

AD...kan Univer...ga

SKRIPSI

NURUL KASANAH

STANDARDISASI FRAKSI ETIL ASETAT

DAUN *Cassia siamea* Lamk

FF 37/07

Kas
S



**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
BAGIAN ILMU BAHAN ALAM**

SURABAYA Etil ...

2006

Nurul K...

Lembar Pengesahan

**STANDARDISASI FRAKSI ETIL ASETAT
DAUN *Cassia siamea* Lamk**

SKRIPSI

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

2006

Oleh :

**Nurul Kasannah
NIM : 050212525**

Skripsi ini telah disetujui
Tanggal 19 Juli 2006 oleh:

Pembimbing Utama

Pembimbing Serta


Dr. rer.nat. Mulja Hadi Santosa
NIP. 130809084

Standardisasi Fraksi Etil ...


Dra. Wiwied Ekasari M.Si.
NIP. 132087863

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT, atas rahmat dan karuniaNya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan sebaik-baiknya.

Dengan selesainya skripsi yang berjudul "Standardisasi Fraksi Etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk " ini, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ketua Laboratorium Dasar Bersama Universitas Airlangga, Dr.rer.nat. Mulja Hadi Santosa, Apt sebagai pembimbing utama yang dengan tulus ikhlas dan penuh kesabaran, membimbing dan memberi dorongan baik moriil maupun materiil kepada saya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.
2. Dra. Wiwied Ekasari, Msi, Apt sebagai pembimbing serta yang dengan tulus ikhlas dan penuh kesabaran, membimbing dan memberi dorongan baik moriil maupun materiil kepada saya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.
3. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya, Prof.Dr. H.Noor Cholies Zaini atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti pendidikan program sarjana.
4. Dr. Bambang Prayoga E.W., MS, Drs. Sukardiman, MS dan Drs. Herra Studiawan, M.S, selaku dosen penguji atas saran dan masukan-masukan yang diberikan yang sangat berguna untuk penyelesaian skripsi ini.
5. Semua dosen serta guru saya, yang telah mendidik dan mengajarkan ilmu pengetahuan hingga saya dapat menyelesaikan pendidikan sarjana.
6. Ayah dan ibundaku tercinta, atas cinta, kasih sayang, dukungan dan dorongan semangat selama ini.
7. Sahabat-sahabatku, Robitoh, Endang, Reny atas dukungan dan semangat yang kalian berikan. Semoga persahabatan kita abadi selamanya, dan semoga kita mendapatkan ilmu yang bermanfaat.

8. Para adikku tercinta, Iwan, Sheila, atas kasih sayang, cinta, dan persaudaraan kita yang senantiasa menjadi semangat bagiku. Semoga kita bisa menjadi putera-puteri yang sholeh dan sholehah. Amiin
9. Mbak Eny, yuni LA, serta semua teman-teman penghuni kost Karangmenjangan II /10, atas persaudaraan kita selama ini.
10. Teman-Teman “seperjuangan johar “ Ardhani, Arlita, Adith, Nugroho, Afraz, Arles atas kerjasama yang bisa kita jalin selama ini.
11. Semua teman angkatan 2002 tanpa terkecuali, terima kasih atas semuanya.
12. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini, terutama staf laboran Ilmu Bahan Alam Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas kesabaran dan bantuannya selama ini, dan pihak-pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu, semoga Allah SWT membalas dengan sebaik-baiknya balasan.

Akhirnya semoga skripsi ini bisa bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan pada umumnya, dan ilmu kefarmasian pada khususnya. Amien ..

Surabaya, Juli 2006

Penulis

RINGKASAN

STANDARDISASI FRAKSI ETIL ASETAT

DAUN *Cassia siamea* Lamk

Nurul Kasanah

Daun *Cassia siamea* Lamk atau biasa dikenal dengan daun johar merupakan salah satu tanaman obat berkhasiat. Salah satu khasiatnya adalah sebagai antimalaria. Dalam pemanfaatannya daun johar dibuat bentuk ekstrak dimana dalam pengembangannya diharapkan ekstrak tersebut bisa digunakan sebagai produk fitofarmaka. Oleh karena itu, untuk menjamin produk akhir mempunyai nilai parameter tertentu yang konstant (ajeg) terlebih dahulu diperlukan suatu proses standardisasi. Pada skripsi ini dilakukan penelitian mengenai standardisasi ekstrak yang meliputi serangkaian proses penentuan parameter standar umum dan parameter spesifik fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk. Awalnya daun *Cassia siamea* Lamk yang sudah dipanen, dicuci dan dikeringkan dengan cara dioven pada suhu 40°C kemudian diserbuk. Serbuk daun dibuat menjadi ekstrak. Ekstrak ini yang akan digunakan untuk penelitian.

Ekstrak dibuat dengan cara maserasi, mula-mula dengan n-Heksan sebanyak 3x, kemudian residu padatnya dimaserasi dengan etanol 90 % yang dibuat suasana asam dengan penambahan asam tartrat 1 % sebanyak 3x. Maserat yang diperoleh diuapkan dengan rotavapor sampai diperoleh ekstrak yang pekat. Ekstrak yang diperoleh dibasakan dengan NH₄OH sampai PH 8, didiamkan sehari lalu disaring. Filtrat dipekatkan dengan rotavapor sampai kental, dikeringkan di oven, dilarutkan dengan air kemudian ditarik dengan etil asetat. Fase air ditarik dengan etil asetat sebanyak dua kali. Fase etil asetat ditampung dan diuapkan dengan rotavapor sampai diperoleh ekstrak yang lebih pekat (sampai sepertiga volume awal). Ekstrak ini selanjutnya disebut dengan fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk.

Data parameter spesifik yang diperoleh dari penelitian ini yaitu kadar sari larut etanol sebesar 88,00% ± 1,68, tidak ada sari yang larut dalam air. Kadar minyak atsiri sebesar 2,05 ± 0,026 % dengan koefisien variasi sebesar 1,27 %. Kadar senyawa alkaloid siamin ditentukan dengan KLT Densitometri, pada panjang gelombang maksimum 300 nm. Kadar alkaloid siamin yang didapat sebesar 3,63 ± 0,18% dengan koefisien variasi sebesar 5,0 %. Metode KLT Densitometri ini sudah divalidasi.

Data parameter nonspesifik yang diperoleh dari penelitian ini yaitu parameter susut pengeringan dengan nilai $3,78 \% \pm 0,38$, parameter berat jenis ekstrak dengan nilai $0,9076 \pm 0,00153$ g/ml, parameter kadar abu total dengan nilai $0,111 \pm 0,001$ %. Pada penetapan sisa pelarut secara kualitatif didapatkan hasil negatif terhadap pelarut-pelarut yang digunakan yaitu etanol, etil asetat dan n-heksan. Pada penelitian ini juga dilakukan penetapan kadar logam berat ekstrak yang meliputi logam berat Cu, Cd, Zn dan Pb. Kadar Cu dalam ekstrak adalah 12,35 mg/Kg, kadar Zn sebesar 2,58 mg/Kg, kadar Pb sebesar 1,33 mg/Kg, sedangkan Cd negatif.

Data-data yang diperoleh dari penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan dalam rangka melakukan standarisasi Fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk. Untuk mendapat data-data parameter yang lain sehingga diperoleh data-data parameter standar yang lebih lengkap diperlukan penetapan tentang residu pelarut, residu pestisida, serta golongan kandungan kimia sebagaimana yang terdapat pada Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.



ABSTRACT**STANDARDIZATION OF ETHYL ACETATE FRACTION OF
CASSIA SIAMEA LAMK'S LEAVES**

The leave of *Cassia siamea* Lamk or popularly named by "daun johar" had been used as plant medicine, especially as traditional drug. So far, in its uses, the leave of *Cassia siamea* Lamk had been maked to extract form, where the extract will be developed to be a phytopharmaca product. The extract was made from *Cassia siamea* Lamk' leaves by maceration process, initially the powder was macerated by n-hexane for 3 times, and then the residual was remacerated by 90 % ethanol in acid condition by add 1 % tartrat acid. The obtained macerat was evaporated to be viscous form, and added by NH_4OH till PH 8. A day after that the macerat was be filtrated. The filtrate was evaporated till viscous and be dried at 40°C , diluted in water and be extracted by ethyl acetate. The ethyl acetate phase was collected, evaporated to be a viscous form. Finally, this extract name is ethyl acetate fractin of *Cassia siamea* Lamk's leaves. In order to ensure that the finished product has a constant parameter value, the standardization process is important. The aims of this study are to assay water soluble extractive value, ethanol soluble extractive value, alkaloid siamin content, volatile oil content content, loss of drying, total ash content, heavy metals content and residual solvent content as a part of standardization.

The results show that the water soluble extractive is zero, ethanol soluble extractive is $(88,00 \pm 1,68)\%$, alkaloid siamin content is $(3,63 \pm 0,18)\%$, volatile oil content is $(2,05 \pm 0,026)\%$, loss of drying is $(3,78 \pm 0,38)\%$, total ash content is $(0,111 \pm 0,01)\%$. The Pb content is 1,33 mg/Kg, Cu content is 12,35 mg/Kg, and Zn content is 2,58 mg/Kg. This fraction is free from residual solvent (ethanol, ethyl acetate, n-hexane)

Keyword : Standardization, *Cassia siamea* Lamk's Leaves, phytopharmaca product

DAFTAR ISI

	halaman
KATA PENGANTAR	v
RINGKASAN	vii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Permasalahan	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan Tentang Tanaman	
2.1.1 Klasifikasi Tanaman	5
2.1.2 Nama Daerah	5
2.1.3 Morfologi Tanaman	5
2.1.4 Kandungan Tanaman	6
2.1.5 Kegunaan Tanaman	7
2.2 Tinjauan Tentang Ekstrak	
2.2.1 Tinjauan Umum	7
2.2.2 Faktor Yang Berpengaruh Pada Mutu Ekstrak	8
2.2.3 Pembuatan Ekstrak	10
2.2.4 Metode Ekstraksi	12
2.3 Parameter Ekstrak	
2.3.1 Parameter Spesifik	15

2.3.2 Parameter non Spesifik	17
2.4 Tinjauan Tentang Kromatografi	19
2.5 Tinjauan Tentang Densitometri	20
2.6 Validasi Metode pada Analisis Dengan Kromatografi	
2.6.1 Selektifitas	20
2.6.2 Linearitas	20
2.6.3 Penentuan Batas Deteksi (LOD) Dan Batas Kuantisasi(LOQ)	21
2.6.4 Akurasi	21
2.6.5 Presisi	21
2.7 Tinjauan Tentang Atomic Absorbtion Spectroscopy	21
2.8 Tinjauan Tentang Alkaloid	22
2.9 Tinjauan Tentang Minyak Atsiri	
2.9.1 Sifat Umum Minyak Atsiri	22
2.9.2 Komposisi Minyak Atsiri	23
BAB III. KERANGKA KONSEPTUAL	25
BAB IV. BAHAN, ALAT, DAN METODE PENELITIAN	
4.1 Bahan Penelitian	
4.1.1 Bahan Tanaman	29
4.1.2 Bahan Kimia	29
4.2 Alat Penelitian	29
4.3 Metode Penelitian	
4.3.1 Penentuan Parameter Spesifik	30
4.3.2 Penentuan Parameter Non Spesifik	32
4.3.3 Penentuan Kandungan Senyawa Kimia	36
BAB V. HASIL PENELITIAN	
5.1 Parameter spesifik	39

5.1.1	Identitas Ekstrak	39
5.1.2	Pembuatan Fraksi Etil Asetat	
	daun <i>Cassia siamea</i> Lamk	39
5.1.3	Hasil Pengamatan organoleptik ekstrak	39
5.1.4	Hasil Penetapan Kadar sari larut air	40
5.1.5	Hasil Penetapan Kadar sari larut etanol	40
5.1.6	Profil Kromatogram fraksi etil asetat daun	
	<i>Cassia siamea</i> Lamk	41
5.1.7	Hasil Penetapan Kadar siamin dengan	
	KLT Densitometri	44
5.1.8	Hasil Penetapan Kadar Minyak Atsiri	51
5.2	Hasil Penentuan Parameter Non spesifik	51
5.3	Ringkasan Hasil Penentuan Parameter	60
BAB VI. PEMBAHASAN		62
BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN		66
DAFTAR PUSTAKA		67
LAMPIRAN-1		69
LAMPIRAN-2		70
LAMPIRAN-3		71
LAMPIRAN-4		72
LAMPIRAN-5		73
LAMPIRAN-6		74
LAMPIRAN-7		75

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
V.1 Hasil pembuatan fraksi etil asetat daun <i>Cassia siamea</i> Lamk	39
V.2 Hasil pengamatan organoleptik fraksi etil asetat daun <i>Cassia siamea</i> Lamk	40
V.3 Hasil penetapan kadar sari larut dalam air fraksi etil asetat daun <i>Cassia siamea</i> Lamk	40
V.4 Hasil penetapan kadar sari larut dalam etanol fraksi etil asetat daun <i>Cassia siamea</i> Lamk	41
V.5 Hasil optimasi eluen	44
V.6 Hasil pengukuran luas area untuk penentuan linearitas pada berbagai konsentrasi	46
V.7 Hasil pengukuran luas area pada berbagai kadar untuk penentuan LOD dan LOQ	47
V.8 Luas area blanko penentuan LOD dan LOQ	48
V.9 Luas area standar siamin berbagai konsentrasi pada berbagai jumlah penotolan	49
V.10 Hasil penetapan kadar alkaloid siamin fraksi etil asetat daun <i>Cassia siamea</i> Lamk	49
V.11 Hasil penetapan akurasi fraksi etil asetat daun <i>Cassia siamea</i> Lamk	50
V.12 Hasil penetapan kadar minyak atsiri fraksi etil asetat daun <i>Cassia siamea</i> Lamk	51
V.13 Hasil penetapan susut pengeringan fraksi etil asetat daun <i>Cassia siamea</i> Lamk	51
V.14 Hasil penetapan berat jenis fraksi etil asetat Skripsi Standardisasi Fraksi Etil ... daun <i>Cassia siamea</i> Lamk	52

<i>Cassia siamea</i> Lamk. dengan metode destilasi	53
V.16 Hasil penetapan kadar abu total fraksi etil asetat daun <i>Cassia siamea</i> Lamk	53
V.17 Hasil penetapan sisa pelarut secara kualitatif	54
V.18 Kurva baku penetapan kadar Cu	55
V.19 Kadar Cu sampel	56
V.20 Kurva baku penentuan kadar Zn	56
V.21 Kadar Zn dalam larutan sampel	57
V.22 Absorban larutan baku Pb pada berbagai konsentrasi	58
V.23 Kadar logam berat Pb dalam larutan sampel	59
V.24 Ringkasan hasil penentuan parameter spesifik	60
V.25 Ringkasan hasil penentuan parameter non spesifik	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Siamin	6
2.2 Siaminin A	6
2.3 Siaminin B	7
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian	27
3.2 Kerangka Operasional Penelitian	28
4.1 Skema Pembuatan Ekstrak	31
5.1 Profil kromatogram fraksi etil asetat dengan HPLC	42
5.2 Peak area kromatogram fraksi etil asetat dengan HPLC	43
5.3 Spektrum standar siamin dan ekstrak pada berbagai panjang gelombang	45
5.4 Kurva hubungan jumlah penotolan vs luas area	46
5.5 Kurva hubungan jumlah penotolan vs area noda untuk LOD dan LOQ	47
5.6 Kurva baku larutan logam Cu pada berbagai konsentrasi	55
5.7 Kurva baku larutan logam Zn pada berbagai konsentrasi	56
5.8 Kurva baku larutan standar Pb berbagai konsentrasi	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		halaman
Lampiran-1	: Perhitungan berat jenis ekstrak	69
Lampiran-2	: Perhitungan viskositas dengan viskosimeter oswald (25 ⁰ C)	70
Lampiran-3	: Perhitungan selektifitas eluen (Rs)	71
Lampiran-4	: Perhitungan persen recovery	72
Lampiran-5	: Kromatogram standar siamin penentuan Linearitas dan kadar siamin sampel	73
Lampiran-6	: Kromatogram standar siamin untuk penentuan LOD dan LOQ	74
Lampiran-7	: Kromatogram fraksi etil asetat daun <i>Cassia siamea</i> Lamk dengan GC	75

DAFTAR SINGKATAN

KLT	: Kromatografi Lapis Tipis
KCKT	: Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
KG	: Kromatografi Gas
Hg	: Hidrargirum
Pb	: Plumbum
Cd	: Cadmium
Zn	: Zinc
LOD	: Limit Of Detection
LOQ	: Limit Of Quantification
RSD	: Relative Standart Deviation
KV	: Koefisien Variasi
AAS	: Atomic Absorpsion Soectroscopy
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
USP	: United State Pharmacopoea
Ppm	: Part permillion

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Permasalahan

Obat merupakan salah satu unsur penting dalam upaya peningkatan kesehatan. Di sisi lain, obat yang termasuk dalam kategori obat modern belum juga dapat menjangkau seluruh lapisan masyarakat (Sutarjadi dan Noor Cholies, 1992). Oleh karena itu sampai saat ini obat tradisional masih saja digunakan secara luas oleh masyarakat dan penggunaannya semakin meningkat. Di samping itu pemanfaatan obat tradisional memiliki beberapa keuntungan yaitu mempunyai efek yang kurang drastis bila dibandingkan zat murni yang diisolasi dari tumbuhan yang bersangkutan karena senyawa aktifnya dilepaskan secara perlahan, dan mempunyai khasiat yang lebih lengkap apabila dibandingkan dengan dengan zat tunggal yang dapat diisolasi dari obat tradisional tersebut, serta menunjukkan efek samping yang sangat kecil atau dapat dikatakan tanpa efek samping sama sekali yang disebabkan oleh adanya zat-zat yang terkandung dalam tumbuhan sendiri yang dapat menetralsisir efek samping yang ditimbulkan senyawa aktif yang dikandungnya (Anonim, 1983).

Salah satu bahan alam yang berkhasiat sebagai tanaman obat adalah Johar (*Cassia siamea* Lamk). Tanaman yang termasuk suku *Caesalpiniaceae* ini merupakan pohon dengan tinggi 2- 20 m dengan daun menyirip genap, anak daun oval sampai memanjang, dengan daun penumpu yang cepat rontok. Anak daun kerap kali melekok ke dalam, bagian atas gundul dan sedikit mengkilat. (Van steenis, 1978). *Cassia siamea* Lamk memiliki beberapa khasiat yaitu akarnya dapat digunakan sebagai obat cacing, bunga dan buahnya dapat digunakan sebagai tonikum, sebagai obat insomnia, daun *Cassia siamea* Lamk bisa digunakan untuk menghilangkan gatal-gatal dan penyakit kulit, dan secara tradisional digunakan masyarakat Jawa sebagai antimalaria. (Heyne, 1987)

Penelitian yang dilakukan Ekasari (2001) menunjukkan bahwa daun johan (*Cassia siamea* Lamk) yang diekstraksi dengan pelarut etanol memiliki aktivitas

sebagai antimalaria terhadap *Plasmodium berghei* secara *in vitro*, penelitian terbaru yang dilakukan oleh Nugroho (2006) menunjukkan fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *P. berghei* secara *in vivo* pada mencit dengan hasil ED₅₀ sebesar 0,56 mg/kg BB mencit.

Karena khasiat yang dimiliki Johar tersebut, sekarang dilakukan banyak penelitian tentang Johar, dimana penelitian tersebut mengarah pada pengembangan obat tradisional. Upaya pemanfaatan bahan alam untuk pengobatan mempunyai beberapa kendala, salah satu kendala tersebut adalah kurangnya data uji klinis yang dapat mendukung data empiris tentang khasiat dan kegunaan dari suatu bahan alam. Sementara itu pengobatan modern membutuhkan data uji klinis yang akurat. Selain itu, suatu sediaan obat yang diproduksi dari bahan alam sering kali berbeda antar batchnya. Adanya perbedaan tersebut diakibatkan oleh variasi pada bahan alam yang terjadi karena beberapa faktor. Faktor-faktor tersebut misalnya faktor geografis, waktu penanaman, nutrisi yang diberikan, waktu pemanenan, cara pemanenan, pengolahan pasca panen, dan proses-proses pasca panen lainnya. Untuk mengatasi kendala-kendala tersebut, maka dikembangkanlah produk obat fitofarmaka. Dimana yang dimaksud dengan obat fitofarmaka adalah sediaan obat yang berasal dari bahan alam (tumbuhan), dapat berupa simplisia, ataupun galenik yang terjamin kadar bahan aktif, manfaat terapeutik, dan keamanan penggunaannya. Dengan kata lain, suatu produk obat fitofarmaka harus dan telah memenuhi semua persyaratan sediaan modern. Dan untuk memenuhi persyaratan tersebut maka perlu dilakukan proses standardisasi.

Standardisasi dalam kefarmasian merupakan serangkaian parameter prosedur dan cara pengukuran yang hasilnya merupakan unsur-unsur terkait paradigma mutu kefarmasian, mutu dalam artian memenuhi syarat-syarat standar (kimia, biologi, dan farmasi), termasuk jaminan (batas-batas) stabilitas sebagai produk kefarmasian umumnya. Standardisasi juga berarti proses yang menjamin bahwa produk akhir mempunyai nilai parameter tertentu yang konstan (ajeg) dan ditetapkan (dirancang dalam formula) terlebih dahulu. (Sutarjadi dan Noor Cholies, 1992)

Salah satu standardisasi yang dilakukan adalah standardisasi bahan baku. Dalam penelitian ini akan dilakukan standardisasi fraksi etil asetat daun johar. Fraksi ini merupakan fraksi yang akan digunakan sebagai bahan baku pembuatan obat herbal terstandar yang akan dikembangkan sebagai sediaan fitofarmaka. Obat herbal yang dimaksud disini adalah sediaan obat bahan alam yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya secara ilmiah dengan uji praklinik dan bahan bakunya telah distandardisasi. (Badan POM, 2005)

Standardisasi fraksi ini dilakukan untuk menentukan persyaratan mutu, aman, dan bahan berkhasiat dari fraksi etilasetat daun johar. Adapun persyaratan mutu ekstrak terdiri atas berbagai parameter standar sebagaimana yang telah ditetapkan dalam Parameter Standar Umum Ekstrak Tanaman Obat (DepKes RI, 2000) Penentuan parameter standar umum ekstrak ini meliputi parameter standar spesifik dan nonspesifik. Parameter standar spesifik dimaksudkan sebagai tolak ukur khusus yang dapat dikaitkan dengan jenis tanaman asal ekstrak atau proses ekstarksi tertentu. Umumnya yang spesifik dari suatu tanaman atau ekstrak adalah komposisi zat kandungan yang dapat berarti komponen utama dalam jumlah terbesar. Sedangkan parameter standar nonspesifik dimaksudkan sebagai tolak ukur baku yang dapat berlaku untuk semua jenis ekstrak dari tanaman tertentu, jenis proses maupun jenis produk akhir tertentu saja. (Depkes RI, 2000)

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah disebutkan di atas, maka yang menjadi permasalahan, yaitu :

Berapa nilai parameter standar umum (spesifik dan nonspesifik) fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan umum :

Tujuan umum penelitian ini adalah menentukan nilai-nilai parameter standar umum (spesifik dan non spesifik) fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk.

Tujuan khusus :

1. Menentukan kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, kadar minyak atsiri dan kadar senyawa kandungan kimia identitas secara densitometri yaitu alkaloid siamin.
2. Menentukan susut pengeringan, berat jenis, kadar air , kadar abu total.
3. Menentukan residu pelarut dan cemaran logam berat (Pb, Cd, Cu,dan Zn).

1.4 Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini diharapkan diperoleh data-data parameter standar umum dan spesifik fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk yang dapat digunakan untuk acuan standar bahan, proses dan produk dalam pengembangan produk sediaan fitofarmaka yang terjamin kualitas, keamanan dan khasiat terapinya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Tanaman

2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Divisi	: Spermatophyta
Anak divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Dikotiledon
Anak kelas	: Dialypetalae
Bangsa	: Leguminosae
Suku	: Caesalpiniaceae
Marga	: <i>Cassia</i>
Jenis	: <i>Cassia siamea</i> Lamk (Becker C.A and Backhuizen, 1963)
Sinonim	: <i>Cassia florida</i> Lam <i>Cassia sumatrana</i> Roxb <i>Senna sumatrana</i> Naves

2.1.2 Nama daerah

Johar, Juwar (Heyne, 1987)

2.1.3 Morfologi Tumbuhan

Pohon, tinggi 2-20 m. Daun menyirip genap. Kelenjar poros daun tidak ada atau satu diantara pasangan daun terbawah. Anak daun oval sampai memanjang, kerap kali melekok sampai ke dalam, bagian atas gundul dan mengkilat sedikit, bawah berambut halus, 3 – 7,5 kali 1 – 2,5 cm. Daun penumpu cepat rontok, sangat kecil tidak berarti. Kelopak berbagi lima dalam. Daun mahkota kuning cerah, panjang kurang lebih 2 cm. Tangkai sari terpanjang kurang lebih 1 cm. Bakal buah dengan taangkai putik kurang lebih sama panjangnya dengan benangsari yang terpanjang

Polongan dengan katup yang tebal dan sambungan buah yang dipertebal, diantara sambungan berbelok-belok, 15 – 30 x 1,5 cm, berkatup 2. Biji 20 – 30, panjang kurang lebih 1,5 x lebar. (Van Steenis, 1978)

2.1.4 Kandungan Tanaman

Kandungan yang terdapat pada tumbuhan *Cassia siamea* Lamk antara lain:

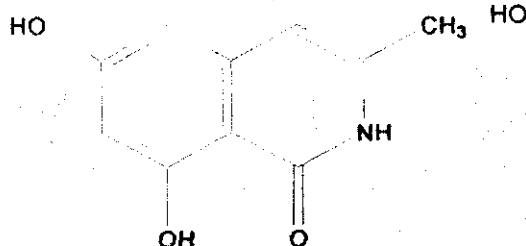
Pada daun : sitosterol, flavonoid barakol, apigenin, kaempferol (Rao *et al.*,1978) siamin, cassiamin, krisopanol (Wagner *et al.*,1977) anhidrobarakol (Ingkaninan *et al.*,2000) alkaloid isokuinolin –siaminin A, siaminin B, siaminin C- (El-Sayyad,1984).

Pada batang : tannin, antrakinon, liginin, pentosa hidrosianat (Depkes RI,1989)

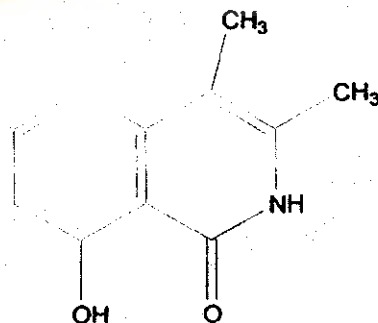
Pada akar : bioantrakuinon (Koyama *et al.*,2001), pinitol (Budhasukh, 2000).

Pada buah : antrakuinon, krisopanol, questin (Abdallah *et al.*, 1987)

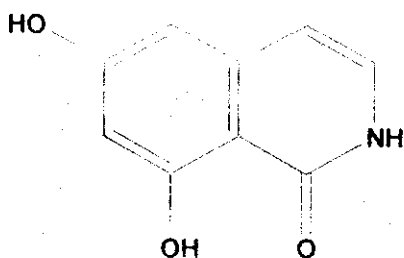
Pada bunga : flavon, pinitol, sitosterol, stigmasterol, kolesterol, sorbiterol (Varshney 1977), cassiadinin, alkaloid kromon, triterpenoid (Biswas dan Malik, 1986)



Gambar 2.1 Siamin



Gambar 2.2 Siaminin A



Gambar 2.3 Siaminin B

2.1.5 Kegunaan Tanaman

Cassia siamea Lamk memiliki beberapa khasiat antara lain :

- Akarnya dapat digunakan sebagai obat cacing
- Bunga dan buahnya dapat digunakan sebagai tonikum.
- Sebagai obat insomnia
- Secara tradisional daun *Cassia siamea* Lamk digunakan oleh Masyarakat Jawa sebagai antimalaria.
- Daun *Cassia siamea* Lamk bisa juga digunakan untuk menghilangkan gatal-gatal dan penyakit kulit. (Heyne, 1987)

2.2 Tinjauan Tentang Ekstrak

2.2.1 Tinjauan umum

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. (Farmakope Indonesia IV, 1995)

Ekstrak tumbuhan obat yang dibuat dari simplisia nabati dapat dipandang sebagai bahan awal, bahan antara, atau bahan produk jadi. Ekstrak sebagai bahan awal dianalogkan dengan komoditi bahan baku obat yang dengan teknologi fitofarmasi diproses menjadi bahan yang dapat

diproses lagi menjadi fraksi-fraksi, isolat senyawa tunggal ataupun tetap sebagai campuran dengan ekstrak lain. Ekstrak sebagai produk jadi berarti ekstrak yang berada dalam sediaan obat jadi siap digunakan oleh penderita. (Sutarjadi dan Noor Cholies, 1992).

2.2.2 Faktor Yang Berpengaruh pada Mutu Ekstrak

2.2.2.1 Faktor Biologi

Mutu ekstrak dipengaruhi oleh bahan asal yaitu tanaman obatnya dan khusus dipandang dari segi biologi. Faktor biologi baik untuk bahan dari tumbuhan obat hasil budidaya (kultivar), maupun dari tumbuhan liar (wild crop) yang meliputi beberapa hal. yaitu :

1. Identitas jenis (spesies)

Jenis tanaman dari sudut keragaman hayati dapat dikonfirmasi sampai informasi genetik sebagai faktor internal untuk validasi jenis (spesies).

2. Lokasi tanaman asal

Lokasi berarti faktor eksternal, yaitu lingkungan (tanah dan atmosfer) dimana tanaman berinteraksi berupa energi (cuaca, temperatur, cahaya) dan materi (air, senyawa organik, dan senyawa anorganik).

3. Periode pemanenan hasil tanaman

Faktor ini merupakan dimensi waktu dari proses kehidupan tanaman terutama metabolisme sehingga menentukan senyawa kandungan. Kapan senyawa kandungan mencapai kadar optimal dari proses biosintesis dan sebaliknya kapan sebelum senyawa tersebut dikonversi atau dibiotransformasi atau biodegradasi menjadi senyawa lain.

4. Penyimpanan bahan tanaman

Merupakan faktor eksternal yang dapat diatur karena berpengaruh pada stabilitas bahan serta adanya kontaminasi (biotik dan abiotik).

5. Umur tanaman dan bagian yang digunakan.

Selain kelima faktor diatas, maka untuk bahan dari tanaman obat hasil budidaya (kultivar) adalah faktor GAP (Good Agriculture Practice)

sedangkan untuk bahan dari tumbuhan liar ada faktor kondisi proses pengeringan yang umumnya dilakukan di lapangan.

2.2.2.2 Faktor Kimia

Mutu ekstrak dipengaruhi oleh bahan asal yaitu tanaman obatnya, khususnya dipandang dari segi kandungan kimianya. faktor kimia baik untuk bahan dari tanaman obat hasil budidaya (kultivar) ataupun dari tumbuhan liar (wildcrop), meliputi beberapa hal, yaitu :

a. Faktor internal

1. Jenis senyawa aktif dalam bahan
2. Komposisi kualitatif senyawa aktif
3. Komposisi kuantitatif senyawa aktif
4. Kadar total rata-rata senyawa aktif

b. Faktor eksternal

1. Metode ekstraksi
2. Perbandingan ukuran alat ekstraksi (diameter dan tinggi alat)
3. Ukuran, kekerasan, dan kekeringan bahan
4. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi
5. Kandungan logam berat
6. Kandungan pestisida

Senyawa kimia dalam ekstrak ditinjau dari asalnya dapat dibedakan menjadi beberapa kelompok, yaitu :

1. Senyawa kandungan asli dari tanaman asal

Senyawa asli sebenarnya berarti senyawa yang memang sudah ada sejak masa tanaman tersebut hidup. Jika proses preparasi simplisia dan ekstraksi dijaga tidak menyebabkan perubahan kimia, maka hasil analisis kimia terhadap ekstrak mencerminkan komposisi senyawa kandungan asli.

2. Senyawa dari hasil perubahan senyawa asli

Dari kajian dan riset memang sudah dapat diprediksi terjadi perubahan kimia senyawa asli karena memang sifat fisika kimia senyawa asli dan proses penstabilan yang sulit.

3. Senyawa kontaminasi

Senyawa kontaminasi merupakan senyawa eksogen yang tercampur pada ekstrak baik polusi yang tidak terhindari atau sebagai sisa atau residu proses.

4. Senyawa hasil interaksi kontaminasi dengan senyawa asli atau senyawa perubahan.

Pengertian dan kesadaran akan adanya 4 kelompok senyawa yang terkandung dalam ekstrak akan meningkatkan validasi standardisasi dan parameter mutu ekstrak. Kelompok pertama dan kedua terkait dengan parameter standar umum yang bersifat spesifik sedangkan kelompok tiga dan empat merupakan parameter standar nonspesifik. (Depkes RI, 2000)

2.2.3 Pembuatan Ekstrak

1. Pembuatan ekstrak dilakukan melalui beberapa tahap, yaitu :
2. Pembuatan serbuk simplisia dan klasifikasinya
3. Menentukan cairan pengestraksi
4. Saparasi dan pemurnian
5. Pemekatan dan penguapan
6. Pengeringan ekstrak

2.2.3.1 Pembuatan serbuk simplisia

Proses awal pembuatan ekstrak adalah tahapan pembuatan serbuk simplisia kering. Dari simplisia dibuat serbuk simplisia dengan peralatan tertentu sampai derajat kehalusan tertentu. Proses ini dapat mempengaruhi mutu ekstrak dengan beberapa hal, yaitu :

- Makin halus serbuk simplisia, proses ekstraksi makin efisien namun makin halus serbuk maka makin rumit secara teknologi peralatan untuk tahapan filtrasi.

- Selama penggunaan peralatan penyerbukan dimana ada gerakan dan interaksi dengan benda keras (logam, dan lain-lain) yang dapat berpengaruh pada senyawa kandungan. Namun hal ini dapat dikompensasi dengan penggunaan nitrogen cair.

2.2.3.2 Menentukan cairan pengekstraksi

Cairan pengekstraksi dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, dengan demikian senyawa tersebut dapat dipisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan. Dalam hal ekstrak total, maka cairan pengekstraksi dipilih yang melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung. Faktor utama untuk pertimbangan dalam pemilihan cairan pengekstraksi adalah :

- Selektifitas
- Kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut
- Ekonomis
- Ramah lingkungan
- Keamanan

Pada prinsipnya cairan pengekstraksi harus memenuhi syarat kefarmasian atau dalam perdagangan dikenal dengan kelompok spesifikasi "Pharmaceutical grade".

2.2.3.3 Separasi dan Pemurnian

Tujuan dari tahapan ini adalah menghilangkan (memisahkan) senyawa yang tidak dikehendaki semaksimal mungkin tanpa berpengaruh pada senyawa kandungan yang dikehendaki, sehingga diperoleh ekstrak yang lebih murni. Proses-proses pada tahapan ini adalah pengendapan, pemisahan dua cairan tidak campur, sentrifugasi, dekantasi, filtrasi serta proses adsorpsi dan penukar ion.

2.2.3.4. Pemekatan atau penguapan (vaporasi dan evaporasi)

Pemekatan berarti peningkatan jumlah partial solut (senyawa terlarut) secara penguapan pelarut tanpa sampai menjadi kondisi kering. Ekstrak hanya menjadi kental atau pekat.

2.2.3.4. Pengeringan Ekstrak.

Pengeringan berarti menghilangkan pelarut dari bahan sehingga menghasilkan serbuk, massa kering rapuh, tergantung proses dan peralatan yang digunakan. Ada beberapa proses pengeringan ekstrak, yaitu dengan cara :

- Pengeringan evaporasi
- Pengeringan vaporasi
- Pengeringan sublimasi
- Pengeringan konveksi
- Pengeringan kontak
- Pengeringan radiasi
- Pengeringan dielektrik

2.2.4. Metode Ekstraksi

2.2.4.1. Ekstraksi dengan menggunakan pelarut

1. Cara dingin.

(a) Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinyu. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya.

(b) perkolasi:

perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada

temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/ penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

2. Cara panas

2.1 Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur pada titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstant dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

2.2 Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

2.3 Digesti

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

2.4 Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup ke dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C) selama waktu tertentu (15- 20 menit).

2.5 Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama (≥ 30 menit) dan temperatur sampai titik didih air.

2.2.4.2. Destilasi uap

Destilasi uap adalah ekstraksi senyawa kandungan menguap (minyak atsiri) dari bahan (segar atau simplisia) dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan partial senyawa kandungan menguap

dengan fase uap air dan ketel secara kontinyu sampai sempurna dan diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran (senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi) menjadi destilat air bersama senyawa kandungan yang memisah sempurna atau memisah sebagian.

Destilasi uap dan air, bahan (simplisia) bercampur sempurna atau sebagian dengan air mendidih, senyawa kandungan menguap tetap kontinyu ikut terdestilasi.

2.2.4.3. Cara ekstraksi lainnya.

1. Ekstraksi berkesinambungan

proses ekstraksi yang dilakukan berulang kali dengan pelarut yang berbeda atau resirkulasi cairan pelarut dan prosesnya tersusun berturut-turut beberapa kali. Proses ini dilakukan untuk meningkatkan efisiensi (jumlah pelarut) dan dirancang untuk bahan dalam jumlah besar yang terbagi dalam beberapa bejana ekstraksi.

2. Superkritikal karbondioksida

penggunaan prinsip superkritik untuk ekstraksi serbuk simplisia, dan umumnya digunakan gas karbondioksida. Dengan variabel temperatur dan tekanan akan diperoleh spesifikasi kondisi polaritas tertentu yang sesuai untuk melarutkan golongan senyawa kandungan tertentu. Penghilangan cairan pelarut dengan mudah dilakukan karena karbondioksida menguap dengan mudah, sehingga hampir langsung diperoleh ekstrak.

3. Ekstraksi ultrasonik

getaran ultrasonik (>20.000 Hz) memberikan efek pada proses ekstrak dengan prinsip meningkatkan permeabilitas dinding sel, menimbulkan gelembung spontan (cavitation) sebagai stress dinamik serta menimbulkan fraksi interfase. Hasil ekstraksi tergantung pada frekwensi getaran, kapasitas alat dan lama proses ultrasonikasi.

4. Ekstraksi energi listrik

energi listrik digunakan dalam bentuk medan listrik, medan magnet serta "electric-discharges" yang dapat mempercepat proses dan meningkatkan hasil dengan prinsip menimbulkan gelembung spontan dan menyebarkan gelembung tekanan berkecepatan ultrasonik.

2.3 PARAMETER EKSTRAK

2.3.1. Parameter Spesifik

Parameter standar spesifik dimaksudkan sebagai tolak ukur khusus yang dapat dikaitkan dengan jenis tanaman asal ekstrak atau proses ekstraksi tertentu. Umumnya yang spesifik dari suatu tanaman atau ekstrak adalah komposisi zat kandungan yang dapat berarti komponen utama dengan jumlah terbesar.

2.3.1.1 Identitas

Pengertian dan Prinsip tata nama yaitu :

1. Nama Ekstrak
2. Nama latin tumbuhan (sistematika Botani)
3. Bagian tumbuhan yang digunakan
4. Nama Indonesia Tumbuhan

Ekstrak dapat mempunyai senyawa identitas, artinya senyawa tertentu yang menjadi petunjuk spesifik dengan metode tertentu.

Parameter ini ditentukan dengan tujuan memberikan identitas obyektif dari nama dan spesifik dari senyawa identitas.

2.3.1.2. Organoleptik

Pengertian dan Prinsip : penggunaan pancaindera mendiskripsikan bentuk, warna, bau, rasa, sebagai berikut :

1. Bentuk : padat, serbuk-kering, kental, cair.
2. warna : kuning, cokelat, dan lain-lain.
3. Bau : aromatik, tidak berbau, dan lain-lain.
4. Rasa : pahit, manis, kelat, dan sebagainya.

Tujuan : Pengenalan awal yang sederhana seobyektif mungkin.

2.3.1.3. Senyawa terlarut dalam pelarut tertentu.

Pengertian dan Prinsip : 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 terlarut dalam pelarut lain, misalnya heksana, diklorometan, metanol.

Tujuan : memberikan gambaran awal jumlah senyawa kandungan.

2.3.1.4. Uji Kandungan Kimia Ekstrak

(1) Pola Kromatogram

Pengertian dan Prinsip : Ekstrak ditimbang, diekstraksi dengan pelarut dan cara tertentu, kemudian dianalisis kromatografi sehingga memberikan pola kromatogram yang khas.

Tujuan : memberikan gambaran awal komposisi kandungan kimia berdasarkan pola kromatogram (KLT, KCKT, KG)

(2) Kadar Total Golongan Kandungan Kimia

Pengertian dan Prinsip : dengan penetapan 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 ditetapkan metodenya, yaitu :

- a. Golongan minyak atsiri
- b. Golongan steroid
- c. Golongan tannin
- d. Golongan flavonoid
- e. Golongan triterpenoid (saponin)
- f. Golongan alkaloid
- g. Golongan antrakinon

(3) Kadar Kandungan Kimia Tertentu

Pengertian dan Prinsip : dengan tersedianya suatu kandungan kimia yang berupa senyawa identitas atau senyawa kimia utama ataupun kandungan kimia lainnya, maka secara kromatografi instrumental dapat dilakukan penetapan kadar kandungan kimia tersebut. Instrument yang dapat digunakan adalah Densitometer atau instrumen lain yang sesuai. Metode penetapan kadar harus diuji dahulu validitasnya, yaitu batas deteksi, selektivitas, linearitas, ketelitian, ketepatan, dan lain-lain.

Tujuan : Memberikan data kadar kandungan kimia tertentu sebagai senyawa identitas atau senyawa yang diduga bertanggungjawab pada efek farmakologi.

2.3.2. Parameter Non Spesifik

Parameter standar non spesifik dimaksudkan sebagai tolak ukur baku yang dapat berlaku untuk semua jenis ekstrak, tidak khusus untuk jenis ekstrak dari tanaman tertentu saja.

2.3.2.1. Susut pengeringan dan Bobot jenis

a. 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/minyak 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.

b. Parameter Bobot Jenis

Pengertian dan Prinsip : bobot jenis adalah massa persatuan volume pada suhu kamar tertentu (25°C) yang ditentukan dengan alat khusus piknometer atau alat lainnya.

Tujuan : memberikan batasan tentang besarnya massa persatuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai ekstrak pekat (kental) yang masih dapat dituang.

2.3.2.2. Parameter Kadar Air

Pengertian dan Prinsip : pengukuran kandungan air yang berada di dalam bahan. Dilakukan dengan cara yang tepat diantara cara titrasi, destilasi, atau gravimetri.

Tujuan : memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air dalam bahan.

2.3.2.3. Parameter Kadar Abu

Pengertian dan Prinsip : Bahan dipanaskan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap, sehingga tinggal unsur mineral dan organik.

Tujuan : memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak.

2.3.2.4. Parameter sisa pelarut

Pengertian dan Prinsip : Menentukan kandungan sisa pelarut tertentu (yang memang ditambahkan) yang secara umum dengan kromatografi gas.

Tujuan : Memberikan jaminan bahwa selama proses tidak meninggalkan sisa pelarut yang memang seharusnya tidak boleh ada. Sedangkan untuk ekstrak cair menunjukkan jumlah pelarut (alkohol) sesuai dengan yang ditetapkan.

2.3.2.5. Parameter Cemaran Logam Berat

Pengertian dan Prinsip : Menentukan kandungan logam berat secara spektroskopi serapan atom atau lainnya yang lebih valid.

Tujuan : Memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak mengandung logam berat tertentu (Hg, Pb, Cd, dan lain-lain) melebihi nilai yang ditetapkan karena berbahaya (toksik bagi kesehatan)

2.4 Tinjauan tentang Kromatografi

Kromatografi didefinisikan sebagai prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase atau lebih, salah satu diantaranya bergerak secara berkesinambungan dalam arah tertentu dan didalamnya zat-zat itu menunjukkan perbedaan mobilitas disebabkan adanya perbedaan dalam adsorpsi, partisi, kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul atau kerapatan molekul ion. Dengan demikian zat-zat dapat diidentifikasi atau ditetapkan dengan metode analitik. Teknik kromatografi umum membutuhkan zat terlarut terdistribusi diantara dua fase, yaitu fase diam (penjerap) dan fase gerak. (DepKes RI, 1995)

Ada beberapa jenis kromatografi, diantaranya kromatografi gas dan kromatografi lapis tipis.

a. Kromatografi Lapis Tipis

Pada Kromatografi Lapis Tipis, zat penjerap merupakan lapisan tipis serbuk halus yang dilapiskan pada lempeng kaca, plastik atau logam secara merata, umumnya digunakan lempeng kaca. Lempeng yang dilapisi dapat dianggap sebagai kolom kromatografi terbuka dan pemisahan yang tercapai dapat didasarkan pada adsorpsi, partisi, atau kombinasi kedua efek, tergantung dari jenis zat penyangga dan jenis pelarut yang digunakan. Perkiraan identifikasi diperoleh dengan pengamatan bercak dengan R_f yang identik dan ukuran yang hampir sama, dengan menotolkan zat uji dan baku pembanding pada lempeng yang sama. Perbandingan visual ukuran bercak dapat digunakan untuk memperkirakan kadar secara semi kuantitatif. (DepKes RI, 1995)

b. Kromatografi Gas

Pada kromatografi gas, fase geraknya berupa gas. Fase diam umumnya suatu cairan, tetapi dapat berupa zat padat atau kombinasi zat padat dan cair. Pada kromatografi gas-cair, fase diam cair sebagai lapisan tipis yang tetap pada penyangga padat inert yang terbagi halus seperti tanah silika. Fase gas hanya berfungsi untuk membawa zat sepanjang

kolom tertahan dalam fase diam, kemudian dilepaskan kembali, dan semua zat tinggal dalam fase gas untuk waktu yang sama lamanya dalam suatu kolom tertentu. Besarnya faktor kapasitas dan waktu tertahannya zat dalam suatu kolom kromatografi gas-cair tergantung dari zat terlarut spesifik, fase cair spesifik, jumlah fase cair, suhu, dan laju aliran gas. (DepKes RI, 1995)

2.5 Tinjauan tentang Densitometri

Densitometri adalah metode analisis instrumental yang berdasar interaksi radiasi elektromagnetik dengan analit yang merupakan noda pada KLT. Interaksi radiasi elektromagnetik dengan noda pada KLT yang ditentukan adalah absorpsi, transmisi, pantulan (refleksi) pendar flour atau pemadaman pendar flour dari radiasi semula. Densitometri lebih dititikberatkan untuk analisis kuantitatif analit-analit dengan kadar yang sangat kecil yang perlu dilakukan pemisahan terlebih dahulu dengan KLT. Prinsip analisis kuantitatif dengan metode densitometri hampir sama dengan spektrofotometri. Penentuan kadar analit yang dikorelasikan dengan area noda pada KLT akan lebih terjamin kesahihannya dibanding metode KCKT (kromatografi cair kinerja tinggi) atau KGC (kromatografi gas), sebab area noda kromatogram diukur pada posisidiam atau zig-zag menyeluruh. Korelasi kadar analit pada noda kromatogram yang dirajah terhadap area tidak menunjukkan garis lurus tetapi merupakan garis lengkung mendekati parabola. (Stahl, 1969)

2.6 Validasi Metode pada analisis dengan Kromatografi

2.6.1 Selektivitas

Selektivitas ditentukan dengan menghitung harga resolusi dari masing-masing komponen pada berbagai pelarut pengembang. Ini untuk memastikan agar puncak/noda kromatogram analit tidak terganggu oleh zat pengotor tertentu, hasil degradasi analit, zat lain dan sebagainya. (Indrayanyo, 1994)

2.6.2 Linearitas

Linearitas suatu metode harus diuji untuk memastikan adanya hubungan korelasi antara konsentrasi analit dengan respon detektor. Untuk menyatakan adanya korelasi atau tidak digunakan parameter koefisien korelasi (r), pada analisis regresi $y = bx + a$. (Indrayanto, 1994)

2.6.3 Penentuan Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantisasi (LOQ)

Batas deteksi adalah batas kadar terkecil zat yang dianalisis, yang masih dapat dideteksi dan menghasilkan respon yang bermakna dan dapat dibedakan dengan blanko. Sedangkan batas kuantisasi adalah batas kadar terkecil zat yang dapat dianalisis dengan presisi dan akurasi yang baik. (Buick, 1990)

2.6.4 Akurasi

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan ketepatan hasil yang diperoleh dari suatu metode analisis dengan kadar yang sebenarnya. Sebagai parameternya adalah persen recovery. Untuk sampel yang tidak diketahui matriknya seperti sampel alam maka untuk menentukan akurasinya dapat dipakai metode adisi. Untuk hasil yang baik maka persen rekovery berkisar antara 95 %-105%. (Indrayanto, 1994).

2.6.5 Presisi

Presisi adalah suatu derajat keterulangan (*reproducibility*) metoda analisis. Presisi menyatakan hasil yang didapat pada pengukuran berulang-ulang. Ada beberapa macam ukuran presisi, yang paling umum dipakai adalah standar deviasi dan koefisien variasi (k_v) atau *Relative Standar Deviation* (RSD). Bila KV atau RSD lebih kecil atau sama dengan 2 % maka presisi metode tersebut baik. Akan tetapi untuk metode densitometri, harga koefisien variasi lebih kecil dari 5 % dikatakan memenuhi persyaratan validasi. (Touchstone, 1983)

2.7 Tinjauan tentang Atomic Absorption Spectroscopy (AAS)

Teknik spektroskopik adalah salah satu teknik analisis fisiko-kimia 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 (di luar 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, M, 1995)

2.8 Tinjauan tentang Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa nitrogen yang ada pada tanaman. Sebagian besar bersifat optik aktif, dan hampir semuanya bersifat basa. Oleh karena itu, alkaloid sering berada dalam bentuk garam dengan asam-asam yang ada pada tanaman seperti asam quinic, dan asam meconic. Alkaloid yang ada pada biji, akar dan kulit batang diisolasi dengan cara diekstraksi dengan asam (asam klorida, asam sulfat, dan asam sitrat) atau alkohol. Alkaloid biasanya dipisahkan dari campuran yang kompleks dengan metode kromatografi. Keberadaan alkaloid bisa dideteksi dengan reaksi pengendapan maupun reaksi warna. Reaksi pengendapan yang sering digunakan adalah Mayer dan Wagner. Reagen warna umumnya mengandung agen pengoksidasi ataupun agen untuk menyebabkan terjadinya dehidrasi maupun kedua-duanya. (Raphael, 1965)

2.9 Tinjauan Tentang Minyak Atsiri (Midian dkk, 1985)

Minyak atsiri atau minyak menguap adalah masa yang berbau khas, yang berasal dari tanaman, mudah menguap pada suhu kamar tanpa mengalami peruraian.

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 organik dan sukar larut dalam air.

2.9.1 Sifat Umum Minyak Atsiri (Midian dkk, 1985)

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 persenyawaan kimia yang dikandungnya, terutama persenyawaan tidak jenuh (terpen), ester, asam, aldehyd dan beberapa jenis persenyawaan lainnya yang termasuk dalam golongan hidrokarbon yang teroksigenasi (alkohol, eter, keton).

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

2.9.2 Komposisi Minyak Atsiri

Minyak atsiri umumnya terdiri dari berbagai campuran persenyawaan kimia yang terbentuk dari unsur karbon, hidrogen dan oksigen serta beberapa persenyawaan kimia yang mengandung unsur Nitrogen dan belerang.

Pada umumnya komponen kimia dalam minyak atsiri digolongkan menjadi dua, 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, seskiterpen, diterpen, politerpen, parafin, olefin dan hidrokarbon aromatik.

- Golongan Hidrokarbon yang Teroksigenasi

Skripsi Standardisasi Fraksi Etil ... persenyawaan yang termasuk golongan ini terbentuk dari unsur Nitrogen dan belerang. Persenyawaan yang termasuk golongan hidrogen, karbon dan oksigen.

ini adalah alkohol, aldehid, keton, eter, ester, dan lain-lain. Ikatan atom karbon yang terdapat dalam molekulnya dapat terdiri dari ikatan jenuh dan tak 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



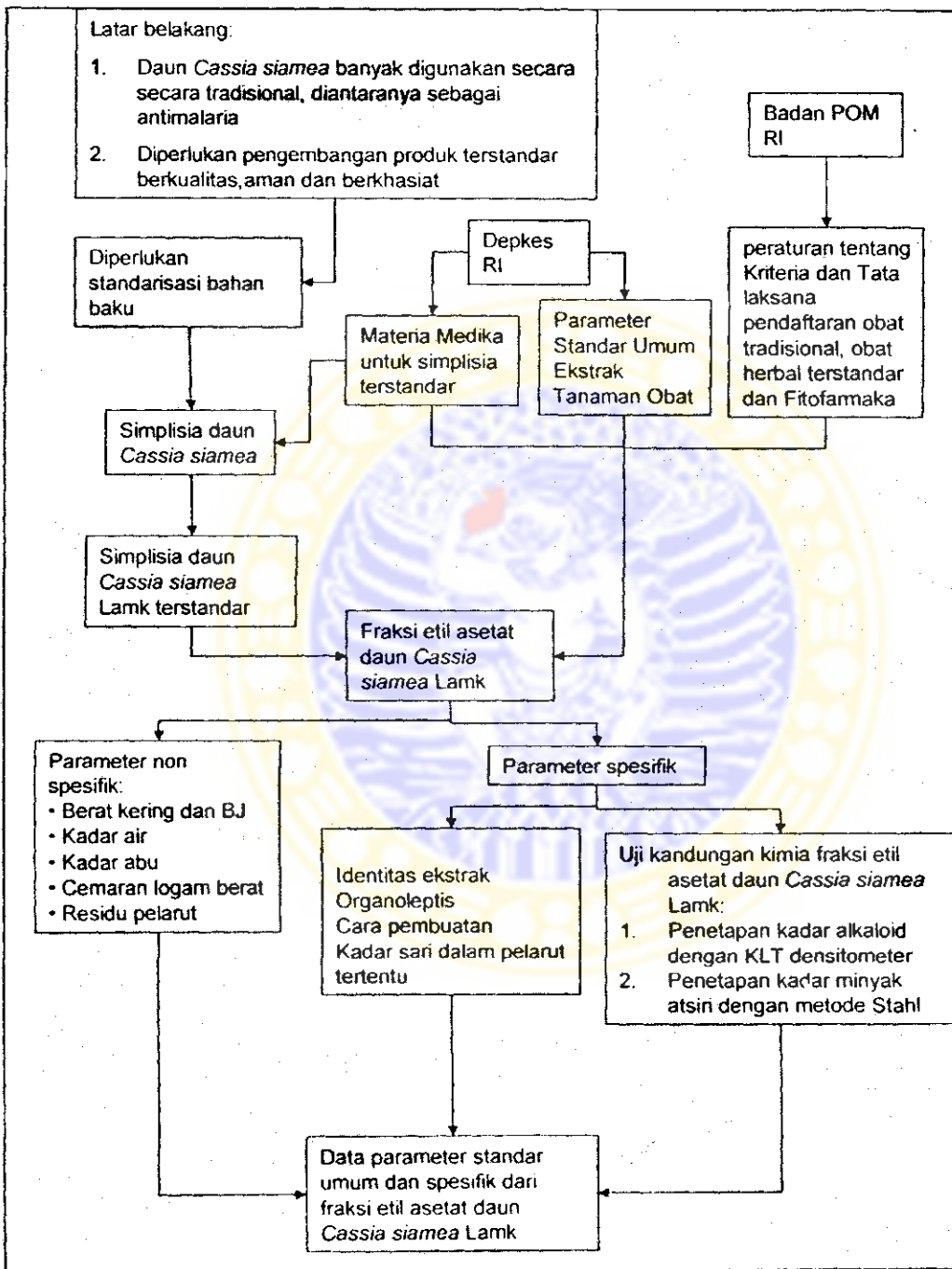
BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

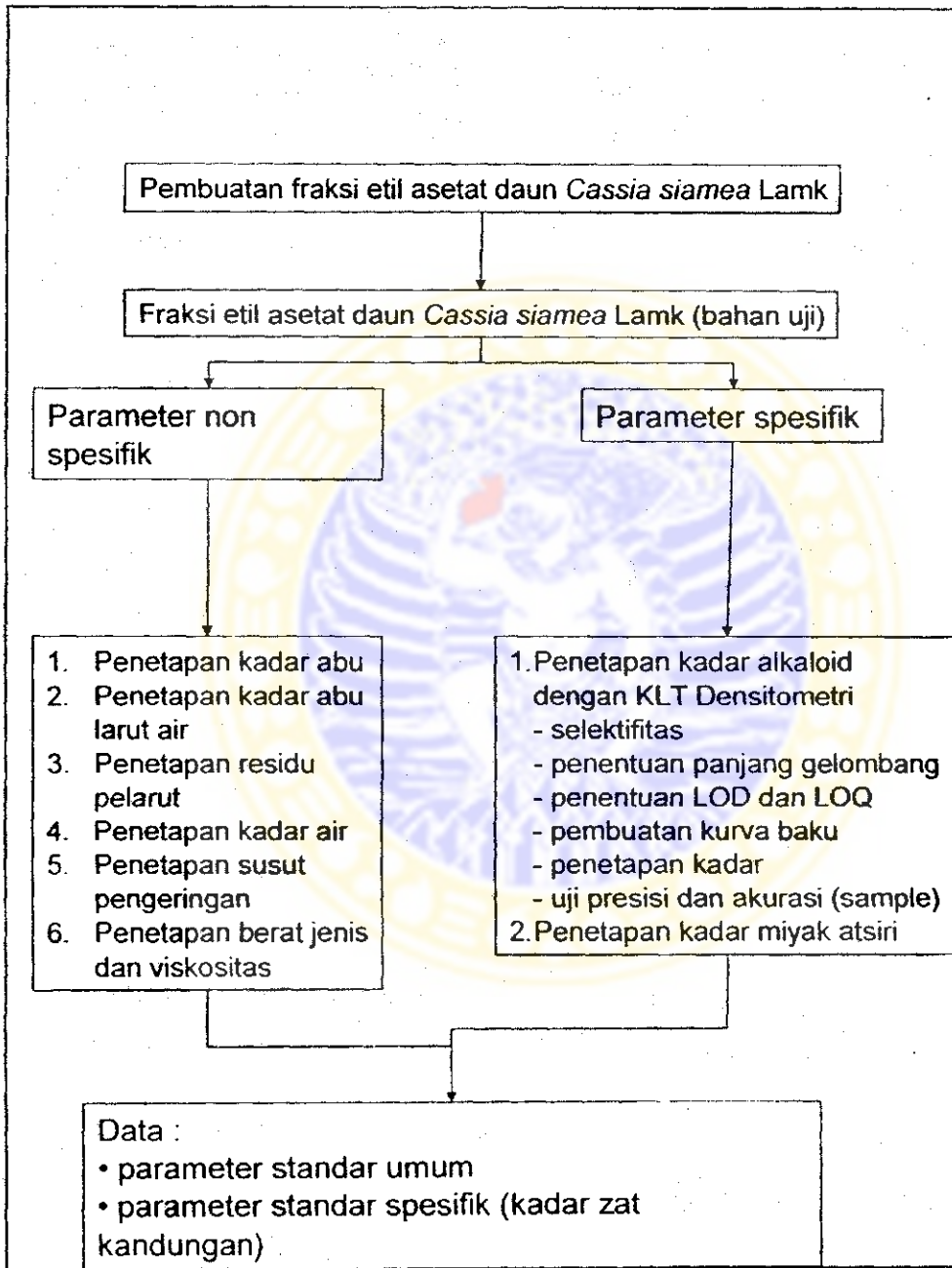
Kekayaan hayati yang sudah dimanfaatkan nenek moyang kita sejak ratusan tahun lalu sampai sekarang masih potensial untuk dikembangkan. Salah satunya adalah tanaman johar (*Cassia siamea* Lamk), yang telah digunakan secara empirik tradisional untuk mengobati malaria. Pengobatan malaria menjadi penting karena saat ini berbagai upaya untuk mengatasi malaria masih belum memuaskan (Wahjoedi, 2005). Dalam rangka meningkatkan mutu, keamanan dan kemanfaatan obat tradisional maka salah satu langkah yang dilakukan adalah standarisasi bahan baku yang digunakan dalam produksi obat tradisional, termasuk standarisasi ekstrak (DepKes RI, 2000). Ekstrak yang sudah terstandar merupakan bahan baku untuk pembuatan sediaan obat herbal terstandar dan sediaan fitomarmaka. Sediaan fitofarmaka yang dimaksud disini 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 distandardisasi (Badan POM, 2005).

Dalam bentuk bahan dan produk kefarmasian baru, yaitu ekstrak, maka selain persyaratan monografi bahan baku (simplisia), juga diperlukan syarat parameter standar umum dan parameter standar spesifik. Dalam pengembangan produk ekstrak ini Pemerintah juga telah membuat Parameter Standar Umum Ekstrak Tanaman Obat untuk mendapatkan ekstrak yang terstandar. Sehingga produk ekstrak yang diperoleh dapat digunakan sebagai bahan baku sediaan fitofarmaka yang terjamin khasiat dan keamanan terapinya. (DepKes RI, 2000)

Dalam buku Parameter Standar Umum Ekstrak Tanaman Obat, ada beberapa parameter yang digunakan dalam proses standarisasi ekstrak meliputi parameter spesifik, parameter non spesifik, dan kandungan kimia ekstrak. Yang termasuk dalam parameter spesifik yaitu : Identitas ekstrak, organoleptis, cara pembuatan, dan sari larut dalam pelarut tertentu. Sedangkan parameter nonspesifik meliputi : berat kering, berat jenis, kadar air, kadar abu, cemaran



Gambar-3.1 Kerangka konseptual penelitian



Gambar-3.2 kerangka operasional

BAB IV

BAHAN, ALAT, DAN METODE PENELITIAN

4.1 Bahan Penelitian

4.1.1 Bahan Tanaman

Bahan penelitian yang digunakan adalah daun *Cassia siamea* Lamk (johar) yang diperoleh dan telah dideterminasi dari Purwodadi.

4.1.2 Bahan Kimia

1. n-Heksan
2. Ethanol 95 %
3. Khloroform
4. Etil asetat
5. Aquadest
6. Toluene
7. HNO₃
8. Dikloromethana
9. Pereaksi uji logam berat
10. Methanol
11. Standar siamin hasil isolasi

4.2 Alat

1. Alat untuk maserasi
2. Rotatory evaporator Buchi R-153
3. Neraca Listrik merk Asep
4. Oven
5. Piknometer
6. Krus silikat
7. Atomic Absorbtion Spectroscopy (AAS)
8. Alat-alat gelas untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif
9. Viskosimeter Oswald
10. Gas Chromatography

4.3 METODE PENELITIAN

4.3.1. Penentuan Parameter Spesifik

4.3.1.1. Identitas

1. Deskripsi tata nama ekstrak meliputi :
2. Nama ekstrak
3. Nama latin tanaman asal
4. Bagian tanaman yang digunakan
5. Nama Indonesia

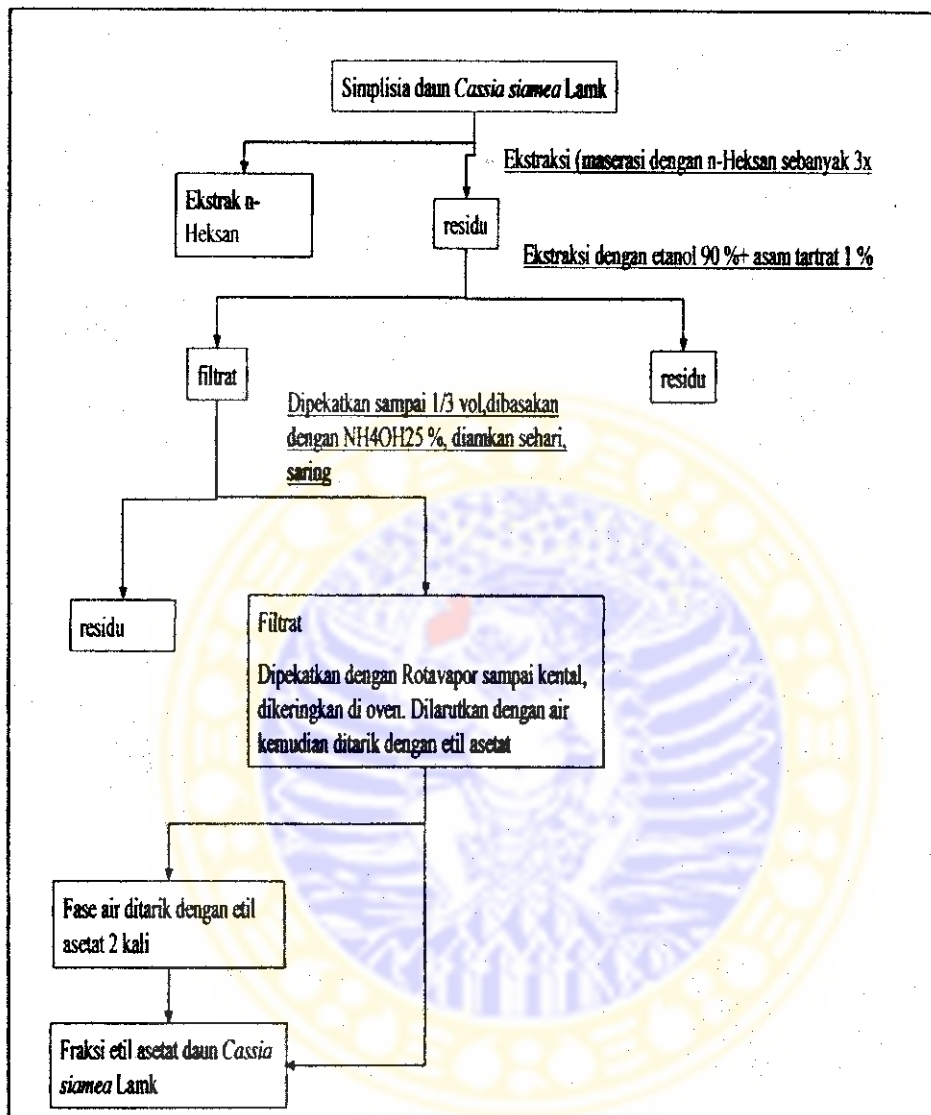
4.3.1.2. Organoleptik

Bentuk : padat/serbuk-kering, cair/encer, kental

Sifat fisik : warna, bau dan rasa

4.3.1.3. Cara Pembuatan

Fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk dibuat dari simplisia daun *Cassia siamea* Lamk Lamk diekstraksi dengan cara maserasi mula-mula dengan n-Heksan sebanyak 3x, kemudian residu padatannya dimaserasi dengan etanol 90 % yang dibuat suasana asam dengan penambahan asam tartrat 1 % sebanyak 3x. Maserat yang diperoleh diuapkan dengan rotavapor sampai diperoleh ekstrak yang pekat. Ekstrak yang diperoleh dibasakan dengan NH_4OH sampai PH 8, didiamkan sehari lalu disaring. Filtrat dipekatan dengan rotavapor sampai kental, dikeringkan di oven, dilarutkan dengan air kemudian ditarik dengan etil asetat. Fase air ditarik dengan etil asetat sebanyak dua kali. Fase etil asetat ditampung dan diuapkan dengan rotavapor samapai diperoleh ekstrak yang lebih pekat (sampai sepertiga volume awal). Ekstrak ini selanjutnya disebut dengan fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk.



Gambar-4.1 skema pembuatan ekstrak

4.3.1.4. Penentuan Parameter Sari Larut dalam pelarut tertentu

(1) Penentuan kadar senyawa yaang larut dalam air

Sejumlah 5 gram ekstrak dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml air kloroform LP menggunakan labu tersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Disaring, 20 ml filtrat diuapkan hingga kering dalam cawan

dangkal berdasar rata yang telah ditara, residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Kadar senyawa yang larut dalam air dihitung dalam persen, dihitung terhadap ekstrak awal.

(2) Penentuan kadar senyawa yang larut dalam alkohol

Sejumlah 5,0 gram ekstrak dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml etanol (95%). Menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Disaring dengan cepat untuk menghindari penguapan etanol, kemudian 20 ml filtrat diuapkan hingga kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara, residu dipanaskan hingga bobot tetap. Kadar senyawa yang larut dalam etanol dihitung dalam persen terhadap ekstrak awal.

4.3.2. Penentuan Parameter Non Spesifik

4.3.2.1 Penentuan parameter Berat Kering dan Berat Jenis

a. Parameter Susut Pengeringan

Ekstrak ditimbang secara seksama sebanyak 1 g sampai 2 g dan dimasukkan ke dalam botol timbang dangkal tertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara. Sebelum ditimbang, ekstrak diratakan dalam botol timbang dengan menggoyang-goyangkan botol hingga merupakan lapisan setebal 5 mm sampai 10 mm. Jika ekstrak yang diuji berupa ekstrak kental, ratakan dengan bantuan pengaduk. Kemudian dimasukkan ke dalam ruang pengering, buka tutupnya, keringkan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Sebelum setiap pengeringan biarkan botol dalam keadaan tertutup mendingin dalam eksikator hingga suhu kamar. Jika ekstrak sulit kering dan mencair pada pemanasan, ditambahkan 1 g silika pengering yang telah ditimbang seksama setelah dikeringkan dan disimpan dalam eksikator pada suhu kamar. Campurkan silika tersebut secara rata dengan ekstrak

pada saat panas, kemudian keringkan kembali pada suhu penetapan hingga bobot tetap.

b. Parameter bobot Jenis

Menggunakan piknometer bersih, kering, dan telah dikalibrasi dengan menetapkan bobot piknometer dan bobot air yang baru dididihkan pada suhu 25°C . Atur hingga suhu ekstrak cair lebih kurang 20°C , masukkan ke dalam piknometer. Atur suhu piknometer yang telah diisi hingga suhu 25°C , buang kelebihan ekstrak cair dan ditimbang. Kurangkan bobot piknometer kosong dari bobot piknometer yang telah diisi. Bobot jenis ekstrak cair adalah hasil yang diperoleh dengan membagi bobot ekstrak dengan bobot air, dalam piknometer pada suhu 25°C .

c. Penentuan parameter kadar air dengan cara destilasi

Alat :

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

Pereaksi :

Toluen. Sejumlah toluen P, dikocok dengan sedikit air, dibiarkan memisah, lapisan air suling dibuang.

Cara Penetapan :

Tabung penerima dibersihkan dengan asam pencuci, dibilasi dengan air, dikeringkan dalam lemari pengering. Ke dalam labu kering, dimasukkan sejumlah ekstrak yang ditimbang seksama yang diperkirakan mengandung 2 ml sampai 4 ml air. Jika ekstrak berupa ekstrak kental, timbang dalam sehelai lembaran logam dengan ukuran yang sesuai dengan leher labu. Untuk ekstrak yang dapat menimbulkan gelejak mendadak, ditambahkan pasir kering yang telah dicuci secukupnya hingga mencukupi dasar labu atau sejumlah

tabung kapiler, panjang lebih kurang 100 mm yang salah satu ujungnya tertutup. Masukkan lebih kurang 200 ml toluen ke dalam labu, hubungkan alat Toluena dituang ke dalam tabung penerima melalui alat pendingin. Labu dipanaskan dengan hati-hati selama 15 menit.

Setelah toluen mulai mendidih, disuling dengan kecepatan lebih kurang 2 tetes tiap detik, hingga sebagian air tersuling, kemudian kecepatan penyulingan dinaikkan hingga 4 tetes tiap detik. Setelah semua air tersuling, bagian dalam pendingin dicuci dengan toluen, sambil dibersihkan dengan sikat tabung yang disambungkan pada sebuah kawat tembaga dan lebih dibasahi dengan toluen. Lanjutkan penyulingan selama 5 menit Tabung penerima pendingin dibiarkan hingga suhu kamar. Jika ada tetes air yang melekat pada pendingin tabung penerima, digosok dengan karet yang diikatkan pada sebuah kawat tembaga dan basahi dengan toluen hingga tetesan air turun. Setelah air dan toluen memisah sempurna, volume air dibaca. Kadar air dihitung dalam persen.

d. Penentuan kadar abu total.

Lebih kurang 2 g sampai 3 g ekstrak ditimbang secara seksama, dimasukkan ke dalam krus platina atau krus silikat yang telah dipijarkan dan telah ditara, ratakan. Pijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, dinginkan, timbang. Jika dengan cara ini arang tidak dapat dihilangkan, tambahkan air panas, saring melalui kertas saring bebas abu. Pijarkan sisa dan kertas saring dalam krus yang sama. Filtrat dimasukkan ke dalam krus, diuapkan, dipijarkan hingga bobot tetap, lalu ditimbang. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara.

e. Penetapan kadar cemaran logam berat

1. Pembuatan larutan baku standar

Skripsi

- pembuatan larutan baku Pb
- pembuatan larutan baku Cd

Nurul Kasanah

- pembuatan larutan baku Zn
- pembuatan larutan baku Cu

larutan-larutan baku standar tersebut dibuat dengan cara mengencerkan larutan baku induk dengan konsentrasi tertentu.

2. Pembuatan larutan sampel

- fraksi etil asetat daun *Cassia siamea Lamk* ditimbang seksama sejumlah tertentu dan dipijarkan hingga terbentuk abu.
- Abu yang diperoleh dilarutkan dengan aquades sampai volume tertentu dengan penambahan HNO_3 1 %
- Larutan ini siap diukur dengan alat AAS.

h. Penentuan Residu Pelarut dengan Gas Chromatography

- Uji kualitatif

- Dipilih suatu pelarut yang bisa melarutkan n-Heksan, etanol, dan etil asetat, yang bisa memberikan peak area pada waktu retensi yang berbeda.
- Masing-masing larutan n-Heksan, etanol dan etil asetat diinjeksikan dan diamati waktu retensinya.
- Sampel ditimbang dengan teliti sejumlah tertentu dan dilarutkan dalam pelarut yang terpilih, diamati peak area yang terjadi.
- Hasil (+) bila sampel memiliki peak area dengan waktu retensi yang sama dengan waktu retensi dari etanol, etil asetat atau n-Heksan.

- Uji kuantitatif

Jika hasil uji kualitatif (+), dilanjutkan uji kuantitatif

- Dibuat larutan standar berbagai kadar, larutan ini diinjeksikan dan dibuat persamaan regresi antara kadar dan luas peak area.
- Sampel diinjeksikan dan dihitung kadar dengan memasukkan data luas area ke persamaan garis regresi yang dibuat.

4.3.3 Penentuan Parameter Spesifik

4.3.3.1 Penetapan Kadar Minyak atsiri

Labu alas bulat 1 liter, berleher pendek diletakkan dalam mantel pemanas yang dilengkapi dengan pengaduk magnetik. Batang pengaduk magnetik dimasukkan ke dalam labu, dihubungkan labu dengan pendingin dan alat penampung berskala.

Sejumlah ekstrak ditimbang hingga diperkirakan dapat menghasilkan 1 ml sampai 3 ml minyak atsiri. Sejumlah ekstrak yang telah ditimbang dimasukkan seksama ke dalam labu. Hubungkan dengan bagian pendingin dan penampung berskala. Isi labu dididihkan dengan pemanasan yang sesuai untuk menjaga agar pendidihan berlangsung tidak terlalu kuat selama 2 jam atau sampai minyak atsiri terdestilasi sempurna dan tidak bertambah lagi dalam bagian penampung berskala. Jika sejumlah volume minyak atsiri telah tertampung dalam bagian penampung berskala, pencatatan dapat dilakukan dengan pembacaan sampai 0,1 ml, dan volume minyak atsiri untuk setiap 100 g ekstrak dapat dihitung dari bobot ekstrak yang ditimbang. Skala pada penampung untuk minyak atsiri dengan bobot jenis lebih besar dari air diletakkan sedemikian hingga minyak atsiri tertampung di bawah kondensat air, sehingga otomatis air kembali ke dalam labu.

4.3.3.2 Penetapan kadar alkaloid fraksi etil asetat daun *Cassia siamea Lamk* dengan KLT Densitometri

(1) Optimasi eluen

larutan sampel dan standar konsentrasi tertentu ditotolkan pada plate KLT dan dieluasi dengan bermacam-macam eluen, sehingga didapatkan eluen yang selektif.

(2) Penentuan panjang gelombang maksimum

Untuk menentukan panjang gelombang maksimum ini dibuat larutan standar dalam pelarut (kloroform-atanol) dengan beberapa konsentrasi. Larutan-larutan tersebut ditotolkan pada plate KLT

masing-masing sebanyak 5,0 μ l, kemudian dieluasi dengan eluen terpilih dan dilihat spektranya dengan bantuan alat TLC Scanner pada panjang gelombang 200-370 nm. Dari sini dapat diketahui pada panjang gelombang berapa alkaloid siamin memberikan absorban maksimum. Panjang gelombang tersebut yang akan digunakan untuk pengukuran.

(3) Linearitas

1. Dibuat larutan induk dengan konsentrasi tertentu dengan cara menimbang standar siamin hasil isolasi sebanyak 1mg yang dilarutkan dalam 500 μ l pelarut (etanol : kloroform sama banyak) sehingga didapatkan larutan dengan kadar 2000 ppm.
2. Kemudian dibuat larutan baku kerja dengan cara memipet sejumlah tertentu larutan baku induk, sehingga dari baku induk tersebut didapat larutan dengan kadar 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400ppm,dan 500 ppm
3. Larutan-larutan standar tersebut ditotolkan pada plate KLT masing-masing sebanyak 5 μ l Selanjutnya dieluasi dengan sistem pelarut pengembang terpilih dan diamati pada panjang gelombang terpilih.
4. Dari data kromatogram yang didapat dihitung korelasi antara kadar dengan area sehingga dapat dibuktikan ada atau tidaknya hubungan linier antara luas area dan kadar.

(4) Penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantisasi (LOQ)

1. Dari larutan baku kerja ditotolkan pada lempeng KLT sehingga diperoleh kadar mulai 0,05 ; 0,025 ; 0,0125 μ g/bercak dan seterusnya sampai konsentrasi terendah yang tidak dapat terdeteksi dengan densitometer. Ditotolkan juga larutan blanko (pelarut yang digunakan)
2. Kemudian kromatogram yang diperoleh yaitu dari kadar terkecil sampai empat macam kadar di atas kadar terkecil diukur luas areanya. Tinggi puncak kadar yang didapat digunakan untuk menentukan LOD dan LOQ.

(5) Akurasi

1. Ditimbang fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk sebanyak 100,0 mg ditambah dengan 50 µl larutan standar 500 ppm dan ditambahkan pelarut sampai 25,0 ml. preparasi sampel ini dilakukan minimal sebanyak 3 kali.
2. Masing-masing ditotolkan sebanyak 5 µl kemudian dieluasi dan diukur dengan Densitometer pada panjang gelombang terpilih. Dari kadar yang didapat akan digunakan untuk menghitung % rekoverti.

(6) Penetapan Kadar alkaloid siamin dalam fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk

Ditotolkan larutan sampel sebanyak 5 kali penimbangan dengan berat yang sama pada plat KLT sebanyak 5µl. Selanjutnya dieluasi dalam sistem pelarut pengembang terpilih dan noda yang terjadi diukur areanya dengan Densitometer pada panjang gelombang terpilih.

(7) Presisi

Ditotolkan larutan sampel sebanyak 5 kali penimbangan dengan berat yang sama pada plat KLT sebanyak 5µl. Selanjutnya dieluasi dalam sistem pelarut pengembang terpilih dan noda yang terjadi diukur areanya dengan Densitometer pada panjang gelombang terpilih. Kadar alkaloid yang didapat digunakan untuk menghitung koefisien variasi.

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 Parameter Spesifik

5.1.1 Idenitas Ekstrak

Nama Ekstrak : Fraksi Etil asetat daun johar
 Nama Tanaman : *Cassia siamea* Lamk
 Nama Indonesia : johar
 Bagian Tanaman : daun

5.1.2 Pembuatan Fraksi etil asetat

Hasil pembuatan fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk ditunjukkan pada tabel V.1

Tabel V.1 Hasil pembuatan fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk

No	Uraian	Jumlah
1.	Jumlah simplisia yang dimaserasi	3,6 Kg
2.	Jumlah n-heksan yang digunakan	21,6 L
3	Jumlah etanol 90 % yang digunakan	32,4 L
4.	Jumlah fraksi etanol yang didapat	420 g
5.	Jumlah etil asetat	31,5 L
6.	Jumlah fraksi etil asetat setelah dipekatkan	340 mL

Ini berarti 1 ml fraksi etil asetat ekivalen dengan 10,5882 g simplisia dan ekstrak yang diperoleh mempunyai viskositas 0,936 centipoise.

5.1.3 Hasil Pengamatan organoleptik ekstrak

Fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk yang diperoleh diamati secara organoleptik, hasil pengamatan ditunjukkan pada tabel V.2

Tabel V.2 Hasil pengamatan organoleptik fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk

No	Uraian	Hasil
1	Bentuk	Cairan kental
2	Warna	Cokelat kehitaman
3	Bau	Khas aromatik
4	Rasa	Pahit

5.1.4 Hasil penetapan kadar sari larut dalam air

Hasil penetapan kadar sari larut dalam air fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk tercantum pada tabel V.3

Tabel V.3 Hasil penetapan kadar sari larut dalam air fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk

No	Berat awal (g)	Berat akhir	Kadar (%b/b)
1	2,1875	0	0
2	2,1288	0	0
3	2,1115	0	0
Rata-rata			0
Standar deviasi			0
Koefisien variasi			0

Kadar sari larut dalam air fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk adalah 0

5.1.5 Hasil penetapan kadar sari larut dalam etanol

Hasil penetapan kadar sari larut dalam etanol fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk tercantum pada tabel V.4

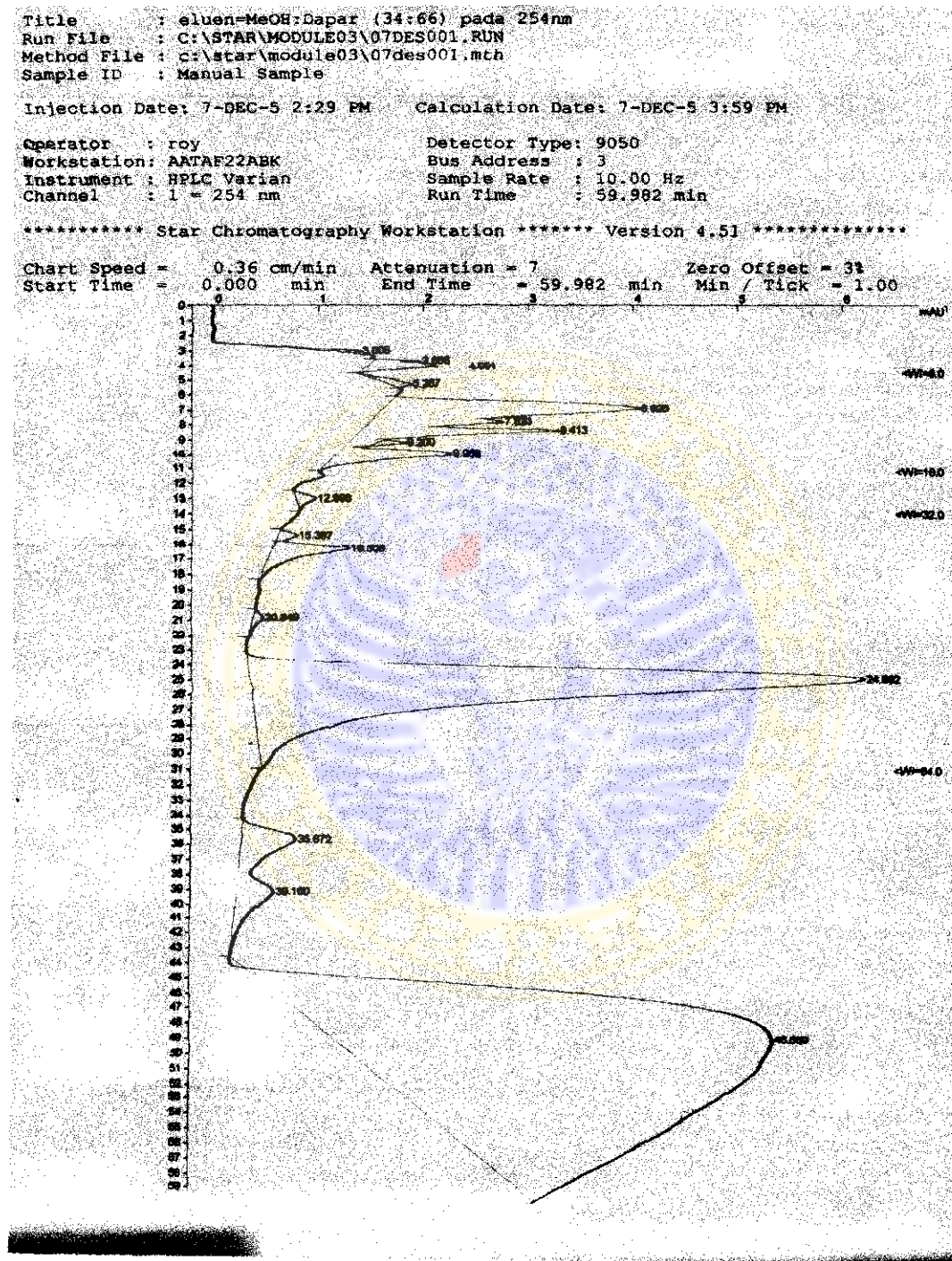
Tabel V.4 Hasil penetapan kadar sari larut dalam etanol fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk

No	Berat ekstrak (g)	Berat sari larut (g)	Kadar (%b/b)
1	2,5106	2.2170	88,31
2	2,5114	2.2480	89,51
3	2,4973	2.1525	86,19
Rata-rata			88,00
Standar deviasi			1,68
Koefisien variasi			1,91

Kadar sari larut dalam etanol rata-rata 88,00 % dengan koefisien variasi sebesar 1,91 %.

5.1.6 Profil kromatogram fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk dengan HPLC.

Profil kromatogram fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk dengan HPLC pada panjang gelombang 254 nm, dengan eluen metanol : dapar (34 : 66) ditunjukkan pada gambar 5.1, sedangkan area masing-masing peak ditunjukkan pada gambar 5.2



Gambar 5.1 Profil kromatogram fraksi etil asetat dengan HPLC

Print Date: Thu Dec 08 18:03:33 2005

Page 1 of 1

Title : eluen-MeOH:Dapar (34:66) pada 254nm
 Run File : C:\STAR\MODULE03\07DES001.RUN
 Method File : c:\star\module03\07des001.mth
 Sample ID : Manual Sample

Injection Date: 7-DEC-5 2:29 PM Calculation Date: 7-DEC-5 3:59 PM

Operator : roy Detector Type: 9050
 Workstation: AATAF22ABK Bus Address : 3
 Instrument : HPLC Varian Sample Rate : 10.00 Hz
 Channel : 1 - 254 nm Run Time : 59.982 min

***** Star Chromatography Workstation ***** Version 4.51 *****

Run Mode : Analysis
 Peak Measurement: Peak Area
 Calculation Type: Percent

Peak No.	Peak Name	Result (%)	Ret. Time (min)	Time Offset (min)	Area (counts)	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes
1		0.1642	3.005	0.000	3184	BB	0.0	
2		0.0971	3.686	0.000	1881	BV	7.3	
3		0.5395	4.091	0.000	10458	VB	32.5	
4		0.2067	5.287	0.000	4007	BB	0.0	
5		4.0537	6.920	0.000	78574	BV	75.8	
6		0.8340	7.820	0.000	16166	VV	37.2	
7		1.7091	8.413	0.000	33127	VV	22.4	
8		0.1083	9.200	0.000	2100	TS	0.0	
9		1.3307	9.958	0.000	25794	VB	25.7	
10		0.1962	12.998	0.000	3804	BB	41.1	
11		0.1408	15.397	0.000	2729	BV	27.5	
12		1.1061	16.308	0.000	21439	VB	41.5	
13		0.1215	20.849	0.000	2355	BB	34.0	
14		22.9882	24.862	0.000	445582	BB	126.7	
15		1.6300	35.672	0.000	31595	BV	103.6	
16		1.3127	39.160	0.000	25443	VP	108.1	
17		63.4611	48.889	0.000	1230072	PB	0.0	
Totals:		99.9999		0.000	1938310			

Total Unidentified Counts : 1938308 counts

Detected Peaks: 17 Rejected Peaks: 0 Identified Peaks: 0

Multiplier: 1 Divisor: 1

Baseline Offset: -3 microAU

Noise (used): 24 microAU - monitored before this run

5.1.7 Hasil penetapan kadar alkaloid siamin dengan KLT Densitometri

1. Hasil optimasi eluen

Hasil optimasi dengan beberapa sistem eluen ditunjukkan pada tabel V.5

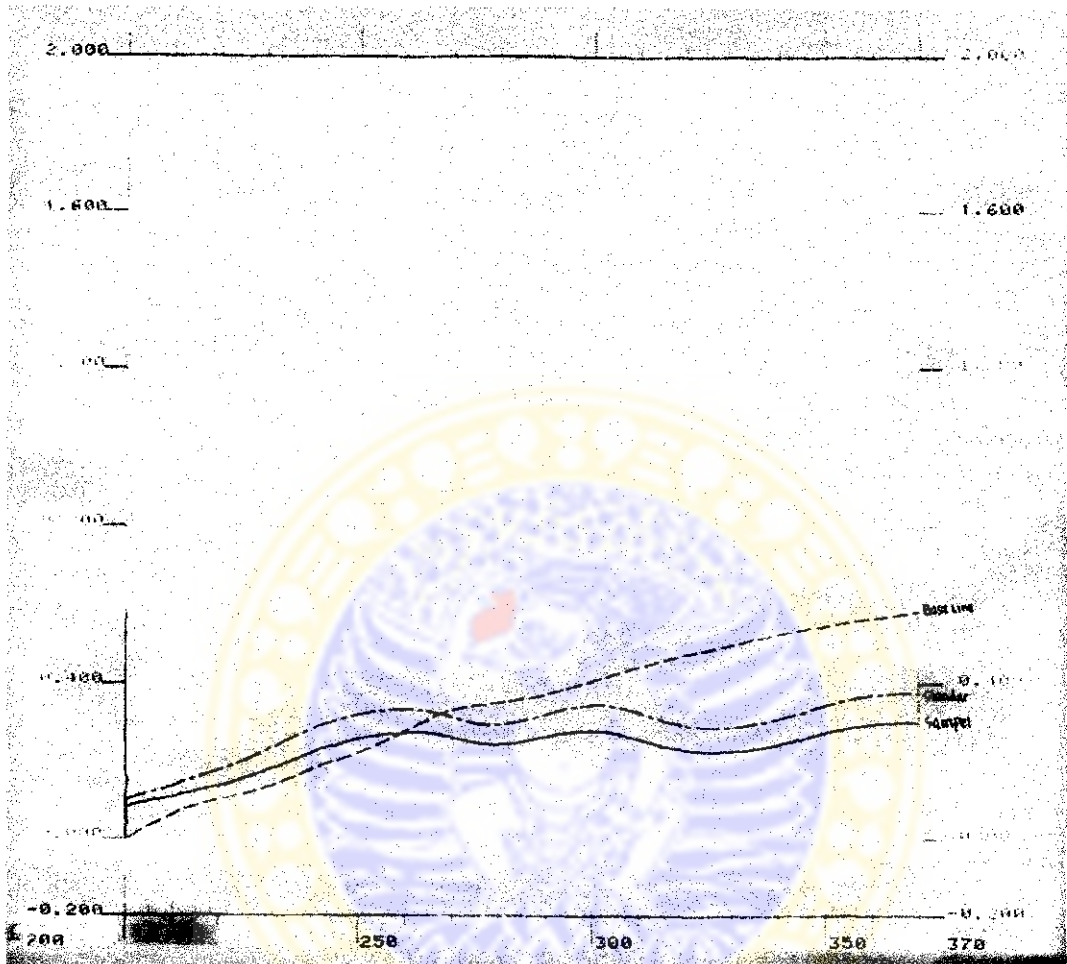
Tabel V.5 Hasil optimasi eluen

No	Jenis eluen	Harga Rs
1	CHCl ₃ : etanol (8,5 : 1,5)	2,25
2	CHCl ₃ : Etil asetat : Etanol (2 : 2 : 1)	1,5
3	Etil asetat : Metanol : air (100 : 13,5 : 10)	1,86

Eluen yang paling optimal adalah eluen I yaitu CHCl₃ : etanol (8,5 : 1,5)

2. Penentuan Panjang gelombang maksimum

panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 300 nm. Spektra standar siamin dan ekstrak pada berbagai panjang gelombang ditunjukkan gambar 5.3 .



Keterangan gambar

Sumbu x = panjang gelombang (nm)

Sumbu y = absorban (AU)

Gambar 5.3 Spektrum standar siamin dan ekstrak pada berbagai panjang gelombang

3. Linearitas

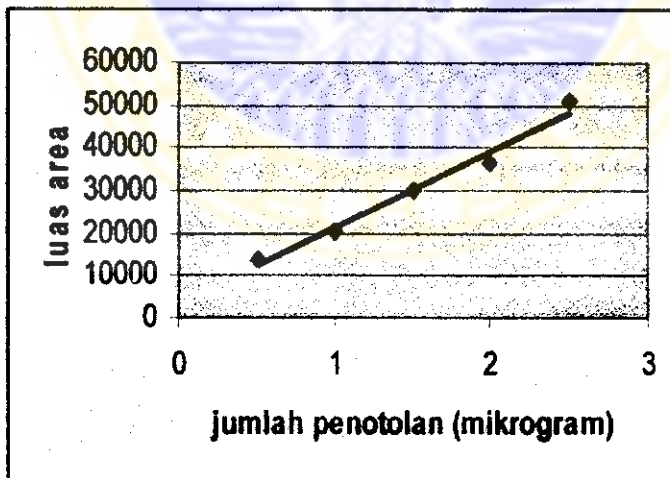
Hasil pengukuran luas area untuk penentuan linearitas pada berbagai konsentrasi ditunjukkan pada tabel V.6. Sedangkan kurva baku antara jumlah penotolan vs area noda ditunjukkan pada gambar 5.4

Tabel V.6 Hasil pengukuran luas area untuk penentuan linearitas pada berbagai konsentrasi

Konsentrasi standar siamin (ppm)	Jumlah penotolan (μg)	Area noda
100	0,5	14078,29
200	1,0	20646,13
300	1,5	29800,28
400	2,0	36589,64
500	2,5	50724,24

$$Y = 17847,082 x + 3597,093 \quad r = 0,9895 \quad r \text{ tabel} = 0,878$$

Karena r hitung $>$ r tabel maka ada korelasi yang linear



Gambar 5.4

Kurva hubungan jumlah penotolan vs luas area

4. Hasil penentuan LOD dan LOQ

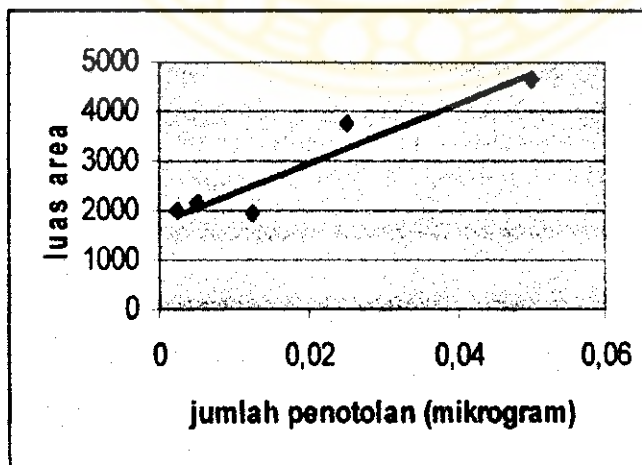
Hasil pengukuran luas area pada berbagai kadar untuk penentuan LOD dan LOQ tercantum pada tabel V.7 . Luas area blanko untuk penentuan LOD dan LOQ ditunjukkan pada tabel V.8. Sedangkan kurva baku untuk penentuan LOD dan LOQ ditunjukkan oleh gambar 5.5

Tabel V.7 Hasil pengukuran luas area pada berbagai kadar untuk penentuan LOD dan LOQ

No	Kadar ($\mu\text{g/bercak}$)	Area noda
1	0,0025	1978,645
2	0,0050	2158,918
3	0,0125	1969,176
4	0,0250	3756,344
5	0,0500	4634,410

$$Y = 60054,82 x + 1758,46 \quad r = 0,951 \quad r \text{ tabel} = 0,878$$

Karena $r \text{ hitung} > r \text{ tabel}$ maka ada korelasi yang linear



Gambar 5.5

Kurva hubungan jumlah penotolan vs area noda untuk LOD dan LOQ

Tabel V.8 Luas area blanko penentuan LOD dan LOQ

No	area
1	233,074
2	118,519
3	251,585
4	180,851
5	430,394
6	411,726
Rata-rata	271,02
Standar deviasi	125,22

$$\text{LOD} = \frac{3,3 \text{ xsd}}{\text{slope}}$$

$$= \frac{3,3 \times 125,22}{60054,82} = 0,007 \mu\text{g/ bercak}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \text{ Xsd}}{\text{slope}} = \frac{10 \times 125,22}{60054,82} = 0,021 \mu\text{g/bercak}$$

5. Hasil penetapan kadar alkaloid siamin fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk.

Luas area standar siamin berbagai konsentrasi pada berbagai jumlah penotolan ditunjukkan pada tabel V.9, hasil penetapan kadar alkaloid siamin fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk ditunjukkan pada tabel V.10.

Tabel V.9 Luas area standar siamin berbagai konsentrasi pada berbagai jumlah penotolan

Konsentrasi standar (ppm)	Jumlah penotolan ($\mu\text{g}/\text{bercak}$)	area
500	2,50	17834,84
1000	5,00	26649,72
1250	6,25	29648,07
1500	7,50	30847,30
1750	8,75	36377,64
2000	10,00	37382,78

$$Y = 2606,8 x + 12414,84 \quad r = 0,9855 \quad r \text{ tabel} = 0,917$$

Karena r hitung $>$ r tabel maka ada korelasi yang linear

Tabel V.10 Hasil penetapan kadar alkaloid siamin fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk

Sampel (mg)	Luas area	Kadar ($\mu\text{g}/5\mu\text{l}$)	Kadar (%)
116,0	19704,44	0,90	3,88
111,8	17577,74	0,78	3,49
112,8	17679,52	0,79	3,50
101,0	16752,32	0,74	3,66
Kadar rata-rata			3,63
Standar deviasi			0,18
Koefisien variasi			5,0

Kadar alkaloid siamin rata-rata $3,63\% \pm 0,18$ dengan koefisien variasi sebesar 5,0 %

6. Hasil penentuan akurasi

Hasil penentuan akurasi ditunjukkan dalam tabel V.11

Tabel V.11 Hasil penetapan akurasi fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk

Replikasi ke-	Penimbangan		Siamin dalam 25 ml (μg)	Cp (mg)	% recovery
	Sampel (mg)	Standar (μg)			
1	115,5	25	5050	4412,1	113,81
2	104,0	25	4600	3972,8	115,06
3	102,7	25	4150	3923,14	105,11
% recovery rata-rata					111,33

Persen recovery yang didapat masuk dalam rentang yang diperbolehkan yaitu 80 -120 % (USP XXIV dan Swarbrick, 1970)

5.1.8 Hasil penetapan kadar minyak atsiri

Hasil penetapan kadar minyak atsiri fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk ditunjukkan pada tabel V.12

Tabel V.12 Hasil penetapan kadar minyak atsiri fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk

Berat ekstrak (g)	Volume minyak atsiri (ml)	% (b/v)
2,4090	0,005	2,07
2,4703	0,005	2,02
2,4234	0,005	2,06
Rata-rata		2,05
Standar deviasi		0,026
Koefisien variasi		1,27

5.2 Hasil penentuan parameter non spesifik

5.2.1 Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak

Hasil penetapan susut pengeringan fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk tercantum pada tabel V.13

Tabel V.13 Hasil penetapan susut pengeringan fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk

No	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	Susut pengeringan (% b/b)	Berat kering ekstrak (%b/b)
1.	1,0886	1,0427	4,22	95,78
2.	1,1828	1,1405	3,58	96,42
3.	1,2144	1,1713	3,55	96,45
Rata-rata			3,78	96,22
Standar deviasi			0,38	0,38
Koefisien variasi			10,05	0,39

Susut pengeringan fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk rata-rata $3,78 \pm 0,38$ dengan koefisien variasi sebesar 10,05 %

5.2.2 Hasil Penetapan berat jenis ekstrak

Hasil penetapan berat jenis fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk tercantum pada tabel V.14

Tabel V.14 Hasil penetapan berat jenis fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk

No	Berat piknometer kosong	Berat pikno+ekstrak	Berat ekstrak(g)	Volume piknometer (ml)	Berat jenis (g/ml)
1.	28,8312	37,6817	8,8505	9,765	0,9063
2.	28,8312	37,6976	8,8664	9,765	0,9080
3.	28,8312	37,7025	8,8713	9,765	0,9085
Rata-rata					0,9076
Standar deviasi					$1,153 \times 10^{-3}$
Koefisien variasi					0,171 %

Berat jenis rata-rata $0,9076 \pm 0,001153$ dengan koefisien variasi sebesar 0,171 %

5.2.3. Hasil penetapan kadar air dengan metode destilasi

Hasil penetapan kadar air dengan metode destilasi jenis fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk tercantum pada tabel V.15

Tabel V.15 Hasil penetapan kadar air fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk.dengan metode destilasi

No	Berat ekstrak(g)	Volume air (ml)	% kadar air
1.	2,4090	0	0
2.	2,5130	0	0
3.	2,4921	0	0
Rata-rata			0
Standar deviasi			0
Koefisien variasi			0

Kadar air sebesar 0 %

5.2.4 Hasil Penetapan kadar abu total

Hasil penetapan kadar abu fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk tercantum pada tabel V.16

Tabel V.16 Hasil penetapan kadar abu total fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk

No	Berat ekstrak (g)	berat abu (g)	% abu (b/b)
1.	2,2255	0,0027	0,121
2.	2,2846	0,0023	0,101
3.	2,2101	0,0024	0,111
Rata-rata			0,111
Standar deviasi			0,01
Koefisien variasi			9,01 %

5.2.5 Hasil penetapan sisa pelarut

Dari penetapan sisa pelarut secara kualitatif didapatkan hasil seperti yang tercantum pada tabel V.17

Tabel V.17 Hasil penetapan sisa pelarut secara kualitatif

No	sampel	Waktu retensi (menit)	
1	Etanol	4,134	
2	Etil asetat	5,420	
3	n-hesan	5,220	
4	Ekstrak	Peak 1	15,252
		Peak 2	15,406
		Peak 3	15,573
		Peak 4	16,110
		Peak 5	16,152
		Peak 6	16,258
		Peak 7	16,304
		Peak 8	16,346
		Peak 9	16,449
		Peak 10	16,478
		Peak 11	16,524

Peak-peak dalam ekstrak tidak ada yang waktu retensinya sama dengan waktu retensi pelarut, sehingga residu pelarut negatif.

5.2.6 Penetapan Kadar Logam Berat

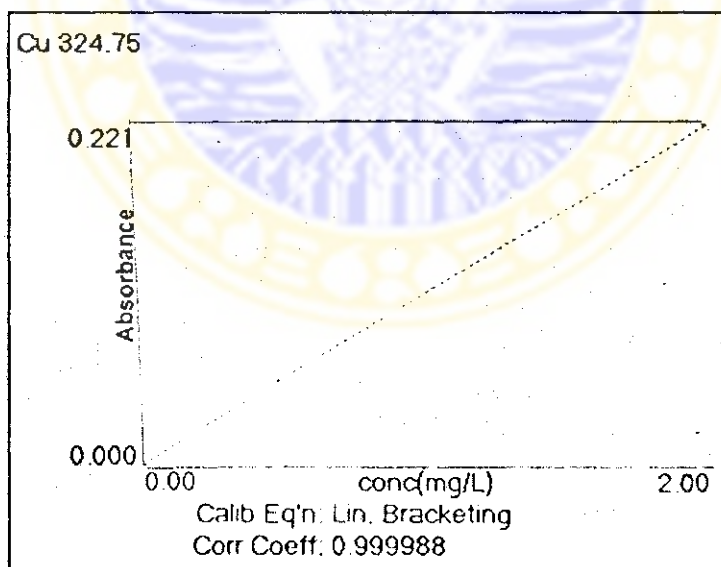
1. Penetapan kadar Cu

Table V.18 Kurva baku penetapan kadar Cu

Konsentrasi (ppm)	Absorban
0,00	0,001
0,25	0,0280
0,50	0,0564
1,00	0,1113
2,00	0,2205

$$Y = 0,10982x + 0,00109 \quad r = 0,999988 \quad r \text{ tabel} = 0,959$$

Karena r hitung $>$ r tabel maka ada korelasi yang linear



Gambar 5.6 Kurva baku larutan logam Cu pada berbagai konsentrasi

Table V.19 Kadar Cu sampel

Replikasi ke	absorban	Konsentrasi (ppm)
1	0,149	1,346
2	0,149	1,345
3	0,148	1,339
Rata - rata		1,343

Dari larutan 25,0 ml diambil 4,0 ml diencerkan sampai 10,0 ml

$$\text{Kadar sebelum pengenceran} = \frac{10}{4} \times 1,343 \text{ mg/L} = 3,3575 \text{ mg/L}$$

$$\text{Dalam 25,0 ml} \sim 6,7978 \text{ g ekstrak} = \frac{25}{1000} \times 3,3575 \text{ mg} = 0,084 \text{ mg}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar Cu dalam ekstrak} &= \frac{0,084}{6,7978 \times 1000 \text{ mg}} \times 10^6 \text{ ppm} = 12,35 \text{ ppm} \\ &= 12,35 \text{ mg/Kg} \end{aligned}$$

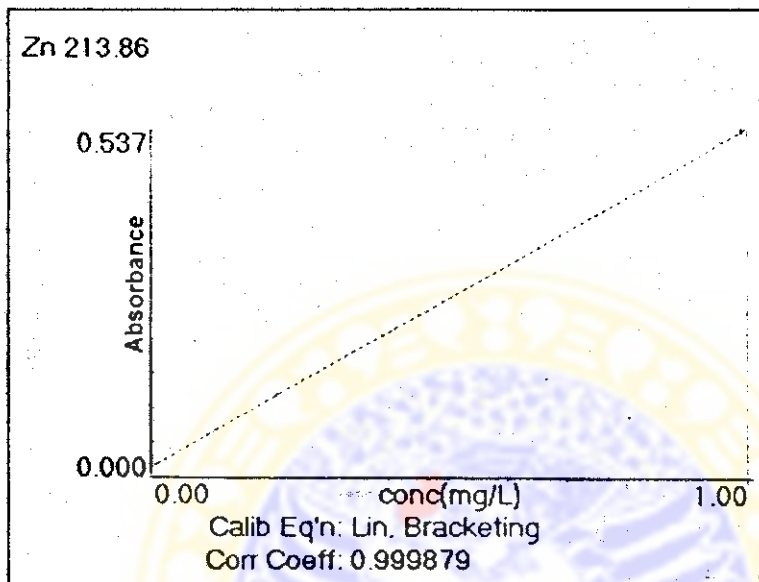
2. Penentuan kadar Zn

Table V.20 Kurva baku penentuan kadar Zn

Konsentrasi (ppm)	Absorban
0,00	-0,001
0,10	0,0653
0,20	0,1248
0,40	0,2274
1,00	0,5373

$$Y = 0,5090x + 0,01735 \quad r = 0,999879 \quad r \text{ tabel} = 0,959$$

Karena r hitung $>$ r tabel maka ada korelasi yang linear



Gambar 5.7 Kurva baku larutan logam Zn pada berbagai konsentrasi

Tabel V.21 Kadar Zn dalam larutan sampel

Replikasi ke	absorban	Konsentrasi (ppm)
1	0,387	0,709
2	0,385	0,707
3	0,379	0,694
Rata - rata		0,703

$$\text{Dalam 25,0 ml} \sim 6,7978 \text{ g sampel} = \frac{25}{1000} \times 0,703 \text{ mg}$$

$$= 0,017575 \text{ mg}$$

$$\text{Kadar Zn dalam ekstrak} = \frac{0,017575 \text{ mg}}{6,7978 \times 1000 \text{ mg}} \times 10^6 \text{ ppm}$$

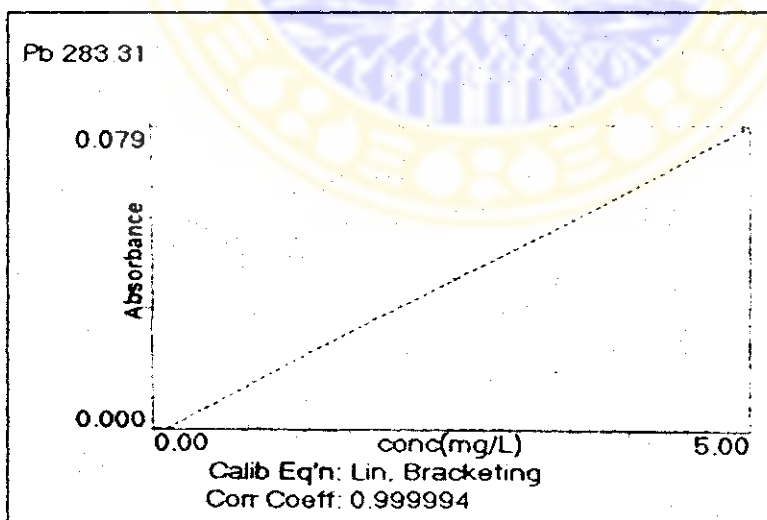
$$= 2,58 \text{ ppm} = 2,58 \text{ mg/Kg}$$

3. Penentuan kadar Pb

Absorban larutan baku Pb pada berbagai konsentrasi ditunjukkan pada tabel V.22

Tabel V.22 Absorban larutan baku Pb pada berbagai konsentrasi

Konsentrasi (ppm)	Absorban
0,00	-0,002
0,50	0,0061
1,00	0,0143
2,50	0,0385
5,00	0,0794



$$y = 0.01626 x - 0.00201 \quad r \text{ hitung} = 0,999994$$

Skripsi

Standardisasi Fraksi Etil
 $r \text{ tabel} = 0,959$

Nurul Kasanah

Karena $r \text{ hitung} > r \text{ tabel}$ maka ada korelasi yang linear

Gambar 5.8 Kurva baku larutan standar Pb berbagai konsentrasi

Tabel V.23 Kadar logam berat Pb dalam larutan sampel

Replikasi ke	absorban	Konsentrasi (ppm)
1	0,004	0,358
2	0,004	0,340
3	0,004	0,386
Rata-rata		0,362

$$\text{Kadar sampel rata-rata} = 0,362 \text{ ppm} = 0,362 \text{ mg/L}$$

$$\text{Dalam 25,0 ml} \sim 6,7978 \text{ g ekstrak} = \frac{25}{1000} \times 0,362 \text{ mg} = 9,05 \times 10^{-3} \text{ mg}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar dalam ekstrak} &= \frac{0,00905 \text{ mg}}{6,7968 \times 1000 \text{ mg}} \times 10^6 \text{ ppm} \\ &= 1,33 \text{ ppm} = 1,33 \text{ mg/Kg} \end{aligned}$$

5.3 Ringkasan Hasil Penentuan Parameter

5.3.1 Ringkasan penentuan parameter spesifik

Ringkasan hasil penentuan parameter spesifik ditunjukkan pada tabel V.24

Tabel V.24 Ringkasan hasil penentuan parameter spesifik

no	Parameter	Nilai	Batasan	Acuan
1	Identitas ekstrak	-	-	-
2	Kadar sari larut air	0	-	-
3	Kadar sari larut etanol	88,00±1,68%	-	-
4	Profil kromatogram	-	-	-
5	Kadar kandungan kimia tertentu(alkaloid siamin)	3,63 ±0,18%	-	-
6	Kadar minyak atsiri	2,05±0,026%	-	-

5.3.2. Ringkasan hasil Penentuan Parameter non spesifik

Ringkasan hasil penentuan parameter non spesifik ditunjukkan pada tabel V.25.

Tabel V.25 Ringkasan hasil penentuan parameter non spesifik

No	parameter	Nilai	Batasan	Acuan
1	Susut pengeringan	3,78 ±0,38%	-	-
2	Berat jenis	0,9076 ± 0,00153 g/ml	-	-
3	Kadar air	-	-	-
4	Kadar abu total	0,111±0,01 %	-	-
5	Residu pelarut			Peraturan BPOM RI No.:HK.00.05.41.1384
	- Etanol	Negatif	≤ 1 %	
	- Etil asetat	Negatif	0	
	- n-heksan	Negatif	0	
6	Kadar logam berat			WHO Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials
	- Cu	12,35 mg/Kg	20 mg/Kg	
	- Pb	1,33 mg/Kg	10 mg/Kg	
	- Cd	negatif	0,3 mg/Kg	
	- Zn	2,58 mg/Kg	100 mg/Kg	

BAB VI

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan penetapan parameter-parameter standar fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk. Daun *Cassia siamea* Lamk (daun johar) yang digunakan sebagai bahan penelitian diambil dari Purwodadi dalam bentuk daun segar selanjutnya dicuci bersih, dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C kemudian diserbuk. Serbuk daun yang diperoleh diekstraksi dengan pelarut n-heksan dilanjutkan dengan pelarut etanol dan terakhir dengan etil asetat. Hasil ekstraksi dengan etil asetat ini kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak ini selanjutnya dinamakan Fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk. Bentuk ekstrak inilah yang digunakan sebagai bahan uji penelitian untuk ditentukan parameter spesifik maupun parameter nonspesifiknya. Dari penelitian ini diharapkan diperoleh data-data parameter standar umum dan spesifik fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk yang dapat digunakan untuk acuan standar bahan, proses dan produk dalam pengembangan produk sediaan fitofarmaka yang terjamin kualitas, keamanan dan khasiat terapinya.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Mula-mula serbuk daun dimaserasi dengan n-heksan selama 24 jam sebanyak 3 kali, kemudian maserat diambil. Selanjutnya maserat yang diperoleh dimaserasi sebanyak 3 kali selama 24 jam dengan etanol 90 % yang telah diasamkan dengan penambahan asam tartrat. Fraksi etanol yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan rotavapor hingga diperoleh ekstrak kental. Fraksi etanol yang sudah pekat tersebut kemudian dilarutkan dengan air kemudian ditarik dengan etil asetat. Fase air ditarik dengan etil asetat sebanyak dua kali. Hasil ekstraksi yang diperoleh dipekatkan dengan rotavapor sehingga diperoleh ekstrak kental dengan kesetaraan 1ml fraksi etil asetat ekuivalen dengan 10,5882 g simplisia dan mempunyai viskositas 0,936 centipoise.

Penentuan identitas ekstrak bertujuan untuk menentukan identitas fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk seobyektif mungkin sehingga dapat dibedakan dari ekstrak lain. Fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk yang

dihasilkan berupa ekstrak kental, berwarna coklat kehitaman, dengan bau khas aromatik, dan rasanya pahit.

Penentuan sari larut dalam pelarut tertentu dilakukan dengan cara melarutkan ekstrak dalam pelarut untuk ditentukan jumlah solutnya yang identik dengan jumlah zat kandungan yang ditentukan secara gravimetri. Dalam penelitian ini ditentukan kadar sari larut dalam air dan diketahui bahwa kadar sari karut dalam air adalah 0. Hal ini terjadi karena yang digunakan pada penelitian ini adalah fraksi etil asetat yang tidak larut dalam air, sehingga tidak ada ekstrak yang tersari dalam air.

Penentuan susut pengeringan merupakan pengukuran sisa zat setelah pengeringan pada suhu 105°C selama satu jam hingga bobot konstant. Dari penentuan susut pengeringan ini bisa diketahui berat kering ekstrak yang menunjukkan batasan minimal tentang besarnya kandungan kimia dan mengetahui tingkat kepekatan ekstrak. Dalam penelitian ini diperoleh berat kering fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk sebesar 96,22%, dengan koefisien variasi sebesar 0,39.

Berat jenis ditentukan dengan menggunakan alat Piknometer pada suhu 25°C yang bertujuan untuk memberikan batasan tentang besarnya massa persatuan volume dari ekstrak cair hingga ekstrak kental yang masih dapat dituang. Berat jenis fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk yang diperoleh adalah 0,9076 g/ml dengan koefisien variasi sebesar 0,001153.

Penetapan kadar air dapat dilakukan dengan metode titrasi, destilasi, atau gravimetri. Dalam penelitian ini digunakan metode destilasi karena pelaksanaan lebih cepat dan hasil yang diperoleh lebih teliti karena metode ini bisa mengatasi kelemahan metode gravimetri yang kadar airnya dipengaruhi juga oleh zat menguap yang lain. Dalam penelitian ini kadar air yang didapat adalah 0, hal ini dikarenakan fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk memang tidak mengandung air karena pada proses pembuatan fase air dan fase etil asetat sudah memisah sempurna.

sehingga tinggal unsur mineral dan organik. Penetapan ini bertujuan untuk menetapkan kandungan mineral yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak. Hasil penetapan kadar abu total fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk sebesar 0,111 % dengan koefisien variasi sebesar 9,01 %.

Penetapan sisa pelarut bertujuan memberikan jaminan bahwa selama proses pembuatan tidak meninggalkan sisa pelarut yang memang seharusnya tidak boleh ada. Dari penelitian diketahui bahwa fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk ini bebas dari residu pelarut (n-heksan, etil asetat dan etanol). Penetapan sisa pelarut ini dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan kromatografi gas dengan memperhatikan waktu retensi.

Pada penelitian ini juga dilakukan penetapan kadar logam berat yang ada pada ekstrak meliputi Cu, Pb, Zn, dan Cd. Dengan menggunakan AAS diperoleh kadar Cu dalam ekstrak sebesar 12,35 mg/Kg, kadar Zn sebesar 2,58 mg/Kg, kadar Pb sebesar 1,33 mg/Kg, sedangkan Cd negatif, karena larutan sampel menunjukkan absorban yang lebih kecil daripada absorban blanko. Blanko yang digunakan adalah larutan HNO₃ 1 %. Untuk produk akhir herbal kadar Cu maksimal yang diperbolehkan adalah 20-150 mg/Kg, , kadar Zn dikatakan toksik jika melampaui 100 mg/Kg (Kalra, 1998). Sedangkan kadar maksimum Pb dalam *dried plant material* adalah 10 mg/Kg, dan kadar maksimum Cd adalah 0,3 mg/Kg. sehingga fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk yang dihasilkan telah memenuhi syarat uji batas logam terhadap Pb, Cd, Cu, dan Zn.

Penetapan kadar minyak atsiri bertujuan memberikan informasi kadar golongan minyak atsiri sebagai parameter mutu ekstrak. Kadar minyak atsiri yang diperoleh adalah 2,05 % dengan koefisien variasi sebesar 1,27 %.

Penetapan kadar alkaloid siamin bertujuan memberikan data kadar kandungan kimia tertentu sebagai senyawa identitas atau senyawa yang diduga bertanggungjawab terhadap efek farmakologi. Penetapan kadar alkaloid siamin ini dilakukan secara densitometri. Pada penelitian ini dilakukan validasi yang meliputi uji linieritas, uji presisi, penentuan LOD dan LOQ, uji akurasi untuk menjamin validitas data yang dihasilkan. Dari uji linearitas diketahui bahwa antara kadar alkaloid dengan luas area kromatogram ada hubungan yang linear

dengan persamaan garis regresi $y = 17847,082 x + 3597,093$ dengan koefisien korelasi sebesar 0.9895. Harga LOQ yang didapatkan sebesar 0,021 µg/bercak. Hal ini berarti bahwa untuk penetapan kadar siamin dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) Densitometri dengan akurasi dan presisi yang sesuai maka sampel yang ditotolkan minimal mengandung alkaloid siamin sebesar 0,021 µg. Dari penentuan harga koefisien variasi didapatkan nilai sebesar 5,0 %.. Pada penentuan presisi diperoleh harga *persen recovery* sebesar 111,33 %. Hasil ini bisa dikatakan akurat karena rentang yang diperbolehkan adalah 80 sampai 120 %.(USP XXVII). Kadar alkaloid siamin dalam fraksi etil asetat Kadar alkaloid siamin dalam fraksi etil asetat daun *Cassia siamea Lamk* sebesar 3,63 %. Untuk mendapatkan hasil penetapan kadar alkaloid siamin yang lebih teliti dapat digunakan HPLC.

Pada penelitian ini dihasilkan beberapa data parameter standar yang dapat digunakan sebagai acuan untuk pengembangan produk dari fraksi etil asetat daun *Cassia siamea Lamk*. Untuk melengkapi data parameter standar fraksi etil asetat ini perlu dilakukan penetapan parameter-parameter yang lain sebagaimana yang tercantum dalam Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Parameter lain yang perlu ditetapkan demi melengkapi data yang sudah didapat diantaranya adalah cemaran mikroba, residu pestisida, dan cemaran logam berat (selain Cd, Cu, Zn, Pb). Selain itu perlu juga dilakukan penetapan kandungan kimia yang ada pada daun *Cassia siamea Lamk* misalnya steroid, tannin, dan flavonoid. Data-data parameter fraksi etil asetat daun *Cassia siamea Lamk* yang semakin lengkap akan sangat bermanfaat untuk pengembangannya sebagai produk fitofarmaka yang terstandar, berkualitas, aman dan berkhasiat.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian standardisasi Fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk untuk menentukan data-data parameter spesifik dan nonspesifik, dapat disimpulkan :

1. Fraksi mempunyai kadar sari larut air (0 %), kadar sari larut etanol ($88,00 \pm 1,68\%$), kadar minyak atsiri ($2,05 \pm 0,026\%$) dan kadar senyawa kandungan kimia identitas secara densitometri yaitu alkaloid siamin ($3,63 \pm 0,18\%$).
2. Fraksi mempunyai susut pengeringan ($3,78 \pm 0,38\%$), berat jenis ($0,9076 \pm 0,00153$ g/ml), kadar air (0%), kadar abu total ($0,111 \pm 0,01\%$)
3. Fraksi telah bebas dari residu pelarut (etanol, etil asetat, dan n-heksan) dan memenuhi uji batas cemaran logam berat (Pb, Cd, Cu, dan Zn).

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penentuan parameter nonspesifik yang lain yaitu cemaran mikroba, residu pestisida, dan cemaran logam berat yang lain.
2. Perlu dilakukan penentuan parameter spesifik yang lain yaitu kadar flavonoid, tanin, dan kadar kandungan kimia yang lain sebagaimana yang tercantum pada Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat.
3. Untuk penetapan kadar alkaloid siamin dapat digunakan HPLC yang bisa memberikan hasil yang lebih teliti.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1983. **Tanaman Obat Keluarga**, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Dirjen POM, DepKes RI, Jakarta, hal 1
- Anonim, 1983. **Cara Pembuatan Simplisia**, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, hal 105-128
- Anonim, 2005. **Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials**, Revised Draft Update , Geneva : World Health Organization
- Backer, C. A., R. C. B., Van Den Brink Jr., 1963. **Flora of Java**, vol. II, The Auspices of The Rijksherbarium, Leyden, p.589
- Badan POM RI, 2005. **Kriteria dan Tata Laksana Pendaftaran Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandar dan Fitofarmaka**, Jakarta : BPOM RI
- Depkes RI, 1995. **Materia Medika Indonesia**, jilid VI, Jakarta : Depkes RI
- Depkes RI, 1995. **Farmakope Indonesia**, edisi IV, Jakarta : Depkes RI
- Depkes RI, 2000. **Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat**, Jakarta : Depkes RI.
- Ekasari, Wiwied., 1998. **Penetapan Kadar Andrografolid dalam Simplisia Herba Sambiloto dan produk Obat Tradisionalnya untuk Data Standardisasi**, Lembaga Penelitian UNAIR
- Ekasari, Wiwied, 2001. **Daya Hambat Senyawa Alkaloid Daun *Cassia siamea Lamk* pada Biakan *In vitro* Plasmodium falciparum**. Tesis, Universitas Airlangga
- Heyne, K., 1987. **Tumbuhan Berguna Indonesia III**, Terjemahan Badan Litbang dan Kehutanan, Yayasan Sarana Wana Jaya, Jakarta
- Indrayanto G., 1994. **Metode Validasi Pada Analisis Kimia**. Prosiding Pendidikan Berkeanjutan Apoteker. PBA. FFUA. ISFI Surabaya hal 42-56

- Kalra, Yash P, 1998. **Handbook of Reference Methods for Plant Analysis**, Washington : Soil and Plant Analysis Council, Inc, p.3.
- Kusmaningrum, Diana, 2004. **Uji Aktivitas Antimalaria Ekstrak Kloroform Daun Johar (*Cassia siamea Lamk*) Terhadap *Plasmodium berghei* secara *In vivo***. Skripsi, Universitas Airlangga.
- Midian Sirait dkk, 1983. **Pemanfaatan Tanaman Obat**, edisi III, Departemen Kesehatan RI, Jakarta
- Mulya, M., dan Suharman, 1995. **Analisis Instrumental**, Surabaya : Airlangga University Press, hal 236-285
- Sherma, Joseph *et.all*, 2003. **Handbook of Thin-Layer Chromatography**, 3rd ed, Revised and Expanded, USA : Marcell Dekker, INC, p.535-561
- Soedigdo S. dan Soedigdo P, 1997. **Pengantar Cara Statistika Kimia**, Bandung, Penerbit : ITB
- Steenis, C. G. G. J., Van, 1978. **Flora Untuk Sekolah di Indonesia**, Tejemahan Pradnya Paramita, Jakarta
- Sutarjadi, NOOR Cholies, 1992. **Penelitian Obat Tradisional dan Bahan Nabati dari Universitas Airlangga, Prosiding Simposium Pengembangan dan Penelitian Obat Tradisional dan Fitofarmaka**, 19-20.
- www.tanaman-obat.com/tanaman-tanaman antimalaria, 19 Nopember 2005

Lampiran 1

Perhitungan berat jenis ekstrak

$$1. \text{ BJ} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Volume piknometer}} = \frac{8,8505}{9,765} = 0,9063 \text{ g/mL}$$

$$2. \text{ BJ} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{volume piknometer}} = \frac{8,8664}{9,765} = 0,9080 \text{ g/mL}$$

$$3. \text{ BJ} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{volume piknometer}} = \frac{8,8713}{9,765} = 0,9085 \text{ g/mL}$$

Lampiran 2

Perhitungan viskositas dengan viskosimeter oswald (25⁰C)

Percobaan ke	Waktu tempuh air	Waktu tempuh ekstrak
1	50	59
2	51	58
3	50	58
4	50	57
Rata-rata	50,2	58

$$\text{Viskositas air (25}^{\circ}\text{C)} = 0,8904 \text{ Cp}$$

$$\text{BJ air (25}^{\circ}\text{C)} = 0,997 \text{ g/mL}$$

$$\frac{\eta_{\text{ekstrak}}}{\eta_{\text{air}}} = \frac{B_{\text{Jekstrak}}}{B_{\text{Jair}}} \times \frac{T_{\text{ekstrak}}}{T_{\text{air}}}$$

$$\eta_{\text{ekstrak}} = \frac{\eta_{\text{air}} \times B_{\text{Jekstrak}} \times T_{\text{ekstrak}}}{B_{\text{Jair}} \times T_{\text{air}}} = \frac{0,8904 \times 0,9076 \times 58}{0,997 \times 50,2} = 0,936 \text{ cP}$$

Lampiran 3**Perhitungan selektifitas eluen (Rs)**

$$R_s = \frac{2\Delta Z}{(W_A + W_B)}$$

Rs = Harga resolusi

ΔZ = Jarak dua noda analit

WA = Lebar noda analit A

WB = Lebar noda analit B

Eluen 1

$$R_s = \frac{2(3,8 - 2)}{(1 + 0,6)} = 2,25$$

Eluen 2

$$R_s = \frac{2(3,3 - 2,1)}{(1 + 0,6)} = 1,5$$

Eluen 3

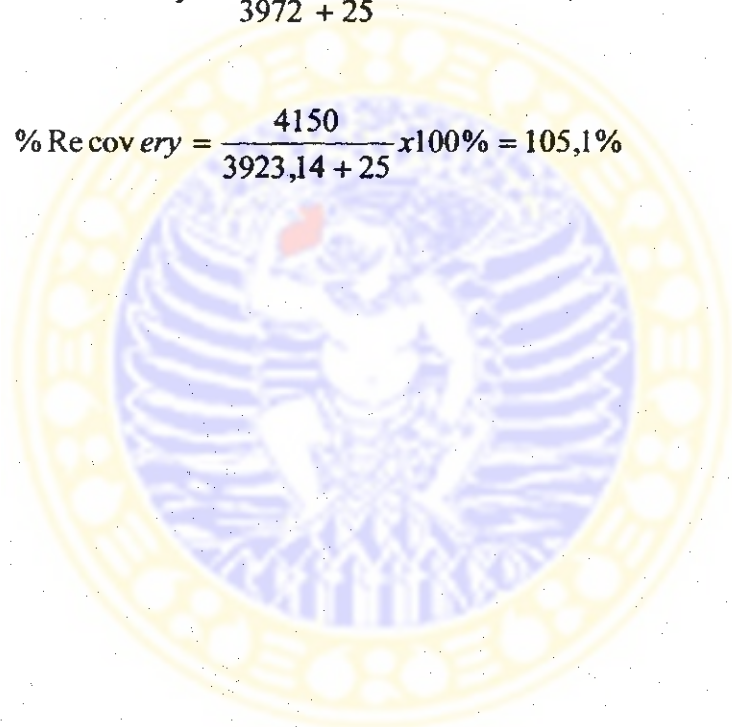
$$R_s = \frac{2(3,3 - 2)}{(1 + 0,4)} = 1,86$$

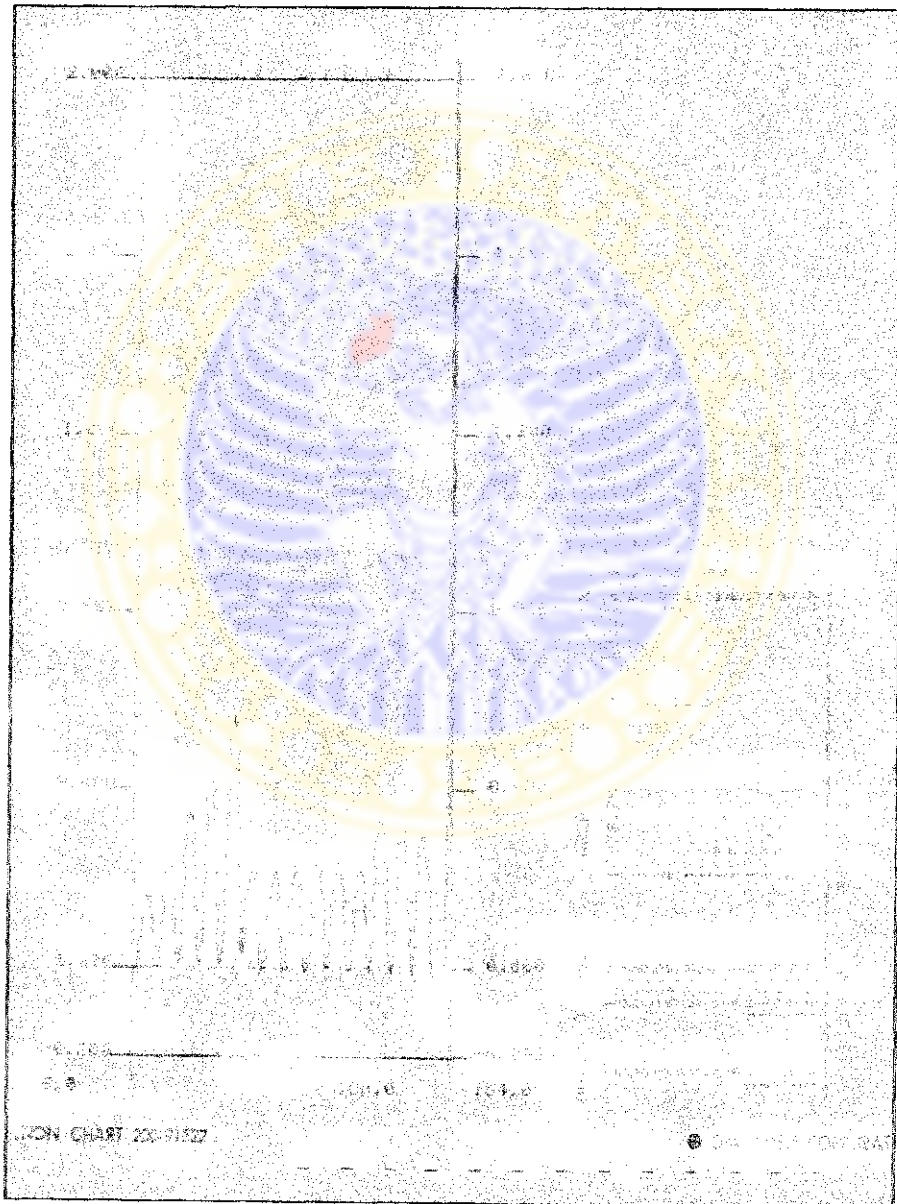
Lampiran 4**Perhitungan % Recovery**

$$1. \% \text{ Recovery} = \frac{5050}{4412,1 + 25} \times 100\% = 113,81\%$$

$$2. \% \text{ Recovery} = \frac{4600}{3972 + 25} \times 100\% = 115,06\%$$

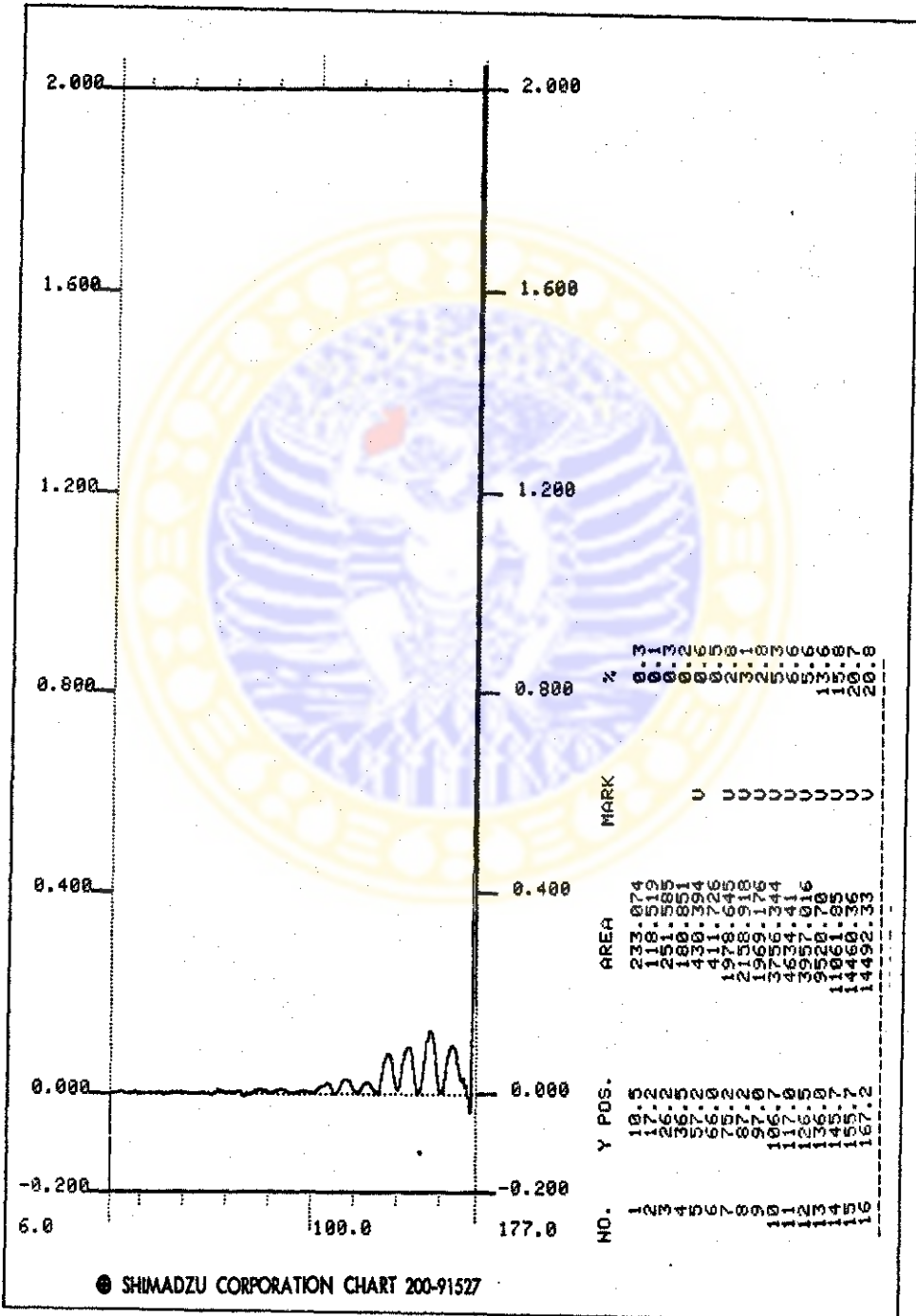
$$3. \% \text{ Recovery} = \frac{4150}{3923,14 + 25} \times 100\% = 105,1\%$$



Lampiran 5**Kromatogram standar siamin dan sampel penentuan linearitas dan kadar siamin sampel**

Lampiran 6

Kromatogram standar siamin untuk penentuan LOD dan LOQ



lampiran 7

Kromatogram fraksi etil asetat daun *Cassia siamea* Lamk dengan GC