat dihubungkan. Dituang toluena kedalam tabung penerima melalui alat pendingin. Labu dipanaskan hati-hati selama 15 menit.

Setelah toluena mulai mendidih, disuling dengan kecepatan kurang lebih 2 tetes tiap detik hingga sebagian besar air tersuling, kemudian dinaikkan kecepatan penyulingan hingga 4 tetes tiap detik. Setelah semua air tersuling, bagian dalam pendingin dicuci dengan toluena sambil dibersihkan dengan sikat tabung yang disambungkan pada sebuah kawat tembaga dan telah dibasahi toluena. Penyulingan dilanjutkan selama 5 menit. Dibiarkan tabung penerima dingin hingga suhu kamar. Jika ada tetes air yang melekat pada dinding tabung penerima, digosok dengan karet yang diikatkan pada sebuah kawat tembaga dan dibasahi dengan toluena hingga tetesan air turun. Setelah air dan toluena memisah sempurna, volume air dibaca. Dihitung kadar air dalam %.



Gambar 4.2 Rangkaian alat untuk penetapan kadar air cara destilasi

4.4.10 Penetapan Susut Pengerinan

Susut pengerinan adalah kadar bagian yang menguap suatu zat. Kecuali dinyatakan lain, suhu penguapan adalah 105°C dan susut pengerinan ditetapkan sebagai berikut: Ditimbang seksama 1 g sampai 2 g zat dalam bobot timbang dangkal bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu penetapan selama 30 menit dan telah ditara. Jika zat berupa hablur besar, sebelum ditimbang digerus dengan cepat hingga ukuran butiran lebih kurang 2 mm. Zat diratakan dalam botol timbang dengan menggoyangkan botol, hingga merupakan lapisan setebal lebih kurang 5 mm sampai 10 mm, dimasukkan kedalam ruang pengering, dibuka tutupnya, dikeringkan pada suhu penetapan hingga bobot tetap. Sebelum setiap pengeringan, dibiarkan botol dalam keadaan tertutup dingin dalam eksikator hingga suhu kamar. Jika suhu lebur zat lebih rendah dari suhu penetapan, pengeringan dilakukan pada suhu antara 50 dan 10°C dibawah suhu leburnya selama 1-2 jam, kemudian pada suhu penetapan selama waktu yang ditentukan atau hingga bobot tetap.

4.4.11 Penetapan Cemar Logam Berat (Depkes RI, 2000)

1. Pembuatan larutan baku

a. Pembuatan larutan baku Pb

Membuat larutan baku Pb dengan berbagai kadar berbeda : 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1 ppm dalam pelarut HNO_3 1 %.

b. Pembuatan larutan baku Cd

Membuat larutan baku Cd dengan berbagai kadar berbeda : 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 1 ppm dalam pelarut HNO₃ 1 %.

c. Pembuatan larutan baku Zn

Membuat larutan baku Zn dengan berbagai kadar berbeda : 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1 ppm dalam pelarut HNO₃ 1 %.

d. Pembuatan larutan baku Cu

Membuat larutan baku Cu dengan berbagai kadar berbeda : 0,2; 0,4; 0,8; 1; 2 ppm dalam pelarut HNO₃ 1 %

2. Pembuatan larutan uji

Masukkan sekitar 10 g zat ke dalam krus, dan pijarkan hati-hati pada suhu rendah hingga mengarang. Selama pemijaran krus tidak boleh ditutup rapat. Pada bagian yang telah mengarang tambah 2 ml asam nitrat pekat, panaskan hati-hati hingga asap putih tidak terbentuk lagi. Pijarkan pada suhu 500°C hingga 600°C sampai arang habis terbakar. Dinginkan, larutkan dalam HNO₃ 1 % dalam labu ukur 25 ml, disaring dengan kertas saring bebas abu. Diamati dengan AAS (Atomic Absorption Spectroscopy). Hitung kadar terhadap ekstrak awal.

4.4.12 Penetapan Residu Pestisida

Metode pengujian Residu pestisida dalam hasil pertanian dari komisi pestisida Departemen Pertanian 1997 dengan modifikasi sebagai berikut:

1. Jika kandungan kimia pengganggu analisis yang bersifat non polar relatif kecil seperti pada ekstrak yang diperoleh dengan penyari air atau etanol berkadar kurang dari 20%. Analisis dapat dilakukan secara semi kuantitatif menggunakan metode kromatografi lapis tipis secara langsung tanpa melalui tahap pembersihan lebih dulu atau menggunakan kromatografi gas jika tidak terdapat kandungan kimia dengan unsur N seperti klorofil, alkaloid, dan amin non polar lain.
2. Ekstrak yang diperoleh dengan pelarut etanol berkadar tinggi dan tidak mengandung senyawa nitrogen non polar dapat dicoba menggunakan

metode kromatografi lapis tipis atau kromatografi gas secara langsung tanpa pembersihan. Jika tidak dapat dilakukan karena banyaknya kandungan kimia pengganggu maka harus dilakukan pengujian sesuai metode baku.

4.4.13 Penetapan Cemaran Mikroba

4.4.13.1 Uji Angka Lempeng Total (ALT)

Prosedur: Disiapkan 5 tabung atau lebih yang masing-masing telah diisi dengan 9 ml pengencer PDF. Dari hasil homogenisasi pada penyiapan contoh dipipet pengenceran 10^{-1} sebanyak 1 ml kedalam tabung yang berisi pengencer PDF pertama hingga diperoleh pengenceran 10^{-2} dan dikocok hingga homogen. Dibuat pengenceran selanjutnya hingga 10^{-6} atau sesuai dengan yang diperlukan. Dari setiap pengenceran dipipet 1 ml kedalam cawan petri dan dibuat duplo. Kedalam tiap cawan petri dituangkan 15-20 ml media PCA ($45 \pm 1^{\circ}$). Segera cawan petri digoyang dan diputar sedemikian rupa hingga suspensi tersebar merata. Untuk mengetahui sterilitas media dan pengencer di buat uji kontrol (blanko). Pada satu cawan hanya diisi 1 ml pengencer dan media agar, dan pada cawan yang lain diisi pengencer dan media. Setelah media memadat, cawan petri diinkubasi pada suhu $35-37^{\circ}$ C selama 24-48 jam dengan posisi terbalik jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung.

4.4.13.2 Uji Angka Kapang/Khamir

Prosedur: Disiapkan 3 buah tabung yang masing-masing diisi 9 ml ASA. Dari hasil homogenisasi pada penyiapan contoh dipipet 1 ml pengenceran 10^{-1} ke dalam tabung ASA pertama hingga diperoleh pengenceran 10^{-2} dan dikocok sampai homogen. Dibuat pengenceran selanjutnya hingga 10^{-4} . Dari masing-masing pengenceran dipipet 0,5 ml, dituangkan pada permukaan PDA, segera digoyang sambil diputar agar suspensi tersebar merata dan dibuat duplo. Untuk mengetahui sterilitas media dan pengencer dilakukan uji blanko. Kedalam satu cawan petri lainnya dituangkan media dan pengencer, kemudian dibiarkan memadat. Seluruh cawan petri diinkubasi pada suhu $20-25^{\circ}$ C selama 5-7 hari. Sesudah 5 hari inkubasi, dicatat jumlah koloni jamur yang tumbuh, pengamatan

terakhir pada inkubasi 7 hari. Koloni ragi dibedakan karena bentuknya bulat kecil-kecil putih hampir menyerupai bakteri. Lempeng agar yang diamati adalah lempeng dimana terdapat 40-60 koloni kapang/khamir.

4.4.13.3 Penetapan bakteri Patogen Uji *Escheri Coli*

Prosedur: Dipilih biakan positif pada uji MPN Coliform, 1 ml dari masing-masing biakan tersebut diinokulasikan kedalam ECB dan diinkubasi pada suhu 44° C selama 24- 48 jam. Terbentuknya gas dalam tabung Durham menunjukkan fekal Coliform positif, kemudian biakan digoreskan pada media EMBA. Diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Dipilih koloni hijau dengan kilap logam dan bintik biru kehijauan ditengahnya dari EMBA, digoreskan pada NA miring dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Dilakukan pewarnaan Gram. E. Coli merupakan bakteri gram negatif bentuk batang agak membulat. Dilanjutkan dengan penetapan IMVIC sebagai berikut Uji Indol, Uji metil merah, Uji Voges-Proskauer dan Uji Citrate.

4.4.13.4 Uji *Salmonela typhi*

Prosedur: Cuplikan dalam LB hasil homogenisasi pada suhu 30°C selama 18-24 jam. Dipipet masing-masing 5 ml biakan LB ke dalam 50 ml media TBGB dan 50 ml SCB diinokulasikan 1 sengkeli pada permukaan BGA dan BSA dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh diamati dan diidentifikasi dan kemudian dilakukan uji serologi.

4.4.13.5 Uji *Staphylococcus aureus*

Prosedur: Disiapkan 2 buah tabung yang masing-masing telah diisi dengan 9 ml BPW. Dari hasil homogenisasi pada penyiapan contoh dipipet pengenceran 10⁻¹ sebanyak 1 ml, kedalam tabung reaksi berisi 9 ml BPW hingga diperoleh pengenceran 10⁻², diocok. Dipipet 1 ml kedalam tabung reaksi berisi 9 ml BPW hingga diperoleh pengenceran 10⁻³. Dari masing- masing pengenceran dipipet 0,25 ml, dituangkan pada permukaan BP agar, disebar ratakan menggunakan batang kelas bengkok dan dibuat duplo. Dibiarkan beberapa saat hingga inokulum terserap dalam media. Diinkubasi pada suhu 37° C selama 24-48 jam dengan

posisi cawan dibalik. Setelah 24 jam dipilih cawan dengan jumlah 30-300 koloni berwarna hitam mengkilap dan dikelilingi daerah jernih. Posisi koloni diberi tanda dan dan inkubasi dilanjutkan hingga 48 jam. Seluruh koloni yang tumbuh selama periode inkubasi dihitung kemudian dilakukan uji koagulase.

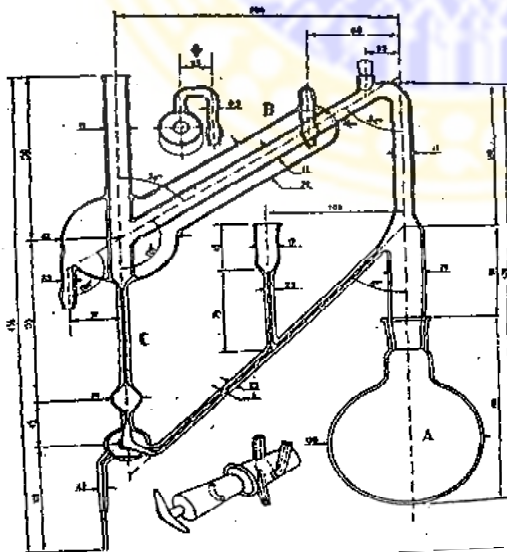
4.4.13.6 Uji *Pseudomonas aeruginosa*

Prosedur: Pada spesimen ditambahkan media FSCD hingga 100 ml, dicampur dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Diamati pertumbuhan pada media, dan jika terdapat pertumbuhan, dengan menggunakan sengkeli inokulasikan biakan pada permukaan lempeng media VJA (atau media BPA atau MSA) dan media CETA. Tutup balikkan cawan dan inkubasi sampai 48 jam. Dilakukan pengamatan terhadap cawan apakah mengandung koloni yang mempunyai ciri seperti *Pseudomonas aeruginosa*.

4.4.14 Penetapan Kadar Minyak Atsiri

Alat: Stahl

Ditimbang sejumlah serbuk antara 10-50 g, ditambahkan aquadest sejumlah 300 ml, dipasang pada alat destilasi dan buret diisi hingga penuh. Dipanaskan dengan penangas air sehingga penyuling berlangsung dengan lambat namun teratur. Penyulingan dihentikan hingga 6 jam. Dicatat volume minyak atsiri.



Keterangan gambar:

A. Labu bulat 1000 mL

B. Pendingin

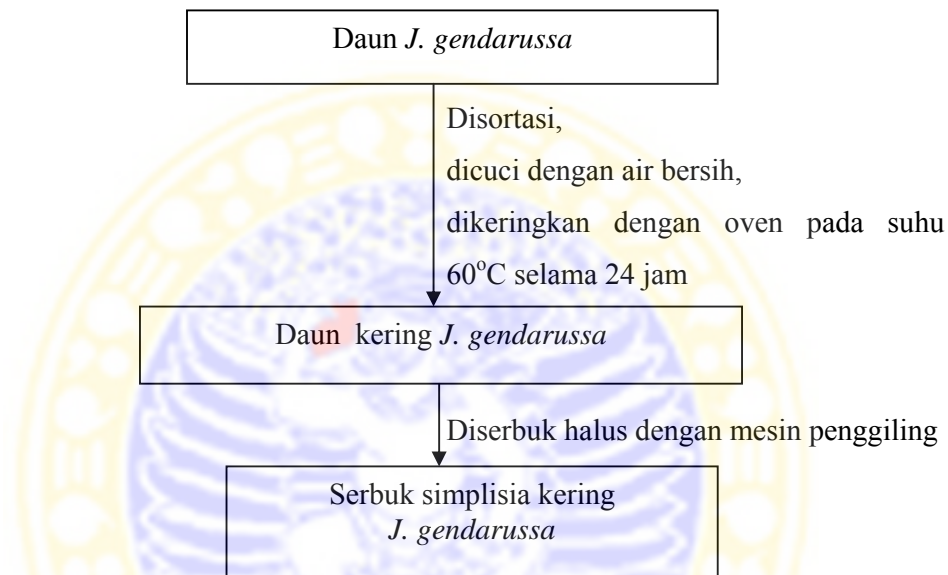
C. Buret 0,5 mL berskala 0,01 mL

Gambar 4.3 Rangkaian alat untuk penetapan kadar minyak atsiri

4.4.15 Gendarusin A

4.4.15.1 Pembuatan Serbuk Simplisia

Daun *J. gendarussa* yang diperoleh, disortir, dicuci dan dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C selama 24 jam. Daun kering tersebut diserbuk dengan mesin penggiling untuk memperoleh serbuk simplisia kering. Dalam serbuk kering ini ditentukan kadar gendarusin A.



Gambar 4.4 Diagram proses pembuatan serbuk kering daun *J. gendarussa* Burm. F

4.4.15.2 Penentuan Kondisi HPLC

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya telah didapatkan nilai kadar Gendarusin A menggunakan HPLC LC 10 AT series system yang dilengkapi dengan :

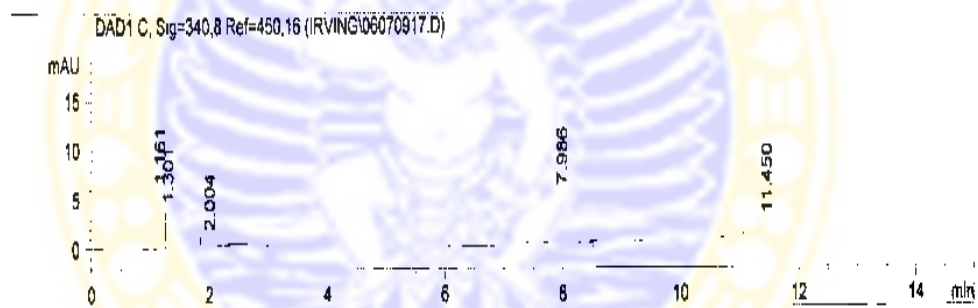
- Communication Bus Module CBM-10A SHIMADZU
- UV-Vis Detector SPD-10AV SHIMADZU
- Liquid Chromatograph LC-10AT SHIMADZU
- Column Oven CTO-10AC SHIMADZU
- HPLC Column Nova-Pak® C18 60Å 4 µm 3,9 x 150 mm
- Guard Column

- Software LC-10 Class Analysis

Masalah yang paling mendasar dalam analisis gendarusin A dalam sampel simplisia adalah komponen simplisia yang sangat kompleks. Oleh karena itu diperlukan metode pemisahan dengan spesifitas dan sensitifitas yang tinggi. Untuk tujuan tersebut, dapat dilakukan melalui pemilihan fase gerak dan pengaturan perbandingan fase gerak (Michaelis, 1973), sehingga diperoleh fase mobil yang dapat memisahkan komponen-komponen dalam simplisia secara optimal.

Dilakukan pemilihan dan pengaturan perbandingan fase mobil dengan berbagai komposisi yang memberikan hasil pemisahan terbaik. Digunakan fase gerak metanol 30% karena memberikan selektifitas yang baik (Asmara, 2004)

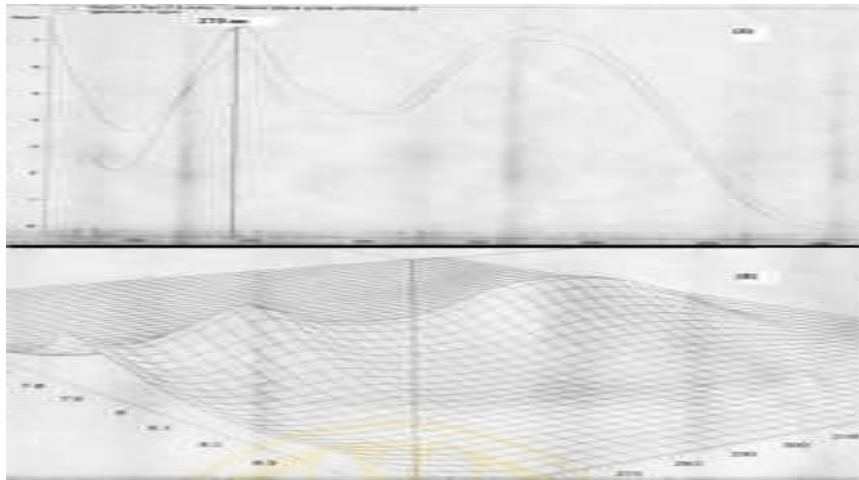
Dari analisis tersebut didapatkan data yang tertera pada gambar-gambar dan tabel di bawah ini.



Gambar 4.5 Kromatogram Standar Gendarusin A ($t_R = 7,966$)

Pemilihan Panjang Gelombang Maksimum :

Gendarusin A mempunyai dua puncak pada panjang gelombang 270 nm dan 340 nm. Panjang gelombang maksimum terpilih adalah 270 nm dengan absoransi gendarusin A yang maksimal (Sihabuddin, 2009).



Gambar 4.6 Spektra 2D (A) dan 3D (B) gendarusin A yang menunjukkan panjang gelombang maksimum

4.4.15.3 Validasi Metode

a. Selektifitas

Uji selektifitas bertujuan untuk mengetahui pemisahan gendarusin A atau apigenin dengan komponen-komponen lain dalam ekstrak yang dapat diketahui dengan menentukan resolusi (R_s). R_s merupakan parameter yang menggambarkan pemisahan kromatogram campuran dua analit yang mempunyai waktu retensi yang berbeda.

Rumus untuk menghitung harga faktor selektifitas (α) dan derajat keterpisahan (R_s) adalah sebagai berikut :

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} = \frac{t_{R2} - t_0}{t_{R1} - t_0} \qquad R = 2 \frac{t_{R2} - t_{R1}}{w_2 + w_1}$$

Dimana: t_{R0} = Waktuambat analit yang awal muncul

t_{R2} = Waktuambat analit 2

t_{R1} = Waktuambat analit 1

w_2 dan w_1 = Lebar dasar puncak dan diukur antara titik potong garis singgung pada kedua sisi puncak dengan poros horizontal

b. Linieritas

1) Pembuatan larutan baku induk Gendarusin A

Larutan baku induk I gendarusin A 20 µg/ml dibuat dengan cara menimbang standar gendarusin A 100 µg di timbangan *microbalance*, kemudian dilarutkan dengan metanol sampai didapat volume 5,0 ml dalam labu ukur.

2) Pembuatan larutan baku kerja gendarusin A

Larutan baku kerja dibuat dengan mengencerkan larutan baku induk dengan metanol pada konsentrasi 15,0 µg/ml lalu dari larutan tersebut dibuat larutan baku kerja dengan konsentrasi 10,0 µg/ml, demikian seterusnya, hingga diperoleh larutan baku kerja 20,0 ; 15,0 ; 10,0 ; 5,0 ; 2,5 µg/ml.

3) Pembuatan kurva baku dari larutan baku kerja gendarusin A

Masing-masing larutan baku kerja di atas diinjeksikan sebanyak 20 µl ke dalam kolom HPLC kemudian diamati luas area puncak masing-masing sampel. Dari data luas area vs konsentrasi, dibuat persamaan regresi linier.

c. Penentuan Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi (LOD dan LOQ)

Penentuan batas deteksi atau *limit of detection* (LOD) bertujuan untuk mengetahui konsentrasi analit terendah yang dapat dideteksi, sedangkan penentuan batas kuantitasi atau *limit of quantitation* (LOQ) bertujuan untuk mengetahui konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi eksperimen yang ditentukan. Untuk prosedur yang menggunakan instrumen, suatu pendekatan yang umum dilakukan adalah mengukur besarnya respon latar belakang dengan mengukur sejumlah sampel blanko dan menghitung standar deviasinya (Satiadarma dkk, 2004).

Nilai LOD dan LOQ ditentukan dari persamaan regresi antara konsentrasi gendarusin A dalam urin dengan tanggap detektor.

Perhitungan rumus LOD dan LOQ sebagai berikut:

$$LOD = 3X \frac{SD}{slope}$$

$$LOQ = 10X \frac{SD}{slope}$$

Dimana :

Slope = slope persamaan regresi antara konsentrasi gendarusin A dalam urin dengan tanggap detektor

SD = residual standar deviasi dari kurva kalibrasi

d. Akurasi

Dibuat 3 kadar larutan gendarusin A dengan konsentrasi 2,5 ug/ml; 5 ug/ml; 10 ug/ml, replikasi 3x. Ditambahkan ke dalam ekstrak etanol 70%. Larutan disuntikkan sebanyak 20 ul, kemudian dilakukan elusi sampel. Dari kromatogram yang diperoleh dapat dihitung kadar perolehan kembali (prosen rekoveri) gendarusin A yang ditambahkan dalam sampel ekstrak etanol 70 dengan rumus berikut :

$$\% \text{ rekoveri} = \frac{\text{kadar yang diperoleh}}{\text{kadar sebenarnya}} \times 100 \%$$

Prosen rekoveri yang diperoleh kemudian dirata-rata. Nilai prosen rekoveri yang memenuhi syarat adalah 80-120 %.

e. Presisi

Dibuat larutan gendarusin A dengan konsentrasi 10 ug/ml sebanyak 6 kali, disuntikkan sebanyak 20 ul dan dihitung RSD.

$$KV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

Dimana: SD = Standar deviasi

\bar{x} = area sampel rata-rata

4.4.15.4 Penetapan Kadar Gendarusin A

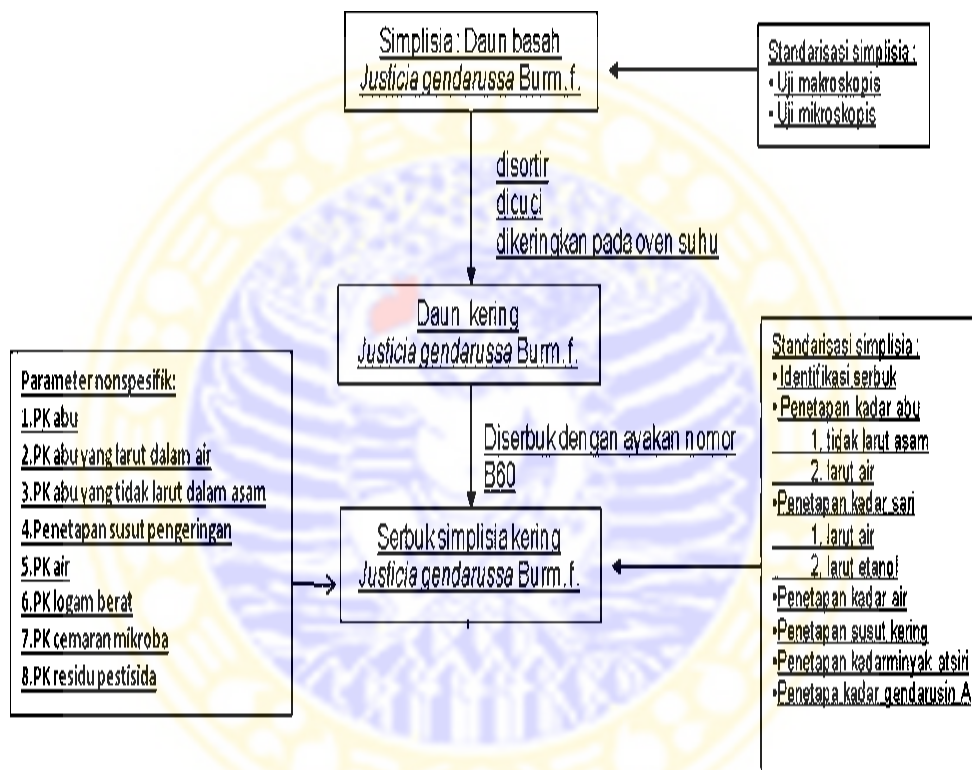
Ditimbang larutan serbuk simplisia dalam metanol dengan konsentrasi 3000 ppm. Saring dengan kertas filter. Kemudian disuntikkan ke dalam HPLC

sebanyak 20 μ l, Sehingga didapatkan data luas area. Dari luas area tersebut dapat dihitung kadar gendarusin A dalam ekstrak dengan menggunakan persamaan regresi $y = bx + a$ pada uji linieritas, dimana:

$$y = \text{luas area (mAU*s)}$$

$$x = \text{kadar } (\mu\text{g/ml})$$

4.4.16 Skema Penelitian



BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Pengamatan Parameter Spesifik serbuk daun *J. gendarussa* Burm f

5.1.1 Hasil Pengamatan Uji Makroskopik

Penelitian makroskopik dilakukan dengan pengamatan secara morfologi untuk mengetahui ciri-ciri tanaman *J. gendarussa*. Pengamatan morfologi ini hanya dilakukan pada daun. Daun *J. gendarussa* merupakan daun tunggal oposita. Warna daun hijau tua pada permukaan atas dan hijau lebih muda pada permukaan bawah. Daun ini memiliki tangkai daun dengan panjang 0,5-2 m. Helaian daunnya berbentuk lanset panjang dengan ukuran panjang 5-20 cm dan lebar 1-3,5cm. Pangkal dan ujung daun meruncing, tepi daun beringgit tapi tidak dalam, permukaan daun halus dan warna tulang daun ungu.

Hasil pengamatan daun tanaman, *J. gendarussa* secara rinci dapat dilihat pada gambar 5.1 serta tabel 5.1.



Gambar 5.1 Pengamatan morfologi daun

Tabel 5.1 Hasil pengamatan morfologi daun

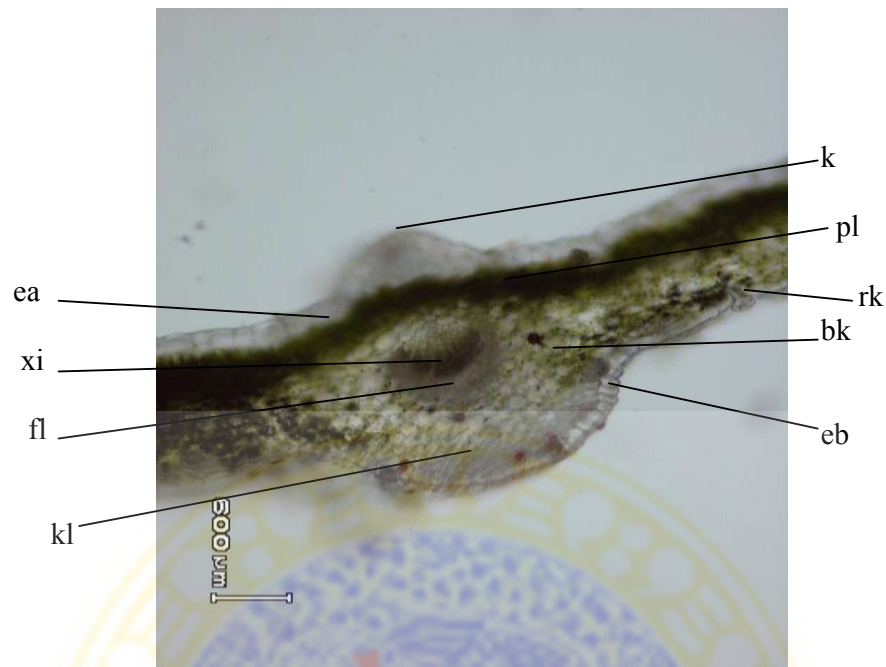
No	Uraian	Hasil Pengamatan
1.	Helaian daun: <ul style="list-style-type: none"> • Jenis daun • filotaksis • Bentuk • Ujung daun • Pangkal daun • Permukaan daun • Tepi daun • Pertulangan • Warna tulang daun 	<ul style="list-style-type: none"> • Tunggal • Folia oposita • Lanset panjang • Acutus(runcing) • Acutus(runcing) • Halus tak beambut • Beringgit tapi tidak dalam • Menyirip • Ungu
2.	Ukuran: <ul style="list-style-type: none"> • Panjang • Lebar 	<ul style="list-style-type: none"> • 5-20 cm • 1-3,5 cm
3.	Warna Daun	Atas: Hijau tua Bawah: Hijau lebih pucat

5.1.2 Hasil Pengamatan uji Mikroskopik

Pengamatan secara mikroskopik dilakukan untuk mengetahui susunan jaringan yang spesifik dari daun tanaman *J. gendarussa*, meliputi:

5.1.2.1 Irisan Melintang Melalui Ibu Tulang Daun

Hasil pengamatan irisan melintang melalui ibu tulang daun adalah sebagai berikut: Epidermis atas terdiri dari selapis sel berbentuk segi empat dan tersusun secara rapat. Kolenkim terdiri dari beberapa lapis sel pada bagian atas dan bawah tulang daun. Hasil irisan dapat dilihat pada gambar 5.2 dan tabel 5.2.



Gambar 5.2 Irisan melintang melalui ibu tulang daun

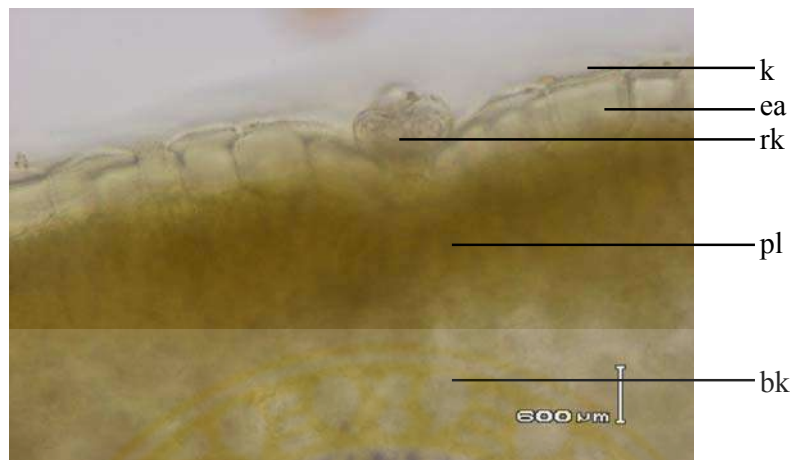
Keterangan :

k : kutikula; ea : epidermis atas; pl : palisade; f : floem; xi : xilem; rk : rambut kelenjar; bk : bunga karang; kl : kolenkim; eb : epidermis bawah

Tabel 5.2 Irisan melintang melalui ibu tulang daun

No	Susunan anatomi daun	Jaringan
1.	Epidermis atas: <ul style="list-style-type: none"> • Bentuk • Dinding sel • Ruang antar sel 	<ul style="list-style-type: none"> • Segi empat 1 lapis sel • Tebal • Tidak ada
2.	Epidermis bawah: <ul style="list-style-type: none"> • Bentuk • Dinding sel • Ruang antar sel 	<ul style="list-style-type: none"> • Segi empat 1 lapis sel • Tebal • Tidak ada
3.	Mesofil: <ul style="list-style-type: none"> • Kolenkim • Parenkim • Tipe berkas pembuluh 	<ul style="list-style-type: none"> • Bentuk: Poligonal/bulat • Poligonal • Kolateral terbuka

5.1.2.1 Irisan Melintang Tidak Melalui Ibu Tulang Daun



Gambar 5.3 Irisan melintang tidak melalui ibu tulang daun

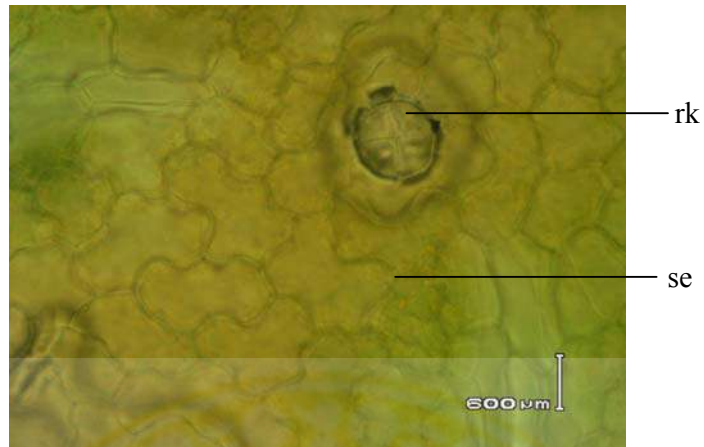
Keterangan :

k : kutikula; ea : epidermis atas; rk : rambut kelenjar; pl : palisade; bk : bunga karang

Tabel 5.3 Irisan melintang tidak melalui ibu tulang daun

No	Susunan anatomi daun	Jaringan
1.	Epidermis atas: <ul style="list-style-type: none"> • Bentuk • Dinding sel • Ruang antar sel 	<ul style="list-style-type: none"> • Segi empat 1 lapis sel • Tebal • Tidak ada
2.	Epidermis bawah: <ul style="list-style-type: none"> • Bentuk • Dinding sel • Ruang antar sel 	<ul style="list-style-type: none"> • Segi empat 1 lapis sel • Tebal • Tidak ada
3.	Mesofil: <ul style="list-style-type: none"> • Jar. tiang • Jar. Bunga karang 	<ul style="list-style-type: none"> • Bentuk: silindris, letak: dibawah epidermis atas • Ruang antar sel: ada sempit • Bentuk: tak beraturan • Ruang antar sel: ada besar

5.1.2.2 Sayatan Membujur Epidermis Atas dan Bawah Daun



Gambar 5.4 Sayatan membujur epidermis atas



Gambar 5.5 Sayatan membujur epidermis bawah

Keterangan :

se : sel epidermis; rk : rambut kelenjar; st : stomata

Tabel 5.4 Sayatan membujur epidermis atas dan bawah daun

No	Susunan anatomi daun	Jaringan
1.	Epidermis atas: <ul style="list-style-type: none"> • Bentuk • Stomata • Rambut kelenjar • Sistolit 	<ul style="list-style-type: none"> • Tidak beraturan • Tidak ada • Ada, tipe labiateae • Ada
2.	Epidermis bawah: <ul style="list-style-type: none"> • Bentuk • Stomata • Rambut kelenjar • Sistolit 	<ul style="list-style-type: none"> • Tidak beraturan • Ada, tipe bidiasitik • Ada, tipe labiateae • Ada

5.1.3 Hasil Pengamatan Identifikasi Serbuk

5.1.3.1 Pengamatan Organoleptik Serbuk Daun

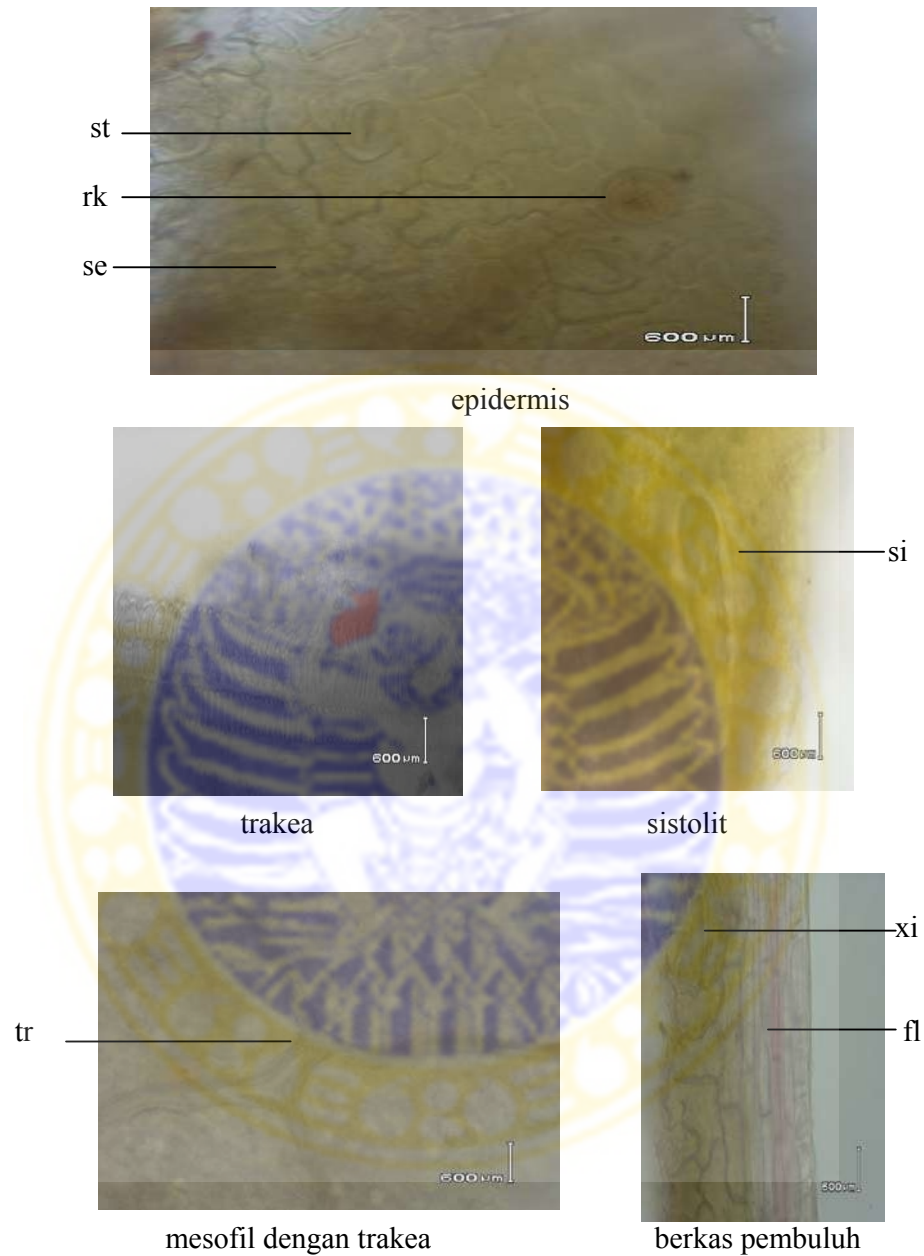
Pengamatan yang dilakukan pada serbuk daun dimaksudkan untuk mengetahui ciri tanaman dari warna, bau dan rasa. Berikut hasil pengamatan pemeriksaan organoleptik serbuk daun:

Warna serbuk : Hijau kecoklatan

Rasa : Tidak berasa

Bau : Tidak berbau

5.1.3.2 Pengamatan Fragmen Serbuk Daun



Gambar 5.6 Fragmen serbuk daun *J. gendarussa* Burm. f.

Keterangan :

fl: floem; se: sel epidermis; rk: rambut kelenjar; si: sistolit; st: stomata; tr: trakea;
xi: xilem

Tabel 5.5 Fragmen serbuk daun *J. gendarussa* Burm. f.

Fragmen	Bentuk Sel
Bentuk sel epidermis atas	Tidak beraturan
Bentuk sel parenkim	Poligonal, sel besar dan kecil, ruang antar sel besar
Penebalan xilem	Penebalan bentuk spiral
Sisik kelenjar	Tipe labiateae
Tipe stomata	Bidiasitik
Rambut penutup	Tidak terdapat rambut penutup

5.1.4 Hasil Penetapan Kadar Sari yang Larut dalam Air

Berikut ini adalah hasil penetapan kadar sari yang larut dalam air dari serbuk simplisia *J. gendarussa*:

Tabel 5.6 Hasil penetapan kadar sari larut dalam air sampel Mojokerto lahan 1

Replikasi	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	% Kadar (b/b)
rep 1	5.0005	0.2036	40.72
rep 2	5.0011	0.2053	41.05
rep 3	5.0027	0.2050	40.98
Rata-rata			40.92
Standar deviasi (SD)			0.1739
Koefisien variasi (KV)			0.0042
Persyaratan kadar*			tidak kurang dari 24%
Ket. (*): pustaka Materia Medika Indonesia jilid IV			

Kadar sari yang larut dalam air rata-rata = $40,92 \pm 0,17$ %

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Mojokerto lahan 1 memenuhi persyaratan kadar sari yang larut dalam air yang ditetapkan Materia Medika Indonesia.

Tabel 5.7 Hasil penetapan kadar sari larut dalam air sampel Mojokerto lahan 2

Replikasi	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	% Kadar (b/b)
rep 1	5.0071	0.2423	48.39
rep 2	5.0058	0.2402	47.98
rep 3	5.0077	0.2427	48.47
Rata-rata			48,28
Standar deviasi (SD)			0,2629
Koefisien variasi (KV)			0,0054
Persyaratan kadar*			tidak kurang dari 24%
Ket. (*): pustaka Materia Medika Indonesia jilid IV			

Kadar sari yang larut dalam air rata-rata = $48,28 \pm 0,26$ %

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Mojokerto lahan 2 memenuhi persyaratan kadar sari yang larut dalam air yang ditetapkan Materia Medika Indonesia.

Tabel 5.8 Hasil penetapan kadar sari yang larut dalam air sampel Ponorogo

Replikasi	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	% Kadar (b/b)
rep 1	5.0003	0.2101	42,02
rep 2	5.0015	0.2101	42,01
rep 3	5.0027	0.2216	44,25
Rata-rata			42,76
Standar deviasi (SD)			1,2904
Koefisien variasi (KV)			0,0302
Persyaratan kadar*			tidak kurang dari 24%
Ket. (*): pustaka Materia Medika Indonesia jilid IV			

Kadar sari yang larut dalam air rata-rata = $42,76 \pm 1,29$ %

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Ponorogo memenuhi persyaratan kadar sari yang larut dalam air yang ditetapkan Materia Medika Indonesia.

5.1.5 Hasil Penetapan Kadar Sari yang Larut dalam Etanol

Berikut ini adalah hasil penetapan kadar sari yang larut dalam etanol dari serbuk simplisia *J. gendarussa*:

Tabel 5.9 Hasil penetapan kadar sari larut dalam etanol sampel Mojokerto lahan 1

Replikasi	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	% Kadar(b/b)
rep 1	5,0093	0,0485	4,84
rep 2	5,0087	0,0496	4,95
rep 3	5,0062	0,0498	4,97
Rata-rata			4,92
Standar deviasi (SD)			0,0700
Koefisien variasi (KV)			1,42
Persyaratan kadar*			tidak kurang dari 6%
Ket. (*): pustaka Materia Medika Indonesia jilid IV			

Kadar sari yang larut dalam etanol rata-rata = $4,92 \pm 0,07$ %

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Mojokerto lahan 1 tidak memenuhi persyaratan kadar sari yang larut dalam etanol yang ditetapkan Materia Medika Indonesia.

Tabel 5.10 Hasil penetapan kadar sari yang larut dalam etanol sampel Mojokerto lahan 2

Replikasi	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	% Kadar (b/b)
rep 1	5,0068	0,0727	7,26
rep 2	5,0089	0,0704	7,03
rep 3	5,0072	0,0791	7,90
Rata-rata			7,40
Standar deviasi (SD)			0,4508
Koefisien variasi (KV)			6,09
Persyaratan kadar*			tidak kurang dari 6%
Ket. (*): pustaka Materia Medika Indonesia jilid IV			

Kadar sari yang larut dalam etanol rata-rata = $7,40 \pm 0,45$ %

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Mojokerto lahan 2 memenuhi persyaratan kadar sari yang larut dalam etanol yang ditetapkan Materia Medika Indonesia.

Tabel 5.11 Hasil penetapan kadar sari yang larut dalam etanol sampel Ponorogo

Replikasi	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	% Kadar (b/b)
rep 1	5,0069	0,0544	5,43
rep 2	5,0085	0,0607	6,06
rep 3	5,0064	0,0535	5,34
Rata-rata			5,61
Standar deviasi (SD)			0,3923
Koefisien variasi (KV)			6,99
Persyaratan kadar*			tidak kurang dari 6%
Ket. (*): pustaka Materia Medika Indonesia jilid IV			

Kadar sari yang larut dalam etanol rata-rata = $5,61 \pm 0,39$ %

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Ponorogo tidak memenuhi persyaratan kadar sari yang larut dalam etanol yang ditetapkan Materia Medika Indonesia.

5.1.6 Hasil Penetapan Kadar Minyak Atsiri

Berikut ini adalah hasil penetapan kadar minyak atsiri dari serbuk simplisia *J. gendarussa*:

Tabel 5.12 Hasil penetapan kadar minyak atsiri sampel Mojokerto lahan 1

Replikasi	Berat simplisia (g)	Vol minyak atsiri (ml)	% Kadar (b/v)
rep 1	50,0035	0,0200	0,04
rep 2	50,0048	0,0200	0,04
rep 3	50,0066	0,0200	0,04
Rata-rata			0,04
Standar deviasi (SD)			0
Koefisien variasi (KV)			0

Kadar minyak atsiri rata-rata = 0,04 %

Tabel 5.13 Hasil penetapan kadar minyak atsiri sampel Mojokerto lahan 2

Replikasi	Berat simplisia (g)	Vol minyak atsiri (ml)	% Kadar (b/v)
rep 1	50,0081	0,0200	0,04
rep 2	50,0076	0,0200	0,04
rep 3	50,0064	0,0200	0,04
Rata-rata			0,04
Standar deviasi (SD)			0
Koefisien variasi (KV)			0

Kadar minyak atsiri rata-rata = 0,04 %

Tabel 5.14 Hasil penetapan kadar minyak atsiri sampel Ponorogo

Replikasi	Berat simplisia (g)	Vol minyak atsiri (ml)	% Kadar (b/v)
rep 1	50,0075	0,0200	0,04
rep 2	50,0045	0.0200	0,04
rep 3	50,0035	0,0200	0,04
Rata-rata			0,04
Standar deviasi (SD)			0
Koefisien variasi (KV)			0

Kadar minyak atsiri rata-rata = 0,04 %

5.1.7 Hasil Penetapan Kadar Gendarusin A Dalam Simplisia

1. Pemilihan Kondisi HPLC

Penetapan kadar Gendarusin A dalam simplisia *J. gendarussa* dilakukan dengan metode HPLC dengan kondisi seperti pada Tabel 5.15.

Tabel 5.15 Kondisi Terpilih HPLC LC 10 AT

Parameter	Kondisi
Flow rate fase gerak	1 ml/menit
Fase gerak	Metanol:Air (30:70)
Suhu oven	30°C
Panjang gelombang	270 nm

2. Penentuan Selektivitas

Harga faktor selektivitas (α) dan derajat keterpisahan (R_s) simplisia *J. gendarussa* sampel Mojokerto lahan 1, Mojokerto lahan 2, dan Ponorogo dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 5.16. Faktor Selektivitas (α) dan Derajat Keterpisahan (Rs) sampel
Mojokerto lahan 1

Sampel replikasi	Waktu tambat (menit)		α	Rs
	Gendarusin A	Senyawa lain		
1.	9,940	8,710	1,1530	0,6765
2.	10,134	8,713	1,1767	0,7579
3.	10,252	8,796	1,1792	0,7765
Rata-rata			1,1696	0,7370

Tabel 5.17. Faktor Selektivitas (α) dan Derajat Keterpisahan (Rs) sampel
Mojokerto lahan 2

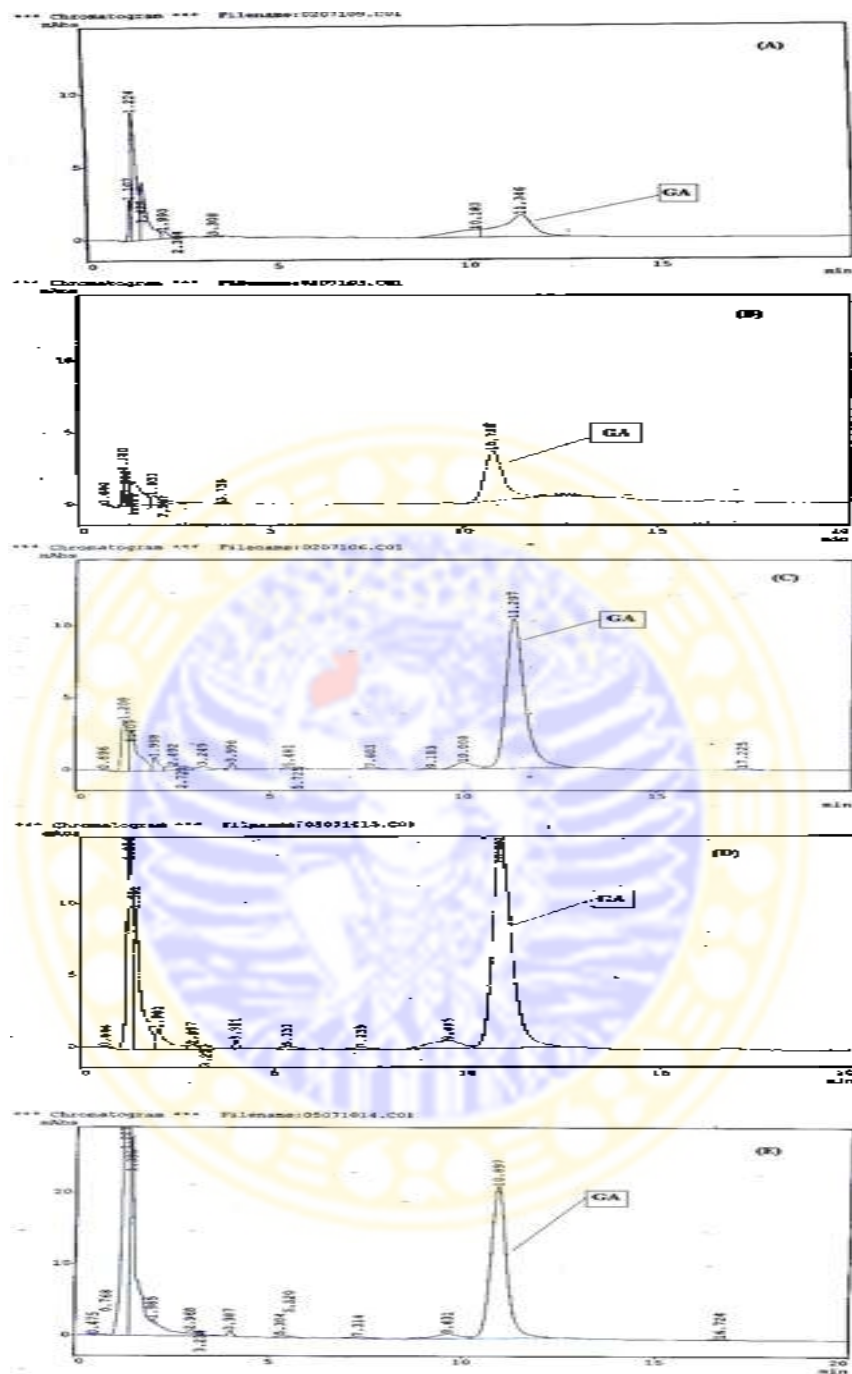
Sampel replikasi	Waktu tambat (menit)		α	Rs
	Gendarusin A	Senyawa lain		
1.	10,385	8,925	1,1774	0,6424
2.	10,373	8,908	1,1792	0,6446
3.	10,394	8,921	1,1753	0,6647
Rata-rata			1,1773	0,6506

Tabel 5.18. Faktor Selektivitas (α) dan Derajat Keterpisahan (Rs) sampel
Ponorogo

Sampel replikasi	Waktu tambat (menit)		α	Rs
	Gendarusin A	Senyawa lain		
1.	10,352	8,892	1,1767	0,6762
2.	10,400	8,920	1,1777	0,6353
3.	10,347	8,902	1,1784	0,6521
Rata-rata			1,1776	0,6545

3. Penentuan Linieritas

Linieritas metode pada penelitian ini ditentukan dari regresi linier area puncak gendarusin A terhadap konsentrasi gendarusin A. Persamaan regresi yang didapat yakni $y = 31,7535x - 1,2151$ (r hitung = 0,9919). Kromatogram standar gendarusin A pada berbagai kadar dapat dilihat pada gambar 5.7. Konsentrasi gendarusin A dan area gendarusin A dapat dilihat pada tabel 5.19.

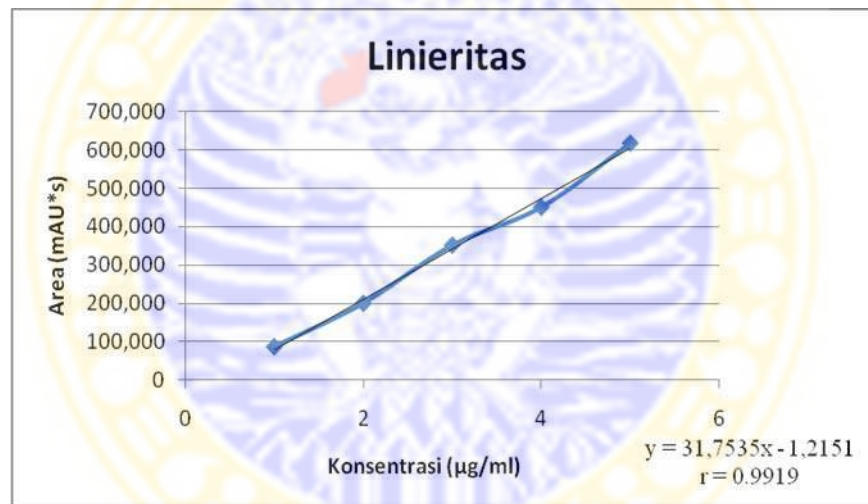


Gambar 5.7 Kromatogram HPLC gendarusin A pada berbagai kadar. (A) standar gendarusin A 2,52 ppm; (B) standar gendarusin A 5,04 ppm; (C) standar gendarusin A 10,08 ppm; (D) standar gendarusin A 15,12 ppm; (E) standar gendarusin A 20,16 ppm.

Tabel 5.19 Konsentrasi gendarusin A ($\mu\text{g/ml}$) Vs Area (mAU*s)

Kadar ($\mu\text{g/ml}$)	Luas Area (mAU*s)
2,52	87,261
5,04	120,834
10,08	351,419
15,12	498,148
20,16	616,660

Persamaan garis regresi $y = 31,7535x - 1,2151$
 r hitung = 0,9919
 r tabel = 0,8114 ($n-1 = 4$, $\alpha = 0,05$)

**Gambar 5.8** Kurva Area gendarusin A (mAU*s) terhadap konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)

4. Penentuan Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi (LOD dan LOQ)

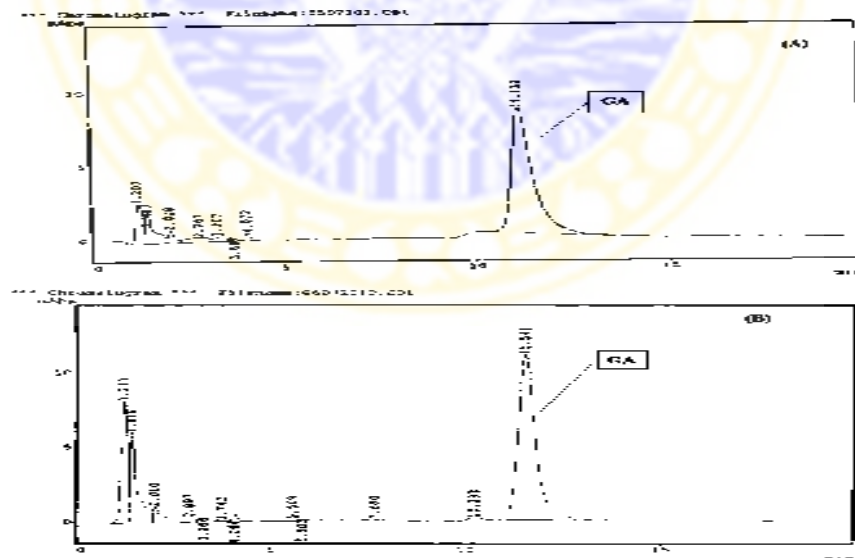
Dari slope persamaan regresi gendarusin A dan juga nilai residula standar deviasi (RSD) area gendarusin A, dapat ditentukan batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ). Hasil yang diperoleh berdasarkan perhitungan yakni LOD sebesar $0,0575 \mu\text{g/ml}$ sedangkan LOQ sebesar $0,1915 \mu\text{g/ml}$. Adapun perhitungan dari LOD dan LOQ dapat dilihat pada tabel 5.20

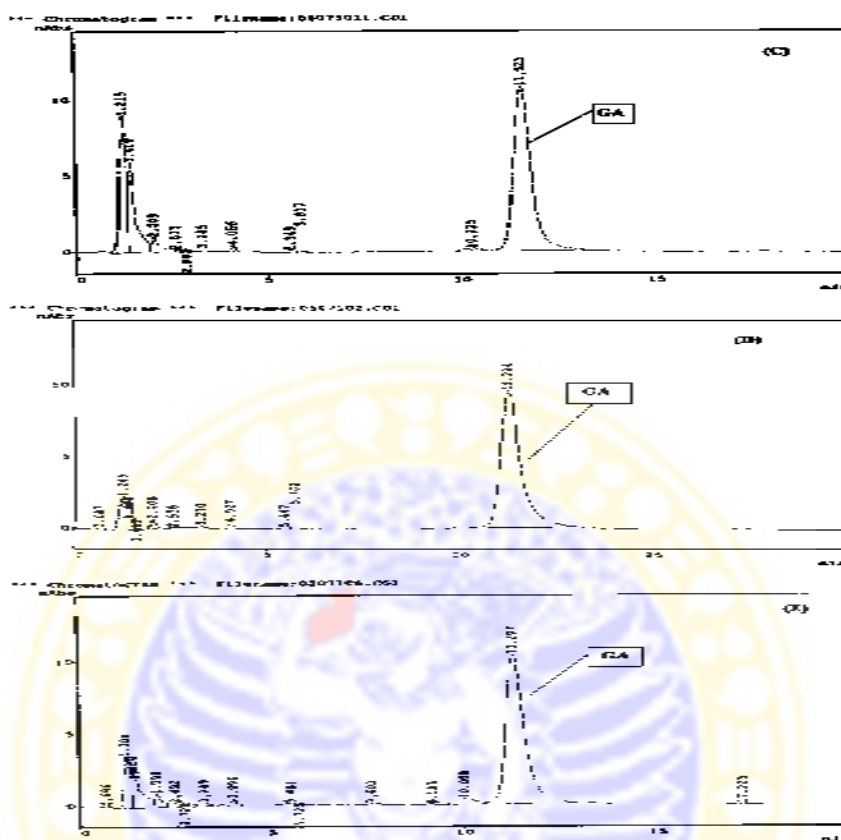
Tabel 5.20 Penentuan LOD dan LOQ gendarusin A

Kadar ($\mu\text{g/ml}$)	Luas Area (mAU*s)
2,52	87,261
5,04	120,834
10,08	351,419
15,12	498,148
20,16	616,660
$y = 31,7535x - 1,2151$ SD = 207,4926 Rata-rata = 341,1856 RSD = 0,6082 $\text{LOD} = 3 \times (0,6082/31,7535) = 0,0575 \mu\text{g/ml}$ $\text{LOQ} = 10 \times (0,6082/31,7535) = 0,1915 \mu\text{g/ml}$	

5. Presisi (Ketelitian)

Kromatogram HPLC standar gendarusin A 7 ppm dapat dilihat pada gambar 5.9. Harga ketelitian gendarusin A dapat dilihat pada tabel 5.21.





Gambar 5.9 Kromatogram HPLC standar gendarusin A 10 ppm. (a) penyuntikan standar gendarusin A ke-1; (b) penyuntikan gendarusin A ke-2; (c) penyuntikan gendarusin A ke-3; (d) penyuntikan standar gendarusin a ke-4; (e) penyuntikan standar gendarusin A ke-5; (f) penyuntikan standar gendarusin A ke-6

Tabel 5.21 Harga ketelitian gendarusin A

Penyuntikan ke-	Luas Area
1	324,120
2	349,622
3	337,824
4	343,305
5	351,419
6	364,369

Rata-rata	345,1098
Standar deviasi (SD)	13,6235
Koefisien variasi (KV)	3,95 %

6. Penetapan Ketepatan (Akurasi)

Harga persen perolehan kembali gendarusin A dalam sampel simplisia *J. gendarussa* dapat dilihat pada tabel 5.22

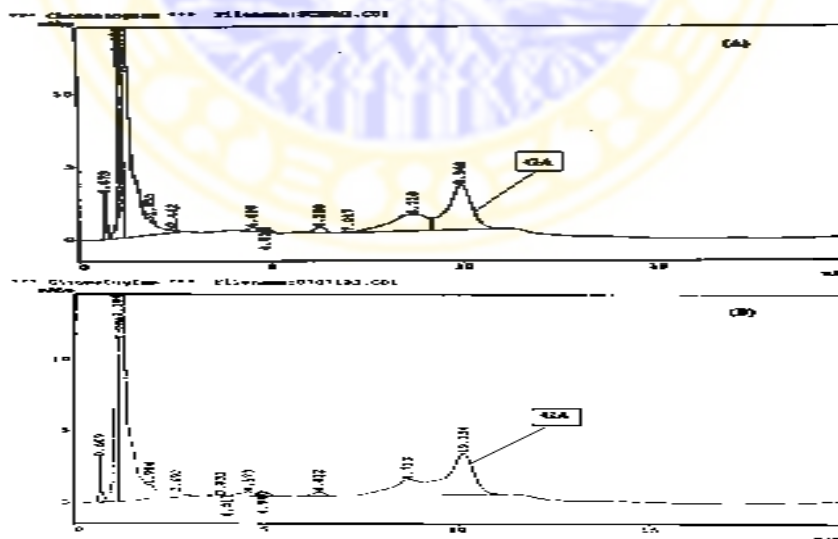
Tabel 5.22 Persen perolehan kembali (% Rekoveri) Gendarusin A dalam simplisia daun *J. gendarussa* Burm f.

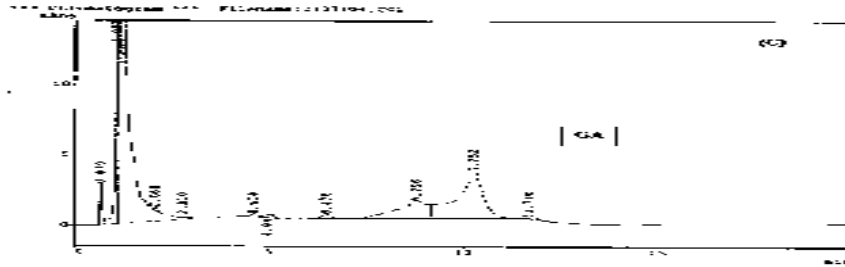
	Luas Area	Konsentrasi	% Rekoveri	Rata-rata % Rekoveri	% KV
Sampel Mojokerto lahan 1					
Sampel 1	135,740	4,3131			
Sampel 2	147,161	4,6727	-	-	-
Sampel 3	153,158	4,8616			
Standar 2,5 ppm	87,261	2,5200			
Sampel + standar 1	121,037	3,8500	114,58	112,42	2,30
Sampel + standar 2	126,153	4,0112	109,56		
Sampel + standar 3	130,269	4,1408	113,11		
Standar 5 ppm	120,834	5,0400			
Sampel + standar 1	152,917	4,8540	105,09	104,13	1,19
Sampel + standar 2	159,281	5,0544	102,74		
Sampel + standar 3	162,105	5,1434	104,57		
Standar 10 ppm	351,419	10,0800			
Sampel + standar 1	220,108	6,9700	97,62	98,09	0,86
Sampel + standar 2	229,258	7,2582	97,58		
Sampel + standar 3	232,769	7,3688	99,06		
Sampel Mojokerto lahan 2					
Sampel 1	197,517	6,2586			
Sampel 2	199,208	6,3118	-	-	-
Sampel 3	201,759	6,3922			
Standar 2,5 ppm	87,261	2,5200			
Sampel + standar 1	142,604	4,5292	85,31	88,61	3,45
Sampel + standar 2	149,157	4,7356	89,17		
Sampel + standar 3	152,709	4,8475	91,34		
Standar 5 ppm	120,834				
Sampel + standar 1	203,616	6,4507	113,76	113,91	2,75
Sampel + standar 2	198,382	6,2858	110,85		
Sampel + standar 3	209,596	6,6390	117,11		
Standar 10 ppm	351,419				
Sampel + standar 1	241,205	7,6344	93,22	100,79	6,65
Sampel + standar 2	267,084	8,4494	103,17		
Sampel + standar 3	274,355	8,6784	105,98		

	Luas Area	Konsentrasi	% Reko- veri	Rata-rata % Reko- veri	% KV
Sampel Ponorogo					
Sampel 1	252,242	7,9820			
Sampel 2	254,579	8,0556	-	-	-
Sampel 3	249,952	7,9144			
Standar 2,5 ppm	87,261				
Sampel + standar 1	165,791	5,2595	104,14	101,25	2,51
Sampel + standar 2	168,750	5,3526	100,28		
Sampel + standar 3	166,254	5,2740	99,34		
Standar 5 ppm	120,834				
Sampel + standar 1	200,996	6,3682	96,96	95,92	0,94
Sampel + standar 2	197,741	6,2656	95,36		
Sampel + standar 3	197,881	6,2701	95,43		
Standar 10 ppm	351,419				
Sampel + standar 1	271,114	8,5763	94,33	100,75	5,94
Sampel + standar 2	305,206	9,6500	106,16		
Sampel + standar 3	292,431	9,2477	101,76		

7. Penetapan Kadar Gendarusin A

Kromatogram HPLC simplisia *J.gendarussa* dan tabel persentase kadar Gendarusin A dalam simplisia *J.gendarussa* sampel Mojokerto lahan 1, Mojokerto lahan 2, dan Ponorogo adalah sebagai berikut.



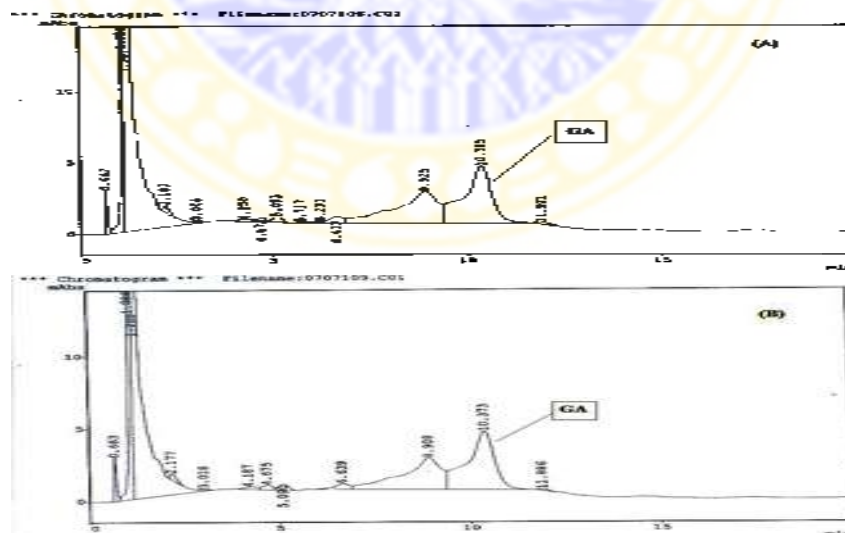


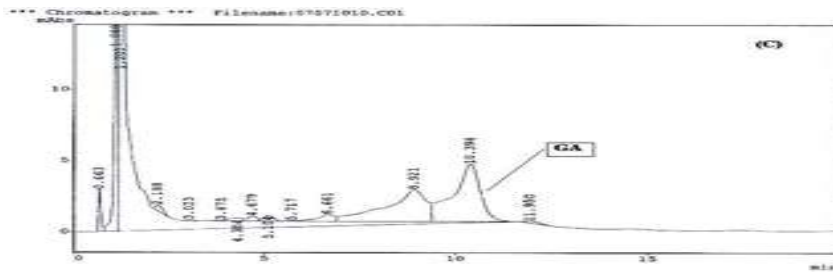
Gambar 5.10 Kromatogram HPLC simplisia *J.gendarussa*. sampel Mojokerto lahan 1.1 (A), sampel Mojokerto lahan 1.2 (B), sampel Mojokerto lahan 1.3 (C)

Tabel 5.23 Kadar gendarusin A dalam simplisia sampel Mojokerto lahan 1

Sampel	Luas Area	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Kadar (% b/b)
1	135,740	4,3131	0,14
2	147,161	4,6727	0,16
3	153,158	4,8616	0,16
Kadar rata-rata			0,15
Standar deviasi (SD)			0,01
Koefisien variasi (KV)			6,67

Kadar gendarusin A rata-rata Mojokerto lahan 1 = $0,15 \pm 0,01$ %



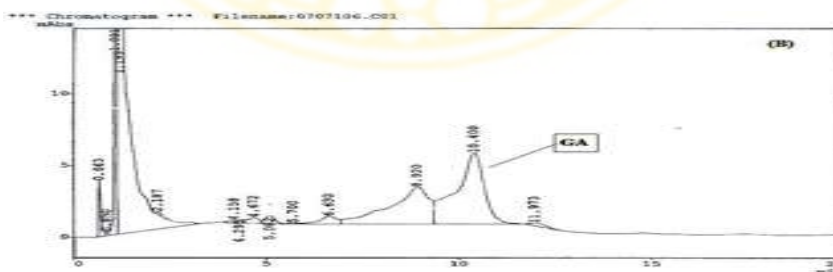
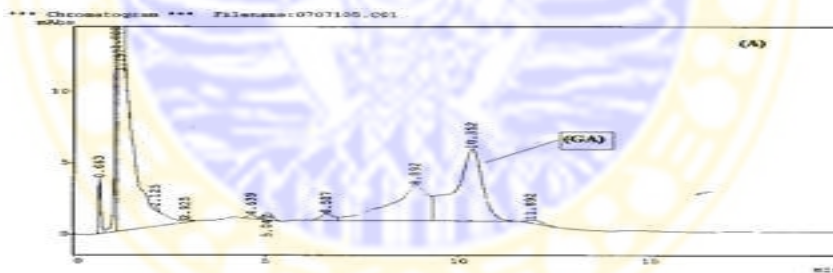


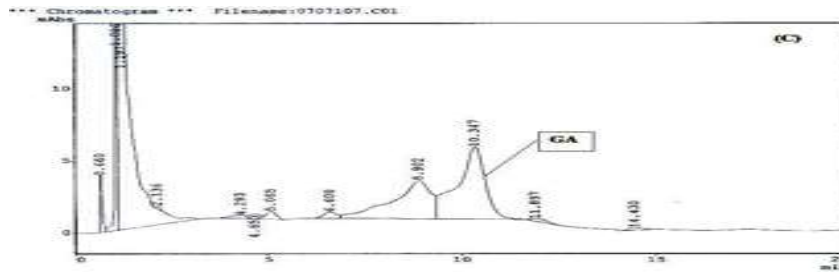
Gambar 5.11 Kromatogram HPLC simplisia *J.gendarussa* sampel Mojokerto lahan 2.1 (A), sampel Mojokerto lahan 2.2 (B), sampel Mojokerto lahan 2.3 (C)

Tabel 5.24 Kadar gendarusin A dalam simplisia sampel Mojokerto lahan 2

Sampel	Luas Area	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Kadar (% b/b)
1	197,517	6,2586	0,21
2	199,208	6,3118	0,21
3	201,759	6,3922	0,21
Kadar rata-rata			0,21

Kadar gendarusin A rata-rata Mojokerto lahan 2 = 0,21 %





Gambar 5.12 Kromatogram HPLC simplisia *J.gendarussa*. sampel ponorogo 1 (A), sampel Ponorogo 2 (B), sampel Ponorogo 3 (C)

Tabel 5.25 Kadar gendarusin A dalam simplisia sampel Ponorogo

Sampel	Luas Area	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Kadar (% b/b)
1	252,242	7,9820	0,27
2	254,579	8,0556	0,27
3	249,952	7,9144	0,26
Kadar rata-rata			0,27
Standar deviasi (SD)			0,01
Koefisien variasi (KV)			3,70

Kadar gendarusin A rata-rata Ponorogo = $0,27 \pm 0,01$ %

5.2 Hasil Parameter Non Spesifik serbuk daun *J. gendarussa* Burm f.

5.2.1 Hasil Penetapan Kadar Abu

Berikut ini adalah hasil penetapan kadar abu dari serbuk simplisia *J. gendarussa*:

Tabel 5.26 Hasil penetapan kadar abu sampel Mojokerto lahan 1

Replikasi	Berat simplisia (g)	Berat abu (g)	% Kadar abu (b/b)
rep 1	2,0011	0,2399	11,99
rep 2	2,0009	0,2427	12,13
rep 3	2,0668	0,2467	11,94
Rata-rata			12,02
Standar deviasi (SD)			0,0985
Koefisien variasi (KV)			0,82
Persyaratan kadar*			Tidak lebih dari 8%
Ket. (*): pustaka Materia Medika Indonesia jilid IV			

Kadar abu rata-rata = $12,02 \pm 0,10$ %

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Mojokerto lahan 1 tidak memenuhi persyaratan kadar abu yang ditetapkan Materia Medika Indonesia.

Tabel 5.27 Hasil penetapan kadar abu sampel Mojokerto lahan 2

Replikasi	Berat simplisia (g)	Berat abu (g)	% Kadar abu (b/b)
rep 1	2,0011	0,2703	13,51
rep 2	2,0903	0,3131	14,98
rep 3	2,0625	0,2779	13,47
Rata-rata			13,99
Standar deviasi (SD)			0,8605
Koefisien variasi (KV)			6,15
Persyaratan kadar*			Tidak lebih dari 8%
Ket. (*): pustaka Materia Medika Indonesia jilid IV			

Kadar abu rata-rata = $13,99 \pm 0,86$ %

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Mojokerto lahan 2 tidak memenuhi persyaratan kadar abu yang ditetapkan Materia Medika Indonesia.

Tabel 5.28 Hasil penetapan kadar abu sampel Ponorogo

Replikasi	Berat simplisia (g)	Berat abu (g)	% Kadar abu (b/b)
rep 1	2,0010	0,2587	12,93
rep 2	2,0004	0,2975	14,78
rep 3	2,0602	0,2654	12,88
Rata-rata			13,53
Standar deviasi (SD)			1.0828
Koefisien variasi (KV)			8.00
Persyaratan kadar*			Tidak lebih dari 8%
Ket. (*): pustaka Materia Medika Indonesia jilid IV			

Kadar abu rata-rata = $13,53 \pm 1,08$ %

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Ponorogo tidak memenuhi persyaratan kadar abu yang ditetapkan Materia Medika Indonesia.

5.2.2 Hasil Penetapan Kadar Abu yang larut Air

Berikut ini adalah hasil penetapan kadar abu yang larut air dari serbuk simplisia *J. gendarussa*:

Tabel 5.29 Hasil penetapan kadar abu yang larut air sampel Mojokerto lahan 1

Replikasi	Berat simplisia (g)	Berat abu larut air (g)	% Kadar abu larut air (b/b)
rep 1	2,0011	0,0168	0,84
rep 2	2,0009	0,0154	0,77
rep 3	2,0668	0.0191	0,92
Rata-rata			0,84
Standar deviasi (SD)			0,0751
Koefisien variasi (KV)			8.94
Persyaratan kadar*			Tidak lebih dari 1%
Ket. (*): pustaka Materia Medika Indonesia jilid IV			

Kadar abu yang larut air rata-rata = $0,84 \pm 0,08$ %

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Mojokerto lahan 1 memenuhi persyaratan kadar abu larut air yang ditetapkan Materia Medika Indonesia.

Tabel 5.30 Hasil penetapan kadar abu yang larut air sampel Mojokerto lahan 2

Replikasi	Berat simplisia (g)	Berat abu larut air (g)	% Kadar abu larut air (b/b)
rep 1	2,0011	0,0161	0,80
rep 2	2,0903	0,0199	0,95
rep 3	2,0625	0.0187	0,91
Rata-rata			0,89
Standar deviasi (SD)			0,0777
Koefisien variasi (KV)			8,73
Persyaratan kadar*			Tidak lebih dari 1%
Ket. (*): pustaka Materia Medika Indonesia jilid IV			

Kadar abu yang larut air rata-rata = $0,89 \pm 0,08$ %

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Mojokerto lahan 2 memenuhi persyaratan kadar abu larut air yang ditetapkan Materia Medika Indonesia.

Tabel 5.31 Hasil penetapan kadar abu yang larut air sampel Ponorogo

Replikasi	Berat simplisia (g)	Berat abu larut air (g)	% Kadar abu larut air (b/b)
rep 1	2,0010	0,0164	0,82
rep 2	2,0004	0,0153	0,76
rep 3	2,0602	0.0197	0,91
Rata-rata			0,83
Standar deviasi (SD)			0,0755
Koefisien variasi (KV)			9,10
Persyaratan kadar*			Tidak lebih dari 1%
Ket. (*): pustaka Materia Medika Indonesia jilid IV			

Kadar abu yang larut air rata-rata = $0,83 \pm 0,08$ %

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Ponorogo memenuhi persyaratan kadar abu larut air yang ditetapkan Materia Medika Indonesia.

5.2.3 Hasil Penetapan Kadar Abu yang Tidak Larut Asam

Berikut ini adalah hasil penetapan kadar abu yang tidak larut asam dari serbuk simplisia *J. gendarussa*:

Tabel 5.32 Hasil penetapan kadar abu tidak larut asam sampel Mojokerto lahan 1

Replikasi	Berat simplisia (g)	Berat abu tidak larut asam (g)	% Kadar abu tidak larut asam (b/b)
rep 1	2,0326	0,0276	1,36
rep 2	2,0343	0,0284	1,40
rep 3	2,0337	0.0297	1,46
Rata-rata			1,41
Standar deviasi (SD)			0,0503
Koefisien variasi (KV)			3,57
Persyaratan kadar*			Tidak kurang dari 1%
Ket. (*): pustaka Materia Medika Indonesia jilid IV			

Kadar abu yang tidak larut asam rata-rata = $1,41 \pm 0,05$ %

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Mojokerto lahan 1 memenuhi persyaratan kadar abu tidak larut asam yang ditetapkan Materia Medika Indonesia.

Tabel 5.33 Hasil penetapan kadar abu tidak larut asam sampel Mojokerto lahan 2

Replikasi	Berat simplisia (g)	Berat abu tidak larut asam (g)	% Kadar abu tidak larut asam (b/b)
rep 1	2,0654	0,0237	1,15
rep 2	2,0678	0,0253	1,22
rep 3	2,0607	0,0228	1,11
Rata-rata			1,16
Standar deviasi (SD)			0,0557
Koefisien variasi (KV)			4,80
Persyaratan kadar*			Tidak kurang dari 1%
Ket. (*): pustaka Materia Medika Indonesia jilid IV			

Kadar abu yang tidak larut asam rata-rata = $1,16 \pm 0,06$ %

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Mojokerto lahan 2 memenuhi persyaratan kadar abu tidak larut asam yang ditetapkan Materia Medika Indonesia.

Tabel 5.34 Hasil penetapan kadar abu tidak larut asam sampel Ponorogo

Replikasi	Berat simplisia (g)	Berat abu tidak larut asam (g)	% Kadar abu tidak larut asam (b/b)
rep 1	2,0410	0,0244	1,20
rep 2	2,0504	0,0253	1,23
rep 3	2,0352	0,0237	1,16
Rata-rata			1,20
Standar deviasi (SD)			0,0351
Koefisien variasi (KV)			2,93
Persyaratan kadar*			Tidak kurang dari 1%
Ket. (*): pustaka Materia Medika Indonesia jilid IV			

Kadar abu yang tidak larut asam rata-rata = $1,20 \pm 0,04$ %

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Ponorogo memenuhi persyaratan kadar abu tidak larut asam yang ditetapkan Materia Medika Indonesia.

5.2.4 Hasil Penetapan Susut Pengerinan

Berikut ini hasil penetapan susut pengeringan serbuk simplisia *J. gendarussa*:

Tabel 5.35 Hasil penetapan susut pengeringan sampel Mojokerto lahan 1

Replikasi	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	% Susut pengeringan (b/b)
rep 1	2,0457	1,7426	14,82
rep 2	2,0502	1,7475	14,76
rep 3	2,0457	1,7399	14,95
Rata-rata			14,84
Standar deviasi (SD)			0,0971
Koefisien variasi (KV)			0,0065

Kadar susut pengeringan rata-rata = $14,84 \pm 0,10$ %

Tabel 5.36 Hasil penetapan susut pengeringan sampel Mojokerto lahan 2

Replikasi	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	% Susut pengeringan (b/b)
rep 1	2,0461	1,7466	14,64
rep 2	2,0444	1,7426	14,76
rep 3	2,0448	1,7407	14,87
Rata-rata			14,76
Standar deviasi (SD)			0,1150
Koefisien variasi (KV)			0,0078

Kadar susut pengeringan rata-rata = $14,76 \pm 0,12$ %

Tabel 5.37 Hasil penetapan susut pengeringan sampel Ponorogo

Replikasi	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	% Susut pengeringan (b/b)
rep 1	2,0503	1,7480	14,74
rep 2	2,0540	1,7519	14,71
rep 3	2,0555	1,7478	14,97
Rata-rata			14,81
Standar deviasi (SD)			0,1422
Koefisien variasi (KV)			0,0096

Kadar susut pengeringan rata-rata = $14,81 \pm 0,14$ %

5.2.5 Hasil Penetapan Kadar Air

Berikut ini adalah hasil penetapan kadar air dari serbuk simplisia *J. gendarussa*:

Tabel 5.38 Hasil penetapan kadar air sampel Mojokerto lahan 1

Replikasi	Berat simplisia (g)	Volume air (ml)	% Kadar air (b/v)
rep 1	30,0042	3,0	10,00
rep 2	30,0031	3,2	10,67
rep 3	30,0045	3,0	10,00
Rata-rata			10,22
Standar deviasi (SD)			0,3868
Koefisien variasi (KV)			3,78
Persyaratan kadar*			$\leq 10\%$
(*) : Keputusan Menteri Kesehatan RI No. 661/MENKES/SK/VII/1994 tentang Persyaratan Obat Tradisional			

Kadar air rata-rata = $10,22 \pm 0,39$ %

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Mojokerto lahan 1 tidak memenuhi persyaratan kadar air yang ditetapkan pada Keputusan Menteri Kesehatan RI No. 661/MENKES/SK/VII/1994 tentang Persyaratan Obat Tradisional.

Tabel 5.39 Hasil penetapan kadar air sampel Mojokerto lahan 2

Replikasi	Berat simplisia (g)	Volume air (ml)	% Kadar air (b/v)
rep 1	30,0092	3,9	13,00
rep 2	30,0096	3,9	13,00
rep 3	30,0095	3,8	12,66
Rata-rata			12,89
Standar deviasi (SD)			0,1963
Koefisien variasi (KV)			1,5229
Persyaratan kadar*			≤ 10%
(*) : Keputusan Menteri Kesehatan RI No. 661/MENKES/SK/VII/1994 tentang Persyaratan Obat Tradisional			

Kadar air rata-rata = $12,89 \pm 0,20$ %

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Mojokerto lahan 2 tidak memenuhi persyaratan kadar air yang ditetapkan pada Keputusan Menteri Kesehatan RI No. 661/MENKES/SK/VII/1994 tentang Persyaratan Obat Tradisional.

Tabel 5.40 Hasil penetapan kadar air sampel Ponorogo

Replikasi	Berat simplisia (g)	Volume air (ml)	% Kadar air (b/v)
rep 1	30,0061	3,1	10,33
rep 2	30,0079	3,0	10,00
rep 3	30,0065	3,0	10,00
Rata-rata			10,11
Standar deviasi (SD)			0,1905
Koefisien variasi (KV)			1,8843
Persyaratan kadar*			≤ 10%
(*) : Keputusan Menteri Kesehatan RI No. 661/MENKES/SK/VII/1994 tentang Persyaratan Obat Tradisional			

Kadar air rata-rata = $10,11 \pm 0,19$ %

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Ponorogo tidak memenuhi persyaratan kadar air yang ditetapkan pada

Keputusan Menteri Kesehatan RI No. 661/MENKES/SK/VII/1994 tentang Persyaratan Obat Tradisional.

5.2.6 Hasil Penetapan Kadar Cemaran Logam Berat

Berikut ini adalah hasil penetapan kadar cemaran logam berat dari serbuk simplisia *J. gendarussa*:

Tabel 5.41 Hasil penetapan kadar cemaran logam berat sampel Mojokerto lahan 1

Parameter	Kadar dalam serbuk (ppm)	Persyaratan (mg/kg)*
Timbal (Pb)	0,382 ppm	10
Merkuri (Hg)	Tak terdeteksi	0,5
Arsen (As)	Tak terdeteksi	5
Cadmium (Cd)	0,107 ppm	0,3

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Mojokerto lahan 1 memenuhi persyaratan (*): persyaratan yang tercantum pada Quality Control Methods for Medicinal Plants Material, WHO 2005. Pemeriksaan ini dilakukan oleh Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya.

Tabel 5.42 Hasil penetapan kadar cemaran logam berat sampel Mojokerto lahan 2

Parameter	Kadar dalam serbuk (ppm)	Persyaratan (mg/kg)*
Timbal (Pb)	0,427 ppm	10
Merkuri (Hg)	Tak terdeteksi	0,5
Arsen (As)	Tak terdeteksi	5
Cadmium (Cd)	0,098 ppm	0,3

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Mojokerto lahan 2 memenuhi persyaratan (*): persyaratan yang tercantum pada Quality Control Methods for Medicinal Plants Material, WHO 2005. Pemeriksaan ini dilakukan oleh Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya.

Tabel 5.43 Hasil penetapan kadar cemaran logam berat sampel Ponorogo

Parameter	Kadar dalam serbuk (ppm)	Persyaratan (mg/kg)*
Timbal (Pb)	Tak terdeteksi	10
Merkuri (Hg)	1,829 ppm	0,5
Arsen (As)	Tak terdeteksi	5
Cadmium (Cd)	0,438 ppm	0,3

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Ponorogo tidak memenuhi persyaratan pada kadar merkuri (Hg) dan Cadmium (Cd). Pemeriksaan ini dilakukan oleh Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya.

(*): Persyaratan yang tercantum pada Quality Control Methods for Medicinal Plants Material, WHO 2005.

5.2.7 Hasil Penetapan Kadar Residu Pestisida

Untuk penetapan kadar residu pestisida dari serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Mojokerto lahan 1, Mojokerto lahan 2, dan Ponorogo didapatkan hasil negatif terhadap golongan organofosfat, organoklorin dan karbamat. Pemeriksaan ini dilakukan oleh Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya.

5.2.8 Hasil Penetapan Cemaran Mikroba

Berikut ini adalah hasil penetapan kadar cemaran mikroba dari serbuk simplisia *J. gendarussa*:

Tabel 5.44 Hasil penetapan kadar cemaran mikroba sampel Mojokerto lahan 1

Kultur	Hasil	Persyaratan *
Angka Lempeng Total (ALT)	36.700	Maks. $10^5/g$
ALT Kapang	700	Maks. $10^3/g$
ALT Khamir	0	Maks. $10^3/g$
<i>Salmonella</i>	negatif	Negatif (tidak ada per 1 g)
<i>Escherichia coli</i>	negatif	Maks. 10/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	negatif	negatif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	negatif	negatif

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Mojokerto lahan 1 memenuhi persyaratan. Pemeriksaan ini dilakukan oleh Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya.

(*): Persyaratan yang tercantum pada Quality Control Methods for Medicinal Plants Material, WHO 2005.

Tabel 5.45 Hasil penetapan kadar cemaran mikroba sampel Mojokerto lahan 2

Kultur	Hasil	Persyaratan *
Angka Lempeng Total (ALT)	26.700	Maks. $10^5/g$
ALT Kapang	780	Maks. $10^3/g$
ALT Khamir	0	Maks. $10^3/g$
<i>Salmonella</i>	negatif	Negatif (tidak ada per 1 g)
<i>Escherichia coli</i>	negatif	Maks. 10/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	negatif	negatif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	negatif	negatif

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Mojokerto lahan 2 memenuhi persyaratan. Pemeriksaan ini dilakukan oleh Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya.

(*): Persyaratan yang tercantum pada Quality Control Methods for Medicinal Plants Material, WHO 2005.

Tabel 5.46 Hasil penetapan kadar cemaran mikroba sampel Ponorogo

Kultur	Hasil	Persyaratan *
Angka Lempeng Total (ALT)	27.700	Maks. $10^5/g$
ALT Kapang	800	Maks. $10^3/g$
ALT Khamir	0	Maks. $10^3/g$
<i>Salmonella</i>	negatif	Negatif (tidak ada per 1 g)
<i>Escherichia coli</i>	negatif	Maks. 10/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	negatif	negatif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	negatif	negatif

Dari hasil tersebut, diketahui bahwa serbuk simplisia *J. gendarussa* sampel Ponorogo memenuhi persyaratan. Pemeriksaan ini dilakukan oleh Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya.

(*): Persyaratan yang tercantum pada Quality Control Methods for Medicinal Plants Material, WHO 2005.

BAB VI

PEMBAHASAN

Daun *J. gendarussa* merupakan salah satu bahan berkhasiat obat yang telah lama dipakai dalam pengobatan tradisional. Dalam pengembangannya diharapkan daun gendarussa tersebut bisa digunakan sebagai bahan baku sediaan fitofarmaka. Oleh karena itu untuk menjamin produk akhir mempunyai nilai parameter tertentu yang konstan (ajeg) terlebih dahulu diperlukan suatu proses standardisasi.

Pada penelitian terdahulu, telah dilakukan standardisasi simplisia *Gendarusa vulgaris* Nees yang berasal dari Mojokerto dan Madiun. Kesimpulan dari penelitian tersebut bahwa hasil standardisasi simplisia daun *Gendarussa vulgaris* Nees sudah memenuhi persyaratan Materia Medika yang meliputi uji makroskopik dan uji mikroskopik, sedangkan pada kandungan kimia yang meliputi kadar abu dan kadar sari yang larut dalam air belum memenuhi persyaratan Materia Medika Indonesia (Kurniasari, 2001). Telah diketahui bahwa suatu sediaan obat yang diproduksi dari bahan alam sering kali bervariasi karena beberapa faktor, misalnya genetik (bibit), lingkungan (tempat tumbuh: iklim), rekayasa agronomi (fertilizer: perlakuan selama masa tumbuh), dan panen (waktu dan pasca panen) (Depkes RI, 2000).

Berdasarkan hal di atas, maka perlu dilakukan standardisasi apabila akan melakukan penelitian dengan menggunakan simplisia yang berasal dari daerah lain. Pada penelitian ini digunakan simplisia yang berasal dari Mojokerto lahan 1 (Desa Dolopeto), Mojokerto lahan 2 (Desa Gondang), dan Ponorogo. Pada daerah Mojokerto dilakukan standardisasi pada dua tempat berbeda dengan kecamatan yang sama, dimana pada lahan 1 (desa Dolopeto) merupakan tanaman budidaya yang dilakukan pasca panen pada umur 5 bulan, sedangkan pada lahan 2 (desa Gondang) merupakan tanaman liar yang dilakukan pasca panen pada umur 6 bulan. Proses standardisasi dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh simplisia dengan tingkat standar berdasarkan parameter spesifik dan nonspesifik yang lebih baik dan sebagai langkah awal proses pengembangan obat tradisional dari bahan alam untuk memberikan jaminan mutu kefarmasian yang kemudian diproses lebih lanjut menjadi sediaan fitofarmaka.

Daun yang telah diambil kemudian dibersihkan dari kotoran dengan cara dicuci dengan air, dikeringkan dengan menggunakan oven dengan suhu 40° C, dan akhirnya dibuat serbuk. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan identitas (Uji makroskopik dan mikroskopik), kadar abu, kadar abu yang tidak larut dalam asam, kadar abu larut air, kadar sari yang larut dalam air, kadar sari yang larut dalam etanol, kadar air, susut pengeringan, kadar minyak atsiri, dan penetapan kadar gendarusin A.

Uji makroskopis dilakukan dengan mengamati daun segar untuk mengamati morfologi, ukuran dan warna simplisia. Daun gendarusa merupakan daun tunggal tipe oposita. Warna daun permukaan atas hijau sampai hijau kecoklatan dan pada permukaan bawah warna daun lebih pucat. Helaian daunnya berbentuk lanset dengan ukuran panjang 5-20 cm dan lebar 1-3,5 cm. Ujung daun runcing, pangkal daun runcing, permukaan daun halus tak berambut, tepi daun beringgit tapi tidak dalam, dan pertulangan daun menyirip.

Uji mikroskopis dilakukan dengan menggunakan mikroskop untuk mempelajari anatomi dan histologi sediaan daun. sediaan yang diamati adalah irisan melintang melalui ibu tulang daun, irisan melintang tidak melalui ibu tulang daun, sayatan membujur epidermis atas dan bawah. sediaan daun dipanaskan dengan médium kloralhidrat dan ditambahkan pewarnaan floroglusin HCL. Penambahan kloralhidrat disertai pemanasan bertujuan untuk melarutkan sitoplasma sel sehingga dinding sel, zat inklusi dan susunan sel / jaringan terlihat lebih jelas. Pewarnaan floroglusin HCL digunakan untuk mewarnai sel yang mengandung lignin, dimana dengan pewarnaan ini sel yang mengandung lignin akan berwarna merah.

Pada irisan melintang melalui ibu tulang daun dapat teramati antara lain: Epidermis atas terdiri dari selapis sel berbentuk segi empat atau persegi panjang, dengan lapisan kutikula, berdinding tipis dan tebal, serta tersusun rapat. Kolenkim terdiri dari beberapa lapis sel berbentuk bulat atau poligonal, parenkim berbentuk poligonal, berkas pengangkutan bertipe kolateral. Pada sayatan membujur epidermis atas dan bawah terdapat stomata tipe bidiasitik dan sistolit.

Identifikasi serbuk meliputi organoleptis dan pengamatan fragmen serbuk daun secara mikroskopis. Pengamatan yang dilakukan pada fragmen serbuk daun

dilakukan untuk mengetahui ciri-ciri khusus bentuk jaringan yang berguna untuk identifikasi simplisia. Pada pengamatan fragmen serbuk terdapat fragmen epidermis, jaringan tiang, parenkim, berkas pembuluh dan stomata tipe bidiasitik.

Pada penetapan kadar abu, serbuk daun dipijarkan dalam *furnace* pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sehingga tinggal unsur mineral dan anorganik. Tujuan penetapan kadar abu adalah untuk memberikan gambaran jumlah total material yang tersisa setelah pemijaran, yang terdiri atas abu fisiologis yang berasal dari jaringan tanaman itu sendiri, dan abu non fisiologis yang merupakan residu dari senyawa ekstraneous (seperti pasir dan tanah) yang menempel pada permukaan tanaman. Dalam penelitian ini diperoleh kadar abu simplisia sampel Mojokerto lahan 1 sebesar $(12,02 \pm 0,10)\%$, sampel Mojokerto lahan 2 sebesar $(13,99 \pm 0,86)\%$, dan sampel Ponorogo sebesar $(13,99 \pm 0,86)\%$. Dalam monografi Materia Medika Indonesia persyaratan kadar abu daun *J. gendarussa* tidak lebih dari 8% sehingga sampel-sampel tersebut belum memenuhi persyaratan. Pada penelitian sebelumnya, juga diperoleh kadar abu yang lebih dari 8%, yaitu sampel Mojokerto sebesar $(12,65 \pm 0,05)\%$ dan sampel Kediri sebesar $(12,27 \pm 0,02)\%$ (Kurniasari, 2001). Hal ini mungkin disebabkan karena proses pembuatan simplisia terutama pencuciannya kurang sempurna dimana masih banyak kotoran yang melekat pada daun.

Penetapan kadar abu yang tidak larut dalam asam dilakukan dengan cara melarutkan abu hasil penetapan kadar abu dalam larutan asam klorida yang dipanaskan kemudian disaring dengan kertas saring bebas abu dan residunya dipijar ad bobot konstan. Kadar abu yang larut air sampel Mojokerto lahan 1 adalah $(0,84 \pm 0,08)\%$, sampel Mojokerto lahan 2 adalah $(0,89 \pm 0,08)\%$, dan sampel Ponorogo adalah $(0,83 \pm 0,08)\%$, sedangkan dalam monografi MMI dipersyaratkan tidak lebih dari 1%. Kadar abu yang larut air sampel Mojokerto lahan 1 sebesar $(0,91 \pm 0,05)\%$, sampel Mojokerto lahan 2 sebesar $(0,67 \pm 0,06)\%$, sampel Ponorogo sebesar $(0,71 \pm 0,04)\%$ dan persyaratan dalam monografi MMI tidak kurang dari 1%, sehingga dapat disimpulkan bahwa ketiga sampel tersebut telah memenuhi persyaratan.

Pada penetapan kadar sari yang larut dalam air, serbuk daun dimaserasi dengan air kloroform P selama 24 jam dan dikocok pada 6 jam pertama kemudian

didiamkan selama 18 jam. Rendaman kemudian disaring, diambil filtratnya sebanyak 20 ml dan dipanaskan pada suhu 105° C secara gravimetri ad bobot konstan. Pengukuran ini bertujuan untuk memberikan gambaran awal kandungan bahan-bahan kimia yang terdapat dalam simplisia yang larut dalam air. Semakin banyak jumlah kandungan kimia yang terdapat dalam air maka jumlah komponen-komponen kimia yang memiliki aktivitas juga semakin banyak. Dari hasil penelitian diperoleh kadar sari yang larut air sampel Mojokerto lahan 1 sebesar (40,92±0,17)%, sampel Mojokerto lahan 2 sebesar (48,28±0,26)%, dan sampel Ponorogo sebesar (42,76±1,29)%. Persyaratan MMI untuk kadar sari yang larut air tidak kurang dari 24%.

Penetapan kadar sari yang larut dalam etanol menggunakan pelarut etanol 95% dan dilakukan dengan cara yang sama dengan penetapan kadar sari yang larut dalam air. Kadar sari yang larut dalam etanol pada simplisia daun gendarusa sampel Mojokerto lahan 1 sebesar (4,92±0,07)%, sampel Mojokerto lahan 2 sebesar (7,40±0,45)%, dan sampel Ponorogo sebesar (5,61±0,39)%. Persyaratan yang tercantum dalam monografi MMI adalah tidak kurang dari 6%, sehingga dapat disimpulkan bahwa sampel Mojokerto lahan 1 dan sampel Ponorogo tidak memenuhi persyaratan. Hal ini mungkin disebabkan karena faktor tempat tumbuh dari kedua sampel tersebut.

Pada penetapan kadar minyak atsiri digunakan alat Stahl menurut prosedur yang tercantum dalam Materia Medika Indonesia. Pada penelitian ini didapatkan kadar minyak atsiri daun *J. gendarussa* adalah 0,04%.

Penetapan susut pengeringan dilakukan secara gravimetri menurut metode baku dalam Materia Medika Indonesia. Penetapan ini dilakukan untuk mengetahui berapa persen berat yang hilang selama proses pengeringan pada suhu 105° C. Kandungan yang hilang antara lain air, minyak atsiri dan senyawa-senyawa kandungan lain yang mudah menguap. Susut pengeringan pada simplisia daun *J. gendarussa* sampel Mojokerto lahan 1 adalah (14,84±0,10)%, sampel Mojokerto lahan 2 adalah (14,76±0,12)%, dan sampel Ponorogo adalah (14,81±0,14)%.

Penetapan kadar air dapat dilakukan dengan 3 macam cara yaitu titrasi, gravimetri dan destilasi. Dalam penelitian ini dipilih cara destilasi karena lebih efisien dalam hal waktu dan biaya dibanding dengan cara titrasi dan hasilnya lebih

valid dibanding cara gravimetri yang kadar airnya dipengaruhi juga oleh zat menguap yang lain. Pada penetapan air secara destilasi ini digunakan toluen untuk mendesak air yang ada supaya dapat keluar dan tersuling. Sebelum digunakan toluen harus dijenuhkan dengan air sehingga kadar air yang didapat pada penetapan ini benar-benar hanya berasal dari simplisia itu sendiri dan bukan dari luar. Oleh karena itu alat-alat yang digunakan juga harus benar-benar bebas air. Pada penelitian ini didapatkan kadar air simplisia daun gendarusa sampel Mojokerto lahan 1 adalah $(10,22 \pm 0,39)\%$, sampel Mojokerto lahan 2 adalah $(12,89 \pm 0,20)\%$, dan sampel Ponorogo adalah $(10,11 \pm 0,19)\%$. Persyaratan kadar air berdasarkan KepMenKes No 661 adalah tidak lebih dari 10%, sehingga dapat disimpulkan bahwa ketiga sampel tersebut tidak memenuhi persyaratan. Kadar air yang tinggi ini bisa terjadi karena pengeringan simplisia yang kurang sempurna maupun tingkat kelembaban lingkungan sekitar saat penyimpanan. Selain faktor-faktor tersebut, kadar air yang tinggi disebabkan pula oleh lamanya penyimpanan sebelum dilakukan pemeriksaan

Penetapan cemaran logam berat dilakukan dengan menggunakan AAS (*Atomic Absorption Spectroscopy*). Pada sampel Mojokerto lahan 1 diperoleh kadar cemaran timbal (Pb) sebesar 0,382 ppm, merkuri (Hg) tidak terdeteksi, arsen (As) tidak terdeteksi, dan kadmium (Cd) 0,107 ppm. Pada sampel Mojokerto lahan 2 diperoleh kadar cemaran timbal (Pb) sebesar 0,427 ppm, merkuri (Hg) tidak terdeteksi, arsen (As) tidak terdeteksi, dan kadmium (Cd) 0,098 ppm. Sedangkan, pada sampel Ponorogo kadar cemaran timbal (Pb) tidak terdeteksi, merkuri (Hg) 1,829 ppm, arsen (As) tidak terdeteksi, dan kadmium (Cd) 0,438 ppm. Berdasarkan monografi WHO batas maksimum kandungan merkuri (Hg) sebesar 0,5 ppm, kandungan arsen (As) sebesar 5 ppm, kandungan kadmium (Cd) sebesar 0,3 ppm, dan kandungan timbal (Pb) sebesar 10 ppm. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa sampel Mojokerto lahan 1 dan sampel Mojokerto lahan 2 telah memenuhi persyaratan, namun sampel Ponorogo masih terdapat kandungan merkuri (Hg) dan kadmium (Cd) yang lebih besar dari batas maksimum sehingga perlu lebih diwaspadai dalam penggunaannya sebagai obat. Pada penetapan residu pestisida golongan organo fospat, golongan organo

klorin, dan karbamat pada ketiga sampel tersebut didapatkan hasil yang negatif sehingga sesuai dengan persyaratan.

Penetapan cemaran mikroba dari simplisia *J. gendarussa* juga dilakukan dengan tujuan memberikan jaminan bahwa simplisia tidak boleh mengandung mikroba patogen dan tidak mengandung mikroba nonpatogen melebihi batas yang ditetapkan karena akan berpengaruh pada stabilitas simplisia itu sendiri dan dapat menyebabkan toksik bagi penggunaannya. Pengujian terkait dengan cemaran mikroba ini juga dilakukan oleh Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya. Dari hasil yang diperoleh, terlihat bahwa pada sampel Mojokerto lahan 1 nilai angka lempeng total (ALT) sebesar 36.700 dan ALT kapang sebesar 700. Sedangkan, pada sampel Mojokerto lahan 2 nilai angka lempeng total (ALT) sebesar 26.700 dan ALT kapang sebesar 780, pada sampel Ponorogo nilai angka lempeng total (ALT) sebesar 27.700 dan ALT kapang sebesar 800. Persyaratan untuk obat tradisional dengan penggunaan internal angka lempeng total maksimum $10^5/g$ dan ALT kapang Maksimum $10^3/g$. Dari data ini didapatkan bahwa sampel dari Mojokerto lahan 1, Mojokerto lahan 2, dan Ponorogo memenuhi persyaratan uji ALT kapang. Pemeriksaan lainnya terkait dengan ALT khamir pada ketiga sampel tersebut sebesar 0 sesuai dengan persyaratan yaitu Maksimum $10^3/g$, serta pemeriksaan bakteri *Salmonella*, *E.coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan hasil negatif, artinya simplisia tidak mengandung keempat bakteri tersebut (WHO, 2005).

Besarnya nilai ALT dan ALT kapang dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya besarnya kadar air yang terkandung dalam simplisia. Seperti yang telah diketahui bahwa air merupakan salah satu media pertumbuhan mikroba dan jamur. Maka dengan tingginya kadar air maka kemungkinan mikroba dan jamur tumbuh akan besar. Kadar air yang tinggi ini bisa terjadi karena pengeringan simplisia yang kurang sempurna maupun tingkat kelembaban lingkungan sekitar saat penyimpanan. Selain faktor-faktor tersebut, kadar air yang tinggi disebabkan pula oleh lamanya penyimpanan sebelum dilakukan pemeriksaan. Cara yang dapat dilakukan untuk menekan jumlah mikroba ataupun jamur yang tumbuh adalah dengan mengeringkan simplisia hingga kadar air yang dipersyaratkan yakni 10%. Selain itu setelah dibuat dalam bentuk serbuk, simplisia disimpan di wadah yang

tertutup baik, pada suhu kamar, ditempat kering dan terlindung dari sinar matahari (Kepmenkes RI, 1994).

Penetapan kadar senyawa aktif gendarusin A dalam simplisia daun *J. gendarussa* dilakukan dengan menggunakan HPLC LC 10 AT. Ditimbang larutan serbuk simplisia dalam metanol dengan konsentrasi 3000 ppm. Saring dengan kertas filter. Kemudian disuntikkan ke dalam HPLC sebanyak 20 μ l. Sebelum dilakukan penetapan kadar dilakukan validasi metode. Linieritas metode pada penelitian ini ditentukan dari regresi linier area puncak gendarusin A terhadap konsentrasi gendarusin A. Persamaan regresi yang didapat yakni $y = 31,7535x - 1,2151$ (r hitung = 0,9919), yang lebih besar dari r tabel = 0,8114 ($n-1 = 4$, $\alpha = 0,001$). Harga r hitung yang $>$ dari r tabel menunjukkan adanya hubungan yang linier antara area terhadap kadar gendarusin A pada rentang kadar (2,5-20) ppm. Sedangkan pada penentuan presisi didapatkan harga KV = 3,95%. Untuk penetapan kadar obat dalam cairan biologis dan bahan alam harga koefisien variasi 10-20% (Lindholm, 2004).

Pada penentuan akurasi metode dilakukan spiking, dengan cara menambahkan standar gendarusin A kedalam sampel. Harga % recovery rata-rata sampel Mojokerto lahan 1 dengan adisi standar gendarusin A 2,5 ppm sebesar 112,42%, dengan adisi standar gendarusin A 5 ppm sebesar 104,13%, dan dengan adisi standar 10 ppm sebesar 98,09%. Sedangkan, harga % recovery rata-rata sampel Mojokerto lahan 2 dengan adisi standar gendarusin A 2,5 ppm sebesar 88,61%, dengan adisi standar gendarusin A 5 ppm sebesar 113,91%, dan dengan adisi standar 10 ppm sebesar 100,79%. Kemudian, harga % recovery rata-rata sampel Ponorogo dengan adisi standar gendarusin A 2,5 ppm sebesar 101,25%, dengan adisi standar gendarusin A 5 ppm sebesar 95,92%, dan dengan adisi standar 10 ppm sebesar 100,75%. Harga % recovery tersebut lebih besar dari 80% sehingga telah memenuhi persyaratan (80-120)%. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa metode yang digunakan memiliki akurasi yang baik.

Nilai resolusi puncak gendarusin A dengan puncak senyawa lain terdekat dalam kromatogram sampel Mojokerto lahan 1 adalah 0,7370 dengan faktor selektivitas sebesar 1,1696, sampel Mojokerto lahan 2 adalah 0,6545 dengan faktor selektivitas sebesar 1,1776, dan sampel Ponorogo adalah 0,6506 dengan

faktor selektivitas sebesar 1,1773. Selektivitas yang baik ditunjukkan dengan harga faktor selektivitas (α) >1 dan derajat keterpisahan R_s 1,2–1,5 (untuk bahan alam harga resolusi 1–1,5), sehingga dalam metode ini selektivitas masih kurang baik. Hal ini disebabkan mungkin karena senyawa dalam simplisia sangat kompleks dan metode yang dilakukan kurang baik yaitu menggunakan metode eluasi isokratik.

Pada tahap selanjutnya adalah penetapan kadar bahan aktif gendarusin A yang terdapat dalam simplisia daun *J. gendarussa*. Kadar gendarusin A rata-rata yang diperoleh dari penelitian sampel Mojokerto lahan 1 sebesar $(0,15 \pm 0,01)\%$, sedangkan kadar gendarusin A rata-rata sampel Mojokerto lahan 2 sebesar $0,21\%$, dan kadar gendarusin A rata-rata sampel Ponorogo sebesar $(0,27 \pm 0,01)\%$

Dari hasil penelitian tersebut, simplisia yang lebih baik dari ketiga sampel dengan tingkat standar berdasarkan parameter spesifik dan non spesifik adalah simplisia Mojokerto lahan 1. Hal ini sesuai dengan pertimbangan, yaitu simplisia Mojokerto lahan 1 merupakan tanaman budidaya sehingga pertumbuhannya dapat dipantau dengan baik. Hasil penelitian residu pestisida pada tanaman ini juga diperoleh nilai negatif, hasil cecapan logam berat tidak melampaui batas maksimum WHO sehingga mutu dan keamanan (*safety*) untuk digunakan sebagai fitofarmaka dapat terjamin.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian standardisasi simplisia *J. gendarussa* berdasarkan parameter spesifik dan non spesifik dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Dari hasil uji makroskopis dan mikroskopis, simplisia daun *J. gendarussa* yang diambil dari tiga daerah berbeda, yaitu Mojokerto lahan 1, Mojokerto lahan 2, dan Ponorogo telah sesuai dengan monografi yang terdapat pada Materia Medika Indonesia.
2. Simplisia daun *J. gendarussa* yang diambil dari tiga daerah berbeda, yaitu Mojokerto lahan 1, Mojokerto lahan 2, dan Ponorogo telah memenuhi persyaratan meliputi kadar sari larut etanol untuk sampel Mojokerto lahan 2; kadar sari larut air; kadar abu larut air dan tidak larut asam; kadar residu pestisida; kadar cemaran logam untuk sampel Mojokerto lahan 1 dan Mojokerto lahan 2; cemaran mikroba untuk sampel Mojokerto lahan 1, Mojokerto lahan 2, dan Ponorogo
3. Nilai parameter standar simplisia daun *J. gendarussa* dari tiga daerah tersebut yang belum memenuhi persyaratan adalah kadar sari larut etanol untuk sampel Mojokerto lahan 1 dan Ponorogo; kadar abu dan kadar abu tidak larut asam untuk ketiga sampel; kadar air untuk ketiga sampel; cemaran logam merkuri (Hg) dan kadmium (Cd) untuk sampel Ponorogo.
4. Nilai parameter standar simplisia daun *J. gendarussa* Burm.f. yang belum tercantum dalam monografi Materia Medika Indonesia, KepMenKes, dan WHO adalah susut pengeringan sampel Mojokerto lahan 1 sebesar $14,84 \pm 0,10$ %, sampel Mojokerto lahan 2 sebesar $14,76 \pm 0,12$ %, dan sampel Ponorogo sebesar $14,81 \pm 0,14$ %; serta kadar minyak atsiri sebesar 0,04 %
5. Kadar gendarusin A pada sampel Mojokerto lahan 1 sebesar $(0,15 \pm 0,01)\%$, sedangkan kadar gendarusin A rata-rata sampel Mojokerto lahan 2 sebesar 0,21%, dan kadar gendarusin A rata-rata sampel Ponorogo sebesar $(0,27 \pm 0,01)\%$

6. Simplisia dengan tingkat standar berdasarkan parameter spesifik dan non spesifik yang lebih baik adalah sampel Mojokerto lahan 1

7.2. SARAN

Berdasarkan penelitian, dapat disarankan sebagai berikut:

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan selektivitas yang lebih baik, yaitu dengan metode eluasi gradien.



DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1983. **Tanaman Obat Keluarga**, Direktorat Pengawasan Obat Traditional, Dirjen POM, Depkes RI, Jakarta, hal.1
- Anonim, 1987. **Pemanfaatan Tanaman Obat**, Edisi II, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, hal, 87
- Anonim. 2002. **U.S Pharmacopeia 25-NF 20**. USA: The United States Pharmacopeial Convention.
- Anonim. 2007. **U.S Pharmacopeia 30-NF 25**. USA: The United States Pharmacopeial Convention.
- Asmara, S.R.S., 2004. **Penetapan Kadar Gendarusin A Dalam Fraksi Etanol 60% dan Fasa Air Daun Gendarussa vulgaris Nees Dengan Metode HPLC**, Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya.
- BPOM RI, 2005. **Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor : HK.00.05.41.1384 tentang Kriteria dan dan Tata Laksana Pendaftaran Obat Traditional, Obat Herbal Terstandar dan Fitofarmaka**. Jakarta : Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, hal 1
- Chakravarty, A. K., Dastidar HAL. P. G. And Pakrashi S. C., 1982. **Simple Aromatic Amines From Justicia gendarussa 13C-NMR Spektra of The Bases and Their Analogues**. *Tetrahedron Vol. 18 No. 12p: 1797-1802*
- Depkes RI, 1995. **Materia Medika Indonesia. Jilid VI**, Jakarta: Depkes RI, hal.109-110
- Depkes Republik Indonesia, 2000. **Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat** cetakan pertama. Jakarta.hal 2-5
- Ebadi, Manuchair. 2002. **Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine**, Florida : CRC Press. Hal 393
- Heyne K, 1987. **Tumbuhan Berguna Indonesia**. Jilid III, Diterjemahkan oleh Badan Litbang Kehutanan, Departemen Kehutanan, Jakarta, hal 926-927
- Ifadotunnikmah, F, 2006, **Studi Profil Kromatogram Fraksi Air Daun Justicia Gendarussa Burm.F Pada Plasma Kelinci Jantan In vivo**, Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Bagian Ilmu Bahan Alam, Surabaya

- Indrayanto, G., 1994. **Prosiding Pendidikan Berkelanjutan Apoteker**. PBA 8. FFUA, ISFI, Surabaya.
- Kurniasari, R. L., 2001, **Standarisasi Simplisia Daun *Gendaruusa Vulgaris* Nees**. Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Bagian Ilmu Bahan Alam, Surabaya
- Lindholm, J. 2004. **Development and Validation of HPLC Methods for Analytical and Preparatives Purposes**, Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology, Acta Universitatis Upsaliensis, Uppsala, Sweden
- Markham, K. R., 1988. **Cara Mengidentifikasi Flavonoid**, terjemahan Dr. Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB Bandung, hal 1-10
- Menkes RI, 1994. **Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor:661/MENKES/SK/VII/1994 tentang Persyaratan Obat Tradisional**. Jakarta
- Midian Sirait dkk, 1985. **Cara Pembuatan Simplisia**, Departemen Kesehatan RI, Jakarta. Hal 1-15
- Moeso, S., Agus, P. 1985. **Laporan Perjalanan ke Jayapura Sentani** (Irian Jaya). Fakultas Biologi UGM, Laporan Survey Yogyakarta, P.19
- Mulja, Muhammad. 1995. **Analisis Instrumental**. Airlangga University Press. Surabaya
- Prajogo, B. E. W., 2002. **Aktifitas Anti Fertilitas Flavonoid Daun *Justicia gendarussa* Burm. f.: Penelitian Eksperimental Pencegahan Penetrasi Spermatozoa Mencit dalam proses fertilitas in-vitro**. Disertasi, Surabaya: Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga
- Purwantika, N., 2005. **Studi Bioanalisis Gendarusin A Pada Ejakulat Kelinci Jantan (Dari Fraksi Air Daun *Justicia gendarussa* Burm. f)**, Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya
- Robinson, T., 1995. **Kandungan Organic Tumbuhan Tinggi**, Terjemahan Kokasih Padmawinata, Edisi VI, Bandung: Penerbit ITB, hal 191-193
- Skoog, Douglas, 1985. **Principles of Instrumental Analysis**. CBS College Publishing: Japan.
- Steenis, C.G.G.J.Van, 1949. **Flora untuk Sekolah di Indonesia**. Terjemahan Pradnya Paramita, hal 393-414

- Sukandar, E. Y., 2006. **Tren dan Paradigma Dunia Farmasi Industri-Klinik-Teknologi Kesehatan**. Pidato Ilmiah, Bandung: Departemen Farmasi, FMIPA, Institut Teknologi Bandung
- Sutarjadi, Noor Cholies, 1992. **Simposium Pengembangan dan Penelitian Obat Tradisional dan Fitofarmaka**, 2 maret 1992. hal 9-10
- Trease & Evans. 1978. **Pharmacognosy**. 11th ed. Bailliere Tindall. London. Great Britian
- WHO, 2005. **Quality Control Methods For Medicinal Plant Materials**, Geneva: WHO
- Widjayakusuma, H., 1992. **Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia**, Jilid 1, Pustaka Kartini, Jakarta, hal. 44-45
- Widyawan, Irving. 2009. **Identifikasi Senyawa Gendarusin A Dalam Ejakulat Pria Fertil Akibat Pemberian Kapsul Ekstrak Etanol Daun *Justicia gendarussa* Burm.f.**(Analisis HPLC). Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Departemen Farmakognosi dan Fitokimia, Surabaya
- Yamane, T, 1973. **Statistics an Introductory Analysis**, 3th Ed., New York: Harper & Row, pp. 1092

LAMPIRAN 1**PERHITUNGAN KADAR SARI LARUT AIR**

Rumus yang digunakan untuk menghitung kadar sari larut air adalah sebagai berikut:

$$\text{Kadar sari larut air} = \frac{B \times 10}{A} \times 100 \%$$

A. Sampel Mojokerto lahan 1

No.	Berat Awal (g) A	Berat Akhir (g) B	Kadar (% b/b)
1.	5,0005	0,2036	40,72
2.	5,0011	0,2053	41,05
3.	5,0027	0,2050	40,98

$$1. \text{ Kadar sari larut air} = \frac{0,2036 \times 10}{5,0005} \times 100 \% = 40,72 \%$$

$$2. \text{ Kadar sari larut air} = \frac{0,2053 \times 10}{5,0011} \times 100 \% = 41,05 \%$$

$$3. \text{ Kadar sari larut air} = \frac{0,2053 \times 10}{5,0011} \times 100 \% = 41,05 \%$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar sari yang larut dalam air rata-rata} &= \frac{40,72 + 41,05 + 41,05}{3} \\ &= 40,92 \pm 0,17 \% \end{aligned}$$

B. Sampel Mojokerto lahan 2

No.	Berat Awal (g) A	Berat Akhir (g) B	Kadar (% b/b)
1.	5,0071	0,2423	48,39
2.	5,0058	0,2402	47,98
3.	5,0077	0,2427	48,47

$$1. \text{ Kadar sari larut air} = \frac{0,2423 \times 10}{5,0071} \times 100 \% = 48,39 \%$$

$$2. \text{ Kadar sari larut air} = \frac{0,2402 \times 10}{5,0058} \times 100 \% = 47,98 \%$$

$$3. \text{ Kadar sari larut air} = \frac{0,2427 \times 10}{5,0077} \times 100 \% = 48,47 \%$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar sari yang larut dalam air rata-rata} &= \frac{48,39 + 47,98 + 48,47}{3} \\ &= 48,28 \pm 0,26 \% \end{aligned}$$

C. Sampel Ponorogo

No.	Berat Awal (g)	Berat Akhir (g)	Kadar (% b/b)
1.	5,0003	0,2101	42,02
2.	5,0015	0,2101	42,01
3.	5,0077	0,2216	44,25

$$1. \text{ Kadar sari larut air} = \frac{0,2101 \times 10}{5,0003} \times 100 \% = 42,02 \%$$

$$2. \text{ Kadar sari larut air} = \frac{0,2101 \times 10}{5,0015} \times 100 \% = 42,01 \%$$

$$3. \text{ Kadar sari larut air} = \frac{0,2216 \times 10}{5,0077} \times 100 \% = 44,25 \%$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar sari yang larut dalam air rata-rata} &= \frac{42,02 + 42,01 + 44,25}{3} \\ &= 42,76 \pm 1,29 \% \end{aligned}$$

LAMPIRAN 2**PERHITUNGAN KADAR SARI LARUT ETANOL**

Rumus yang digunakan untuk menghitung kadar sari larut etanol adalah sebagai berikut:

$$\text{Kadar sari larut etanol} = \frac{B \times 5}{A} \times 100 \%$$

A. Sampel Mojokerto lahan 1

No.	Berat Awal (g) A	Berat Akhir (g) B	Kadar (% b/b)
1.	5,0093	0,0485	4,84
2.	5,0087	0,0496	4,95
3.	5,0062	0,0498	4,97

$$1. \text{ Kadar sari larut etanol} = \frac{0,0485 \times 5}{5,0093} \times 100 \% = 4,84 \%$$

$$2. \text{ Kadar sari larut etanol} = \frac{0,0496 \times 5}{5,0087} \times 100 \% = 4,95 \%$$

$$3. \text{ Kadar sari larut etanol} = \frac{0,0498 \times 5}{5,0011} \times 100 \% = 4,97 \%$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar sari yang larut dalam etanol rata-rata} &= \frac{4,84 + 4,95 + 4,97}{3} \\ &= 4,92 \pm 0,07 \% \end{aligned}$$

B. Sampel Mojokerto lahan 2

No.	Berat Awal (g) A	Berat Akhir (g) B	Kadar (% b/b)
1.	5,0068	0,0727	7,26
2.	5,0089	0,0704	7,03
3.	5,0072	0,0791	7,90

$$1. \text{ Kadar sari larut etanol} = \frac{0,0727 \times 5}{5,0068} \times 100 \% = 7,26 \%$$

$$2. \text{ Kadar sari larut etanol} = \frac{0,0704 \times 5}{5,0089} \times 100 \% = 7,03 \%$$

$$3. \text{ Kadar sari larut etanol} = \frac{0,0791 \times 5}{5,0072} \times 100 \% = 7,90 \%$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar sari yang larut dalam etanol rata-rata} &= \frac{7,26 + 7,03 + 7,90}{3} \\ &= 7,40 \pm 0,45 \% \end{aligned}$$

C. Sampel Ponorogo

No.	Berat Awal (g)	Berat Akhir (g)	Kadar (% b/b)
1.	5,0069	0,0544	5,43
2.	5,0085	0,0607	6,06
3.	5,0064	0,0535	5,34

$$1. \text{ Kadar sari larut etanol} = \frac{0,0544 \times 5}{5,0069} \times 100 \% = 5,43 \%$$

$$2. \text{ Kadar sari larut etanol} = \frac{0,0607 \times 5}{5,0085} \times 100 \% = 6,06 \%$$

$$3. \text{ Kadar sari larut etanol} = \frac{0,0535 \times 10}{5,0064} \times 100 \% = 5,34 \%$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar sari yang larut dalam etanol rata-rata} &= \frac{5,43 + 6,06 + 5,34}{3} \\ &= 5,61 \pm 0,39 \% \end{aligned}$$

LAMPIRAN 3**PERHITUNGAN KADAR MINYAK ATSIRI**

Rumus yang digunakan untuk menghitung kadar minyak atsiri adalah sebagai berikut:

$$\text{Kadar minyak atsiri} = \frac{B}{A} \times 100 \%$$

A. Sampel Mojokerto lahan 1

No.	Berat simplisia (g) A	Vol.minyak atsiri (ml) B	% Kadar (b/v)
1.	50,0035	0,0200	0,04
2.	50,0048	0,0200	0,04
3.	50,0066	0,0200	0,04

$$1. \text{ Kadar minyak atsiri} = \frac{0,0200}{50,0035} \times 100 \% = 0,04 \%$$

$$2. \text{ Kadar minyak atsiri} = \frac{0,0200}{50,0048} \times 100 \% = 0,04 \%$$

$$3. \text{ Kadar minyak atsiri} = \frac{0,0200}{5,0066} \times 100 \% = 0,04 \%$$

Kadar minyak atsiri rata-rata = 0,04%

B. Sampel Mojokerto lahan 2

No.	Berat awal (g) A	Berat akhir (g) B	% Kadar (b/v)
1.	50,0081	0,0200	0,04
2.	50,0076	0,0200	0,04
3.	50,0064	0,0200	0,04

$$1. \text{ Kadar minyak atsiri} = \frac{0,0200}{50,0081} \times 100 \% = 0,04 \%$$

$$2. \text{ Kadar minyak atsiri} = \frac{0,0200}{50,0076} \times 100 \% = 0,04 \%$$

$$3. \text{ Kadar minyak atsiri} = \frac{0,0200}{50,0064} \times 100 \% = 0,04 \%$$

Kadar minyak atsiri rata-rata = 0,04 %

C. Sampel Ponorogo

No.	Berat awal (g) A	Berat akhir (g) B	% Kadar (b/v)
1.	50,0075	0,0200	0,04
2.	50,0045	0.0200	0,04
3.	50,0035	0,0200	0,04

$$1. \text{ Kadar minyak atsiri} = \frac{0,0200}{50,0075} \times 100 \% = 0,04 \%$$

$$2. \text{ Kadar minyak atsiri} = \frac{0,0200}{50,0045} \times 100 \% = 0,04 \%$$

$$3. \text{ Kadar minyak atsiri} = \frac{0,0200}{50,0035} \times 100 \% = 0,04 \%$$

Kadar minyak atsiri rata-rata = 0,04%

LAMPIRAN 4**PERHITUNGAN SUSUT PENGERINGAN**

Rumus yang digunakan untuk menghitung kadar susut pengeringan adalah sebagai berikut:

$$\text{Kadar susut pengeringan} = \frac{A - B}{A} \times 100 \%$$

A. Sampel Mojokerto lahan 1

No.	Berat awal (g) A	Berat akhir (g) B	Susut pengeringan (%)
1.	2,0457	1,7426	14,82
2.	2,0502	1,7475	14,76
3.	2,0457	1,7399	14,95

$$1. \text{ Kadar susut pengeringan} = \frac{2,0457 - 1,7426}{2,0457} \times 100 \% = 14,82 \%$$

$$2. \text{ Kadar susut pengeringan} = \frac{2,0502 - 1,7475}{2,0502} \times 100 \% = 14,76 \%$$

$$3. \text{ Kadar susut pengeringan} = \frac{2,0457 - 1,7399}{2,0457} \times 100 \% = 14,95 \%$$

$$\text{Kadar susut pengeringan rata-rata} = \frac{14,82 + 14,76 + 14,95}{3} = 14,84 \pm 0,10 \%$$

B. Sampel Mojokerto lahan 2

No.	Berat awal (g) A	Berat akhir (g) B	Susut pengeringan (%)
1.	2,0461	1,7466	14,64
2.	2,0444	1,7426	14,76
3.	2,0448	1,7407	14,87

$$1. \text{ Kadar susut pengeringan} = \frac{2,0461 - 1,7466}{2,0461} \times 100 \% = 14,64 \%$$

$$2. \text{ Kadar susut pengeringan} = \frac{2,0444 - 1,7426}{2,0444} \times 100 \% = 14,76 \%$$

$$3. \text{ Kadar susut pengeringan} = \frac{2,0448 - 1,7407}{2,0448} \times 100 \% = 14,87 \%$$

$$\text{Kadar susut pengeringan rata-rata} = \frac{14,64 + 14,76 + 14,87}{3} = 14,76 \pm 0,12 \%$$

C. Sampel Ponorogo

No.	Berat awal (g) A	Berat akhir (g) B	Susut pengeringan (%)
1.	2,0503	1,7480	14,74
2.	2,0540	1,7519	14,71
3.	2,0555	1,7478	14,97

$$1. \text{ Kadar susut pengeringan} = \frac{2,0503 - 1,7480}{2,0503} \times 100 \% = 14,74 \%$$

$$2. \text{ Kadar susut pengeringan} = \frac{2,0540 - 1,7519}{2,0540} \times 100 \% = 14,71 \%$$

$$3. \text{ Kadar susut pengeringan} = \frac{2,0555 - 1,7478}{2,0555} \times 100 \% = 14,97 \%$$

$$\text{Kadar susut pengeringan rata-rata} = \frac{14,74 + 14,71 + 14,97}{3} = 14,81 \pm 0,14 \%$$

LAMPIRAN 5**PERHITUNGAN KADAR AIR**

Rumus yang digunakan untuk menghitung kadar air adalah sebagai berikut:

$$\text{Kadar air} = \frac{B}{A} \times 100 \%$$

A. Sampel Mojokerto lahan 1

No.	Berat simplisia (g) A	Volume air (ml) B	% Kadar air (b/v)
1.	30,0042	3,0	10,00
2.	30,0031	3,2	10,67
3.	30,0045	3,0	10,00

$$1. \text{ Kadar air} = \frac{3,0}{30,0042} \times 100 \% = 10,00 \%$$

$$2. \text{ Kadar air} = \frac{3,2}{30,0031} \times 100 \% = 10,67 \%$$

$$3. \text{ Kadar air} = \frac{3,0}{30,0045} \times 100 \% = 10,00 \%$$

$$\text{Kadar air rata-rata} = \frac{10,00 + 10,67 + 10,00}{3} = 10,22 \pm 0,39 \%$$

B. Sampel Mojokerto lahan 2

No.	Berat simplisia (g) A	Volume air (ml) B	% Kadar air (b/v)
1.	30,0092	3,9	13,00
2.	30,0096	3,9	13,00
3.	30,0095	3,8	12,66

$$1. \text{ Kadar air} = \frac{3,9}{30,0092} \times 100 \% = 13,00 \%$$

$$2. \text{ Kadar air} = \frac{3,9}{30,0096} \times 100 \% = 13,00 \%$$

$$3. \text{ Kadar air} = \frac{3,8}{30,0095} \times 100 \% = 12,66 \%$$

$$\text{Kadar air rata-rata} = \frac{13,00 + 13,00 + 12,66}{3} = 12,89 \pm 0,20 \%$$

C. Sampel Ponorogo

No.	Berat simplisia (g) A	Volume air (ml) B	% Kadar air (b/v)
1.	30,0061	3,1	10,33
2.	30,0079	3,0	10,00
3.	30,0065	3,0	10,00

$$1. \text{ Kadar air} = \frac{3,1}{30,0061} \times 100 \% = 10,33 \%$$

$$2. \text{ Kadar air} = \frac{3,0}{30,0079} \times 100 \% = 10,00 \%$$

$$3. \text{ Kadar air} = \frac{3,0}{30,0065} \times 100 \% = 10,00 \%$$

$$\text{Kadar air rata-rata} = \frac{10,33 + 10,00 + 10,00}{3} = 10,11 \pm 0,19 \%$$

LAMPIRAN 6**PERHITUNGAN KADAR ABU**

Rumus yang digunakan untuk menghitung kadar abu adalah sebagai berikut:

$$\text{Kadar abu} = \frac{B}{A} \times 100 \%$$

A. Sampel Mojokerto lahan 1

No.	Berat simplisia (g) A	Berat abu (g) B	% Kadar abu
1.	2,0011	0,2399	11,99
2.	2,0009	0,2427	12,13
3.	2,0668	0,2467	11,94

$$1. \text{ Kadar abu} = \frac{0,2399}{2,0011} \times 100 \% = 11,99 \%$$

$$2. \text{ Kadar abu} = \frac{0,2427}{2,0009} \times 100 \% = 12,13 \%$$

$$3. \text{ Kadar abu} = \frac{0,2467}{2,0668} \times 100 \% = 11,94 \%$$

$$\text{Kadar abu rata-rata} = \frac{11,99 + 12,13 + 11,94}{3} = 12,02 \pm 0,10 \%$$

B. Sampel Mojokerto lahan 2

No.	Berat simplisia (g) A	Berat abu (g) B	% Kadar abu
1.	2,0011	0,2703	13,51
2.	2,0903	0,3131	14,98
3.	2,0625	0,2779	13,47

$$1. \text{ Kadar abu} = \frac{0,2703}{2,0011} \times 100 \% = 13,51 \%$$

$$2. \text{ Kadar abu} = \frac{0,3131}{2,0903} \times 100 \% = 14,98 \%$$

$$3. \text{ Kadar abu} = \frac{0,2779}{2,0625} \times 100 \% = 13,47 \%$$

$$\text{Kadar abu rata-rata} = \frac{13,51 + 14,98 + 13,47}{3} = 13,99 \pm 0,86 \%$$

C. Sampel Ponorogo

No.	Berat simplisia (g) A	Berat abu (g) B	% Kadar abu
1.	2,0010	0,2587	12,93
2.	2,0004	0,2975	14,78
3.	2,0602	0,2654	12,88

$$1. \text{ Kadar abu} = \frac{0,2587}{2,0010} \times 100 \% = 12,93 \%$$

$$2. \text{ Kadar abu} = \frac{0,2975}{2,0004} \times 100 \% = 14,78 \%$$

$$3. \text{ Kadar abu} = \frac{0,2654}{2,0602} \times 100 \% = 12,88 \%$$

$$\text{Kadar abu rata-rata} = \frac{12,93 + 14,78 + 12,88}{3} = 13,53 \pm 1,08 \%$$

LAMPIRAN 7**PERHITUNGAN KADAR ABU YANG LARUT AIR**

Rumus yang digunakan untuk menghitung kadar abu larut air adalah sebagai berikut:

$$\text{Kadar abu larut air} = \frac{B}{A} \times 100 \%$$

A. Sampel Mojokerto lahan 1

No.	Berat simplisia (g) A	Berat abu larut air (g) B	% Kadar abu larut air
1.	2,0011	0,0168	0,84
2.	2,0009	0,0154	0,77
3.	2,0668	0.0191	0,92

$$1. \text{ Kadar abu larut air} = \frac{0,0168}{2,0011} \times 100 \% = 0,84 \%$$

$$2. \text{ Kadar abu larut air} = \frac{0,0154}{2,0009} \times 100 \% = 0,77 \%$$

$$3. \text{ Kadar abu larut air} = \frac{0,0191}{2,0668} \times 100 \% = 0,92 \%$$

$$\text{Kadar abu larut air rata-rata} = \frac{0,84 + 0,77 + 0,92}{3} = 0,84 \pm 0,08 \%$$

B. Sampel Mojokerto lahan 2

No.	Berat simplisia (g) A	Berat abu larut air (g) B	% Kadar abu larut air
1.	2,0011	0,0161	0,80
2.	2,0903	0,0199	0,95
3.	2,0625	0.0187	0,91

$$1. \text{ Kadar abu larut air} = \frac{0,0161}{2,0011} \times 100 \% = 0,80 \%$$

$$2. \text{ Kadar abu larut air} = \frac{0,0199}{2,0903} \times 100 \% = 0,95 \%$$

$$3. \text{ Kadar abu larut air} = \frac{0,0187}{2,0625} \times 100 \% = 0,91 \%$$

$$\text{Kadar abu larut air rata-rata} = \frac{0,80 + 0,95 + 0,91}{3} = 0,89 \pm 0,08 \%$$

C. Sampel Ponorogo

No.	Berat simplisia (g) A	Berat abu larut air (g) B	% Kadar abu larut air
1.	2,0010	0,0164	0,82
2.	2,0004	0,0153	0,76
3.	2,0602	0,0197	0,91

$$1. \text{ Kadar abu larut air} = \frac{0,0164}{2,0010} \times 100 \% = 0,82 \%$$

$$2. \text{ Kadar abu larut air} = \frac{0,0153}{2,0004} \times 100 \% = 0,76 \%$$

$$3. \text{ Kadar abu larut air} = \frac{0,0197}{2,0602} \times 100 \% = 0,91 \%$$

$$\text{Kadar abu larut air rata-rata} = \frac{0,82 + 0,76 + 0,91}{3} = 0,83 \pm 0,08 \%$$

LAMPIRAN 8**PERHITUNGAN KADAR ABU YANG TIDAK LARUT ASAM**

Rumus yang digunakan untuk menghitung kadar abu tidak larut asam adalah sebagai berikut:

$$\text{Kadar abu tidak larut asam} = \frac{B}{A} \times 100 \%$$

A. Sampel Mojokerto lahan 1

No.	Berat simplisia (g) A	Berat abu tidak larut asam (g) B	% Kadar abu tidak larut asam
1.	2,0326	0,0276	1,36
2.	2,0343	0,0284	1,40
3.	2,0337	0,0297	1,46

$$1. \text{ Kadar abu tidak larut asam} = \frac{0,0276}{2,0326} \times 100 \% = 1,36 \%$$

$$2. \text{ Kadar abu tidak larut asam} = \frac{0,0284}{2,0343} \times 100 \% = 1,40 \%$$

$$3. \text{ Kadar abu tidak larut asam} = \frac{0,0297}{2,0337} \times 100 \% = 1,46 \%$$

$$\text{Kadar abu tidak larut asam rata-rata} = \frac{1,36 + 1,40 + 1,46}{3} = 1,41 \pm 0,05 \%$$

B. Sampel Mojokerto lahan 2

No.	Berat simplisia (g) A	Berat abu tidak larut asam (g) B	% Kadar abu tidak larut asam
1.	2,0654	0,0237	1,15
2.	2,0678	0,0253	1,22
3.	2,0607	0,0228	1,11

$$1. \text{ Kadar abu tidak larut asam} = \frac{0,0237}{2,0654} \times 100 \% = 1,15 \%$$

$$2. \text{ Kadar abu tidak larut asam} = \frac{0,0253}{2,0678} \times 100 \% = 1,22 \%$$

$$3. \text{ Kadar abu tidak larut asam} = \frac{0,0228}{2,0607} \times 100 \% = 1,11 \%$$

$$\text{Kadar abutidak larut asam rata-rata} = \frac{1,15 + 1,22 + 1,11}{3} = 1,16 \pm 0,06 \%$$

C. Sampel Ponorogo

No.	Berat simplisia (g) A	Berat abu tidak larut asam (g) B	% Kadar abu tidak larut asam
1.	2,0410	0,0244	1,20
2.	2,0504	0,0253	1,23
3.	2,0352	0,0237	1,16

$$1. \text{ Kadar abu tidak larut asam} = \frac{0,0244}{2,0410} \times 100 \% = 1,20 \%$$

$$2. \text{ Kadar abu tidak larut asam} = \frac{0,0253}{2,0504} \times 100 \% = 1,23 \%$$

$$3. \text{ Kadar abu tidak larut asam} = \frac{0,0237}{2,0352} \times 100 \% = 1,16 \%$$

$$\text{Kadar abutidak larut asam rata-rata} = \frac{1,20 + 1,23 + 1,16}{3} = 1,20 \pm 0,04 \%$$

LAMPIRAN 9**PERHITUNGAN FAKTOR SELEKTIVITAS (α) DAN DERAJAT KETERPISAHAN (R_s)**

Rumus yang digunakan untuk menghitung harga α dan R_s adalah sebagai berikut:

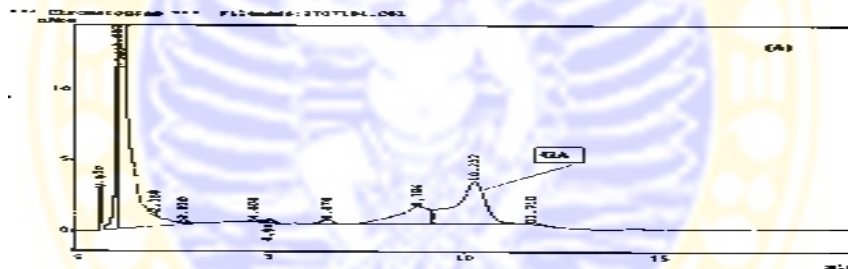
$$\alpha = \frac{t_{R2} - t_{R0}}{t_{R1} - t_{R0}} \qquad R_s = 2 \frac{t_{R2} - t_{R1}}{w_2 + w_1}$$

Dimana: t_{R0} = Waktu tambat analit yang awal muncul

t_{R2} = Waktu tambat analit 2

t_{R1} = Waktu tambat analit 1

w_2 dan w_1 = Lebar dasar puncak dan diukur antara titik potong garis singgung pada kedua sisi puncak dengan poros horizontal



Gambar Kromatogram HPLC gendarusin A sampel Mojokerto lahan 1

Hasil uji selektivitas gendarusin A dalam sampel Mojokerto lahan 1

Nama Zat	t_R	α	R_s
Gendarusin A	10,252	1,1792	0,7765

Perhitungan :

$$\alpha = \frac{t_{R2} - t_{R0}}{t_{R1} - t_{R0}} = \frac{10,252 - 0,670}{8,796 - 0,670} = 1,1792$$

$$R_s = 2 \frac{t_{R2} - t_{R1}}{w_2 + w_1} = 2 \frac{10,252 - 8,796}{1,9318 + 1,8182} = 0,7765$$

LAMPIRAN 10**PERHITUNGAN PROSEN PEROLEHAN KEMBALI GENDARUSIN A****1. Sampel Mojokerto lahan 1****a. Sampel di adisi dengan standar gendarusin A 2,52 ppm**

1. Sampel replikasi 1 + standar 2,52 ppm

$$\text{Luas area} = 121,037$$

$$\text{Konsentrasi} = 3,8500 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \mu\text{g} \times 3,8500 \mu\text{g/ml} = 0,0770 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam } 100 \mu\text{l} = 100 \mu\text{l}/20 \mu\text{l} \times 0,0770 \mu\text{g} = 0,3850 \mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{Gendarusin A dari sampel} &= 50 \mu\text{l larutan sampel } 4,3131 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,2100 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Standar gendarusin A} &= 50 \mu\text{l larutan standar } 2,5200 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,126 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,3850 \mu\text{g}}{0,2100 \mu\text{g} + 0,1260 \mu\text{g}} \times 100\% = 114,58 \%$$

2. Sampel replikasi 2 + standar 2,52 ppm

$$\text{Luas area} = 126,153$$

$$\text{Konsentrasi} = 4,0112 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \mu\text{g} \times 4,0112 \mu\text{g/ml} = 0,0802 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam } 100 \mu\text{l} = 100 \mu\text{l}/20 \mu\text{l} \times 0,0802 \mu\text{g} = 0,4010 \mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{Gendarusin A dari sampel} &= 50 \mu\text{l larutan sampel } 4,6727 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,2400 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Standar gendarusin A} &= 50 \mu\text{l larutan standar } 2,5200 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,126 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,4010 \mu\text{g}}{0,2400 \mu\text{g} + 0,1260 \mu\text{g}} \times 100\% = 109,56 \%$$

3. Sampel replikasi 3 + standar 2,52 ppm

$$\text{Luas area} = 130,269$$

$$\text{Konsentrasi} = 4,1408 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \mu\text{g} \times 4,1408 \mu\text{g/ml} = 0,0828 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam } 100 \mu\text{l} = 100 \mu\text{l}/20 \mu\text{l} \times 0,0828 \mu\text{g} = 0,4140 \mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{Gendarusin A dari sampel} &= 50 \mu\text{l} \text{ larutan sampel } 4,8616 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,2400 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Standar gendarusin A} &= 50 \mu\text{l} \text{ larutan standar } 2,5200 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,126 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,4140 \mu\text{g}}{0,2400 \mu\text{g} + 0,1260 \mu\text{g}} \times 100\% = 113,11 \%$$

$$\begin{aligned} \text{Prosen rekoveri rata-rata} &= \frac{114,58 + 109,56 + 113,11}{3} \times 100\% \\ &= 112,42 \pm 2,58 \% \end{aligned}$$

b. Sampel di adisi dengan standar gendarusin A 5,05 ppm

1. Sampel replikasi 1 + standar 5,05 ppm

$$\text{Luas area} = 152,917$$

$$\text{Konsentrasi} = 4,8540 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \mu\text{g} \times 4,8540 \mu\text{g/ml} = 0,0971 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam } 100 \mu\text{l} = 100 \mu\text{l}/20 \mu\text{l} \times 0,0971 \mu\text{g} = 0,4855 \mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{Gendarusin A dari sampel} &= 50 \mu\text{l} \text{ larutan sampel } 4,3131 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,2100 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Standar gendarusin A} &= 50 \mu\text{l} \text{ larutan standar } 5,0400 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,2520 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,4855 \mu\text{g}}{0,2100 \mu\text{g} + 0,2520 \mu\text{g}} \times 100\% = 105,09 \%$$

2. Sampel replikasi 2 + standar 5,04 ppm

$$\text{Luas area} = 159,281$$

$$\text{Konsentrasi} = 5,0544 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \mu\text{g} \times 5,0544 \mu\text{g/ml} = 0,1011 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam } 100 \mu\text{l} = 100 \mu\text{l}/20 \mu\text{l} \times 0,1011 \mu\text{g} = 0,5055 \mu\text{g}$$

$$\text{Gendarusin A dari sampel} = 50 \mu\text{l} \text{ larutan sampel } 4,6727 \mu\text{g/ml}$$

$$= 0,2400 \mu\text{g}$$

$$\text{Standar gendarusin A} = 50 \mu\text{l larutan standar } 5,0400 \mu\text{g/ml}$$

$$= 0,2520 \mu\text{g}$$

$$\% \text{Recoveri} = \frac{0,5055 \mu\text{g}}{0,2400 \mu\text{g} + 0,2520 \mu\text{g}} \times 100\% = 102,74 \%$$

3. Sampel replikasi 3 + standar 5,04 ppm

$$\text{Luas area} = 162,105$$

$$\text{Konsentrasi} = 5,1434 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \mu\text{g} \times 5,1434 \mu\text{g/ml} = 0,1029 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam } 100 \mu\text{l} = 100 \mu\text{l}/20 \mu\text{l} \times 0,1029 \mu\text{g} = 0,5145 \mu\text{g}$$

$$\text{Gendarusin A dari sampel} = 50 \mu\text{l larutan sampel } 4,8616 \mu\text{g/ml}$$

$$= 0,2400 \mu\text{g}$$

$$\text{Standar gendarusin A} = 50 \mu\text{l larutan standar } 5,0400 \mu\text{g/ml}$$

$$= 0,2520 \mu\text{g}$$

$$\% \text{Recoveri} = \frac{0,5145 \mu\text{g}}{0,2400 \mu\text{g} + 0,2520 \mu\text{g}} \times 100\% = 104,57 \%$$

$$\begin{aligned} \text{Prosen rekovery rata-rata} &= \frac{105,09 + 102,74 + 104,57}{3} \times 100\% \\ &= 104,13 \pm 1,23 \% \end{aligned}$$

c. Sampel di adisi dengan standar gendarusin A 10,08 ppm

1. Sampel replikasi 1 + standar 10,08 ppm

$$\text{Luas area} = 220,108$$

$$\text{Konsentrasi} = 6,9700 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \mu\text{g} \times 6,9700 \mu\text{g/ml} = 0,1394 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam } 100 \mu\text{l} = 100 \mu\text{l}/20 \mu\text{l} \times 0,1394 \mu\text{g} = 0,6970 \mu\text{g}$$

$$\text{Gendarusin A dari sampel} = 50 \mu\text{l larutan sampel } 4,3131 \mu\text{g/ml}$$

$$= 0,2100 \mu\text{g}$$

$$\text{Standar gendarusin A} = 50 \mu\text{l larutan standar } 10,0800 \mu\text{g/ml}$$

$$= 0,5040 \mu\text{g}$$

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,6970 \mu\text{g}}{0,2100 \mu\text{g} + 0,5040 \mu\text{g}} \times 100\% = 97,62 \%$$

2. Sampel replikasi 2 + standar 10,08 ppm

$$\text{Luas area} = 229,258$$

$$\text{Konsentrasi} = 7,2582 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \mu\text{g} \times 7,2582 \mu\text{g/ml} = 0,1452 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam } 100 \mu\text{l} = 100 \mu\text{l}/20 \mu\text{l} \times 0,1452 \mu\text{g} = 0,7260 \mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{Gendarusin A dari sampel} &= 50 \mu\text{l} \text{ larutan sampel } 4,6727 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,2400 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Standar gendarusin A} &= 50 \mu\text{l} \text{ larutan standar } 10,08 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,5040 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,7260 \mu\text{g}}{0,2400 \mu\text{g} + 0,5040 \mu\text{g}} \times 100\% = 97,58 \%$$

3. Sampel replikasi 3 + standar 10,08 ppm

$$\text{Luas area} = 232,769$$

$$\text{Konsentrasi} = 7,3688 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \mu\text{g} \times 7,3688 \mu\text{g/ml} = 0,1474 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam } 100 \mu\text{l} = 100 \mu\text{l}/20 \mu\text{l} \times 0,1474 \mu\text{g} = 0,7370 \mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{Gendarusin A dari sampel} &= 50 \mu\text{l} \text{ larutan sampel } 4,8616 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,2400 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Standar gendarusin A} &= 50 \mu\text{l} \text{ larutan standar } 10,0800 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,5040 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,7370 \mu\text{g}}{0,2400 \mu\text{g} + 0,5040 \mu\text{g}} \times 100\% = 99,06 \%$$

$$\begin{aligned} \text{Prosen rekoveri rata-rata} &= \frac{97,62 + 97,58 + 99,06}{3} \times 100\% \\ &= 98,09 \pm 0,84 \% \end{aligned}$$

2. Sampel Mojokerto lahan 2

a. Sampel di adisi dengan standar gendarusin A 2,52 ppm

1. Sampel replikasi 1 + standar 2,52 ppm

$$\text{Luas area} = 142,604$$

$$\text{Konsentrasi} = 4,5292 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \mu\text{g} \times 4,5292 \mu\text{g/ml} = 0,0906 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam } 100 \mu\text{l} = 100 \mu\text{l}/20 \mu\text{l} \times 0,0906 \mu\text{g} = 0,4530 \mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{Gendarusin A dari sampel} &= 50 \mu\text{l larutan sampel } 6,2586 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,3150 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Standar gendarusin A} &= 50 \mu\text{l larutan standar } 2,5200 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,126 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,4530 \mu\text{g}}{0,3150 \mu\text{g} + 0,1260 \mu\text{g}} \times 100\% = 102,72 \%$$

2. Sampel replikasi 2 + standar 2,52 ppm

$$\text{Luas area} = 149,157$$

$$\text{Konsentrasi} = 4,7356 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \mu\text{g} \times 4,7356 \mu\text{g/ml} = 0,0947 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam } 100 \mu\text{l} = 100 \mu\text{l}/20 \mu\text{l} \times 0,0947 \mu\text{g} = 0,4735 \mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{Gendarusin A dari sampel} &= 50 \mu\text{l larutan sampel } 6,3118 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,3150 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Standar gendarusin A} &= 50 \mu\text{l larutan standar } 2,5200 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,126 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,4735 \mu\text{g}}{0,3150 \mu\text{g} + 0,1260 \mu\text{g}} \times 100\% = 107,37 \%$$

3. Sampel replikasi 3 + standar 2,52 ppm

$$\text{Luas area} = 152,709$$

$$\text{Konsentrasi} = 4,8475 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \mu\text{g} \times 4,8475 \mu\text{g/ml} = 0,0970 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam } 100 \mu\text{l} = 100 \mu\text{l}/20 \mu\text{l} \times 0,0970 \mu\text{g} = 0,4850 \mu\text{g}$$

Gendarusin A dari sampel = 50 μ l larutan sampel 6,3992 μ g/ml
= 0,2400 μ g

Standar gendarusin A = 50 μ l larutan standar 2,5200 μ g/ml
= 0,3150 μ g

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,4850 \mu\text{g}}{0,3150 \mu\text{g} + 0,1260 \mu\text{g}} \times 100\% = 109,98 \%$$

$$\begin{aligned} \text{Prosen rekoveri rata-rata} &= \frac{102,72 + 107,37 + 109,98}{3} \times 100\% \\ &= 106,69 \pm 3,68 \% \end{aligned}$$

b. Sampel di adisi dengan standar gendarusin A 5,05 ppm

1. Sampel replikasi 1 + standar 5,05 ppm

Luas area = 203,616

Konsentrasi = 6,4507 μ g/ml

Dalam 20 μ l = 0,02 μ g x 6,4507 μ g/ml = 0,1290 μ g

Dalam 100 μ l = 100 μ l/20 μ l x 0,1290 μ g = 0,6450 μ g

Gendarusin A dari sampel = 50 μ l larutan sampel 6,2586 μ g/ml
= 0,3150 μ g

Standar gendarusin A = 50 μ l larutan standar 5,0400 μ g/ml
= 0,2520 μ g

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,6450 \mu\text{g}}{0,3150 \mu\text{g} + 0,2520 \mu\text{g}} \times 100\% = 113,76 \%$$

2. Sampel replikasi 2 + standar 5,04 ppm

Luas area = 198,382

Konsentrasi = 6,2858 μ g/ml

Dalam 20 μ l = 0,02 μ g x 6,2858 μ g/ml = 0,1257 μ g

Dalam 100 μ l = 100 μ l/20 μ l x 0,1257 μ g = 0,6285 μ g

Gendarusin A dari sampel = 50 μ l larutan sampel 6,3118 μ g/ml
= 0,3150 μ g

Standar gendarusin A = 50 μ l larutan standar 5,0400 μ g/ml

$$= 0,2520 \mu\text{g}$$

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,6285 \mu\text{g}}{0,3150 \mu\text{g} + 0,2520 \mu\text{g}} \times 100\% = 110,85 \%$$

3. Sampel replikasi 3 + standar 5,04 ppm

$$\text{Luas area} = 209,596$$

$$\text{Konsentrasi} = 6,6390 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \mu\text{g} \times 6,6390 \mu\text{g/ml} = 0,1328 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam } 100 \mu\text{l} = 100 \mu\text{l}/20 \mu\text{l} \times 0,1328 \mu\text{g} = 0,6640 \mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{Gendarusin A dari sampel} &= 50 \mu\text{l} \text{ larutan sampel } 6,3992 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,3150 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Standar gendarusin A} &= 50 \mu\text{l} \text{ larutan standar } 5,0400 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,2520 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,6640 \mu\text{g}}{0,3150 \mu\text{g} + 0,25200 \mu\text{g}} \times 100\% = 117,11 \%$$

$$\begin{aligned} \text{Prosen rekoveri rata-rata} &= \frac{113,76 + 110,85 + 117,11}{3} \times 100\% \\ &= 113,91 \pm 3,13 \% \end{aligned}$$

c. Sampel di adisi dengan standar gendarusin A 10,08 ppm

1. Sampel replikasi 1 + standar 10,08 ppm

$$\text{Luas area} = 241,205$$

$$\text{Konsentrasi} = 7,6344 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \mu\text{g} \times 7,6344 \mu\text{g/ml} = 0,1527 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam } 100 \mu\text{l} = 100 \mu\text{l}/20 \mu\text{l} \times 0,1527 \mu\text{g} = 0,7635 \mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{Gendarusin A dari sampel} &= 50 \mu\text{l} \text{ larutan sampel } 6,2586 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,3150 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Standar gendarusin A} &= 50 \mu\text{l} \text{ larutan standar } 10,0800 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,5040 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,7635 \mu\text{g}}{0,3150 \mu\text{g} + 0,5040 \mu\text{g}} \times 100\% = 93,22 \%$$

2. Sampel replikasi 2 + standar 10,08 ppm

$$\text{Luas area} = 267,084$$

$$\text{Konsentrasi} = 8,4494 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \mu\text{g} \times 8,4494 \mu\text{g/ml} = 0,1690 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam } 100 \mu\text{l} = 100 \mu\text{l}/20 \mu\text{l} \times 0,1690 \mu\text{g} = 0,8450 \mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{Gendarusin A dari sampel} &= 50 \mu\text{l larutan sampel } 6,3118 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,3150 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Standar gendarusin A} &= 50 \mu\text{l larutan standar } 10,08 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,5040 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,8450 \mu\text{g}}{0,3150 \mu\text{g} + 0,5040 \mu\text{g}} \times 100\% = 103,17 \%$$

3. Sampel replikasi 3 + standar 10,08 ppm

$$\text{Luas area} = 274,355$$

$$\text{Konsentrasi} = 8,6784 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \mu\text{g} \times 8,6784 \mu\text{g/ml} = 0,1736 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam } 100 \mu\text{l} = 100 \mu\text{l}/20 \mu\text{l} \times 0,1736 \mu\text{g} = 0,8680 \mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{Gendarusin A dari sampel} &= 50 \mu\text{l larutan sampel } 6,3992 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,3150 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Standar gendarusin A} &= 50 \mu\text{l larutan standar } 10,0800 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,5040 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,8680 \mu\text{g}}{0,3150 \mu\text{g} + 0,5040 \mu\text{g}} \times 100\% = 105,98 \%$$

$$\begin{aligned} \text{Prosen rekoveri rata-rata} &= \frac{93,22 + 103,17 + 105,98}{3} \times 100\% \\ &= 100,79 \pm 6,70 \% \end{aligned}$$

3. Sampel Ponorogo

a. Sampel di adisi dengan standar gendarusin A 2,52 ppm

1. Sampel replikasi 1 + standar 2,52 ppm

Luas area = 165,791
 Konsentrasi = 5,2595 µg/ml
 Dalam 20 µl = 0,02 µg x 5,2595 µg/ml = 0,1106 µg
 Dalam 100 µl = 100 µl/20 µl x 0,1106 µg = 0,5530 µg
 Gendarusin A dari sampel = 50 µl larutan sampel 7,9820 µg/ml
 = 0,4050 µg
 Standar gendarusin A = 50 µl larutan standar 2,5200 µg/ml
 = 0,126 µg

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,5530 \mu\text{g}}{0,4050 \mu\text{g} + 0,1260 \mu\text{g}} \times 100\% = 104,14 \%$$

2. Sampel replikasi 2 + standar 2,52 ppm

Luas area = 168,750
 Konsentrasi = 5,3526 µg/ml
 Dalam 20 µl = 0,02 µg x 5,3526 µg/ml = 0,1065 µg
 Dalam 100 µl = 100 µl/20 µl x 0,1065 µg = 0,5325 µg
 Gendarusin A dari sampel = 50 µl larutan sampel 8,0556 µg/ml
 = 0,4050 µg
 Standar gendarusin A = 50 µl larutan standar 2,5200 µg/ml
 = 0,126 µg

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,5325 \mu\text{g}}{0,4050 \mu\text{g} + 0,1260 \mu\text{g}} \times 100\% = 100,28 \%$$

3. Sampel replikasi 3 + standar 2,52 ppm

Luas area = 166,254
 Konsentrasi = 5,2740 µg/ml
 Dalam 20 µl = 0,02 µg x 5,2740 µg/ml = 0,1055 µg
 Dalam 100 µl = 100 µl/20 µl x 0,1055 µg = 0,5275 µg
 Gendarusin A dari sampel = 50 µl larutan sampel 7,9144 µg/ml
 = 0,4050 µg
 Standar gendarusin A = 50 µl larutan standar 2,5200 µg/ml
 = 0,3150 µg

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,5275 \mu\text{g}}{0,4050 \mu\text{g} + 0,1260 \mu\text{g}} \times 100\% = 99,34 \%$$

$$\begin{aligned} \text{Prosen rekoveri rata-rata} &= \frac{104,14 + 100,28 + 99,34}{3} \times 100\% \\ &= 101,25 \pm 2,54 \% \end{aligned}$$

b. Sampel di adisi dengan standar gendarusin A 5,05 ppm

1. Sampel replikasi 1 + standar 5,05 ppm

$$\text{Luas area} = 200,996$$

$$\text{Konsentrasi} = 6,3682 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \mu\text{g} \times 6,3682 \mu\text{g/ml} = 0,1274 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam } 100 \mu\text{l} = 100 \mu\text{l}/20 \mu\text{l} \times 0,1274 \mu\text{g} = 0,6370 \mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{Gendarusin A dari sampel} &= 50 \mu\text{l} \text{ larutan sampel } 7,9820 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,4050 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Standar gendarusin A} &= 50 \mu\text{l} \text{ larutan standar } 5,0400 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,2520 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,6370 \mu\text{g}}{0,4050 \mu\text{g} + 0,2520 \mu\text{g}} \times 100\% = 96,96 \%$$

2. Sampel replikasi 2 + standar 5,04 ppm

$$\text{Luas area} = 197,741$$

$$\text{Konsentrasi} = 6,2656 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \mu\text{g} \times 6,2656 \mu\text{g/ml} = 0,1253 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam } 100 \mu\text{l} = 100 \mu\text{l}/20 \mu\text{l} \times 0,1253 \mu\text{g} = 0,6265 \mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{Gendarusin A dari sampel} &= 50 \mu\text{l} \text{ larutan sampel } 8,0556 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,4050 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Standar gendarusin A} &= 50 \mu\text{l} \text{ larutan standar } 5,0400 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,2520 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,6265 \mu\text{g}}{0,4050 \mu\text{g} + 0,2520 \mu\text{g}} \times 100\% = 95,36 \%$$

3. Sampel replikasi 3 + standar 5,04 ppm

$$\text{Luas area} = 197,881$$

$$\text{Konsentrasi} = 6,2701 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \mu\text{g} \times 6,2701 \mu\text{g/ml} = 0,1254 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam } 100 \mu\text{l} = 100 \mu\text{l}/20 \mu\text{l} \times 0,1254 \mu\text{g} = 0,6270 \mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{Gendarusin A dari sampel} &= 50 \mu\text{l larutan sampel } 7,9144 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,4050 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Standar gendarusin A} &= 50 \mu\text{l larutan standar } 5,0400 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,2520 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,6270 \mu\text{g}}{0,4050 \mu\text{g} + 0,25200 \mu\text{g}} \times 100\% = 95,43 \%$$

$$\begin{aligned} \text{Prosen rekoveri rata-rata} &= \frac{96,96 + 95,36 + 95,43}{3} \times 100\% \\ &= 95,92 \pm 0,90 \% \end{aligned}$$

c. Sampel di adisi dengan standar gendarusin A 10,08 ppm

1. Sampel replikasi 1 + standar 10,08 ppm

$$\text{Luas area} = 271,114$$

$$\text{Konsentrasi} = 8,5763 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \mu\text{g} \times 8,5763 \mu\text{g/ml} = 0,1715 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam } 100 \mu\text{l} = 100 \mu\text{l}/20 \mu\text{l} \times 0,1715 \mu\text{g} = 0,8575 \mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{Gendarusin A dari sampel} &= 50 \mu\text{l larutan sampel } 7,9820 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,4050 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Standar gendarusin A} &= 50 \mu\text{l larutan standar } 10,0800 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,5040 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,8575 \mu\text{g}}{0,4050 \mu\text{g} + 0,5040 \mu\text{g}} \times 100\% = 94,33 \%$$

2. Sampel replikasi 2 + standar 10,08 ppm

$$\text{Luas area} = 305,206$$

$$\text{Konsentrasi} = 9,6500 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \mu\text{g} \times 9,6500 \mu\text{g/ml} = 0,1930 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam } 100 \mu\text{l} = 100 \mu\text{l}/20 \mu\text{l} \times 0,1930 \mu\text{g} = 0,9650 \mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{Gendarusin A dari sampel} &= 50 \mu\text{l larutan sampel } 8,0556 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,4050 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Standar gendarusin A} &= 50 \mu\text{l larutan standar } 10,08 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,5040 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,9650 \mu\text{g}}{0,4050 \mu\text{g} + 0,5040 \mu\text{g}} \times 100\% = 106,16 \%$$

3. Sampel replikasi 3 + standar 10,08 ppm

$$\text{Luas area} = 292,431$$

$$\text{Konsentrasi} = 9,2477 \mu\text{g/ml}$$

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \mu\text{g} \times 9,2477 \mu\text{g/ml} = 0,1850 \mu\text{g}$$

$$\text{Dalam } 100 \mu\text{l} = 100 \mu\text{l}/20 \mu\text{l} \times 0,1850 \mu\text{g} = 0,9250 \mu\text{g}$$

$$\begin{aligned} \text{Gendarusin A dari sampel} &= 50 \mu\text{l larutan sampel } 7,9144 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,4050 \mu\text{g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Standar gendarusin A} &= 50 \mu\text{l larutan standar } 10,0800 \mu\text{g/ml} \\ &= 0,5040 \mu\text{g} \end{aligned}$$

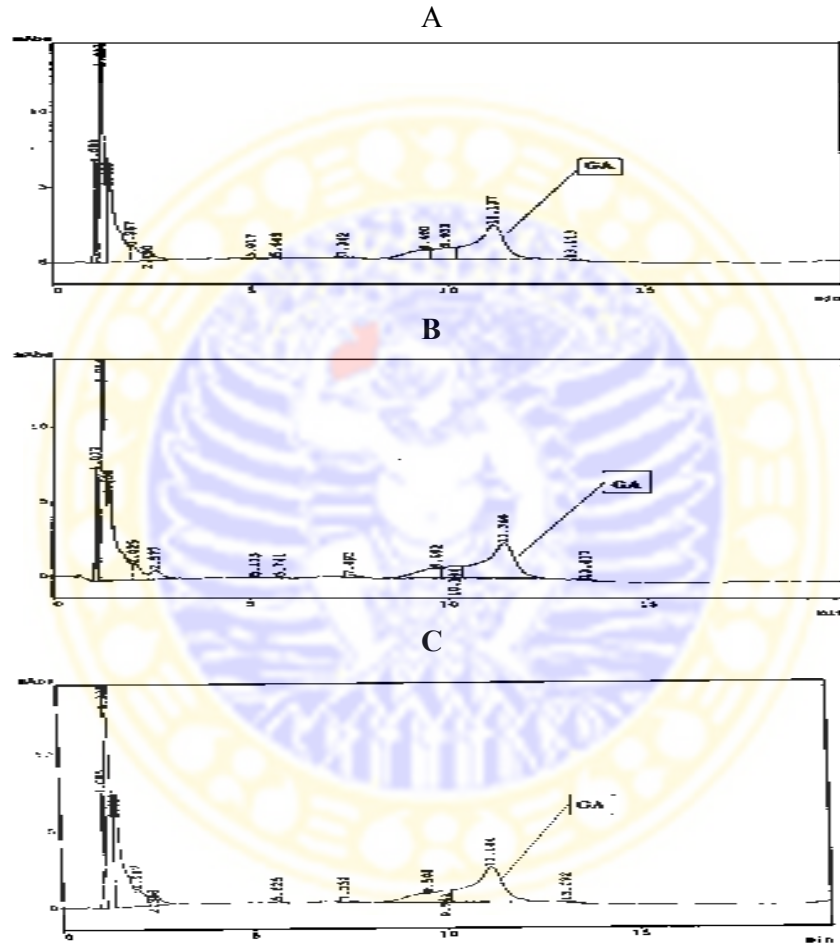
$$\% \text{Rekoveri} = \frac{0,9250 \mu\text{g}}{0,4050 \mu\text{g} + 0,5040 \mu\text{g}} \times 100\% = 101,76 \%$$

$$\begin{aligned} \text{Prosen rekoveri rata-rata} &= \frac{94,33 + 106,16 + 101,76}{3} \times 100\% \\ &= 100,75 \pm 5,98 \% \end{aligned}$$

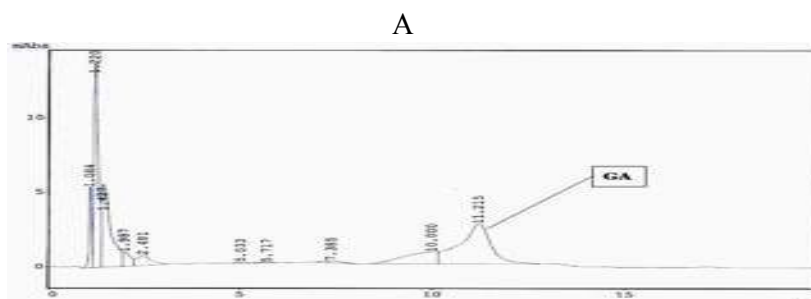
LAMPIRAN 11

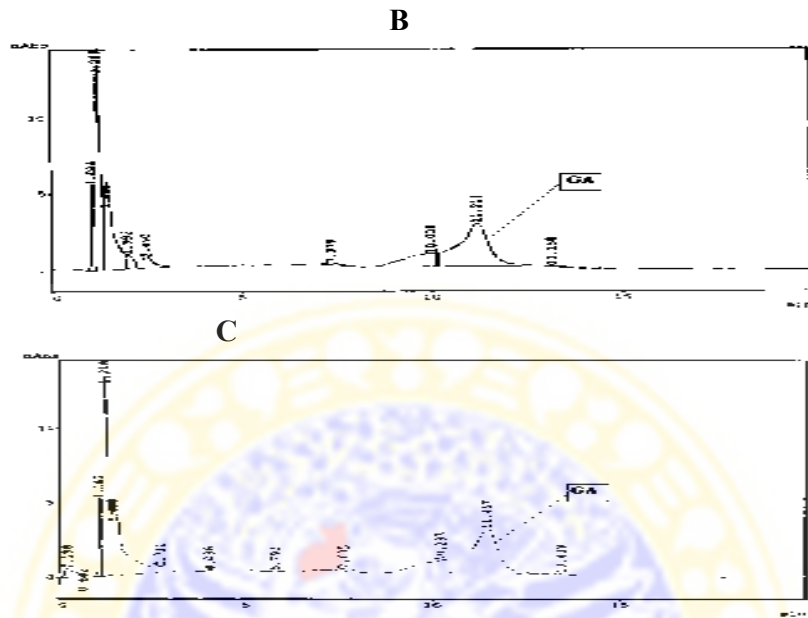
KROMATOGRAM ADISI GENDARUSIN A DAN SAMPEL

1. Kromatogram Adisi Gendarusin A dan sampel Mojokerto lahan 1

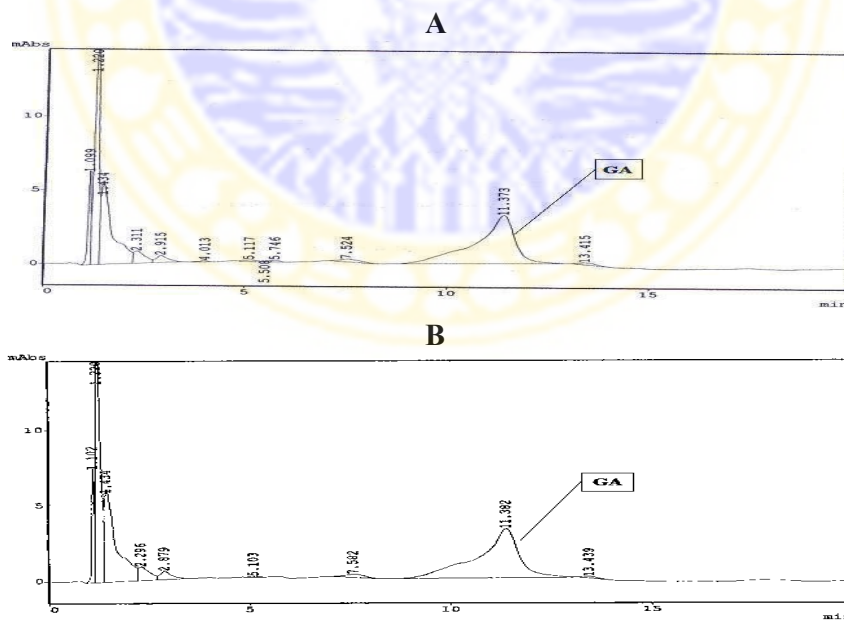


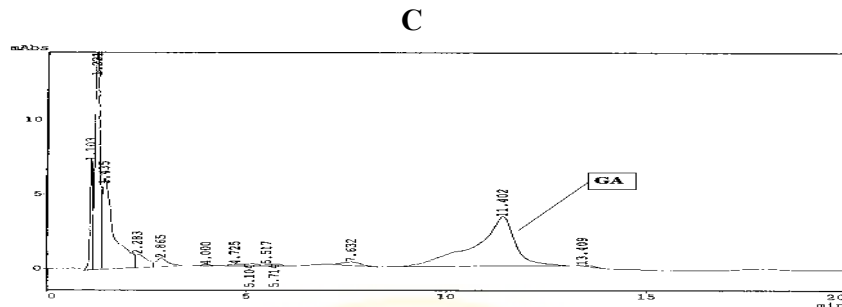
Gambar kromatogram sampel Mojokerto lahan 1 diadisi dengan standar gendarusin A 2,52 ppm. (A) Replikasi 1; (B) Replikasi 2; (C) Replikasi 3.



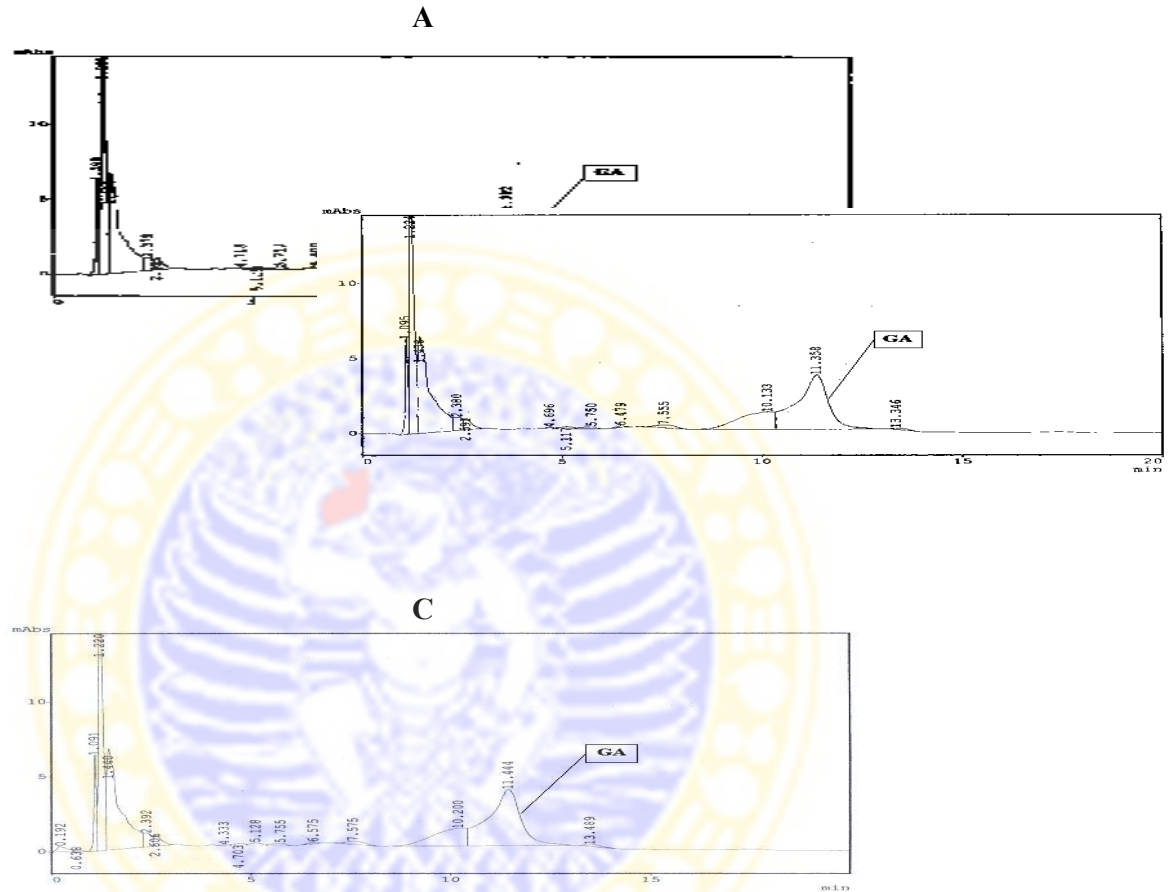


Gambar kromatogram sampel Mojokerto lahan 1 diadisi dengan standar gendarusin A 5,04 ppm. (A) Replikasi 1; (B) Replikasi 2; (C) Replikasi 3

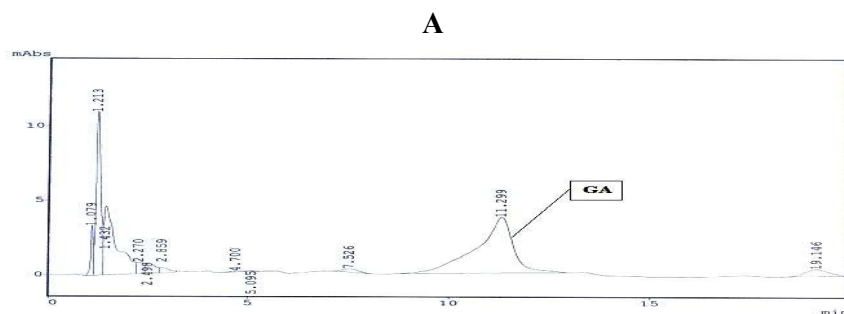


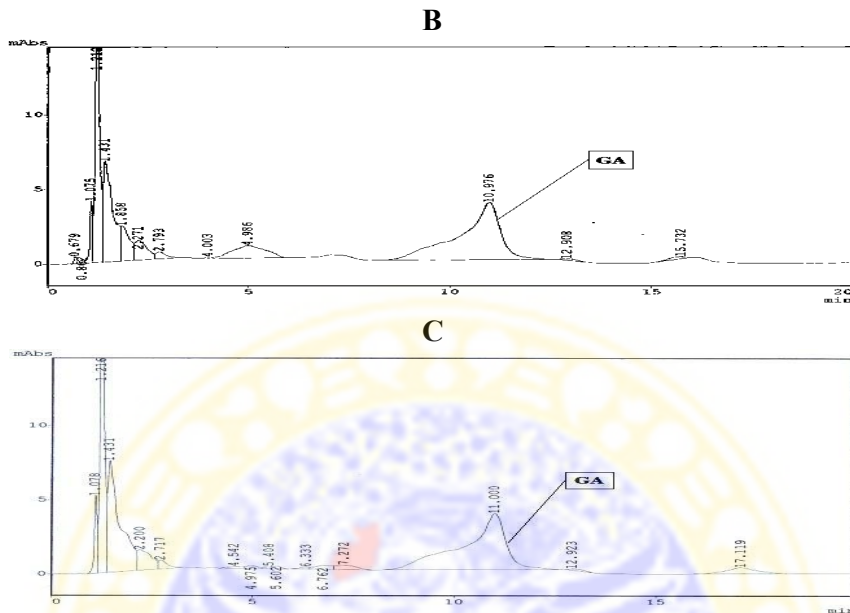


Gambar kromatogram sampel Mojokerto lahan 2 diadisi dengan standar gendarusin A 2,52 ppm. (A) Replikasi 1; (B) Replikasi 2; (C) Replikasi 3.



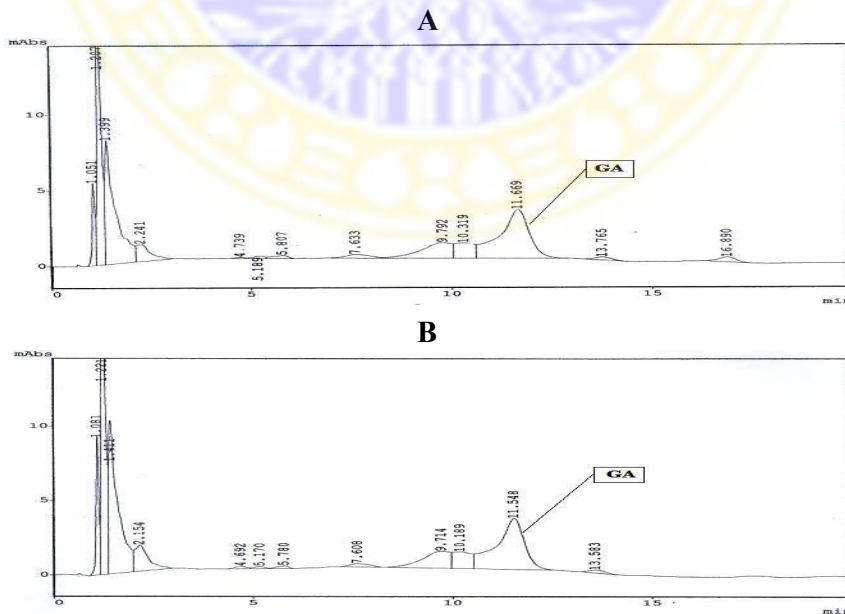
Gambar kromatogram sampel Mojokerto lahan 2 diadisi dengan standar gendarusin A 5,04 ppm. (A) Replikasi 1; (B) Replikasi 2; (C) Replikasi 3



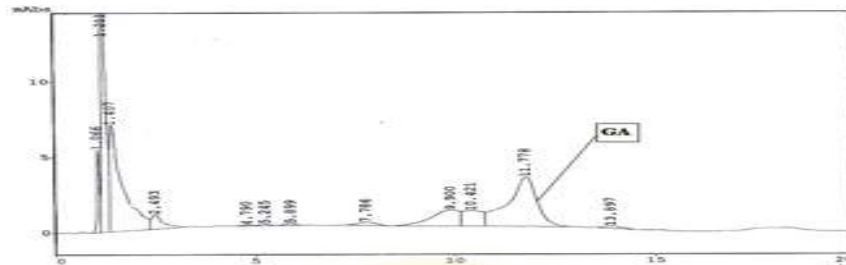


Gambar kromatogram sampel Mojokerto lahan 2 diadisi dengan standar gendarusin A 10,08 ppm. (A) Replikasi 1; (B) Replikasi 2; (C) Replikasi 3

3. Kromatogram Adisi Gendarusin A dan sampel Ponorogo

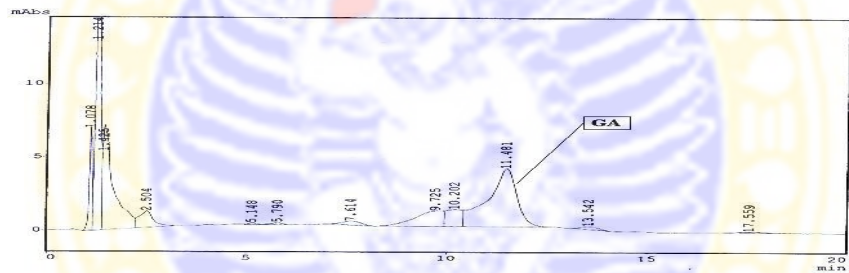


C

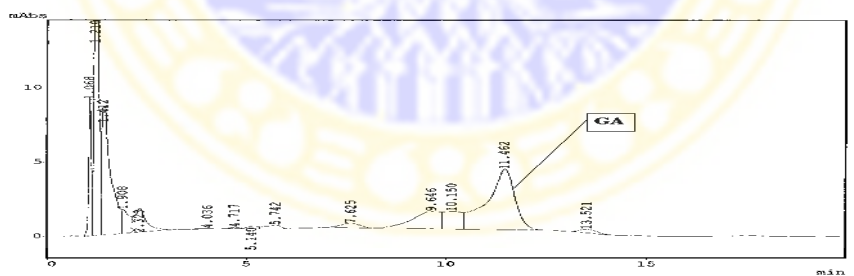


Gambar kromatogram sampel Ponorogo diadisi dengan standar gendarusin A 2,52 ppm. (A) Replikasi 1; (B) Replikasi 2; (C) Replikasi 3.

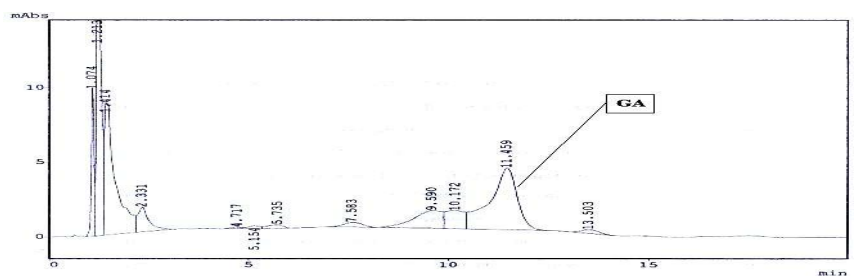
A



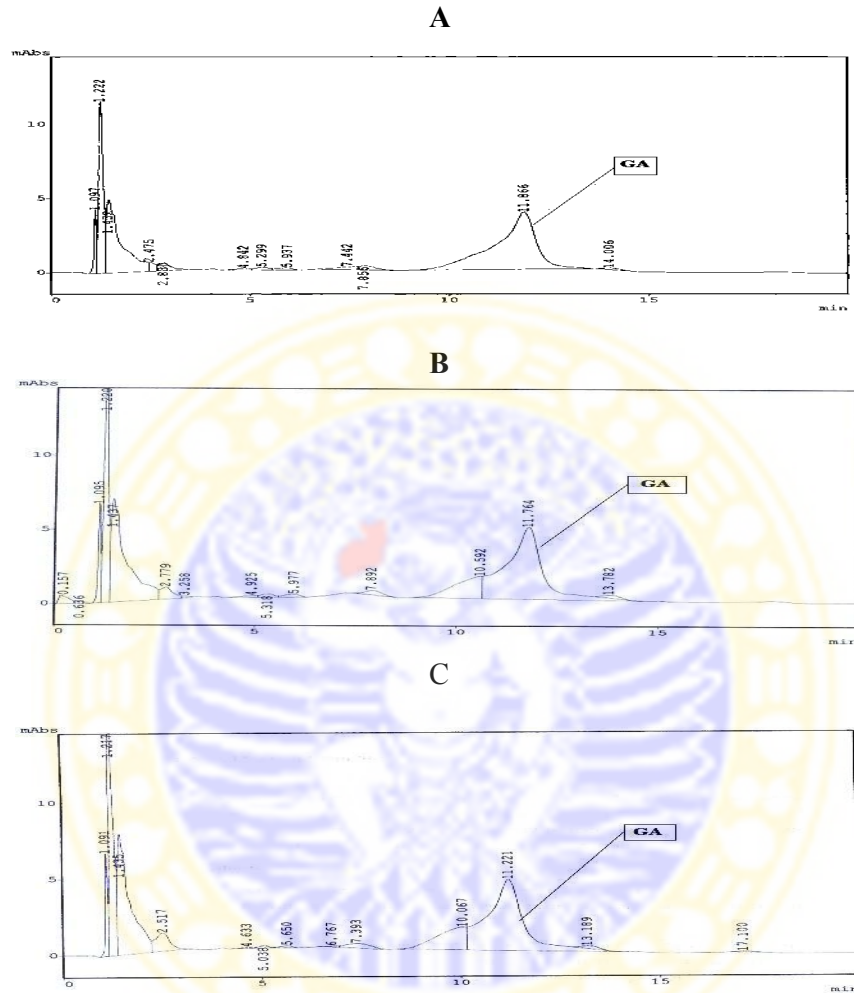
B



C



Gambar kromatogram sampel Ponorogo diadisi dengan standar gendarusin A 5,04 ppm. (A) Replikasi 1; (B) Replikasi 2; (C) Replikasi



Gambar kromatogram sampel Ponorogo diadisi dengan standar gendarusin A 10,08 ppm. (A) Replikasi 1; (B) Replikasi 2; (C) Replikasi 3

LAMPIRAN 12**PERHITUNGAN KADAR GENDARUSIN A****A. Perhitungan kadar gendarusin A dalam sampel Mojokerto lahan 1**

Sampel	Luas Area	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)
1	135,740	4,3131
2	147,161	4,6727
3	153,158	4,8616

1. Sampel 1

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \text{ ml} \times 4,3131 \mu\text{g/ml} = 0,0863 \mu\text{g} \approx 25 \text{ ml}$$

$$\text{Dalam } 25 \text{ ml} = \frac{25\text{ml}}{0,02\text{ml}} \times 0,0863 \mu\text{g} = 107,8750 \mu\text{g}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{0,1079\text{mg}}{75,0015\text{mg}} \times 100 \% = 0,14 \%$$

2. Sampel 2

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \text{ ml} \times 4,6727 \mu\text{g/ml} = 0,0935 \mu\text{g} \approx 25 \text{ ml}$$

$$\text{Dalam } 25 \text{ ml} = \frac{25\text{ml}}{0,02\text{ml}} \times 0,0935 \mu\text{g} = 116,8750 \mu\text{g}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{0,1169\text{mg}}{75,0020\text{mg}} \times 100 \% = 0,16 \%$$

3. Sampel 3

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \text{ ml} \times 4,8616 \mu\text{g/ml} = 0,09720 \mu\text{g} \approx 25 \text{ ml}$$

$$\text{Dalam } 25 \text{ ml} = \frac{25\text{ml}}{0,02\text{ml}} \times 0,0972 \mu\text{g} = 121,5000 \mu\text{g}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{0,1215\text{mg}}{75,0018\text{mg}} \times 100 \% = 0,16 \%$$

Kadar gendarusin A rata-rata Mojokerto lahan 1 = $0,15 \pm 0,01 \%$

B. Perhitungan kadar gendarusin A dalam sampel Mojokerto lahan 2

Sampel	Luas Area	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)
1	197,517	6,2586
2	199,208	6,3118
3	201,759	6,3922

1. Sampel 1

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \text{ ml} \times 6,2586 \mu\text{g/ml} = 0,1252 \mu\text{g} \approx 25 \text{ ml}$$

$$\text{Dalam } 25 \text{ ml} = \frac{25 \text{ ml}}{0,02 \text{ ml}} \times 0,1252 \mu\text{g} = 156,5000 \mu\text{g}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{0,1565 \text{ mg}}{75,0012 \text{ mg}} \times 100 \% = 0,21 \%$$

2. Sampel 2

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \text{ ml} \times 6,3118 \mu\text{g/ml} = 0,1262 \mu\text{g} \approx 25 \text{ ml}$$

$$\text{Dalam } 25 \text{ ml} = \frac{25 \text{ ml}}{0,02 \text{ ml}} \times 0,1262 \mu\text{g} = 157,7500 \mu\text{g}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{0,1578 \text{ mg}}{75,0020 \text{ mg}} \times 100 \% = 0,21 \%$$

3. Sampel 3

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \text{ ml} \times 6,3922 \mu\text{g/ml} = 0,1278 \mu\text{g} \approx 25 \text{ ml}$$

$$\text{Dalam } 25 \text{ ml} = \frac{25 \text{ ml}}{0,02 \text{ ml}} \times 0,1278 \mu\text{g} = 159,7500 \mu\text{g}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{0,1598 \text{ mg}}{75,0015 \text{ mg}} \times 100 \% = 0,21 \%$$

Kadar gendarusin A rata-rata Mojokerto lahan 2 = 0,21 %

C. Perhitungan kadar gendarusin A dalam sampel Ponorogo

Sampel	Luas Area	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)
--------	-----------	----------------------------------

Ponorogo		
1	252,242	7,9820
2	254,579	8,0556
3	249,952	7,9144

1. Sampel 1

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \text{ ml} \times 7,9820 \mu\text{g/ml} = 0,1596 \mu\text{g} \approx 25 \text{ ml}$$

$$\text{Dalam } 25 \text{ ml} = \frac{25 \text{ ml}}{0,02 \text{ ml}} \times 0,1596 \mu\text{g} = 199,5000 \mu\text{g}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{0,1995 \text{ mg}}{75,0038 \text{ mg}} \times 100 \% = 0,27 \%$$

2. Sampel 2

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \text{ ml} \times 8,0556 \mu\text{g/ml} = 0,1611 \mu\text{g} \approx 25 \text{ ml}$$

$$\text{Dalam } 25 \text{ ml} = \frac{25 \text{ ml}}{0,02 \text{ ml}} \times 0,1611 \mu\text{g} = 201,3750 \mu\text{g}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{0,2014 \text{ mg}}{75,0010 \text{ mg}} \times 100 \% = 0,27 \%$$

3. Sampel 3

$$\text{Dalam } 20 \mu\text{l} = 0,02 \text{ ml} \times 7,9144 \mu\text{g/ml} = 0,1583 \mu\text{g} \approx 25 \text{ ml}$$

$$\text{Dalam } 25 \text{ ml} = \frac{25 \text{ ml}}{0,02 \text{ ml}} \times 0,1583 \mu\text{g} = 197,875 \mu\text{g}$$

$$\% \text{ kadar} = \frac{0,1979 \text{ mg}}{75,0024 \text{ mg}} \times 100 \% = 0,26 \%$$

Kadar gendarusin A rata-rata Ponorogo = $0,27 \pm 0,01 \%$

LAMPIRAN 13

TABEL KOEFISIEN KORELASI LINIER

TABLE 8
Values of r (Simple Correlation Coefficient) for -
Different Levels of Significance

n	.1	.05	.02	.01	.001
1	.98769	.99692	.999507	.999877	.9999988
2	.90000	.95000	.98000	.990000	.99900
3	.8054	.8763	.93433	.95873	.99116
4	.7793	.8114	.8822	.91720	.97406
5	.6694	.7545	.8329	.8745	.95074
6	.6215	.7067	.7887	.8343	.92493
7	.5822	.6664	.7498	.7977	.8982
8	.5494	.6319	.7155	.7646	.8721
9	.5214	.6021	.6851	.7348	.8471
10	.4975	.5760	.6581	.7079	.8233
11	.4762	.5529	.6339	.6835	.8010
12	.4575	.5324	.6120	.6614	.7800
13	.4409	.5139	.5923	.6411	.7603
14	.4259	.4973	.5742	.6226	.7420
15	.4124	.4821	.5577	.6055	.7246
16	.4000	.4683	.5425	.5897	.7084
17	.3887	.4555	.5285	.5741	.6932
18	.3783	.4438	.5155	.5614	.6787
19	.3687	.4329	.5034	.5487	.6652
20	.3598	.4227	.4921	.5368	.6524
25	.3233	.3809	.4451	.4869	.5974
30	.2960	.3494	.4093	.4487	.5541
35	.2746	.3246	.3810	.4182	.5189
40	.2573	.3044	.3578	.3932	.4896
45	.2428	.2875	.3384	.3721	.4648
50	.2306	.2732	.3218	.3541	.4433
60	.2108	.2500	.2948	.3248	.4078
70	.1954	.2319	.2737	.3017	.3799
80	.1829	.2172	.2565	.2830	.3568
90	.1726	.2050	.2422	.2673	.3375
100	.1638	.1946	.2301	.2540	.3211

SOURCE: This table is abridged from Table VII of Fisher & Yates: *Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical Research* published by Oliver & Boyd Ltd., Edinburgh, and by permission of the authors and publishers.

Dikutip dari : Yamane, T, 1973. *Statistics an Introductory Analysis*, 3th Ed.,
New York: Harper & Row, pp. 1092

LAMPIRAN 14

LAPORAN HASIL PENETAPAN KADAR CEMARAN LOGAM BERAT SAMPEL MOJOKERTO LAHAN 1



DEPARTEMEN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA
Jalan Karangmenjangan No. 18 Surabaya 60286
Telp. Tata Usaha : 031-5021451, Kabag. TU / Fax. : 031-5021452 pes. 104, 031-5020388
e-mail : blksurb@idola.net.id



Nomor : L 003386 / 234 / 051 / BHN / III / 2009
Jenis bahan : Serbuk Justicia Gandarusa
Dikirim oleh : Firman Yuris P
Alamat : Kallkepting Jaya I No.17A , Surabaya .
Diterima di BBLK tgl : 24 Maret 2009
Diambil oleh : Yang bersangkutan

HASIL ANALISA KIMIA

PARAMETER	HASIL	SATUAN
Timbal (Pb)	0,382	ppm
Merkuri (Hg)	Tak terdeteksi	ppm
Arsen (As)	Tak terdeteksi	ppm
Kadmium (Cd)	0,107	ppm
Pestisida	Negatif terhadap gol. : Organo fosfat Organo klorin Karbamat	

CATATAN :

- Hasil Pemeriksaan ini hanya berlaku untuk contoh tersebut diatas.
- Hasil Pemeriksaan ini tidak boleh dipergunakan untuk keperluan iklan / reklame.



Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya
Manajer Teknik

Dwi Endah Puspitasari, S.Si, Apt
NIP 140349803

LAMPIRAN 15

LAPORAN HASIL PENETAPAN KADAR CEMARAN LOGAM BERAT
SAMPEL MOJOKERTO LAHAN 2

DEPARTEMEN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA
 Jalan Karangmenjangan No. 18 Surabaya 60286
 Telp. Tata Usaha : 031-5021451, Kabag. TU / Fax.: 031-5021452 pes. 104, 031-5020388
 E-mail : blksb@idola.net.id



Nomor Lab. : L 004302 / 320 / 051 / AM / IV / 2009
 Jenis bahan : Serbuk Justicia Gendarusa
 Dikirim oleh : FIRMAN YURIS P
 Alamat : Kalikeping Jaya I No.17^A, Surabaya.
 Diambil oleh : Yang bersangkutan
 Tanggal diterima di BBLK : 14 April 2009

HASIL ANALISA KIMIA

NO.	PARAMETER	HASIL	SATUAN
1	Timbal (Pb)	0,427	ppm
2	Kadmium (Cd)	0,098	ppm
3	Merkuri (Hg)	Tak terdeteksi	ppm
4	Arsen (As)	Tak terdeteksi	ppm
5	Pestisida	Residu Pestisida : <i>Negatif</i> Negatif terhadap Gol. Organo Phospat, Organo Klorin dan Karbamat	

CATATAN :

- Hasil Pemeriksaan ini hanya berlaku untuk contoh tersebut diatas.
- Hasil Pemeriksaan ini tidak boleh dipergunakan untuk keperluan iklan/reklame

24 April 2009

Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya
 Manajer Teknik,

Dwi Endah Puspitasari
 Dwi Endah Puspitasari, S.Si, Apt.
 NIP. 140349803

LAMPIRAN 16

LAPORAN HASIL PENETAPAN KADAR CEMARAN LOGAM BERAT
SAMPEL PONOROGO

DEPARTEMEN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA
Jalan Karangmenjangan No. 18 Surabaya 60286
Telp. Tata Usaha : 031-5021451, Kabag. TU / Fax.: 031-5021452 pes. 104, 031-5020388
E-mail : blksbb@idola.net.id



Nomor Lab. : L 003715 / 256 / 051 / AM / III / 2009
Jenis bahan : Daun Gendarusa
Dikirim oleh : OKTA DWIANA R
Alamat : Jl. Tangkuban Pahu No.66 , Surabaya .
Diambil oleh : Yang bersangkutan
Tanggal diterima di BBLK : 31 Maret 2009

HASIL ANALISA KIMIA

NO.	PARAMETER	HASIL	SATUAN
1	Cadmium (Cd)	0,438	ppm
2	Merkuri (Hg)	1,829	ppm
3	Arsen (As)	0,000	ppm
4	Timbal (Pb)	0,000	ppm
5	Organoklorin	Negatif	
6	Organophospat	Negatif	
7	Karbamat	Negatif	

CATATAN :

- Hasil Pemeriksaan ini hanya berlaku untuk contoh tersebut diatas.
- Hasil Pemeriksaan ini tidak boleh dipergunakan untuk keperluan identifikasi.

14 April 2009



LAMPIRAN 17

**LAPORAN HASIL PEMERIKSAAN MIKROBIOLOGI SAMPEL
MOJOKERTO LAHAN 1**



**DEPARTEMEN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
DIREKTORAT JENDERAL BINA PELAYANAN MEDIK
BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA**

Jalan Karangmenjangan No. 18 Surabaya 60286
Telepon Pelayanan: (031) 5020306, TU: (031) 5021451 Faksimili: (031) 5020388
Website: bblksurabaya.com : Surat elektronik: bblksub@yahoo.co.id



HASIL PEMERIKSAAN MIKROBIOLOGI

Nomor : L012053 / 1396 M / Bakt / Rhs / IX / 2010
 Jenis bahan : 1 (satu) Contoh Serbuk Daun Gandarusa 2
 Diambil oleh : Pengirim sendiri
 Dikirim oleh : OKTA
 Alamat : Jl. Tangkuban Perahu 66 Pepelegi, Waru-Sidoarjo
 Diambil tanggal : 15 September 2010

SERBUK DAUN GANDARUSA

KULTUR :

- Angka Lempeng Total : 36.700
- Angka Lempeng Total Kapang : 700

22 September 2010

Perhatian

- Hasil pemeriksaan hanya untuk contoh diatas
- Hasil pemeriksaan ini tidak dapat dipergunakan sebagai iklan / reklame
- Dilarang menggandakan dokumen ini tanpa seijin pihak BBLK Surabaya



Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya
Kepala Instalasi Bakteriologi Sanitasi

Anto Pardede, A MdK
NIP 196605051989022001

LAMPIRAN 18

**LAPORAN HASIL PEMERIKSAAN MIKROBIOLOGI SAMPEL
MOJOKERTO LAHAN 2**



**DEPARTEMEN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
DIREKTORAT JENDERAL BINA PELAYANAN MEDIK
BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA**

Jalan Karangmenjangan No. 18 Surabaya 60286
Telepon Pelayanan: (031) 5020306, TU: (031) 5021451 Faksimili: (031)5020388
Website: bblksurabaya.com : Surat elektronik: bblksurabaya@yahoo.co.id



HASIL PEMERIKSAAN MIKROBIOLOGI

Nomor : L012053 / 1396 M / Bakt / Rhs / IX / 2010
Jenis bahan : 1 (satu) Contoh Serbuk Daun Gandarusa 1
Diambil oleh : Pengirim sendiri
Dikirim oleh : OKTA
Alamat : Jl. Tangkuban Perahu 66 Pepelegi, Waru-Sidoarjo
Diambil tanggal : 15 September 2010

SERBUK DAUN GANDARUSA

KULTUR :

- Angka Lempeng Total : 26.700
- Angka Lempeng Total Kapang : 780

22 September 2010

Perhatian

- Hasil pemeriksaan hanya untuk contoh diatas
- Hasil pemeriksaan ini tidak dapat dipergunakan sebagai iklan / reklame
- Dilarang mengandakan dokumen ini tanpa seijin pihak BBLK Surabaya



Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya
Kepala Instalasi Bakteriologi Sanitasi

**Soni Pardede, A MdK
NIP 196605051989022001**

LAPORAN HASIL PEMERIKSAAN MIKROBIOLOGI SAMPEL MOJOKERTO LAHAN 1 DAN MOJOKERTO LAHAN 2 (Lanjutan)



DEPARTEMEN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
DIREKTORAT JENDERAL BINA PELAYANAN MEDIK
BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA

Jalan Karangmenjangan No. 18 Surabaya 60286
Telepon Pelayanan: (031) 5020306, TU: (031) 5021451 Faksimili: (031) 5020388
Website: bblksureabaya.com : Surat elektronik: bblksub@yahoo.co.id



HASIL PEMERIKSAAN MIKROBIOLOGI

Nomor : L 010167 - 10 / 1253 - 1254 M / Bakt / Rhs / VIII / 2010
Jenis bahan : 2 (dua) Contoh Daun Gendarussa
Diambil oleh : Pengirim sendiri
Dikirim oleh : Okta Dwiana Rizqa
Alamat : Jl. Tangkuban Perahu No. 66, Pepelegi, Sidoarjo
Tanggal : 30 Juli 2010

1. DAUN GENDARUSSA (KODE BATCH NO. : 01)

KULTUR :

- Angka Lempeng Total Khamir : 0
- Salmonella : Negatif
- E. coli : Negatif
- Staphylococcus aureus : Negatif
- Pseudomonas aeruginosa : Negatif

2. DAUN GENDARUSSA (KODE BATCH NO. : 3)

KULTUR :

- Angka Lempeng Total Khamir : 0
- Salmonella : Negatif
- E. coli : Negatif
- Staphylococcus aureus : Negatif
- Pseudomonas aeruginosa : Negatif

06 Agustus 2010

Perhatian :

- Hasil pemeriksaan hanya untuk contoh diatas
- Hasil pemeriksaan ini tidak dapat dipergunakan sebagai iklan / reklame
- Dilarang menggandakan dokumen ini tanpa seizin pihak BBLK Surabaya



Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya
Kepala Instalasi Bakteriologi Sanitasi

Sarta Pardada, A MdK
NIP 196605051989022001

LAMPIRAN 19

LAPORAN HASIL PEMERIKSAAN MIKROBIOLOGI SAMPEL PONOROGO



**DEPARTEMEN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
DIREKTORAT JENDERAL BINA PELAYANAN MEDIK
BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA**

Jalan Karangmenjangan No. 18 Surabaya 60286
Telepon Pelayanan: (031) 5020306, TU: (031) 5021451 Faksimili: (031) 5020388
Website: bblksurabaya.com ; Surat elektronik: bblksub@yahoo.co.id



HASIL PEMERIKSAAN MIKROBIOLOGI

Nomor : L012053 / 1396 M / Bakt / RhS / IX / 2010
 Jenis bahan : 1 (satu) Contoh Serbuk Daun Gandarusa 3
 Diambil oleh : Pengirim sendiri
 Dikirim oleh : OKTA
 Alamat : Jl. Tangkuban Perahu 66 Pepelegi, Waru-Sidoarjo
 Diambil tanggal : 15 September 2010

SERBUK DAUN GANDARUSA

KULTUR :

- Angka Lempeng Total : 27.700
 - Angka Lempeng Total Kapang : 800

22 September 2010

Perhatian

- Hasil pemeriksaan hanya untuk contoh diatas
- Hasil pemeriksaan ini tidak dapat dipergunakan sebagai iklan / reklame
- Dilarang menggandakan dokumen ini tanpa seijin pihak BBLK Surabaya



Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya
Kepala Instalasi Bakteriologi Sanitasi

**Sinta Pardede, A MdK
NIP 196605051989022001**

LAPORAN HASIL PEMERIKSAAN MIKROBIOLOGI SAMPEL PONOROGO (Lanjutan)



DEPARTEMEN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
DIREKTORAT JENDERAL BINA PELAYANAN MEDIK
BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA

Jalan Karangmenjangan No. 18 Surabaya 60286
Telepon Pelayanan: (031) 5020306, TU: (031) 5021451 Faksimili: (031) 5020393
Website: bbksurabaya.com : Surat elektronik: bbksurb@yahoo.co.id



HASIL PEMERIKSAAN MIKROBIOLOGI

Nomor : L 010174 / 1255 M / Bakt / RhS / VIII / 2010
Jenis bahan : 1 (satu) Contoh Serbuk Daun Gandarusa
Diambil oleh : Pengirim sendiri
Dikirim oleh : Okta Dwiana Rizqa
Alamat : Jl. Tangkuban Perahu No. 66, Pepelegi, Sidoarjo
Tanggal : 30 Juli 2010

SERBUK DAUN GENDARUSSA.

KULTUR :


- Angka Lempeng Total Khamir : 0
- Salmonella : Negatif
- E. coli : Negatif
- Staphylococcus aureus : Negatif
- Pseudomonas aeruginosa : Negatif

06 Agustus 2010

Perhatian :

- Hasil pemeriksaan hanya untuk contoh diatas
- Hasil pemeriksaan ini tidak dapat dipergunakan sebagai iklan / reklame
- Dilarang mengandakan dokumen ini tanpa seijin pihak BELK Surabaya

Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya
Unit Staf dan Staf Bakteriologi Sanitasi



Serta Pardede, A MdK
NIP 196605051989022001

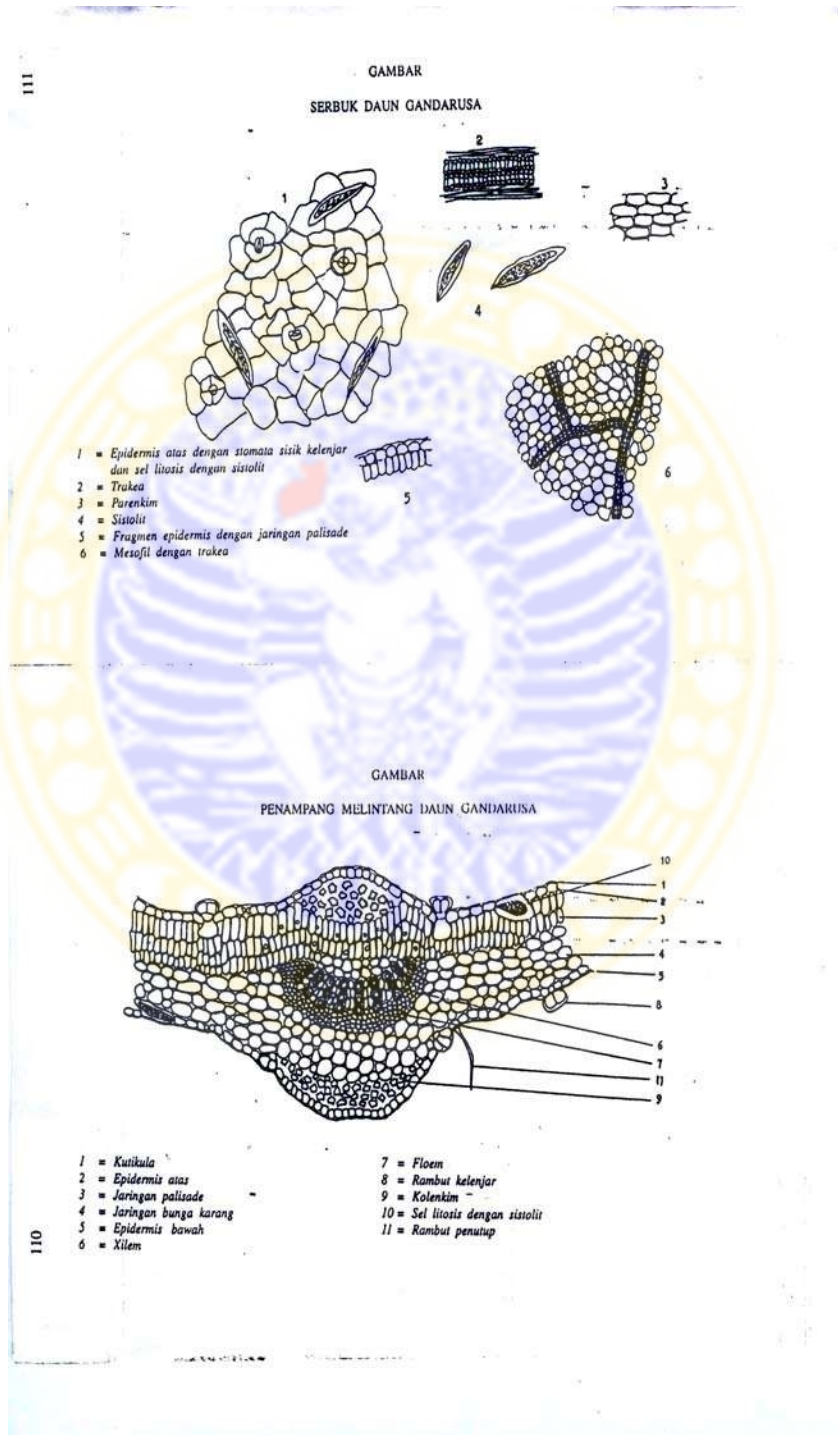
LAMPIRAN 20

LAPORAN PROSEDUR EKSTRAKSI DAN EVAPORASI

PT. SIDO JODO Natural Medicine Ind Mojokerto - Indonesia	INSTRUKSI KERJA EKSTRAKSI SIMPLISIA BERSIH		Halaman:																															
			1 dari 1																															
DEPARTEMEN EKSTRAKSI		Nomor		Tanggal																														
Disusun oleh:	Disetujui oleh:	Diketahui oleh:	Mengganti Nomor																															
Tanggal :	Tanggal :	Tanggal :	Tanggal																															
<p>I. Tujuan Sebagai pedoman bagi pelaksana dalam proses ekstraksi simplisia agar didapat ekstrak yang terstandar.</p> <p>II. Pelaksana Petugas Ekstraksi</p> <p>III. Prosedur III. 1. EKSTRAKSI</p>																																		
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Rincian</th> <th>Petugas</th> <th>Supervisor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> <ol style="list-style-type: none"> Pastikan tabung ekstraksi dalam keadaan bersih Serbuk daun Gendarusa direndam dalam air-asam klorida pH 3 selama 3 x 24 jam. Hasil yang didapat disaring dan residu dicuci dengan air sampai didapat pH 7. Antara Residu dan filtrat yang didapat dipisahkan, residu yang didapat dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C sesuai dengan instruksi kerja pengeringan simplisia dengan open listrik. Setelah serbuk daun gendarusa kering, direndam dengan etanol 70% (Ekstraksi dengan cara maserasi sebanyak 3X, setiap maserasi selama 24 jam) dengan pengadukan selama 1 jam setiap 8 jam sekali Saring sehingga didapat ekstrak cair etanol 70 % untuk dipekatkan. </td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>					Rincian	Petugas	Supervisor	<ol style="list-style-type: none"> Pastikan tabung ekstraksi dalam keadaan bersih Serbuk daun Gendarusa direndam dalam air-asam klorida pH 3 selama 3 x 24 jam. Hasil yang didapat disaring dan residu dicuci dengan air sampai didapat pH 7. Antara Residu dan filtrat yang didapat dipisahkan, residu yang didapat dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C sesuai dengan instruksi kerja pengeringan simplisia dengan open listrik. Setelah serbuk daun gendarusa kering, direndam dengan etanol 70% (Ekstraksi dengan cara maserasi sebanyak 3X, setiap maserasi selama 24 jam) dengan pengadukan selama 1 jam setiap 8 jam sekali Saring sehingga didapat ekstrak cair etanol 70 % untuk dipekatkan. 																										
Rincian	Petugas	Supervisor																																
<ol style="list-style-type: none"> Pastikan tabung ekstraksi dalam keadaan bersih Serbuk daun Gendarusa direndam dalam air-asam klorida pH 3 selama 3 x 24 jam. Hasil yang didapat disaring dan residu dicuci dengan air sampai didapat pH 7. Antara Residu dan filtrat yang didapat dipisahkan, residu yang didapat dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C sesuai dengan instruksi kerja pengeringan simplisia dengan open listrik. Setelah serbuk daun gendarusa kering, direndam dengan etanol 70% (Ekstraksi dengan cara maserasi sebanyak 3X, setiap maserasi selama 24 jam) dengan pengadukan selama 1 jam setiap 8 jam sekali Saring sehingga didapat ekstrak cair etanol 70 % untuk dipekatkan. 																																		
<p>III. 2. EVAPORASI</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Rincian</th> <th>Petugas</th> <th>Supervisor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> <ol style="list-style-type: none"> Pastikan tabung evaporasi dalam keadaan bersih Ekstrak cair yang didapat disedot dengan vacuum ke dalam tabung evaporasi Jalankan mesin evaporasi sesuai dengan instruksi kerja pengopersian mesin evaporasi Tampung sisa penyari (ethanol) Setelah didapat ekstrak kental, keluarkan ekstrak dari tabung evaporasi. Untuk mendapatkan ekstrak yang lebih kental, ekstrak yang didapat diopen pada suhu maximum 50°C hingga didapat ekstrak dengan susut pengeringan 10% Ekstrak kental yang didapat ditimbang. </td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>					Rincian	Petugas	Supervisor	<ol style="list-style-type: none"> Pastikan tabung evaporasi dalam keadaan bersih Ekstrak cair yang didapat disedot dengan vacuum ke dalam tabung evaporasi Jalankan mesin evaporasi sesuai dengan instruksi kerja pengopersian mesin evaporasi Tampung sisa penyari (ethanol) Setelah didapat ekstrak kental, keluarkan ekstrak dari tabung evaporasi. Untuk mendapatkan ekstrak yang lebih kental, ekstrak yang didapat diopen pada suhu maximum 50°C hingga didapat ekstrak dengan susut pengeringan 10% Ekstrak kental yang didapat ditimbang. 																										
Rincian	Petugas	Supervisor																																
<ol style="list-style-type: none"> Pastikan tabung evaporasi dalam keadaan bersih Ekstrak cair yang didapat disedot dengan vacuum ke dalam tabung evaporasi Jalankan mesin evaporasi sesuai dengan instruksi kerja pengopersian mesin evaporasi Tampung sisa penyari (ethanol) Setelah didapat ekstrak kental, keluarkan ekstrak dari tabung evaporasi. Untuk mendapatkan ekstrak yang lebih kental, ekstrak yang didapat diopen pada suhu maximum 50°C hingga didapat ekstrak dengan susut pengeringan 10% Ekstrak kental yang didapat ditimbang. 																																		
<p>IV. Hasil Dari Proses ini adalah:</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>No</th> <th>Keterangan</th> <th>I</th> <th>II</th> <th>III</th> <th>IV</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1.</td> <td>Jumlah simplisia yang diasamkan (kg)</td> <td>100</td> <td>100</td> <td>100</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>2.</td> <td>Jumlah serbuk Daun setelah proses pengasaman (kg)</td> <td>56,2</td> <td>55</td> <td>56,5</td> <td>57</td> </tr> <tr> <td>3.</td> <td>Hasil Ekstrak cair (liter)</td> <td>793</td> <td>795</td> <td>797</td> <td>803</td> </tr> <tr> <td>4.</td> <td>Hasil Ekstrak kental (gram)</td> <td>2865</td> <td>2910</td> <td>2865</td> <td>2925</td> </tr> </tbody> </table>					No	Keterangan	I	II	III	IV	1.	Jumlah simplisia yang diasamkan (kg)	100	100	100	100	2.	Jumlah serbuk Daun setelah proses pengasaman (kg)	56,2	55	56,5	57	3.	Hasil Ekstrak cair (liter)	793	795	797	803	4.	Hasil Ekstrak kental (gram)	2865	2910	2865	2925
No	Keterangan	I	II	III	IV																													
1.	Jumlah simplisia yang diasamkan (kg)	100	100	100	100																													
2.	Jumlah serbuk Daun setelah proses pengasaman (kg)	56,2	55	56,5	57																													
3.	Hasil Ekstrak cair (liter)	793	795	797	803																													
4.	Hasil Ekstrak kental (gram)	2865	2910	2865	2925																													
<p>Telah Diperiksa Kembali Oleh:</p> <table border="1"> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Supervisor</td> <td>PPIC</td> <td>Api Penanggung Jawab</td> <td>Ops Manager</td> <td></td> </tr> </table>										Supervisor	PPIC	Api Penanggung Jawab	Ops Manager																					
Supervisor	PPIC	Api Penanggung Jawab	Ops Manager																															

LAMPIRAN 21

GAMBAR SERBUK DAUN dan PENAMPANG MELINTANG DAUN *J. gendarussa* Burm f. BERDASARKAN MMI



LAMPIRAN 22

DATA PARAMETER SPESIFIK DAN NON SPESIFIK

Parameter	<i>J. gendarussa</i> Burm f. (MMI)	<i>J. gendarussa</i> Burm f. (Sampel Mojokerto lahan 1)	<i>J. gendarussa</i> Burm f. (Sampel Mojokerto lahan 2)	<i>J. gendarussa</i> Burm f. (Sampel Ponorogo)
PK. Sari larut air	Tidak kurang dari 24%	40,92 ± 0,17 %	48,28 ± 0,26 %	42,76 ± 1,29 %
PK. Sari larut etanol	Tidak kurang dari 6%	4,92 ± 0,07 %	7,40 ± 0,45 %	5,61 ± 0,39 %
PK. Minyak atsiri		0,04 %	0,04 %	0,04 %
PK. Gendarusin A		0,15 ± 0,01 %	0,21 %	0,27 ± 0,01 %
PK. Abu	Tidak lebih dari 8%	12,02 ± 0,10 %	13,99 ± 0,86 %	13,53 ± 1,08 %
PK. Abu larut air	Tidak lebih dari 1%	0,84 ± 0,08 %	0,89 ± 0,08 %	0,83 ± 0,08 %
PK. Abu tidak larut asam	Tidak kurang dari 1%	1,41 ± 0,05 %	1,16 ± 0,06 %	1,20 ± 0,04 %
Susut Pengerinan		14,84 ± 0,10 %	14,76 ± 0,12 %	14,81 ± 0,14 %
PK. Air		10,22 ± 0,39 %	12,89 ± 0,20 %	10,11 ± 0,19 %
PK. Cemarkan logam berat Timbal (Pb) Merkuri (Hg) Arsen (As) Kadmium (Cd)	Berdasarkan WHO Maks. 10 ppm Maks. 0,5 ppm Maks. 5 ppm Maks. 0,3 ppm	0,382 ppm Tak terdeteksi Tak terdeteksi 0,107 ppm	0,427 ppm Tak terdeteksi Tak terdeteksi 0,098 ppm	Tak terdeteksi 1,829 ppm Tak terdeteksi 0,438 ppm
PK. Residu pestisida Gol. Organo phosphat Gol. Organo klorin Karbamat		Negatif Negatif Negatif	Negatif Negatif Negatif	Negatif Negatif Negatif
PK Cemarkan Mikroba Angka Lempeng Total (ALT) ALT Kapang ALT Khamir Salmonella Escherichia coli Staphylococcus aureus Pseudomonas aeruginosa	Berdasarkan WHO Maks. 10 ⁵ /g Maks. 10 ³ /g Maks. 10 ³ /g Negatif Maks. 10/g negatif negatif	36.700 700 0 negatif negatif negatif negatif	26.700 780 0 negatif negatif negatif negatif	27.700 800 0 negatif negatif negatif negatif