

**PENGARUH METODE EKSTRAKSI REFLUKS DAN
MASERASI TERHADAP KANDUNGAN FLAVONOID
EKSTRAK ETANOL KROKOT DENGAN METODE
SPEKTOFOTOMETRI UV-VIS**



TUGAS AKHIR

Oleh :

ADE RISQI ARIFIYAH

18081068

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III FARMASI
POLITEKNIK HARAPAN BERSAMA**

2021

**PENGARUH METODE EKSTRAKSI REFLUKS DAN
MASERASI TERHADAP KANDUNGAN FLAVONOID
EKSTRAK ETANOL KROKOT DENGAN METODE
SPEKTOFOTOMETRI UV-VIS**



TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Dalam Mencapai
Gelar Derajat Ahli Madya

Oleh :

ADE RISQI ARIFIYAH

18081068

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III FARMASI
POLITEKNIK HARAPAN BERSAMA**

2021

HALAMAN PERSETUJUAN

**PENGARUH METODE EKSTRAKSI REFLUKS DAN
MASERASI TERHADAP KANDUNGAN FLAVONOID
EKSTRAK ETANOL KROKOT DENGAN METODE
SPEKTOFOTOMETRI UV-VIS**



DIPERIKSA DAN DISETUJUI OLEH :

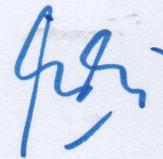
PEMBIMBING I

PEMBIMBING II



Kusnadi, M.Pd

NIDN.0616038701



Apt. Rizki Febrivanti, M.Farm

NIDN.0627028302

HALAMAN PENGESAHAN

Tugas Akhir ini diajukan oleh :

NAMA : ADE RISQI ARIFIYAH

NIM : 18081068

Jurusan / Program Studi : D III Farmasi

Judul Tugas Akhir : Pengaruh Metode Ekstraksi Refluk dan Maserasi Terhadap Kandungan Flavanoid Ekstrak Etanol Krokot dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Tim Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Ahli Madya Farmasi pada Jurusan/ Program Studi DIII Farmasi, Politeknik Harapan Bersama Tegal.

TIM PENGUJI

Ketua Sidang : Aldi Budi Riyanta, S.Si., MT

Penguji 2 : apt. Rizki Febriyanti, M.Farm

Penguji 3 : Wilda Amananti, S.pd, M.Si

(*[Signature]*)
(*[Signature]*)
(*[Signature]*)

Tegal, 20 April 2021

Program Studi Diploma III Farmasi

Ketua Program Studi,



apt. Sari Prabandari, S.Farm., M.M

NIPY : 08.015.223

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Tugas Akhir ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun yang dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

NAMA : Ade Aisqi Arifiyah

NIM : 18081068

Tanda Tangan :



Tanggal : 20 April 2021

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA TULIS ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Politeknik Harapan Bersama Tegal, saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : ADE RISQI ARIFIYAH

NIM : 18081068

Jurusan / Program Studi : DIII Farmasi

Jenis Karya : Tugas Akhir

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Politeknik Harapan Bersama Tegal **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*None-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

PENGARUH METODE EKSTRAKSI REFLUKS DAN MASERASI TERHADAP KANDUNGAN FLAVONOID EKSTRAK ETANOL KROKOT DENGAN METODE SPEKTOFOTOMETRI UV-VIS

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti/Noneksklusif ini Politeknik Harapan Bersama Tegal berhak menyimpan, mengalih media / formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap tercantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan memiliki Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Tegal

Pada Tanggal : 20 April 2021

Yang menyatakan



(Ade Risqi Arifiyah)

MOTTO

Tidak ada kesuksesan melainkan dengan pertolongan allah.

Q.S. Huud : 88

“No challenge no change.”

“Bila ingin sukses anda harus mempunyai mimpi untuk memulai setelah itu bekerja keraslah.”

“Jangan takut pada yang kau pilih. Saat ragu dan takut akan kehilangan, maka kau akan kehilangan segalanya.”

PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'alamin. Sujud syukur atas kehadiran Illahi Rabbi atas segala nikmat dan kemudahan yang telah diberikan-Nya

Penulis persembahkan Tugas Akhir ini sebagai wujud rasa syukur atas nikmat, rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini dengan lancar

Termasuk ibu yuli Astuti dan bapa Masruchin tercinta terimakasih atas asuhan, didikan, bimbingan, cinta serta selama ini sehingga saya dapat menempuh jenjang pendidikan sampai saat ini, kerja keras sampai saat ini tak akan pernah lupa, semoga Allah membalas dengan syurga-nya Aamiin

Kepada Adik (anindya kansa nabila), dan kakak (addi putra arifin) tiada yang paling mengharukan saat berkumpul bersama kalian, terima kasih atas doa, bantuan, motivasi, dan tawa dari kalian.

Kepada dosen pembimbingku, ibu Apt. Rizki Febriyanti., M.Farm Dan Bapak Kusnadi., M.Pd yang telah membimbing karya tulis ilmiah ini, terima kasih banyak ibu dan bapak.

teman-teman angkatanku terima kasih atas bantuan, doa, dan semangat yang kalian berikan selama aku kuliah, aku tak akan melupakan semua yang telah kalian berikan selama ini, bantuan kalian, nasehat, hiburan, semangat dan candaan kalian "They are my best friend"

Trimakasih buat Pimpinan dan karyawan klinik imam syafi'i yang sudah mengizinkan dan membantu saya selama saya kuliah.

Terima kasih untuk semua dosen-dosen dan karyawan-karyawan prodi DIII Farmasi Politeknik Harapan Bersama Kota Tegal.

Maju terus pantang mundur Almamaterku

PRAKATA

Alhamdulillah puji syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan Rahmat dan Karunia-Nya, sehingga dapat menyelesaikan penelitian dalam bentuk Tugas Akhir dengan judul “ **Pengaruh Metode Ekstraksi Refluks dan Maserasi Terhadap Kandungan Flavonoid Ekstrak Etanol Krokot dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis**”

Tujuan penulisan Tugas Akhir adalah untuk memenuhi persyaratan dan menempuh Ujian Akhir Pendidikan Diploma III Farmasi Politeknik Harapan Bersama Tegal.

Dalam penyusunan Tugas Akhir ini, penulis banyak mendapatkan bimbingan, pengarahan, bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Untuk itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Bapak Nizar Suhendra, S.E., MPP selaku Direktur Politeknik Harapan Bersama Tegal.
2. Ibu Apt. Sari Prabandani, S.Farm., MM selaku Ka Prodi DIII Farmasi Politeknik Harapan Bersama Tegal.
3. Bapak Kusnadi, M.Pd selaku pembimbing I dan Apt. Rizki Febriyanti, M.Farm selaku pembimbing II yang telah memberikan banyak ilmu dan masukan dalam menyempurnakan Karya Tulis Ilmiah ini. Terima kasih atas bimbingan dan waktunya.
4. Ayah, Mamah, Kakak, Adik, dan Keluarga yang selalu memberikan dukungan baik dukungan moral maupun materi dan tak pernah berhenti mendoakanku.

5. Seluruh Dosen Farmasi yang telah banyak memberikan bekal ilmu pengetahuan dalam penyusunan Tugas Akhir ini.
6. Serta kepada semua banyak pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu yang telah banyak membantu saya dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini.

Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmatnya atas kebaikan yang telah diberikan.

Sebagai manusia biasa, penulis menyadari ini masih jauh dari kata kesempurnaan. Maka dari itu segala kritik dan saran yang membangun penulis harapkan untuk kesempurnaan dalam penulis selanjutnya. Semoga Tugas Akhir ini bernilai ibadah disisi Allah SWT dan dapat memberikan sumbangan yang bermanfaat dalam membangun ilmu pengetahuan khususnya dibidang Farmasi Kesehatan.

Tegal, 20 April 2021

Penulis

(Ade Risqi Arifiyah)

INTISARI

Arifiyah, Ade Risqi., Kusnadi., Febriyanti, Rizki., 2021. Pengaruh Metode Ekstraksi Refluks dan Maserasi Terhadap Kandungan Flavonoid Ekstrak Etanol Krokot dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis

Senyawa flavonoid dari tumbuhan dapat diperoleh melalui ekstraksi, yaitu proses penarikan komponen atau zat aktif suatu simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu. Ekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa metode antara lain maserasi dan refluks. Dalam beberapa penelitian menyebutkan bahwa metode ekstraksi akan berpengaruh terhadap aktivitas farmakologi dan dapat mempengaruhi kadar senyawa seperti flavonoid dan fenol. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ada kandungan senyawa flavonoid, pengaruh perbedaan metode ekstraksi terhadap kadar senyawa flavonoid hasil refluks dan maserasi tanaman krokot (*Portulaca oleracea* L).

Tanaman krokot berasal dari daerah debong tengah - Tegal. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi dan refluks dengan pelarut etanol 96%. Penetapan kadar flavonoid tanaman krokot dilakukan secara spektrofotometri UV-Vis memakai standar teoritis rutin. Data dianalisis dengan uji statistik independent samples T-Test menggunakan SPSS versi 25.

Hasil Penelitian menunjukkan kadar flavonoid rata-rata pada metode ekstraksi refluks sebesar 1,227 mg/g. lebih besar dari pada metode ekstraksi maserasi sebesar 0,0294 mg/g. Hasil uji statistik menunjukkan nilai sig 0,016 lebih kecil dari 0,05 dengan taraf kepercayaan 95%, yang berarti bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kadar flavonoid metode ekstraksi refluks dan maserasi.

Kata kunci: Krokot , Flavonoid, Maserasi, Refluks, Spektrofotometer UV-Vis.

ABSTRACT

Arifiyah, Ade Risqi., Kusnadi., Febriyanti, Rizki., 2021. The Effect Of Refluction Extraction and Maceration Method on Flavonoid Content Of Chrocote Ethanol Extract with Uv-Vis Spectrophotometry Method

*Flavonoid compounds from plants can be obtained through extraction, namely the process of withdrawing the components or active substances of a simplicia using certain solvents. Extraction can be done by several methods, including maceration and reflux. In several studies, it is stated that the extraction method will affect pharmacological activity and can affect the levels of compounds such as flavonoids and phenols. This study aims to determine whether there is a content of flavonoid compounds, the effect of different extraction methods on levels of flavonoid compounds resulting from reflux and maceration of purslane (*Portulaca oleracea* L).*

Purslane plants are obtained from the Central Dehong area - Tegal. The extraction methods used in this study were maceration and reflux methods with 96% ethanol as solvent. The determination of the flavonoid levels of purslane was carried out by UV-Vis spectrophotometry using routine theoretical standards. Data were analyzed by statistical test independent sample T-Test using SPSS version 25.

The results showed that the average level of flavonoids in the reflux extraction method was 1.227 mg / g. greater than the maceration extraction method of 0.0294 mg / g. The statistical test results showed the sig value of 0.016 was smaller than 0.05 with a confidence level of 95%, which means that there was a significant difference between the flavonoid levels in the reflux extraction and maceration methods.

Keywords: *Purslane, Flavonoids, Maceration, Reflux, UV-Vis Spectrophotometer.*

DAFTAR ISI

HALAMAN PERSETUJUAN	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI... Error! Bookmark not defined.	
MOTTO.....	iv
PERSEMBAHAN	vi
PRAKATA	vii
INTISARI.....	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Batasan Masalah	2
1.4 Tujuan Penelitian.....	3
1.5 Manfaat Penelitian.....	3
1.6 Keaslian Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS	6
2.1 Tinjauan pustaka.....	6
2.1.1 Tanaman krokot	6
2.1.2 Senyawa flavonoid	9
2.1.3 Simplisia, Ekstraksi dan Pelarut	10
2.1.4 Cairan pelarut	14
2.1.5 Metode Ekstraksi	15
2.1.6 Kromatografi Lapis Tipis	18
2.1.7 Spektrofotometer UV-Vis.....	22

2.2 Hipotesis	28
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	29
3.1 Objek Penelitian.....	29
3.2 Sampel dan Teknik.....	29
3.3 Variabel Penelitian	29
3.4 Teknik Pengumpulan Data	30
3.4.1 Cara Pengumpulan Data	30
3.4.2 Bahan dan Alat yang digunakan untuk penelitian.....	30
3.4.3 Cara Kerja.....	31
3.5 Analisi Data.....	47
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	48
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	62
5.1 Kesimpulan	62
5.2 Saran	62
DAFTAR PUSTAKA.....	63
LAMPIRAN	67

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian.....	4
Tabel 4.1 hasil Uji Mikroskopik krokot herba	49
Tabel 4.2 Berat Sampel, Ekstrak Kental dan rendemennya.....	50
Tabel 4.3 Hasil Identifikasi dengan Reaksi Warna.....	51
Tabel 4.4 Data Rf dan HRf Senyawa Flavonoid Pada tanaman krokot	53
Tabel 4.5 Data Absorbansi Larutan Rutin.....	55
Tabel 4.6 Data Hasil Absorbansi Konsentrasi Larutan Standar Senyawa Rutin. .	57
Tabel 4.7 Data Absorbansi Senyawa Flavonoid Pada krokot herba	58
Tabel 4.8 Data Kadar Senyawa Flavonoid Pada krokot herba.....	58
Tabel 4.9 Hasil Nilai Simpangan SD Absorbansi Senyawa Flavonoid	60
Tabel 4.10 Data Statistik independent samples test	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Krokot (<i>Portulaca oleracea</i> L)	6
Gambar 2.2 merupakan struktur kimia flavonoid	10
Gambar 2.3 Diagram Instrumens Spektrofotometer UV-Vis	25
Gambar 3.1 Skema Pengambilan dan pembuatan Simplisia.....	32
Gambar 3.2 Skema Uji Mikroskop	33
Gambar 3.3 Skema Pembuatan Ekstrak Krokot.....	35
Gambar 3.4 Skema Isolasi Flavonoid	37
Gambar 3.5 Skema Uji warna Test dengan NaOH 10%	39
Gambar 3.6 Skema Uji warna Test dengan H ₂ SO ₄ (pekat).....	40
Gambar 3.7 Skema Uji Kromatografi Lapis Tipis	42
Gambar 3.8 Skema Pembuatan Larutan Blanko	43
Gambar 3.9 Skema Pembuatan Larutan Standar rutin	44
Gambar 3.10 Skema penentuan panjang gelombang maksimal	45
Gambar 3.11 Skema Pembuatan Larutan Seri	46
Gambar 3.12 Uji Spektrofotometer UV-Vis	47
Gambar 4.1. Reaksi Senyawa Flavonoid dengan NaOH 10%	52
Gambar 4.2. Reaksi Senyawa Flavonoid dengan H ₂ SO ₄ (Pekat).....	53
Gambar 4.4 Kurva Kalibrasi Rutin VS Konsentrasi Flavonoid.....	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Perhitungan Berat Sampel (Flavonoid)	68
Lampiran 2 Perhitungan Berat Ekstrak Sampel (Flavonoid)	69
Lampiran 3 Perhitungan rendemen hasil metode ekstraksi maserasi dan refluks	70
Lampiran 4 Perhitungan KLT	71
Lampiran 5 Penetapan kadar flavonoid sampel	75
Lampiran 6 Perhitungan Kadar Senyawa Flavonoid pada ekstrak	78
Lampiran 7 Perhitungan standar deviasi absorbansi flavonoid.....	86
Lampiran 8 Gambar Penelitian	89

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Di banyak negara seperti India, Persia dan Eropa krokot dikenal sebagai tanaman jenis sayur-sayuran (Syed, 2016). Di Indonesia, beberapa masyarakat mengkonsumsi krokot sebagai masakan dan obat herbal. Tumbuhan Krokot diketahui memiliki kandungan fitokimia seperti sterol, karotenoid, flavonoid, asam polifenol, polisakarida, dan agen pereduksi (Zhou et al. 2015).

Tumbuhan yang mengandung flavonoid banyak dipakai dalam pengobatan tradisional. Hal tersebut disebabkan flavonoid mempunyai berbagai macam aktivitas terhadap macam-macam organisme (Zuraida et al., 2017). Penelitian farmakologi terhadap senyawa flavonoid menunjukkan bahwa beberapa senyawa golongan flavonoid memperlihatkan aktivitas seperti antifungi, antidiuretik, antihistamin, antihipertensi, insektisida, bakterisida, antivirus, antiinflamasi, analgesik dan menghambat kerja enzim.

Senyawa flavonoid dari tumbuhan dapat diperoleh melalui ekstraksi, yaitu proses penarikan komponen atau zat aktif suatu simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu (DepKes RI, 2000:9). Ekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa metode antara lain maserasi dan refluks. Dalam beberapa penelitian menyebutkan bahwa metode ekstraksi akan berpengaruh terhadap aktivitas farmakologi dan dapat mempengaruhi kadar senyawa

seperti flavonoid dan fenol (Utami, 2015:285). Berdasarkan latar belakang penelitian di atas, maka dapat dirumuskan masalah bagaimana pengaruh perbedaan metode ekstraksi tanaman krokot terhadap kandungan flavonoid total pada ekstrak.

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi pengaruh metode ekstraksi refluks dan maserasi terhadap kandungan flavonoid ekstrak etanol krokot (*Portulaca oleracea* L). Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai metode ekstraksi tanaman krokot yang akan berpengaruh terhadap kadar flavonoid total sebagai bahan baku obat.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas maka dapat dirumuskan suatu permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah ada kandungan senyawa flavonoid dari hasil ekstraksi metode maserasi dan refluks pada tanaman krokot (*Portulaca oleracea* L)?
2. Adakah pengaruh perbedaan metode ekstraksi terhadap kadar senyawa flavonoid dari hasil refluks dan maserasi dari tanaman krokot (*Portulaca oleracea* L)?

1.3 Batasan Masalah

1. Tanaman krokot (*Portulaca oleracea* L) yang digunakan berasal dari daerah debong tengah, kecamatan tegal selatan, kota tegal.

2. Identifikasi serbuk tanaman krokot (*Portulaca oleracea* L) secara mikroskopis.
3. Metode yang digunakan dalam penelitian menggunakan 2 cara, yaitu:
 - a. metode ekstraksi panas yang digunakan adalah metode refluks.
 - b. metode ekstraksi dingin yang digunakan adalah metode maserasi.
4. Pelarut yang digunakan menggunakan pelarut etanol 96%.
5. Metode identifikasi yang digunakan adalah reaksi warna dan KLT.
6. Penentuan kadar senyawa flavanoid dengan uji spektrofotometer UV-VIS.

1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui adanya kandungan senyawa flavonoid dari hasil ekstraksi maserasi dan refluks pada tanaman krokot (*Portulaca oleracea* L).
2. Mengetahui adanya pengaruh perbedaan metode ekstraksi terhadap kadar senyawa flavonoid dari hasil refluks dan maserasi dari tanaman krokot (*Portulaca oleracea* L).

1.5 Manfaat Penelitian

Dalam penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat diantaranya:

1. Memberikan informasi tentang adanya kandungan senyawa flavonoid dari hasil ekstraksi maserasi dan refluks pada tanaman krokot (*Portulaca oleracea* L).
2. Memberikan informasi tentang kadar senyawa flavonoid yang terkandung dalam tanaman krokot (*Portulaca oleracea* L).

1.6 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

No.	Pembeda	Afif dkk, (2015)	Permadi dan (2015)	Hayatus Sa`adah dkk, (2017)	Ade risqi arifiyah (2021)
1.	Judul Penelitian	Perbandingan Metode Ekstraksi Bertingkat dan Tidak Bertingkat terhadap Flavonoid Total Herba Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.) secara Kolorimetri	Perbandingan Metode Ekstraksi Bertingkat dan Tidak Bertingkat terhadap Flavonoid Total Herba Ciplukan (<i>Physalis angulata</i> L.) secara Kolorimetri	Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Ektrak Umbi Bawang Dayak (<i>Eleutherine palmifolia</i> (L.)Merr) dengan Metode Spektofotometri.	Pengaruh Metode Ekstraksi Refluks dan Maserasi terhadap Kandungan Flavonoid Ekstrak Etanol Krokot dengan Metode Spektofotometri UV-Vis
2.	Sampel (Subjek) Penelitian	kadar flavonoid total pada herba ciplukan	kadar flavonoid total pada herba ciplukan	kadar flavonoid dari umbi bawang dayak	Kadar flavonoid ekstrak etanol pada tanaman krokot
3.	Variabel Penelitian	Perbandingan metode ekstraksi bertingkat dan tidak bertingkat terhadap kadar flavonoid total pada herba ciplukan	Perbandingan metode ekstraksi bertingkat dan tidak bertingkat terhadap kadar flavonoid total pada herba ciplukan	Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi menggunakan pelarut yang sama pada ekstrak etanol umbi dayak.	Pengaruh metode ekstraksi dan maserasi ekstrak etanol

Lanjutan Tabel 1.1

4.	Metode Penelitian	Ekstraksi bertingkat dengan metode klorimetri.	tidak dan ekstraksi bertingkat dengan metode klorimetri.	Ekstraksi dan metode Spektofotometri UV-Vis dan KLT	maserasi dengan UV-Spektrofotometri dan KLT	Ekstraksi dan metode Spektrofotometri UV-Vis dan KLT	refluk maserasi dengan metode Spektrofotometri UV-Vis dan KLT
5.	Hasil Penelitian	dari kedua metode tidak ada perbedaan nyata terhadap kadar flavonoid.	kedua metode maserasi ada kadar nyata metode maserasi sokletasi.	terdapat signifikan kadar metode maserasi sokletasi.	perbedaan antara flavonoid ekstraksi dan	Terdapat perbedaan signifikan antara kadar flavonoid metode ekstraksi dan refluks dan maserasi.	

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS

2.1 Tinjauan pustaka

2.1.1 Tanaman krokot

1. Klasifikasi tanaman krokot



Gambar 2.1 Tanaman Krokot (*Portulaca oleracea* L)

Sumber :Dokumen Pribadi (2020)

Menurut Karlina dkk (2013), Klasifikasi tanaman krokot sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Tracheobionta

Superdivisi : Spermatophyta

Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Subkelas : Caryophyllidae
Ordo : Caryophyllales
Famili : Portulacaceae
Genus : Portulaca
Spesies : *Portulaca oleracea* L.

2. Nama daerah

Melayu : Gelang
Sunda : Gelang
Jawa : Krokot
Madura : Resereyan
Ternate : Jalu-jalu kiki
Cina : Ma chi xian, Kwa tsz-tsai
Inggris : Common purslane, little hogweed, pigweed
Malaysia : Gelang pasir
Thailand : Phak bia-yai
Filipina : Gulasiman
Belanda : Potselein, Porselein
Perancis : pursley, poupler

3. Morfologi tanaman

a. Batang

Tanaman krokot memiliki batang berbentuk bulat, panjang rata-rata 30 cm, dengan diameter 2-3 mm. Batangnya bercabang secara difus dan berwarna merah kecoklatan, ruas berukuran 1,5-3,5 cm. (Silva et al., 2017).

b. Daun

Tanaman krokot memiliki daun tunggal, berbentuk bulat telur, ujung pangkalnya tumpul, panjang 1-5 mm dengan diameter 0,5-2 mm, tepi daun rata dengan warna hijau (Silva et al., 2017).

c. Bunga

Bunganya majemuk, letaknya di ujung cabang, kecil, kelopak berwarna hijau, mahkota bunga berbentuk jantung, dan kepala putik berjumlah tiga sampai lima (Silva et al., 2017).

4. Kandungan dan manfaat herba krokot

Krokot mempunyai rasa masam. Beberapa bahan kimia yang terkandung dalam krokot, diantaranya KCl, K_2SO_4 , KNO_3 , nicotinic acid, tanin, saponin, flavonoid, vitamin (A,B dan C), 1-noradrenalin, noradrenalin, dopamin, dan dopa. Efek farmakologis yang dimiliki krokot, diantaranya penurun panas (antipyretic), penghilang sakit, (analgetic), peluruh kencing (diuretic), antitoksik, penenang (sedative), penurunan gula darah, antiskorbut (karena kekurangan

vitamin C), penguat jantung (cardio-tonic), penghilang bengkak, serta pelancar darah (Hariana 2013)

Nutrisi yang dikandung krokot antara lain karbohidrat, protein, lemak, air juga vitamin, yaitu yaitu vitamin A, B1, B2, B3, B6, B9, C, serta mineral kalsium, besi magnesium, mangan, fosfor, kalium, dan seng. Senyawa kimia lain yang di kandung diantaranya asam lemak (asam linoleat, asam oleat, palmitat), yaitu asam lemak esensial yang dibutuhkan oleh tubuh, senyawa yang berkhasiat antioksidan seperti asam sirat, asam fenolat, dan flavonoids (kaempferol, apigenin, mirisetin, kuersetin, luteolin) (Hardiman, 2014).

2.1.2 Senyawa flavonoid

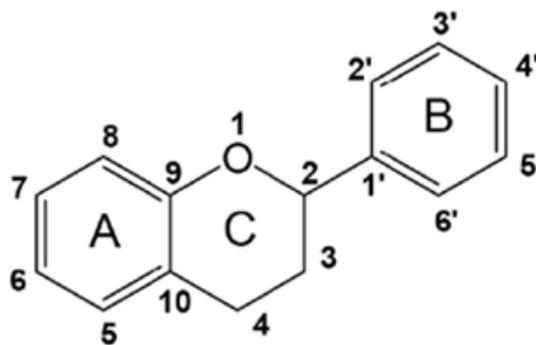
Flavonoid merupakan senyawa fenol dan termasuk salah satu metabolit sekunder pada tumbuhan mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi $C_6-C_3-C_6$, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh 3 atom karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga.

Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga dapat ditemukan pada setiap ekstrak tumbuhan. Flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa $C_6-C_3-C_6$, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C_6 (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon. Tumbuhan yang mengandung flavonoid banyak dipakai dalam pengobatan tradisional. Hal tersebut disebabkan

flavonoid mempunyai berbagai macam aktivitas terhadap macam-macam organisme (Zuraida et al., 2017).

Penelitian farmakologi terhadap senyawa flavonoid menunjukkan bahwa beberapa senyawa golongan flavonoid memperlihatkan aktivitas seperti antifungi, antidiuretik, antihistamin, antihipertensi, insektisida, bakterisida, antivirus, antiinflamasi, analgesik dan menghambat kerja enzim.

Dibawah ini merupakan struktur dasaf flavonoid :



Gambar 2.2 merupakan struktur kimia flavonoid

2.1.3 Simplisia, Ekstraksi dan Pelarut

simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 600. Simplisia segar adalah bahan alam segar yang belum dikeringkan (KemenKes RI, 2011: 5).

Untuk mengumpulkan simplisia, perlu memperhatikan hal-hal sebagai berikut:

a. Bagian Tanaman yang Akan Dipanen

Hal yang perlu diketahui untuk pemanenan jenis tanaman obat yang digunakan haruslah tepat, karena setiap tanaman memiliki efek farmakologi yang sangat beragam. Pemakaian tanaman obat yang salah dapat berakibat sangat fatal. Untuk pemilihan simplisia bahan baku obat yang berasal dari herbal (tanaman obat) sebaiknya memperhatikan aroma, rasa, kandungan kimia, maupun sifat fisiologisnya. Ketepatan pemilihan bahan baku tidak hanya pada jenis tanaman, tetapi juga dari bagian tanaman yang digunakan. Hal ini disebabkan setiap bagian tanaman memiliki khasiat khusus yang sangat berbeda. Adapun bagian tanaman yang biasanya digunakan untuk simplisia, antara lain akar, daun, bunga, biji, dan kulit kayu (Tjahjautomo, 2013: 12).

b. Umur Tanaman

Mengetahui umur tanaman yang akan dijadikan simplisia sangatlah penting karena kandungan zat aktif dalam tanaman tidak selalu tepat dari waktu ke waktu. Umur pemanenan bagian tanaman berbeda-beda tergantung bagian tanaman manah yang akan diteliti.

c. Waktu Panen

Kandungan zat berkhasiat dari suatu tanaman sangat erat kaitannya dengan tingkat kematangan pada waktu tanaman tersebut

13 dipanen, karena akan sangat menentukan mutu akhir dari produk yang diperoleh. misalnya, untuk mendapatkan minyak atsiri yang optimal, pemanenan dilakukan pada pagi hari dan langsung diolah ketika masih segar. Sedangkan untuk mendapatkan amilum, sebaiknya pemanenan dilakukan pada sore hari. Untuk pemanenan bagian tanaman seperti daun dilakukan pada saat fotosintesis berlangsung maksimal yaitu ditandai dengan saat-saat tanaman mulai berbunga atau buah mulai masak, bunga dilakukan sebelum atau segera setelah mekar, buah dipanen ketika sudah masak, biji dipanen dari buah yang masak sempurna, dan akar dipanen ketika umur tanaman sudah menua. (Tjahjautomo, 2013: 14- 17).

d. Kondisi Khusus

Terkadang pengumpulan simplisia perlu memperhatikan kondisi khusus, misalnya pemanenan daun yang dilakukan sewaktu daun masih muda atau ketika masih tunas seperti pada daun teh atau pada saat pertumbuhan daun sudah maksimal seperti pada daun sirih dan daun salam (Tjahjautomo, 2013: 14). Mutu simplisia dipengaruhi oleh zat aktif yang terkandung pada simplisia tersebut. Oleh karena itu, dibutuhkan standarisasi dan persyaratan mutu simplisia. Kandungan kimia tanaman obat sangat bervariasi, tergantung dari banyak faktor. Adapun faktor-faktor tersebut antara lain faktor lingkungan tempat tumbuh, unsur hara tanah, iklim, ketinggian, kualitas bibit, teknologi budi daya, umur tanaman

sewaktu dipanen, cara pengolahan simplisia pascapanen, serta cara penyimpanan simplisia. (Tjahjautomo, 2013: 11- 13).

Pembuatan simplisia secara umum dapat menggunakan cara-cara seperti pengeringan, proses khusus (penyulingan eksudat) dan dengan bantuan air (misalkan pembuatan pati) selain itu melalui beberapa tahapan yaitu pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, pengepakan dan penyimpanan. Ekstrak kering harus mudah digerus menjadi serbuk. (Depkes, 2016).

Ekstrak adalah sediaan yang dapat berupa kering, kental, dan cair, dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang sesuai, yaitu maserasi, perkolasi, atau penyeduhan dengan air mendidih. pembuatan sebuah ekstrak biasanya menggunakan simplisia dalam keadaan kering, pengeringan seringkali dilakukan agar suatu bahan dapat disimpan lebih lama, pengambilan senyawa flavonoid pada penelitian ini menggunakan simplisia kering, Ekstrak yang digunakan menggunakan ekstrak pekat dari proses refluks dan maserasi. pada Maserasi Penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai selama tiga hari pada temperatur kamar terlindung dari cahaya. sedangkan pada metode refluks biasanya langsung diuapkan yang bertujuan agar ekstrak yang di hasilkan menjadi kental dan agar bisa

memperoleh rendemen. Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal (DepKes RI, 2000: 9).

2.1.4 Cairan pelarut

Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak harus baik (optimal) untuk mendapatkan senyawa yang berkhasiat atau yang aktif, dengan demikian dapat memisahkan senyawa tersebut dari bahan dan dari senyawa lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa yang diinginkan. Dalam hal ekstrak total. Maka cairan pelarut dipilih yang melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung (DepKes RI, 2000 : 8).

Pemilihan cairan pelarut harus mempertimbangkan banyak faktor. Cairan pelarut yang baik harus memenuhi kriteria berikut ini:

1. Murah dan mudah diperoleh,
2. Stabil secara fisika dan kimia,
3. Bereaksi netral,
4. Tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar,
5. Tidak mempengaruhi zat berkhasiat, dan (DepKes RI, 1986 : 7).

Pada penelitian kali ini memilih pelarut polar sebagai pelarut senyawa flavonoid karena senyawa flavonoid merupakan senyawa polar dan seperti kata pepatah lama ‘suatu golongan akan melarutkan golongannya sendiri’, maka umumnya flavonoid cukup larut dalam

pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, air dan lain-lain (Markham, 1998: 15).

Adapun karakteristik etanol 96% sebagai berikut:

1. Mudah terbakar
2. Memiliki sifat yang mudah tercampur, terlarut dalam air
3. Bersifat heteropolar
4. Titik didih yang tinggi (DepKes RI, 1979: 672).

2.1.5 Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhriani, 2014).

Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih suatu metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu. Ada beberapa target ekstraksi menurut Mukhriani, 2014, antara lain :

1. Senyawa bioaktif yang tidak diketahui

2. Senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme
3. Sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural

Menurut Anonim (2014), cara ekstraksi sangat beragam, salah satu cara ekstraksi yang paling mudah yaitu dengan menggunakan pelarut. Ekstraksi dengan menggunakan pelarut dapat dilakukan dalam kondisi pelarut dingin atau pelarut dipanaskan. pada penelitian kali ini menggunakan metode ekstraksi dengan pelarut sebagai berikut:

a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan dalam jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Hasrianti,2016). Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Depkes RI, 18 2000: 10)

Refluks digunakan untuk melakukan reaksi kimia dalam larutan yang memerlukan suhu tinggi di atas suhu kamar. Pelarut yang digunakan biasanya adalah pelarut yang mudah menguap. Untuk menjaga pelarut tidak hilang karena penguapan, maka diperlukan rangkaian alat refluks. Alat refluks memungkinkan pelarut atau senyawa lain yang sedang direaksikan akan kembali ke larutan karena proses pendinginan uap yang ditimbulkan oleh pemanasan.

Prinsip refluks adalah penarikan komponen kimia yang dilakukan dengan cara sampel dimasukan ke dalam labu alas bulat bersama-sama dengan cairan penyari lalu dipanaskan, uap-uap cair penyari terkondensasi pada kondensor bola menjadi molekulmolekul cairan penyari yang akan turun kembali menuju labu alas bulat, demikian seterusnya berlangsung secara berkesinambungan sampai penyarian sempurna, penggantian pelarut dilakukan sebanyak 3 kali seperti 3-4 jam. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dipisahkan. Kelebihan dari metode refluks adalah digunakan mengekstraksi sampel-sampel yang mempunyai tekstur kasar, dan tahan pemanasan langsung (Anonim, 2011).

b. Maserasi

Maserasi merupakan salah satu metoda ekstraksi yang dilakukan dengan cara merendam simplisia nabati menggunakan pelarut tertentu selama waktu tertentu dengan sesekali dilakukan pengadukan atau penggojokan (Marjoni, 2016). Prinsip kerja dari maserasi adalah proses melarutnya zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (like dissolved like). Ekstraksi zat aktif dilakukan dengan cara merendam simplisia nabati dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya. Pelarut yang digunakan, akan menembus dinding sel dan kemudian masuk ke dalam sel tanaman yang penuh

dengan zat aktif. Pertemuan antara zat aktif dan pelarut akan mengakibatkan terjadinya proses pelarutan dimana zat aktif akan terlarut dalam pelarut. Pelarut yang berada di dalam sel mengandung zat aktif sementara pelarut yang berada di luar sel belum terisi zat aktif, sehingga terjadi ketidakseimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam dengan konsentrasi zat aktif yang berada di luar sel. Perbedaan konsentrasi ini akan mengakibatkan terjadinya proses difusi, dimana larutan dengan konsentrasi tinggi akan terdesak keluar sel dan digantikan oleh pelarut dengan konsentrasi rendah. Peristiwa ini terjadi berulang-ulang sampai didapat suatu kesetimbangan konsentrasi larutan antara di dalam sel dengan konsentrasi larutan di luar sel (Marjoni, 2016). Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana (DepKes RI, 2000:10).

2.1.6 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis digunakan untuk pemisahan senyawa secara cepat, dengan menggunakan zat penjerap berupa bubuk halus yang dilapisi serba rata pada lempengan kaca atau lembaran aluminium 19 (DepKes RI, 1979: 782).

Prinsip KLT adalah pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip absorpsi dan partisi, yang ditentukan oleh fase diam (absorben) dan fase gerak (eluen). Komponen kimia bergerak naik mengikuti fase

gerak karena daya serap absorben terhadap komponen-komponen kimia tidak sama sehingga komponen kimia dapat bergerak dengan kecepatan berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya (Stahl,1985: 7).

parameter kualitatif harga Rf merupakan parameter karakteristik Kromatografi Lapis Tipis. Harga ini merupakan ukuran kecepatan migrasi suatu senyawa pada kromatogram dan pada kondisi konstan merupakan besaran karakteristik dan harga Rf.

$$R_F = \frac{\text{jarak titik tengah noda dari titik awal}}{\text{Jarak tepi muka pelarut dari titik awal}}$$

Penamaan harga Rf ini diturunkan dari “ratio of fronts” atau” related to flont”.

Dari definisi yang diberikan diatas, suatu senyawa yang bermigrasi dengan tepi muka pelarut mempunyai harga Rf = 1,0.

Sebaliknya senyawa yang tepat tinggal pada titik awal mempunyai harga Rf = 0. Dalam kedua hal ini tidak akan terjadi pemisahan. Harga Rf untuk senyawa yang terpisah selalu lebih kecil dari satu dan secara teoritik tidak tergantung dari panjang kertas Kromatografi atau Plat Lapis Tipi.

Harga Rf dipengaruhi faktor berikut ini:

1. Pelarut

2. Bahan pengembang (jenis dan ketebalan lapisan)
3. Suhu
4. Kejenuhan ruangan atau pelarut
5. Kelembaban udara,
6. Konsentrasi dan komposisi larutan yang diperiksa
7. Panjang trayek migrasi
8. Senyawa asing dan pencemaran pelarut
9. Ketidak homogenan kertas, dan $RF = \frac{\text{jarak titik tengah noda dari titik awal}}{\text{Jarak tepi muka pelarut dari titik awal}}$
10. Arah serabut kertas Reproduksibel atau tidaknya harga R_f tergantung dari mutu dan sifat yang tetap lapisan sorpis dan kertas, dari jumlah senyawa yang ditotolkan, dari suhu ruang serta dari derajat kejenuhan bejana pemisah (Roth, Herman J dan Blaschke gottfried, 1994: 411).

Harga R_f . Agar tidak harus bekerja dengan pecahan, dalam praktek sering ganti harga R_f digunakan hR_f . Harga ini adalah harga R_f kali 100. Hasil merupakan bilangan utuh antara 1 dan 99 (Roth, Herman J dan Blaschke gottfried, 1994: 412).

Fase diam atau penjerat yang paling sering digunakan pada KLT adalah silika dan serbuk selulosa, sementara mekanisme sopri-desopri (suatu mekanisme pemisahan solut dari fase diam ke fase gerak atau sebaliknya) yang utama pada KLT adalah partisi atau adsorpsi. Lapisan tipis yang digunakan sebagai penjerap juga dapat dibuat dari silika yang

telah dimodifikasi contohnya resin penukar ion dan gel eksklusif (Rohman, 2009: 46).

Pada penelitian kali ini fase diam yang digunakan terbuat dari silika gel yang bersifat polar dengan ukuran 2 cm x 10 cm GF254 (Merck). Penggunaan bahan silika karena pada umumnya silika digunakan untuk memisahkan senyawa asam–asam amino, fenol, alkaloid, asam lemak, sterol dan terpenoid (Sostrohamidjojo, 2005: 28 dalam silviani, 2018).

Fase gerak pada KLT dapat dipilih dari pustaka. Sistem paling sederhana dalam pemilihan fase gerak ialah dengan 22 menggunakan campuran 2 pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut ini dapat mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal.

Berikut ini adalah beberapa petunjuk dalam memilih dan mengoptimalkan fase gerak:

1. Fase gerak harus mempunyai kemurnian yang sangat tinggi karena KLT merupakan teknik yang sensitive.
2. Daya elusi fase gerak harus diatur sedemikian rupa sehingga harga R_f solut terletak antara 0,2- 0,8 untuk memaksimalkan, dan
3. Untuk pemisahan menggunakan fase diam polar seperti gel, polaritas fase gerak akan menentukan kecepatan migrasi solut yang berarti juga menentukan nilai R_f (Gandjar dan Rohman, 2009, dalam Teti Agustin, 2018).

Pada penelitian kali ini eluen yang digunakan sebagai fase gerak bersifat sangat polar karena mengandung air. Komposisi eluen ialah campuran N- butanol: asam asetat: air (BAA) (9: 2: 6) yang mampu memberikan pemisahan terbaik. Karena dari komposisi, eluen tersebut bersifat sangat polar sehingga bisa memisahkan senyawa flavonoid yang juga bersifat polar. Kepolaran fase diam dan fase gerak hampir sama, tetapi masih lebih polar fase gerak. Adapun keuntungan Kromatografi Lapis Tipis yaitu membutuhkan waktu yang lebih cepat, diperoleh pemisahan yang 23 lebih baik, dan biaya yang digunakan relatif murah (Koirewoa, Y, Fatimawali dan Weny Indayany Wiyono, 2013: 51)

2.1.7 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-visible adalah alat yang dapat mengukur energi transisi elektron yang terdapat di dalam ikatan molekul. Daerah panjang gelombang elektromagnetik pada pengukuran adalah antara 200-400 nm (UV) dan 400-800 nm (sinar tampak). Transisi elektronikatan di daerah UV jauh (panjang gelombang kurang dari 200 nm) tidak dapat diukur dengan alat ini (Afrianti, 2010: 152).

Adapun kelebihan metode spektrofotometer UV-Vis adalah panjang gelombang dari sinar putih dapat lebih terdeteksi, tersusun dari spectrum prima yang kontinyu, monokromator, sel pengabsorpsi untuk larutan sampel atau blanko dan suatu alat untuk mengukur perbedaan absorbs antara sampel dan blanko ataupun pembanding (Maulida, 2018).

Faktor-faktor yang mempengaruhi penyerapan UV-Vis sebagai berikut:

1. Adanya kromofor yang merupakan gugus penyerap,
2. Pengaruh pelarut yang digunakan untuk melarutkan sampel,
3. Pengaruh suhu,
4. Ion-ion anorganik, dan
5. Pengaruh pH (Gandjar dan Rohman, 2012: 70).

Hal-hal yang harus diperhatikan dalam analisis secara spektrofotometer UV-Vis:

- a. Pembentukan molekul yang dapat menyerap sinar UV-Vis Hal ini perlu dilakukan jika senyawa yang dianalisis tidak menyerap pada daerah tersebut. Cara yang digunakan adalah dengan merubah menjadi senyawa lain atau direaksikan dengan pereaksi tertentu.
- b. Waktu operasional (operating time) Cara ini biasa digunakan untuk pengukuran hasil reaksi atau pembentukan warna. Tujuannya adalah untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil.
- c. Pemilihan panjang gelombang Panjang gelombang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal. Untuk memilih panjang gelombang maksimal, dilakukan dengan membuat kurva

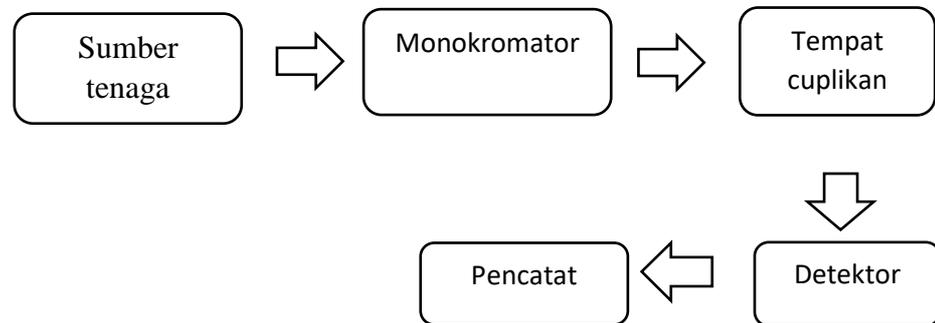
hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu.

- d. Pembuatan kurva baku Dibatasi seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi. Masing-masing absorbansi larutan dengan berbagai konsentrasi diukur, kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi.
- e. Pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer UV-Vis hendaknya antara 0,2 sampai 0,8 atau 15% sampai 17%, jika dibaca sebagai transmitans. Anjuran ini berdasarkan anggapan bahwa kesalahan dalam pembacaan T adalah 0,005 atau 0,5% (kesalahan fotometrik) (Gandjar dan Rohman, 2012: 105-109).

1. Instrumen

Instrumen yang digunakan untuk mempelajari serapan atau emisi radiasi elektromagnetik sebagai fungsi dari panjang gelombang disebut spectrometer atau spektrofotometer.

Berikut adalah diagram sederhana dari spektrofotometer :



Gambar 2.3 Diagram Instrumens Spektrofotometer UV-Vis

a. Sumber tenaga radiasi

Untuk senyawa-senyawa yang menyerap di spektrum daerah ultraviolet, digunakan lampu deuterium. Deuterium merupakan salah satu isotop hidrogen. Suatu lampu deuterium merupakan sumber energi tinggi yang mengemisikan sinar Sumber tenaga radiasi Monokromator Tempat cuplikan Pencatat Detektor pada panjang gelombang 200-370 nm dan digunakan untuk semua spektroskopi dalam daerah spektrum ultraviolet.

b. Monokromator

Panjang gelombang gelombang tunggalnya dan memisahkan panjang gelombang-gelombang tersebut. Monokromator merupakan serangkaian alat optic yang menguraikan radiasi polikromatik menjadi jalur-jalur yang efektif atau menjadi jalur-jalur yang sangat sempit.

c. Tempat cuplikan

Cuplikan yang akan dipelajari pada daerah ultraviolet atau terlihat yang biasanya berupa gas atau larutan ditempatkan dalam sel atau kuvet. Sel yang digunakan untuk cuplikan yang berupa gas mempunyai panjang lintasan dari 0,1 hingga 100 nm, sedang sel untuk larutan mempunyai panjang lintasan tertentu dari 1 hingga 10 cm.

d. Detector

Detektor biasanya merupakan kepingan elektronik yang disebut dengan tabung pengganda foton, yang beraksi untuk mengubah intensitas berkas sinar ke dalam sinyal elektrik yang dapat diukur dengan mudah, dan juga beraksi sebagai pengganda (amplifier) untuk meningkatkan kekuatan sinyal.

e. Pencatat

Membaca spektrum yang dihasilkan dan mengeluarkan data sesuai dengan yang diinginkan (Gandjar dan Rohman, 2012: 80-83).

2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal. Untuk memilih panjang gelombang maksimal, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu.

Ada beberapa alasan mengapa harus menggunakan panjang gelombang maksimal, yaitu:

- a. Pada panjang gelombang maksimal, kepekatannya juga maksimal karena pada panjang gelombang maksimal tersebut, perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar.
- b. Disekitar panjang gelombang maksimal, bentuk kurva absorbansi datar dan pada kondisi tersebut hukum LambertBeer akan terpenuhi.
- c. Jika dilakukan pengukuran ulang maka kesalahan yang disebabkan oleh pemasangan ulang panjang gelombang akan kecil sekali, ketika digunakan panjang gelombang maksimal (Gandjar dan Rohman, 2012: 254-255).

Pada penelitian kali ini untuk penentuan kadar senyawa flavonoid menggunakan panjang gelombang maksimal teoritis yaitu dari panjang gelombang senyawa rutin. Larutan rutin adalah larutan yang biasanya dipakai untuk mengisolasi senyawa flavonoid (Koirewoa, Y, Fatimawali dan Weny Indayany Wiyono, 2013: 49).

2.2 Hipotesis

1. adanya kandungan senyawa flavonoid dari hasil ekstraksi maserasi dan refluks pada tanaman krokot (*Portulaca oleracea* L).
2. Terdapat pengaruh perbedaan metode ekstraksi terhadap kadar senyawa flavonoid dari hasil refluks dan maserasi dari tanaman krokot (*Portulaca oleracea* L)

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Objek Penelitian

Objek dari penelitian ini adalah pengaruh metode ekstraksi refluks dan maserasi terhadap kadar etanol flavonoid total dari ekstrak tanaman krokot (*Portulaca oleracea L.*).

3.2 Sampel dan Teknik

Sampel adalah sebagian yang diambil dari populasi, sehingga sampel dalam penelitian adalah tanaman krokot (*Portulaca oleracea L.*) yang diperoleh dari kelurahan Debong tengah Kecamatan Tegal Selatan Kota Tegal. Sedangkan bahan-bahan lainnya diperoleh dari Laboratorium Politeknik Harapan Bersama Kota Tegal. Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian ini adalah Simple Random Sampling adalah pengambilan anggota sampel dari populasi dilakukan secara acak tanpa memperlihatkan strata yang ada dalam populasi itu. (Sugiyono, 2017: 120).

3.3 Variabel Penelitian

Variable penelitian meliputi:

1. Variabel Bebas : perbedaan metode ekstraksi refluks dan maserasi.
2. Variabel Tergantung: kadar senyawa flavonoid dari tanaman krokot.

3. Variable terkendali : Tempat pengambilan sampel, umur sampel, metode refluks dan maserasi, KLT, Spektrofotometri UV-Vis.

3.4 Teknik Pengumpulan Data

3.4.1 Cara Pengumpulan Data

1. Jenis data yang digunakan bersifat kuantitatif dan kualitatif.
2. Metode pengumpulan data menggunakan eksperimen laboratorium.

3.4.2 Bahan dan Alat yang digunakan untuk penelitian

1. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah: serbuk simplisia krokot, sebagai pelarut: etanol 96%, metanol, aquadest, fase gerak: n-butanol, asam asetat, air, pelarut difraksinas: n-heksana, NaOH 10%, H₂SO₄ (pekat) dan aquadest.

2. Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah rangkaian alat refluks (meliputi: labu alas bulat, kondensor, statif, klem, selang dan kompor spritus), botol kaca maserasi, rotary evaporator (IKA®), pipa kapiler, plat KLT, chamber, gelas ukur, beaker glass, spotes, tabung reaksi, lampu sinar UV, neraca analitik, corong pisah, corong

kaca, objek glass, deck glass, oven, termometer, masker, mikroskop, cawan uap, Spektrofotometri UV-VIS dan sarung tangan.

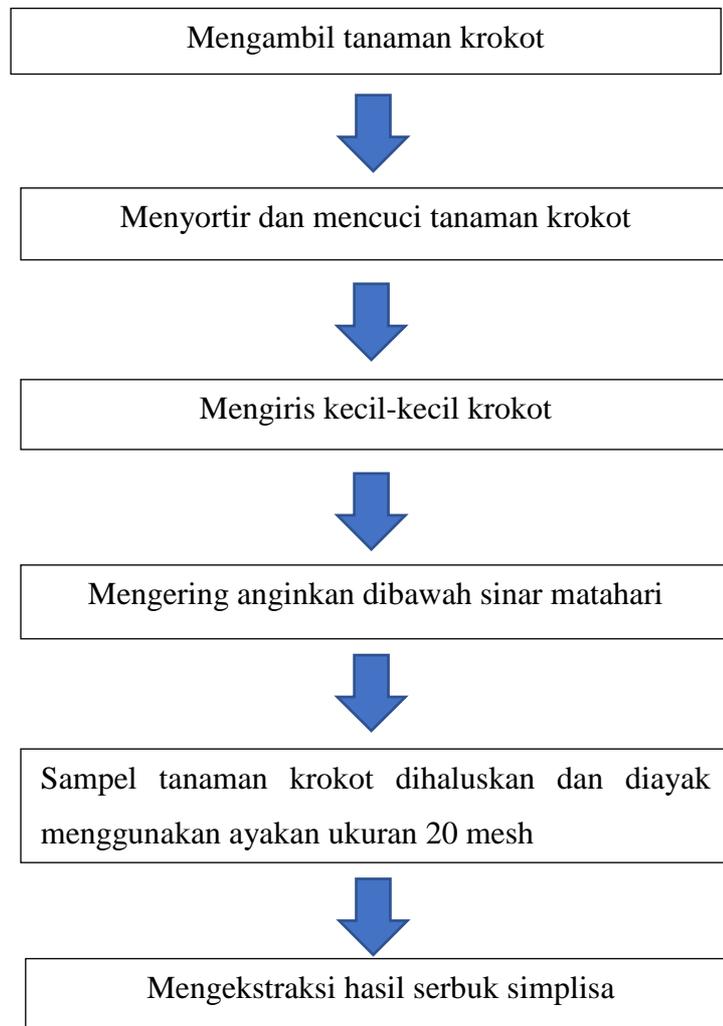
3.4.3 Cara Kerja

Dalam penelitian pengaruh metode maserasi refluks dan maserasi terhadap kadar etanol flavonoid total dari ekstrak tanaman krokot (*Portulaca oleracea L*) . Akan tetapi, melalui beberapa tahap terlebih dahulu diantaranya adalah:

1. Pengambilan sampel

Pada penelitian ini sampel yang di gunakan diambil langsung dari kelurahan Debong tengah, Kecamatan Tegal Selatan, Kota Tegal Jawa Tengah. Pengambilan sampel tumbuhan krokot (*Portulaca oleracea L*) yang digunakan adalah seluruh tumbuhan (herba). Sebelum dianalisis sampel terlebih dahulu disortasi awal yaitu memisahkan tumbuhan sampel dari bahan asing seperti kotoran hewan, tanah, kerikil, rumput, bagian tumbuhan lain yang mungkin melekat atau ikut terambil pada waktu pengumpulan tumbuhan krokot, dan juga bahan pengotor lain lalu dibersihkan dengan air yang mengalir hingga bersih, lalu ditiriskan dan dipotong kecil-kecil. Setelah itu dikering anginkan dibawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam dalam keadaan bersih. Indikator simplisia yang sudah kering adalah apabila bahan dipatahkan dengan mudah dan apabila diremas berubah menjadi serpihan. Setelah itu dilanjutkan dengan penghalusan sampel tanaman krokot dengan

menggunakan blender hingga menjadi serbuk. Sampel yang sudah diserbukkan dipindahkan ke wadah toples untuk selanjutnya diekstraksi.

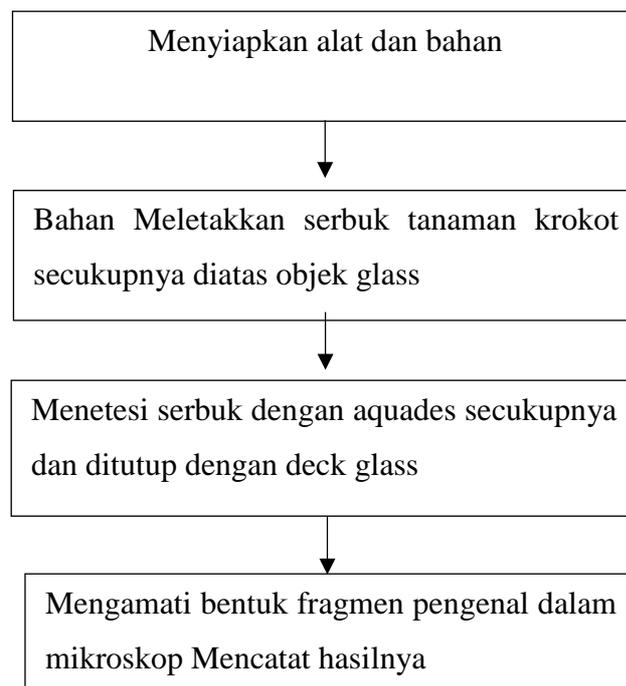


Gambar 3.1 Skema Pengambilan dan pembuatan Simplisia

2. Uji Mikroskopik

Pada penelitian kali ini dilakukan pula uji mikroskopik pada simplisia yang sudah dibuat serbuk. Selanjutnya serbuk simplisia diidentifikasi secara mikroskopis, yaitu Mengambil serbuk tanaman krokot meletakkan serbuk pada objek glass secukupnya kemudian

tetesi dengan sedikit aquades. Selanjutnya menutup dengan deck glass dan diamati bentuk jaringan penampang yang terdapat di dalam serbuk tanaman krokot menggunakan mikroskop dan scanner bentuk fragmen pengenal menggunakan scanner mikroskop. Uji mikroskop serbuk tanaman krokot secara skematis adalah sebagai berikut:



Gambar 3.2 Skema Uji Mikroskop

3. Pembuatan Ekstrak etanol tanaman krokot

Pembuatan Ekstrak (Departemen Kesehatan RI, 2013) Serbuk simplisia tanaman krokot yang digunakan untuk setiap ekstraksi adalah sebanyak 50 g dengan menggunakan pelarut etanol 96%.

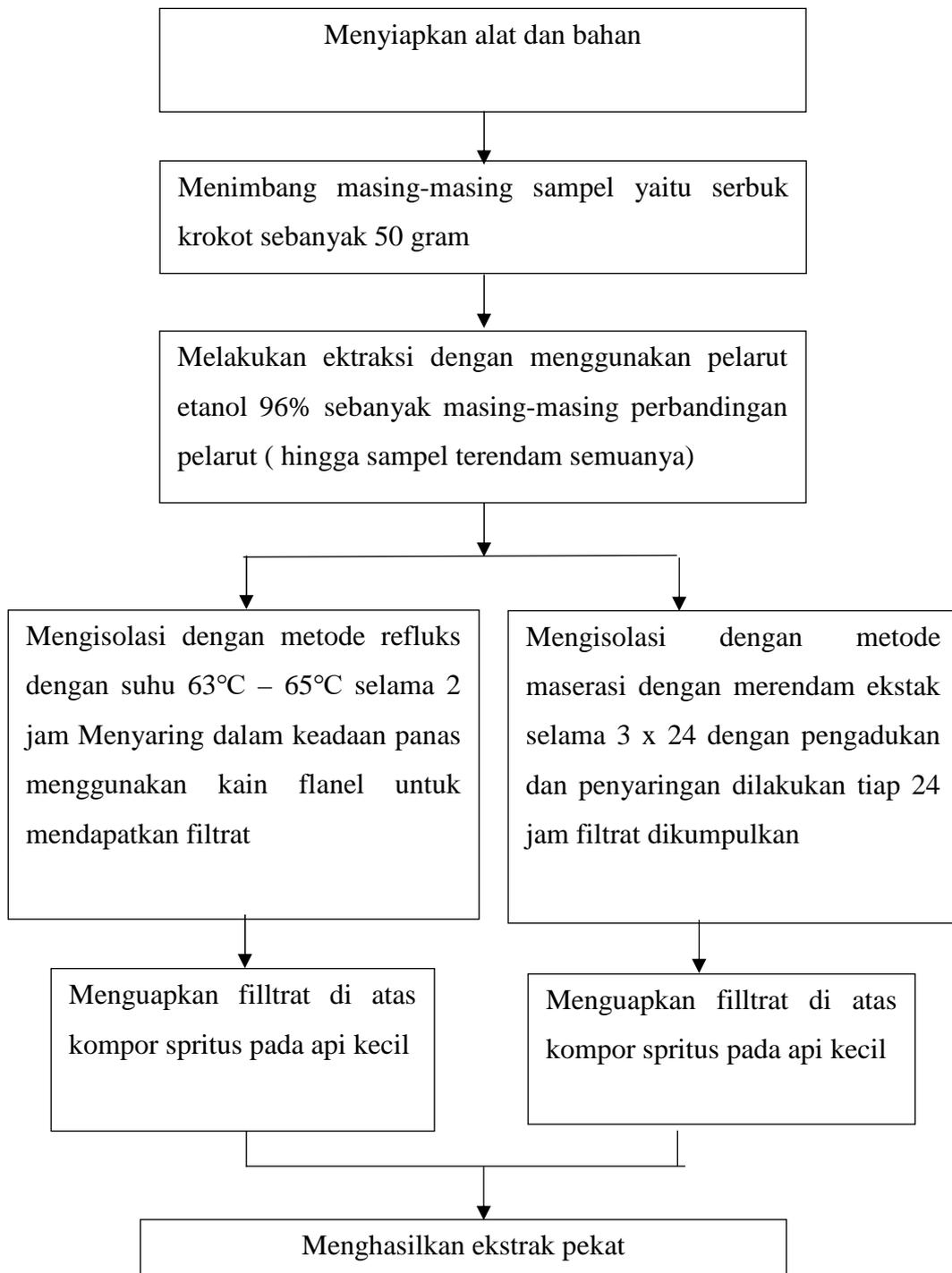
a. Refluks

Menyiapkan alat dan bahan untuk mengekstraksi. Untuk pembuatan ekstrak tanaman krokot dilakukan dengan

mencampurkan 50 gram serbuk simplisia krokot dengan 300 mL etanol 96% dengan perbandingan (1:6). Mengisolasi dengan metode refluks dengan suhu 63 -65°C selama 2 jam. Setelah itu disaring dalam keadaan panas menggunakan kain flanel untuk mendapatkan filtrat senyawa flavonoid dalam jumlah maksimal dan diuapkan dengan menggunakan kompor spiritus pada api kecil untuk menghilangkan pelarutnya yang kemudian menghasilkan ekstrak pekat (Laksmiani, N. P. L.dkk, 2015)

b. Maserasi

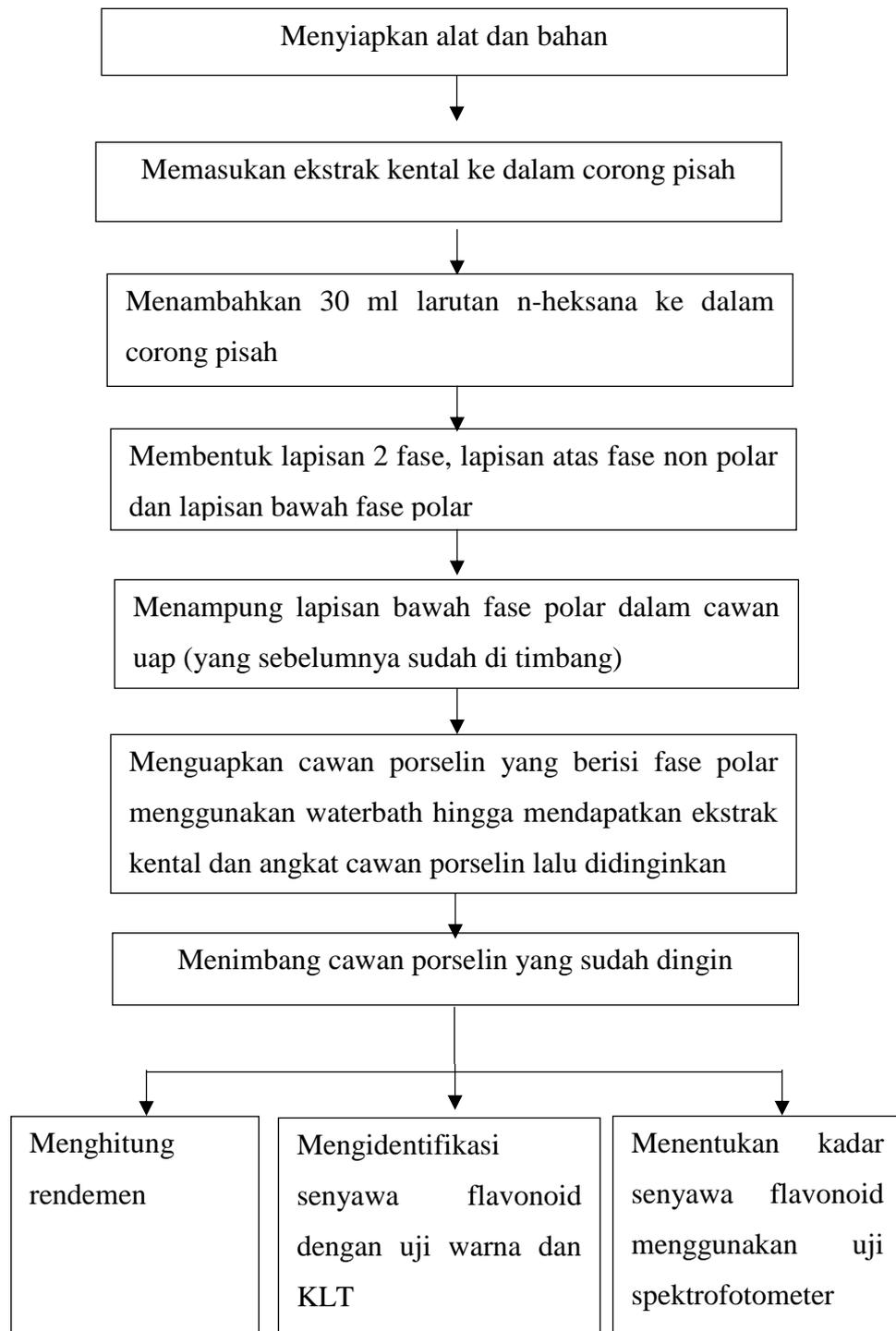
Ekstraksi secara maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia 50 gram dengan 450 ml etanol 96% dengan perbandingan (1:9) selama 3 x 24 dalam kondisi gelap dengan pengadukan dan penyaringan dilakukan tiap 24 jam. filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan diuapkan dengan menggunakan kompor spiritus pada api kecil sehingga akan diperoleh ekstrak kental. (Najib et al, 2017).



Gambar 3.3 Skema Pembuatan Ekstrak Krokot

4. Isolasi flavonoid

Setelah ekstrak bebas dari pelarut (ekstrak pekat) dilakukan isolasi flavonoid dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah dengan pelarut n-heksana sebanyak 30 ml dan masing-masing dilakukan tiga kali replikasi. Penambahan n-heksana bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa polar pada ekstrak. Penambahan n-heksana menyebabkan terbentuknya 2 fase kedua pelarut yaitu fase polar dan non polar memiliki berat jenis dan kepolaran yang berbeda . Berat jenis fase non polar lebih kecil dari pada fase polar, sehingga lapisan non polar berada dibagian atas dan lapisan polar berada dibagian bawah. Lapisan polar bagian bawah yang diambil, tamping dalam cawan uap (yang sebelumnya sudah ditimbang), lalu cawan porselin diuapkan diatas kompor spiritus hingga mendapatkan ekstrak kental dan angkat cawan porselin lalu didinginkan. Selanjutnya ditimbang dan menghitung presentase rendemen, uji identifikasi flavonoid, KLT dan spektrofotometri UV-Vis . Berikut adalah skematisnya:



Gambar 3.4 Skema Isolasi Flavonoid

5. Perhitungan Rendemen

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak Kental (Y)}}{\text{Berat Sampel (X)}} \times 100 \%$$

Keterangan :

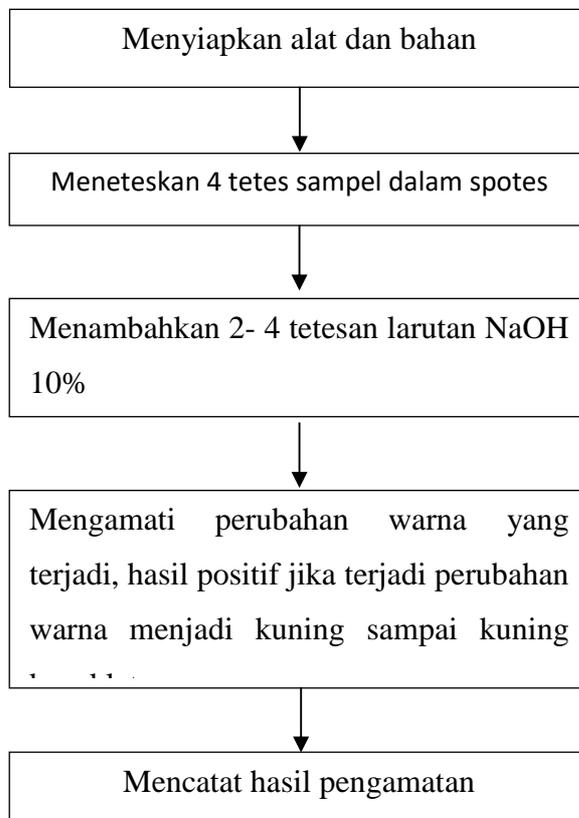
Y= Berat Ekstrak

X= Berat Sampel

7. Identifikasi Senyawa Flavonoid

a. Uji warna Test dengan NaOH 10%

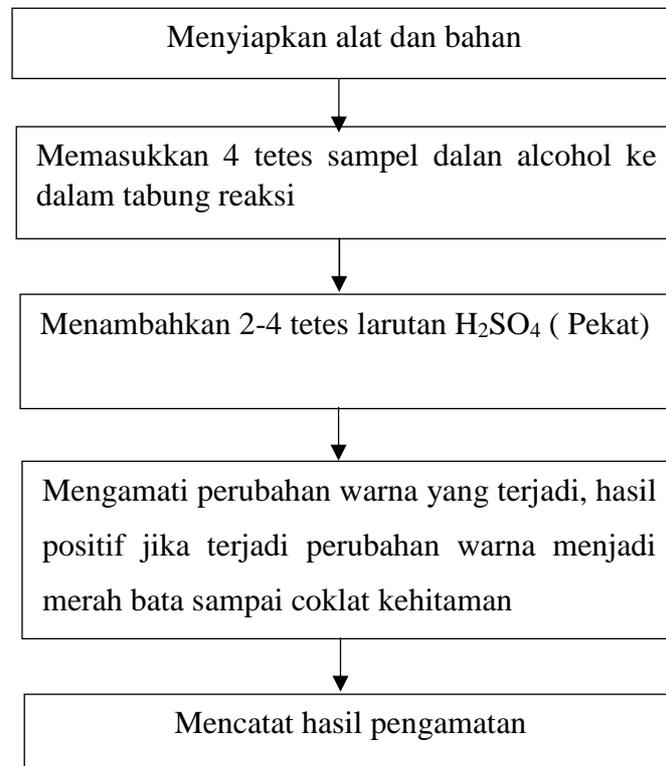
Test dengan NaOH 10 % dengan cara memasukkan 2 tetes sampel dalam spotes, ditambahkan dengan 2–4 tetes larutan NaOH 10 % , perubahan warna diamati hingga menjadi warna kuning sampai kuning kecoklatan hal ini dikarenakan flavonoid termasuk senyawa fenol sehingga apabila direaksikan dengan basa akan terbentuk warna yang disebabkan terjadinya sistem konjugasi dari gugus aromatik (Desandi, Y, 2014: 5). Berikut identifikasi dengan uji warna secara skematis:



Gambar 3.5 Skema Uji warna Test dengan NaOH 10%

b. Uji Warna Test dengan H₂SO₄ (pekat)

Test dengan H₂SO₄ (pekat) dengan cara masukan 4 tetes sampel dalam tabung reaksi tambahkan 2–4 tetes larutan H₂SO₄ (pekat) , Perubahan warna yang terjadi diamati menjadi merah bata sama coklat kehitaman hal ini disebabkan karena flavonoid apabila direaksikan dengan asam akan terbentuk warna yang disebabkan terjadinya sistem konjugasi dari gugus khalkon (Desandi, Y, 2014: 5). Berikut identifikasi dengan uji warna secara skematis:



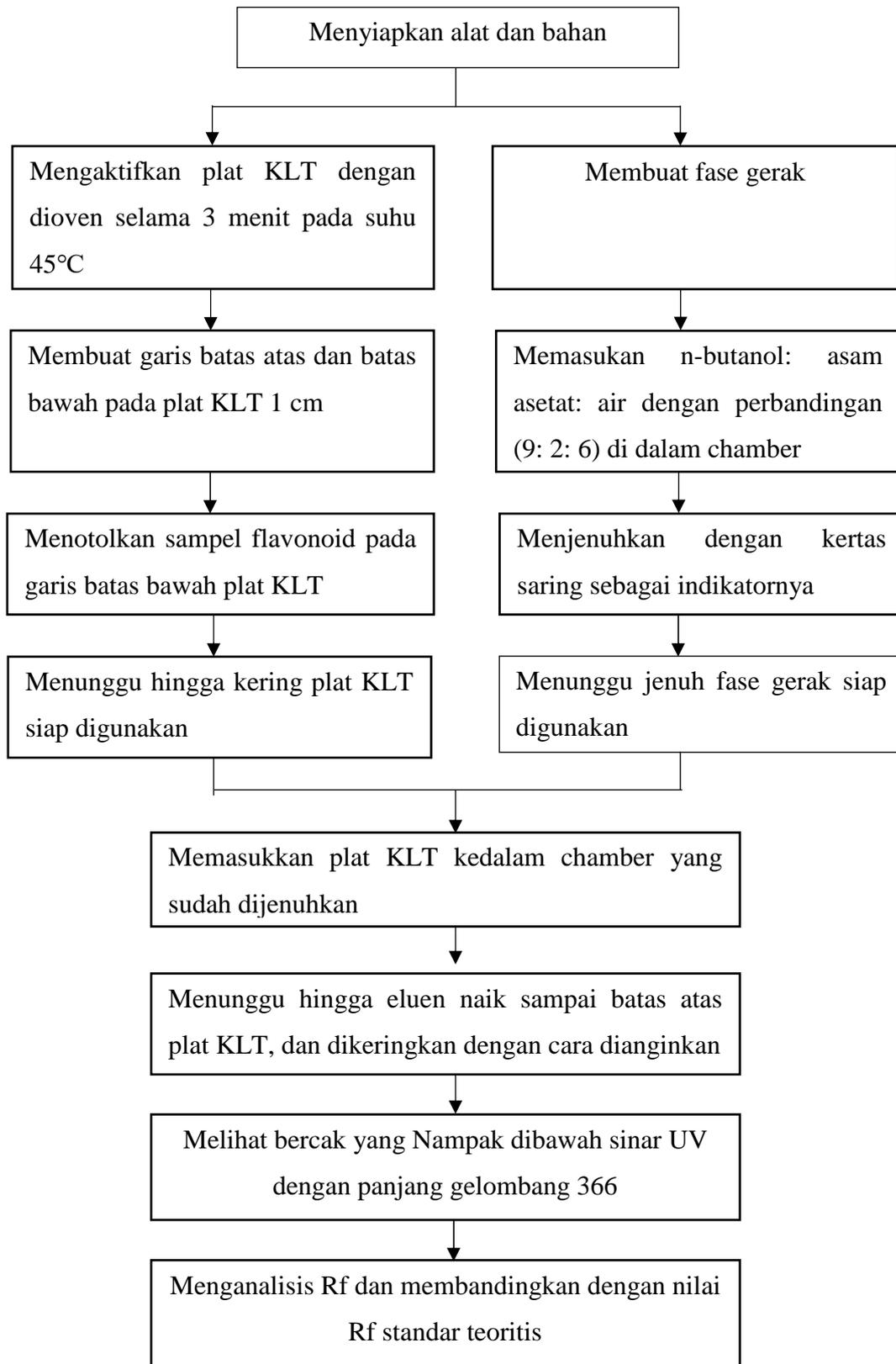
Gambar 3.6 Skema Uji warna Test dengan H₂SO₄ (pekat)

c. Uji Kromatografi Lapis Tipis

Setelah mendapatkan rendemen, kemudian dilakukan uji senyawa flavonoid dengan metode KLT. Menyiapkan alat dan bahan. Plat KLT lapis silica gel sepanjang 10 cm yang akan digunakan dioven terlebih dahulu selama 3 menit pada suhu 45°C untuk mengurangi kadar air dalam plat KLT. Selanjutnya plat KLT yang sudah dioven diberi garis batas atas dan batas bawah masing-masing 1 cm untuk mempermudah penotolan dan mengetahui jarak pelarut yang ditempuh sehingga mempermudah dalam perhitungan R_f. Kemudian membuat fase gerak dengan mengambil n-butanol: asam asetat: air (9 : 2 : 6) (Rohyami,

2007), dimasukkan kedalam chamber dan dijenuhkan. Penjenuhan bertujuan agar seluruh permukaan didalam bejana terisi uap eluen sehingga rambatan yang dihasilkan oleh silica baik dan beraturan. Untuk mengetahui chamber yang berisi fase gerak telah jenuh maka di dalam chamber di beri kertas saring, ketika sudah jenuh eluen akan keluar melalui kertas saring pada proses elusi, silica gel akan mengabsorpsi fase gerak. Proses selanjutnya masukan plat KLT yang sebelumnya sudah ditotolkan sampel kedalam chamber yang sudah jenuh. Pada proses ini n-butanol : asam asetat : air (BAA) akan bergerak naik melewati butiran silica gel, dan pergerakan BAA akan diikuti oleh senyawa yang diidentifikasi (Rohyami, 2007).

Setelah proses elusi, lempeng silica gel selesai ditandai dengan naiknya eluen sampai garis batas atas angkat plat KLT dan keringkan dengan cara didinginkan kemudian dilihat penempakan noda pada lampu UV 366 nm. Eluen yang baik ialah eluen yang bias memisahkan senyawa dalam jumlah yang banyak ditandai dengan munculnya noda. Syarat noda yang baik bentuk noda tidak berekor dan jarak antar noda satu dengan yang lainnya jelas. Noda yang dihasilkan berwarna kuning atau hijau lembayung yang menandakan bahwa adanya senyawa flavonoid. Proses selanjutnya menganalisa Rf dan membandingkan dengan nilai Rf standar teoritis (Harbone, 1996: 88). Berikut identifikasi dengan metode KLT secara skematis :



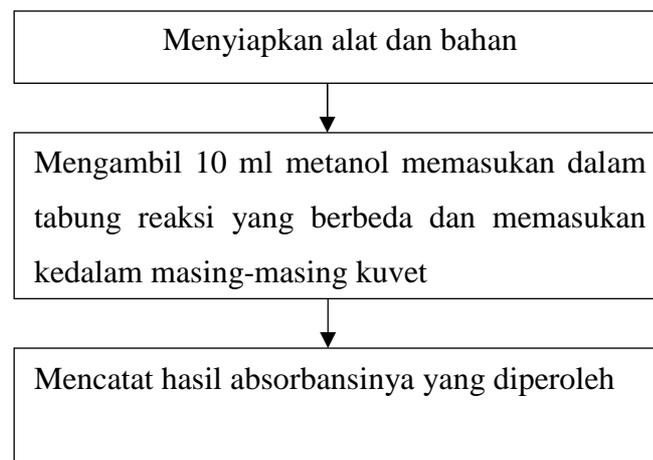
Gambar 3.7 Skema Uji Kromatografi Lapis Tipis

8. Uji Spektrofotometer UV-VIS

a. Pembuatan Larutan Blanko

Menyiapkan alat dan bahan, mengambil 10 ml metanol masukkan dalam tabung reaksi dan memasukkan 3 ml masing-masing methanol kedalam kuvet yang berbeda masukkan kuvet kedalam spektrofotometer UV-VIS. Pembuatan larutan blanko bertujuan untuk kalibrasi pada alat sehingga konsentrasi dimulai dari titik nol .

Berikut pembuatan larutan blanko secara skematis:

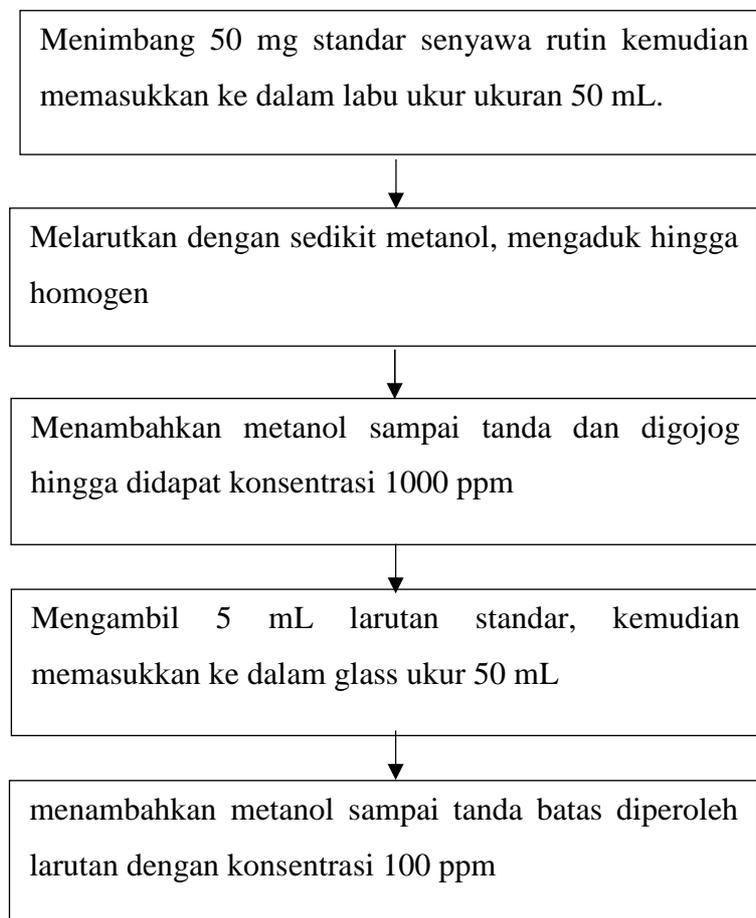


Gambar 3.8 Skema Pembuatan Larutan Blanko

b. Pembuatan Larutan Standar Rutin

Menimbang seksama sebanyak 50 mg standar senyawa rutin baku, dimasukan ke dalam labu ukur ukuran 50 ml dan ditambahkan dengan sedikit metanol. Lalu dikocok hingga larut,

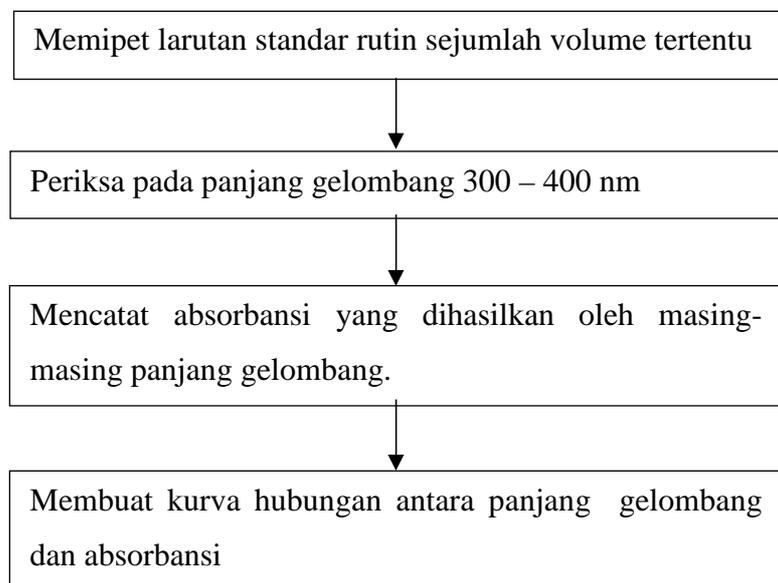
selanjutnya diencerkan dengan metanol sampai garis tanda sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm. Kemudian Mengambil 5 mL larutan standar, memasukkan ke dalam glass ukur 50 mL lalu menambahkan metanol sampai tanda batas diperoleh larutan dengan konsentrasi 100 ppm (Reny Syahrini dan Syamsu Nur, 2015) Berikut pembuatan larutan standar flavonoid secara skematis:



Gambar 3.9 Skema Pembuatan Larutan Standar Rutin

c. Penentuan panjang gelombang maksimal

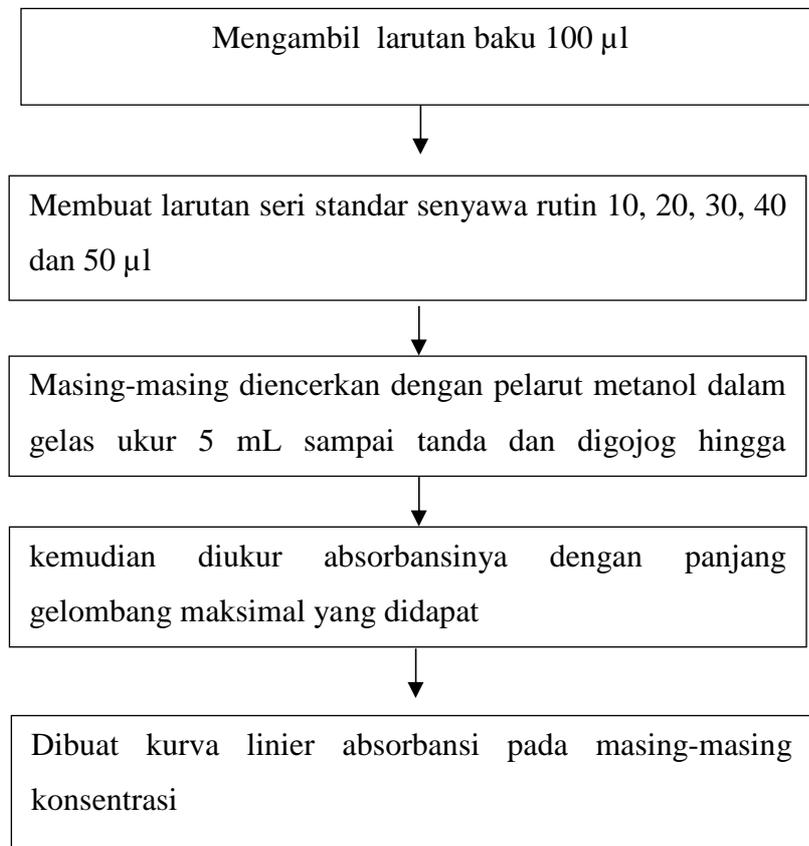
Memipet larutan standar rutin sejumlah volume tertentu pada kurvet kemudian periksa pada panjang gelombang 300 - 400 nm, kemudian mencatat absorbansi yang di hasilkan oleh masing-masing panjang gelombang dan membuat kurva hubungan antara panjang gelombang dan absorbansi (Hanani, 2016). Berikut penentuan panjang gelombang maksimal :



Gambar 3.10 Skema penentuan panjang gelombang maksimal

d. Pembuatan Larutan Seri Standar

Mengambil larutan baku 100 μ l, Kemudian membuat larutan seri standar senyawa rutin 10, 20, 30, 40, 50 μ l kemudian diukur absorbansinya dengan panjang gelombang maksimal yang didapat dan membuat kurva linier absorbansi pada masing-masing konsentrasi (Rohyami,2008 dalam silviani, 2018). Berikut pembuatan larutan seri standar 100 ppm secara skematis:



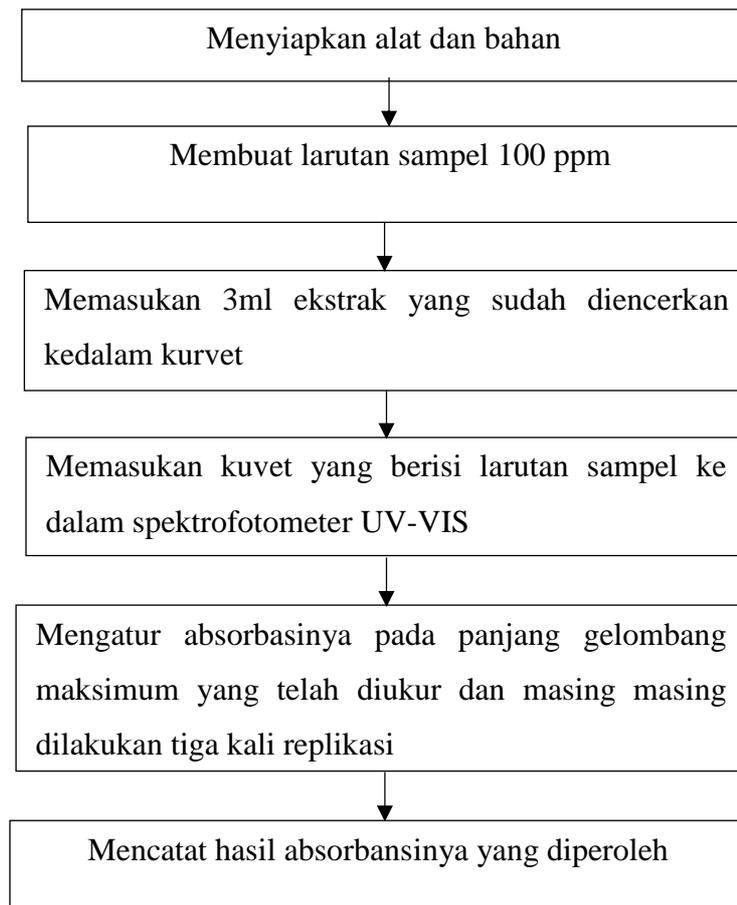
Gambar 3.11 Skema Pembuatan Larutan Seri

e. Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak Krokot dengan Spektrofotometer UV-Vis

Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak krokot dengan Spektrofotometer UV-Vis Menyiapkan alat dan bahan. membuat larutan sampel 100 ppm, masukan 3 ml larutan sampel kedalam kuvet dan masukan kuvet yang berisi larutan sampel kedalam spektrofotometer UV-Vis, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah diukur masing-masing

dilakukan tiga kali replikasi, kemudian catat hasilnya absorbansi yang diperoleh (Rohyami, 2008: 5 dalam Silviani, 2018).

Berikut identifikasi dengan metode Spektrofotometer UV-Vis:



Gambar 3.12 Uji Spektrofotometer UV-Vis

3.5 Analisi Data

Analisi data dilakukan dengan menggunakan SPSS yaitu dengan independent sample test.

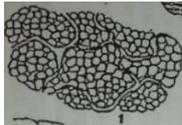
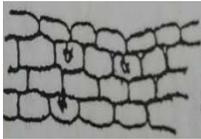
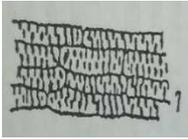
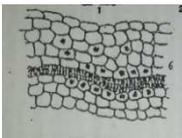
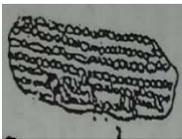
BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan kadar senyawa flavonoid total pada tanaman krokot (*Portulaca oleracea* L) dengan metode maserasi dan refluks. berdasarkan perbedaan metode ekstraksi yang bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan hasil kadar flavonoid berdasarkan perbedaan metode ekstraksi yang dilakukan. Dalam penelitian ini digunakan 2 metode ekstraksi yaitu metode ekstraksi maserasi dan refluks dengan membandingkan hasil kadar yang didapat berdasarkan perbedaan metode ekstraksi terhadap kadar senyawa flavonoid tersebut.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah krokot yang sudah di keringkan dengan tujuan untuk mempermudah terisolasinya senyawa flavonoid selama isolasi. Sebelum mengisolasi senyawa flavonoid pada tanaman krokot . Dilakukan terlebih dahulu uji mikroskopik pada krokot yang sudah dibuat serbuk terlebih dahulu. Sesudah mendapatkan serbuk krokot. melakukan identifikasi serbuk secara mikroskopik. Hal ini bertujuan untuk memastikan kebenaran dari serbuk krokot tersebut. Berikut merupakan data hasil uji identifikasi serbuk secara mikroskopik.

Tabel 4.1 hasil Uji Mikroskopik krokot herba

No	Nama	Literatur (MMI jilid 5, 1989 : 213)	Hasil Pengamatan
1	Epidermis daun dengan stopma		
2	Polen sel		
3	Trakea dari batang		
4	Mesofil daun dengan kristal kalsium oksalat bentuk rosel		
5	Endokarp dari buah		

Hasil pengamatan mikroskopik pada tanaman krokot didapat gambar Epidermis daun dengan stopma, Polen sel, Trakea dari batang, Mespfil daun dengan kristal kalsium oksalat bentuk rosel dan Endokarp dari buah. Digambar tersebut menunjukkan bagian bagian herba tanaman yang sangat mencolok yang menunjukkan ciri khas tanaman krokot. Pada penelitian kali ini proses isolasi senyawa flavonoid pada herba krokot kering menggunakan dua metode ekstraksi yaitu refluks yang dilakukan selama 2 jam dan metode maserasi yang dilakukan penyarian selama 3 x 24 jam dengan pelarut etanol 96% yang merupakan pelarut

yang efektif untuk mengekstraksi senyawa flavonoid pada tanaman krokot (Najib et al, 2017).

Hasil filtrate yang diperoleh dari metode refluks dan maserasi kemudian diproses hingga menjadi ekstrak kental yang kemudian digunakan untuk menghitung rendemen. Berikut ini adalah data berat awal sampel, berat ekstrak dan hasil perhitungan rendemen sampel yang diperoleh.

Tabel 4.2 Berat Sampel, Ekstrak Kental dan rendemennya

Metode	Berat sampel	Berat ekstrak kental	Hasil rendemen
Maserasi	50 gram	6,54 gram	0,13 %
Refluks	50 gram	18,53 gram	0,36 %

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil ekstraksi dengan metode refluks menghasilkan rendemen yang lebih tinggi daripada metode maserasi (tabel 4.2). Hal tersebut disebabkan karena pada metode refluks diikuti dengan proses pemanasan dapat meningkatkan kemampuan untuk mengekstraksi senyawa-senyawa yang tidak larut dalam suhu kamar, sehingga aktivitas penarikan senyawa lebih maksimal, sedangkan maserasi merupakan metode ekstraksi dengan pengadukan pada suhu kamar sehingga rendemen yang dihasilkan sedikit karena tidak semua metabolit sekunder tertarik secara sempurna oleh pelarut (Damar, dkk., 2014).

Langkah selanjutnya adalah mengidentifikasi senyawa flavonoid dari hasil rendemen ekstrak tanaman krokot yang dilakukan dengan tiga metode yaitu metode warna, KLT, dan spektrofotometer UV-Vis. Identifikasi pertama dilakukan dengan reaksi warna. Hasilnya sebagai berikut:

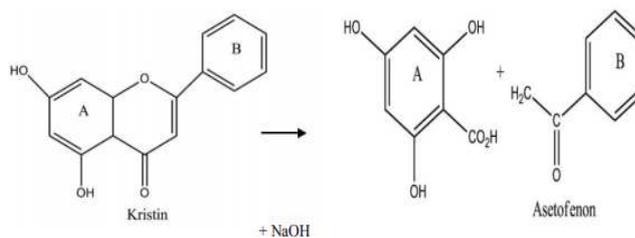
Tabel 4.3 Hasil Identifikasi dengan Reaksi Warna

Replikasi	Reaksi Identifikasi	Maserasi	Refluks	Warna	Pustaka
I	Ekstrak + NaOH 10%			kuning kecoklatan (+)	kuning sampai kuning kecoklatan
II				kuning kecoklatan (+)	
III				kuning kecoklatan (+)	
Rutin	Rutin + NaOH 10%			Larutan kuning (+)	Erlita,dkk (2014).
I	Ekstrak + H ₂ SO ₄ (pekat)			merah bata (+)	coklat kehitaman sampai merah bata
II				merah bata (+)	
III				merah bata (+)	

Keterangan: + : sesuai kepustakaan (Desandi Y, 2015)

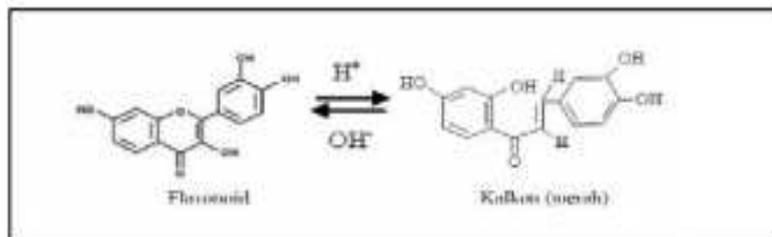
Berdasarkan tabel diatas menunjukkan ekstrak tanaman krokot dengan Rutin sebagai pembanding sama-sama positif mengandung flavonoid, karena terjadi perubahan warna menjadi kuning sampai kuning kecoklatan setelah ditetesi NaOH 10%. Senyawa kristin yang merupakan turunan dari senyawa flavon pada penambahan NaOH 10% mengalami penguraian oleh basa menjadi molekul seperti asetofenon yang berwarna kuning karena adanya pemutusan ikatan pada struktur isoprena. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak krokot mengandung senyawa flavonoid.

Dan berikut adalah gambar struktur reaksi warna :



Gambar 4.1. Reaksi Senyawa Flavonoid dengan NaOH 10% (Desandi Y, 2015).

Uji identifikasi yang kedua terjadi perubahan warna yaitu berubah menjadi warna merah tua setelah ditetesi H₂SO₄ (pekat). Hal ini membuktikan bahwa ekstrak tanaman krokot mengandung senyawa flavonoid. Hal ini menunjukkan terjadinya reaksi oksidasi reduksi antara H₂SO₄ (pekat) dan flavonoid yang menyebabkan terbentuknya senyawa kompleks yang menimbulkan warna coklat kehitaman sampai merah bata pada sampel (Desandi Y, 2015). Hasil kualitatif reaksi warna pada rendemen tanaman krokot diperoleh hasil positif mengandung senyawa flavonoid. Hasil reaksi kimia yang dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2. Reaksi Senyawa Flavonoid dengan H₂SO₄ (Pekat) (Desandi Y, 2015).

Identifikasi berikutnya untuk mengetahui ada tidaknya senyawa flavonoid pada tanaman krokot dengan metode KLT. KLT merupakan suatu metode pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Hasil dari identifikasi KLT pada penelitian ini yang dilihat pada penampakan noda lampu UV 366 nm noda yang terlihat memiliki ekor dengan jarak antar noda satu dengan yang lainnya jelas dan noda yang terlihat berwarna hijau lembayung yang menyatakan bahwa adanya senyawa flavonoid dari perbedaan pelarut dilakukan 3 replikasi. Diperoleh data Rf seperti pada tabel berikut:

Tabel 4.4 Data Rf dan HRF Senyawa Flavonoid Pada tanaman krokot

Replikasi	Maserasi		Hasil Refluks		Widaningrum, 2008	
	RF	HRF	RF	HRF	RF	HRF
I	0,8	80	0,78	78		
II	0,82	82	0,81	81	0,74	74
III	0,76	76	0,76	76		
Rata-rata	0,79	79	0,78	78		

Pada uji KLT bercak dapat terbaca pada sinar UV366. Eluen yang digunakan pada uji KLT yaitu n-butanol: asam asetat: air dengan perbandingan 9: 2: 6 ini digunakan karena mampu memberikan pemisahan terbaik dari segi kekuatan pelarut dan pemisahan bercak yang bersifat polar sehingga bisa memisahkan senyawa flavonoid yang bersifat polar. Pada penelitian ini pembanding yang di gunakan adalah rutin, yaitu suatu glikosida flavonol yang pada umumnya terdapat dalam tanaman (Harbone,1984). Pada hasil uji KLT nilai Rf yang didapat dengan rata-rata Rf pada sampel metode maserasi sebesar 0,79 dengan nilai R_{hf} 79, sedangkan sampel metode refluks sebesar 0,78 dengan nilai R_{hf} sebesar 78 sehingga Rf dan R_{hf} yang diperoleh pada sampel dengan perbandingan Rutin hampir sama, hal ini membuktikan bahwa ekstrak mengandung senyawa flavonoid. Nilai Rf juga dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kejenuhan bejana, jumlah cuplikan yang digunakan dan suhu dan struktur kimia dari senyawa yang dipisahkan.

Analisis berikutnya yaitu secara kuantitatif dengan tujuan untuk menetapkan kadar flavonoid pada sampel dengan metode Spektrofotometri UV-Vis menggunakan alat sepktofotometer. Metode Spektrofotometri UV-Vis digunakan karena cukup mudah dalam pengerjaannya, waktu pengerjaan singkat, jumlah sampel yang digunakan sedikit dan data yang dihasilkan lebih valid dengan tingkat ketelitian yang tinggi. Pada tahap spektrofotometri UV-Vis terlebih dahulu menyiapkan larutan blanko. Larutan blanko yang digunakan adalah pelarut yang digunakan untuk melarutkan sampel, yaitu metanol. Larutan blanko bertujuan untuk membuat titik nol konsentrasi dari grafik kalibrasi. Proses

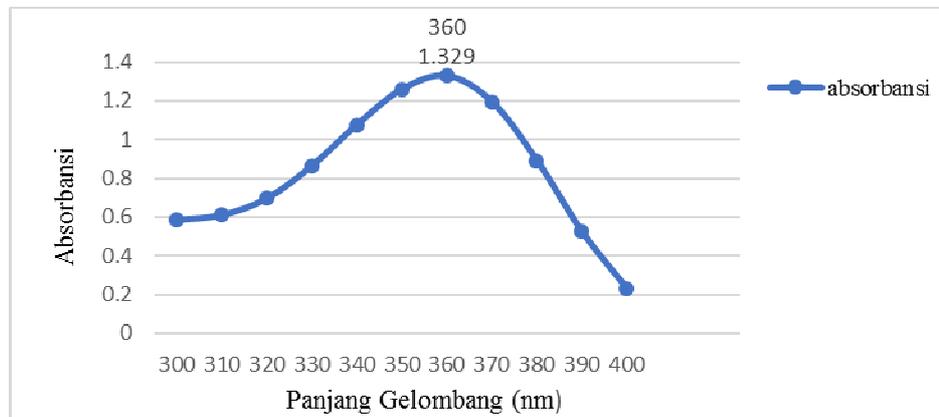
selanjutnya dilakukan penentuan panjang gelombang untuk memperoleh absorbansi maksimal. Alasan penggunaan panjang gelombang maksimal untuk memperoleh kepekaan dan serapan yang maksimal juga. Oleh karena itu, pada serapan yang maksimal pada perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar. Larutan yang digunakan untuk menentukan panjang gelombang maksimal dengan spektrofotometri UV-Vis yaitu larutan standar rutin. Hasil pengukuran panjang gelombang larutan standar rutin dapat dilihat pada tabel 4.6 di bawah ini:

Tabel 4.5 Data penentuan panjang gelombang maksimal

NO	Panjang gelombang (nm)	Absorbansi
1.	300	0,584
2.	310	0,610
3.	320	0,696
4.	330	0,865
5.	340	1,077
6.	350	1,260
7.	360	1,329 → λ maks
8.	370	1,195
9.	380	0,892
10.	390	0,525
11.	400	0,232

Hubungan antara absorbansi dan panjang gelombang ditentukan sehingga dapat diketahui panjang gelombang maksimalnya, hasil orientasi diperoleh data panjang gelombang dengan mengukur serapan pada panjang gelombang maksimum (puncak kurva), agar dapat memberikan serapan tertinggi untuk setiap konsentrasi. Dari data yang diperoleh kemudian dibuat kurva hubungan antara

panjang gelombang dengan absorbansinya. Kurva hubungan antara panjang gelombang dengan absorbansinya dapat dilihat pada gambar 4.4



Gambar 4.3 Kurva Panjang Gelombang Vs Absorbansi

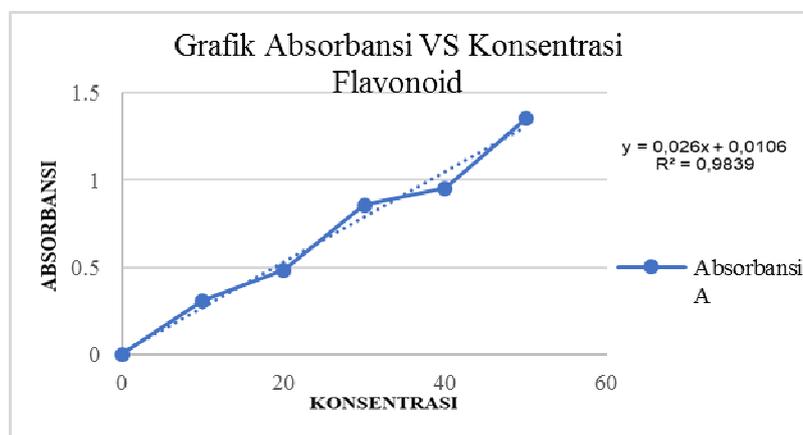
Gambar 4.3 menunjukkan bahwa absorbansi tertinggi terdapat pada panjang gelombang 360 nm dengan absorbansi 1,329. Hasil orientasi diperoleh data panjang gelombang maksimal pada larutan standar rutin adalah 360 nm. Hal ini sesuai dengan penentuan spektrum khas flavonoid golongan flavon dan flavonol mempunyai puncak absorbansi terletak pada daerah panjang gelombang 300-400 nm (Hanani, 2016). Proses selanjutnya setelah diperoleh panjang gelombang maksimal, diukur absorbansi dengan menggunakan larutan seri baku rutin dari 5 konsentrasi untuk membuat kurva linier dengan menggunakan panjang gelombang maksimal yang diperoleh. Data absorbansi dari konsentrasi larutan seri baku rutin dapat dibuat kurva baku antara konsentrasi larutan rutin dan absorbansinya. Kurva baku dibuat dengan tujuan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi larutan dengan nilai absorbansinya sehingga konsentrasi sampel dapat diketahui. Larutan seri baku rutin yang digunakan yaitu 0, 10, 20,

30, 40, 50 μ l. Konsentrasi 0 adalah konsentrasi blanko (Agung: 2016) . Berikut merupakan data hasil absorbansi konsentrasi larutan standar senyawa rutin.

Tabel 4.6 Data Hasil Absorbansi Konsentrasi Larutan Standar Senyawa Rutin.

No.	Konsentrasi, C mg/ L	Absorbansi, A
1.	0	0
2.	10	0,307
3.	20	0,485
4.	30	0,858
5.	40	0,954
6.	50	1,355

Dari data yang diperoleh kemudian dibuat kurva larutan standar berupa grafik kurva konsentrasi (C) versus absorbansi (A).



Gambar 4.4 Kurva Kalibrasi Rutin VS Konsentrasi Flavonoid

Dari kurva tersebut maka didapatkan persamaan linier $y = 0,026x + 0,0106$ persamaan ini digunakan untuk menghitung kadar senyawa flavonoid pada sampel. Dimana (y) menyatakan nilai absorbansi dan (x) menyatakan kadar senyawa flavonoid dalam sampel. Dengan nilai koefisien korelasi (R^2) yang

diperoleh 0,9839. Hal ini menunjukkan dari kurva tersebut juga dapat ditarik kesimpulan bahwa semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi pula absorbansinya.

Berikut ini merupakan data absorbansi senyawa flavonoid pada krokot herba.

Tabel 4.7 Data Absorbansi Senyawa Flavonoid Pada krokot herba

Replikasi	Absorbansi		Panjang gelombang
	Maserasi	Refluks	
I	0,030	0,044	360 nm
II	0,030	0,037	
III	0,030	0,061	
Rata – rata	0,030	0,047	

Proses berikutnya yaitu, penetapan kadar senyawa flavonoid pada sampel.

Dibawah ini merupakan data hasil penetapan kadar senyawa flavonoid dengan menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis.

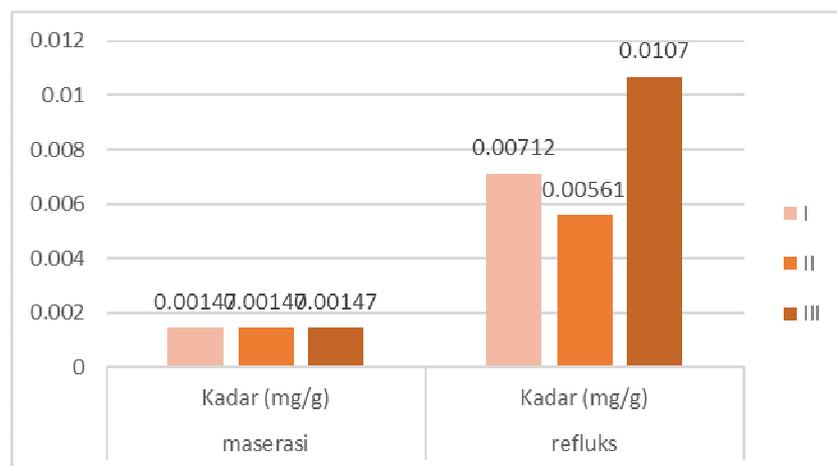
Tabel 4.8 Data Kadar Senyawa Flavonoid Pada tanaman krokot

Replikasi	Maserasi		Refluks	
	Konsentrasi (mg)	Kadar (mg/g)	Konsentrasi (mg)	Kadar (mg/g)
I	0,75	0,294	1,28	1,424
II	0,75	0,294	1,01	1,123
III	0,75	0,294	1,94	1,135
Rata - rata	0,75	0,294	1,41	1,227

Hasil penetapan kadar senyawa flavonoid yang terkandung dalam sampel pada maserasi replikasi I, II dan III terjadi kesamaan kadar senyawa flavonoid yaitu 0,294 mg/g. Sedangkan pada refluks terjadi perbedaan untuk replikasi I adalah 1,424 mg/g, pada replikasi II adalah 1,123 mg/g dan pada replikasi III adalah 1,227 mg/g. dari Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar flavonoid total

pada ekstrak hasil refluks lebih besar dibandingkan dengan hasil maserasi. Hal ini kemungkinan disebabkan karena adanya proses pemanasan pada metode refluks, sehingga dapat meningkatkan kemampuan pelarut untuk mengesktraksi senyawa-senyawa yang tidak larut dalam suhu kamar, sehingga penarikan senyawa lebih maksimal. Menurut Chew et al., hasil ekstraksi dipengaruhi beberapa faktor yaitu jenis, pelarut, konsentrasi pelarut, ukuran partikel, suhu, pH dan lama ekstraksi (Chew KK, 2011).

Dibawah ini merupakan grafik kadar senyawa flavonoid dengan dua metode ekstraksi yang berbeda :



Gambar 4.5 Grafik Kadar Senyawa Flavonoid dengan dua metode ekstraksi yang Berbeda.

Untuk membuktikan kadar yang diperoleh dapat dihitung dengan rata-rata maka ditentukan standar defiasi (SD) dan relatif standar defiasi (RSD). Dan berikut merupakan data standar defiasi dan relatif standar defiasi.

Tabel 4.9 Hasil Nilai Simpangan SD Absorbansi Senyawa Flavonoid

Replikasi	Nilai simpangan maserasi	2SD	Nilai simpangan refluks	2SD
I	0		-0,003	
II	0	< 0	-0,01	< 0,04
III	0		0,014	

Dari hasil nilai simpangan yang diperoleh pada ekstrak maserasi replikasi I adalah 0 replikasi II adalah 0 dan replikasi III adalah 0 maka selisih absorbansi yang diperoleh dengan absorbansi rata-rata tidak lebih besar dari hasil 2SD yang sudah diperoleh yaitu 0. sedangkan pada ekstraksi refluks replikasi I adalah -0,003, replikasi II adalah -0,01 dan replikasi III adalah 0,014 maka selisih absorbansi yang diperoleh dengan absorbansi rata-rata tidak lebih besar dari hasil 2SD yang sudah diperoleh yaitu 0,04. dan untuk mendukung kevalidan data ini dihitung pula nilai standar deviasi relatif (RSD) harus $\leq 2,0\%$ (Aswad, M, dkk, 2011). Pada sampel nilai RSD ekstrak maserasi sebesar 0 %, sedangkan pada ekstraksi refluks sebesar 0,43%, maka sudah dipastikan bahwa hasil uji ini sesuai dan dapat diterima.

Berdasarkan hasil penelitian diatas, dapat dilihat rata-rata rendemen senyawa flavonoid pada ekstrak maserasi dan refluks berbeda. Pada ekstraksi maserasi didapatkan rendemen senyawa flavonoid yang lebih sedikit dari pada ekstrak refluks. Data yang diperoleh dilakukan analisis data dengan menggunakan SPSS yaitu independent sample t test dengan tujuan mengetahui ada tidaknya perbedaan rata-rata pada perbedaan metode ekstraksi. Dengan perhitungan

independent sample t test diperoleh analisis independent sample t test dan analisis descriptive dapat dilihat dalam tabel berikut:

Tabel 4.10 Data Statistik independent samples test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
kadar flavonoid	Equal variances assumed	15,823	,016	-9,486	4	,001	-,933333	,098394	-1,206520	-,660147
	Equal variances not assumed			-9,486	2,000	,011	-,933333	,098394	-1,356690	-,509977

Berdasarkan hasil uji statistik menunjukkan bahwa metode ekstraksi berpengaruh terhadap kadar flavonoid, hal ini ditunjukkan dengan nilai sig 0,016 lebih kecil dari 0,05 dengan taraf kepercayaan 95%, yang berarti bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kadar flavonoid metode ekstraksi maserasi dan refluks. Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa metode refluks lebih baik dari pada metode maserasi untuk ekstraksi flavonoid pada tanaman krokot.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah :

1. Terdapat kandungan senyawa flavonoid dari hasil ekstraksi maserasi dan refluks pada tanaman krokot (*Portulaca oleracea* L).
2. Terdapat pengaruh perbedaan metode ekstraksi terhadap kadar senyawa flavonoid dari hasil refluks sebesar 1,227 mg/g dan maserasi sebesar 0,0294 mg/g dalam tanaman krokot (*Portulaca oleracea* L)

5.2 Saran

Saran dari penelitian ini adalah:

1. Dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap senyawa flavonoid pada bagian tanaman krokot (*Portulaca oleracea* L) dengan metode isolasi yang berbeda.
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kandungan lain yang ada dalam tanaman krokot (*Portulaca oleracea* L).
3. Dilakukan penelitian lebih lanjut dengan membuat sebuah sediaan dari hasil rendemen tanaman krokot (*Portulaca oleracea* L).

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianti, Leni Herliani, M.P. 2010. *Macam buah-buahan untu kesehatan*. Bandung: Penerbit Aalfabeta.
- Akhyar. 2010. *Uji Daya Hambat dan Analisis KLT Bioautografi Ekstrak Daun Buah Bakau (Rhizophora stylosa Griff). Laporan Penelitian. Terhadap Vibrio harveyi*. Makasar: Universitas Hasanudin.
- Alhabsyi, D. F., Suryanto, E., Wewengkang, D. S. 2014. *Aktivitas Antioksidan dan Tabir Surya pada Ekstrak Kulit Buah Pisang Goroho (Musa acuminata L.)*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(2) :107-114
- Chew KK, Ng SY, Thoo YY, Khoo MZ, Wan Aida WM, dan Ho CW. 2011. *Effect of Ethanol Concentration, Extraction Time and Extraction Temperature on the Recovery of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Centella asiatica Extracts*. *International Food Research Journal* 18: 571- 578.
- Damar,A.C., Max,R.J.R., dan Defny,S.W., 2014. “*Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksi dan Total Ekstrak Etanol Daun Kayu Kapur (Melanolepsis multiglandulosa Reinchf)*”. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol.3 (4). Hal:12; 15-16; 18
- Departemen Kesehatan RI. 1986. *b. Sediaan Galenik*. Jakarta: Depkes RI.
- Depkes RI .2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 9-11,16 .

- Depkes RI. 1989. *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan. Halaman 213- 215.
- Desandi Y, Andi. 2014. *Ekstraksi dan Uji Filokimia (Sonneratia alba)*. Laporan Penelitian. Bandung : Universitas Padjadjaran. Hal :5.
- Gandjar, Ibnu Gholib dan Abdul Rohman. 2012. *Analisa Obat Secara Spektroskopi dan Kromatografi*. Yogyakarta: Celeban Timur UH III/548.
- Hanani E, 2016. *Analisis Fitokimia*. Jakarta : Buku Kedokteran.
- Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Terbitan ke-2*. Bandung : ITB.
- Hariana, A. H., 2013. *262 Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Jakarta : Penerbit Swadaya.
- Hasrianti., Nururrahmah., Nurasia., 2016. *Pemanfaatan Ekstrak Bawang Merah dan Asam Asetat Sebagai Pengawet Alami Bakso*, *Jurnal Dinamika*, ISSN 2087-7889.
- Karlina, C. Yudha., M. Ibrahim, G. Trimulyono. 2013. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (Portulaca oleracea L.) terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. Universitas Negeri Surabaya. ISSN: 2252-3979
- Kementrian Kesehatan RI. 2011. *Suplemen II Farmakope Herbal Indonesia edisi 1*. Jakarta: Kemenkes RI.
- Khopkhar, S.m. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta. Jakarta: uipress.

- Koirewoa, Yohanes adithya, Fatimawali dan Weny indayanyan wiyono. 2013. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Daun Bluntas (*Pluchea indica* L.). Laporan Penelitian. Manado: Universitas UNSRAT Manado.
- Laksmiani, et al. 2015. Pengembangan Metode Refluks untuk Ekstraksi Andrografolid dari Herbal Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees). *Jurnal Farmasi Udayana*, [S.l.], ISSN 2622-4607.
- Marjoni, R. 2016. Dasar-Dasar Fitokimia. CV. Trans Info Media: Jakarta Timur.
- Markham, K.R. 1988. Mengidentifikasi Flavonoid. Bandung: Penerbit ITB.
- Mukhriani, 2014, Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif, *Jurnal Kesehatan*, 7(2)
- Najib, A., Malik, A., Ahmad, A.R., Handayani, V., Syarif, R.A., Waris, R. 2017. Standarisasi Ekstrak Air Daun Jati Belanda dan Teh Hijau. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2: 241-245.
- Roth, Herman J dan Gottferied Blaschke. 1998. Analisa Farmasi. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Silva VNB, Vieira LR, Sousa CAF, 2017. Morphological Changes In *Portulaca Oleracea* L. Under Salt Stress, IVAGRI International Meeting, Vol. 4, No. 1, pp.1-7 [online], (diunduh 3 September 2019), tersedia dari: https://www.researchgate.net/publication/320115628_MORPHOLOGICAL_CHANGES_IN_Portulaca_oleracea_L_UNDER_SALT_STRESS/link/5a9057200f7e9ba4296b97a9/download
- Stahl, Egon. 1985. Analisa Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi. Bandung: ITB.

- Syed, S., Fatima, N., Kabeer, G., 2016. *Portulaca oleracea* L. : A Mini Review on Phytochemistry and Pharmacology, *International Journal of Biology and Biotechnology*, 13.4., 637-641.
- Tjahjahunomo, Rudi. 2013. *Tanaman Obat untuk Daun Bluntas*. Yogyakarta: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca Panen Pertanian.
- Zhou Yan-Xin, Hai-Liang Xin, Khalid Rahman, Su-Juan Wang, Cheng Peng & Hong Zhang, 2015. *Portulaca oleracea* L.: A Review of Phytochemistry and Pharmacological Effect, Hindawi Publishing Corporation, *Biomed Research Internasional*, 11 page.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Perhitungan Berat Sampel (Flavonoid)

1. Sampel Maserasi

Data penimbangan sampel

Berat beaker kosong = 162,91 gram

Berat beaker + sampel = 212,91 gram

Berat beaker + sisa sampel = 162,92 gram

Berat sampel = 212,91 gram – 162,92 gram
= 49,99 gram

2. Sampel metode refluks

Data penimbangan sampel

Berat beaker kosong = 168,65 gram

Berat beaker + sampel = 218,65 gram

Berat beaker + sisa sampel = 168,68 gram

Berat sampel = 218,65 gram – 168,68 gram
= 49,97 gram

Lampiran 2 Perhitungan Berat Ekstrak Sampel (Flavonoid)

1. Sampel metode maserasi

Data penimbangan ekstrak

Berat cawan porselin kosong = 56,98 gram

Berat cawan porselin + ekstrak = 63,52 gram

$$\begin{aligned} \text{Berat ekstrak} &= 63,52 \text{ gram} - 56,98 \text{ gram} \\ &= 6,54 \text{ gram} \end{aligned}$$

2. Sampel metode refluks

Data penimbangan ekstrak

Berat cawan porselin kosong = 58,91 gram

Berat cawan porselin + ekstrak = 77,44 gram

$$\begin{aligned} \text{Berat ekstrak} &= 77,44 \text{ gram} - 58,91 \text{ gram} \\ &= 18,53 \text{ gram} \end{aligned}$$

Lampiran 3 Perhitungan rendemen hasil metode ekstraksi maserasi dan refluks

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak Kental}}{\text{Berat Sampel (X)}} \times 100\%$$

1. Maserasi

$$Y = 6,54 \text{ gram}$$

$$X = 49,99 \text{ gram}$$

$$\text{Rendemen} = \frac{6,54 \text{ gram}}{49,99 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,13 \%$$

2. Refluks

$$Y = 18,44 \text{ gram}$$

$$X = 49,97 \text{ gram}$$

$$\text{Rendemen} = \frac{18,44 \text{ gram}}{49,97 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,36 \%$$

Lampiran 4 Perhitungan KLT

Perhitungan fase gerak n-butanol: asam asetat: air (9:2:6) di buat dalam 10 ml.

$$\text{N-Butanol} = \frac{9}{17} \times 10 \text{ ml} = 5,3 \text{ ml}$$

$$\text{Asam asetat} = \frac{2}{17} \times 10 \text{ ml} = 1,2 \text{ ml}$$

$$\text{Air} = \frac{6}{17} \times 10 \text{ ml} = 3,5 \text{ ml}$$

Perhitungan Rf dan hRf pada metode ekstraksi maserasi dan refluks

$$Rf = \frac{\text{Jarak titik tengah noda dari titik awal}}{\text{Jarak tepi muka pelarut dari titik awal}}$$

$$hRf = Rf \times 100$$

1. Maserasi

a. Replikasi I

Data analisis Rf dan hRf

$$\text{Jarak tempuh sampel} = 6,4 \text{ cm}$$

$$\text{Jarak tepi pelarut} = 8 \text{ cm}$$

$$Rf = \frac{6,4}{8} = 0,8$$

$$hRf = 0,8 \times 100 = 80$$

b. Replikasi II

Data analisis Rf dan hRf

Jarak tempuh sampel = 6,6 cm

Jarak tepi pelarut = 8 cm

$$R_f = \frac{6,6}{8} = 0,82$$

$$hR_f = 0,82 \times 100 = 82$$

c. Replikasi III

Data analisis Rf dan hRf

Jarak tempuh sampel = 6, cm

Jarak tepi pelarut = 8 cm

$$R_f = \frac{6,1}{8} = 0,76$$

$$hR_f = 0,76 \times 100 = 76$$

$$\text{Rata-rata } R_f \text{ sampel} = \frac{0,8 + 0,82 + 0,76}{3} = 0,79$$

$$\text{Rata-rata } hR_f \text{ sampel} = \frac{80 + 82 + 76}{3} = 79$$

2. Refluks

a. Replikasi I

Data analisis Rf dan hRf

$$\text{Jarak tempuh sampel} = 6,3 \text{ cm}$$

$$\text{Jarak tepi pelarut} = 8 \text{ cm}$$

$$R_f = \frac{6,3}{8} = 0,78$$

$$hR_f = 0,78 \times 100 = 78$$

b. Replikasi II

Data analisis R_f dan hR_f

$$\text{Jarak tempuh sampel} = 6,5 \text{ cm}$$

$$\text{Jarak tepi pelarut} = 8 \text{ cm}$$

$$R_f = \frac{6,5}{8} = 0,81$$

$$hR_f = 0,81 \times 100 = 81$$

c. Replikasi III

Data analisis R_f dan hR_f

$$\text{Jarak tempuh sampel} = 6,1 \text{ cm}$$

$$\text{Jarak tepi pelarut} = 8 \text{ cm}$$

$$R_f = \frac{6,1}{8} = 0,76$$

$$hR_f = 0,76 \times 100 = 76$$

$$\text{Rata-rata Rf sampel} = \frac{0,78 + 0,81 + 0,76}{3} = 0,78$$

$$\text{Rata-rata hRf sampel} = \frac{78 + 81 + 76}{3} = 78$$

Lampiran 5 Penetapan kadar flavonoid sampel

- a. Pembuatan larutan induk seri standar rutin 1000 ppm

$$\text{Rutin} = \frac{50 \text{ mg}}{50 \text{ ml}}$$

$$= 1000 \text{ ppm dalam } 50 \text{ ml}$$

Larutan induk 1000 ppm diencerkan menjadi 100 ppm dalam 50 ml

$$m_1 \cdot v_1 = m_2 \cdot v_2$$

$$1000 \cdot x = 100 \cdot 50 \text{ ml}$$

$$1000 \cdot x = 5000$$

$$x = \frac{5000}{1000} = 5 \text{ ml}$$

- b. Pembuatan larutan baku rutin sebagai konsentrasi

$$\text{rumus pengenceran} \rightarrow V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$\text{dimana nilai} = 100 \text{ ppm} \quad V_2 = 5 \text{ ml}$$

- larutan rutin konsentrasi 10 ppm

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 100 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \cdot 10 \text{ ppm}$$

$$V_1 \cdot 100 = 50$$

$$V_1 = \frac{50}{100} = 0,5 \text{ ml}$$

- larutan rutin konsentrasi 20 ppm

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 100 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \cdot 20 \text{ ppm}$$

$$V_1 \cdot 100 = 100$$

$$V_1 = \frac{100}{100} = 1 \text{ ml}$$

- larutan rutin konsentrasi 30 ppm

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 100 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \cdot 30 \text{ ppm}$$

$$V_1 \cdot 100 = 150$$

$$V_1 = \frac{150}{100} = 1,5 \text{ ml}$$

- larutan rutin konsentrasi 40 ppm

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 100 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \cdot 40 \text{ ppm}$$

$$V_1 \cdot 100 = 200$$

$$V_1 = \frac{200}{100} = 2 \text{ ml}$$

- larutan rutin konsentrasi 50 ppm

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

$$V_1 \cdot 100 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \cdot 50 \text{ ppm}$$

$$V_1 \cdot 100 = 250$$

$$V_1 = \frac{250}{100} = 2,5 \text{ ml}$$

c. Pembuatan larutan sampel maserasi dan refluks 1000 ppm

$$\begin{aligned}\text{sampel} &= \frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \\ &= 1000 \text{ ppm dalam } 10 \text{ ml}\end{aligned}$$

Larutan induk 1000 ppm diencerkan menjadi 100 ppm dalam 5 ml

$$m_1 \cdot v_1 = m_2 \cdot v_2$$

$$1000 \text{ x} = 100 \cdot 5 \text{ ml}$$

$$1000 \text{ x} = 500$$

$$\text{x} = \frac{500}{1000} = 0,5 \text{ ml}$$

Lampiran 6 Perhitungan Kadar Senyawa Flavonoid pada ekstrak

$$Y = 0,026x + 0,0106$$

Keterangan : X = Kadar Flavonoid (%/1000 ppm)

Y = Absorbansi

$$\text{Kadar} = \frac{\text{Konsentrasi X ekstrak yang diambil} \times \text{ekstrak kental} \times 100 \text{ gram}}{\text{Berat awal}}$$

1. Maserasi

A. Replikasi I

Berat sampel = 49,99 gram

Berat ekstrak = 6,54 gram

Pengambilan ekstrak = 0,5 ml pengenceran 100x

Pengambilan ekstrak (kuvet) = 3ml

Absorbansi (y) = 0,030

Jadi,

Y = 0,026 x + 0,0106

0,030 = 0,026 x + 0,0106

0,026 x = 0,030 - 0,0106

0,026 x = 0,0194

$$x = \frac{0,0194}{0,026} = 0,75\%$$

$$\begin{aligned} \text{konsentrasi} &= \frac{x.p.ppm}{1000} \\ &= \frac{0,75\% \times 100 \times 1000 \text{ ppm}}{1000} \end{aligned}$$

$$= 0,75 \text{ mg}$$

$$\text{Kadar} = \frac{0,75 \times 3 \text{ ml} \times 6,54 \times 100 \text{ gram}}{49,99 \text{ gram}}$$

$$= 29,435 \text{ mg} / 100 \text{ gram}$$

$$= 0,294 \text{ mg} / \text{gram}$$

B. Replikasi II

$$\text{Berat sampel} = 49,99 \text{ gram}$$

$$\text{Berat ekstrak} = 6,54 \text{ gram}$$

$$\text{Ppm} = 100 \text{ ppm}$$

$$\text{Pengambilan ekstrak} = 0,5 \text{ ml}$$

$$\text{Pengambilan ekstrak (kuvet)} = 3 \text{ ml}$$

$$\text{Absorbansi (y)} = 0,030$$

Jadi,

$$Y = 0,026x + 0,0106$$

$$0,030 = 0,026x + 0,0106$$

$$0,026 \times = 0,030 - 0,0106$$

$$0,026 \times = 0,0194$$

$$x = \frac{0,0194}{0,026} = 0,75\%$$

$$\text{konsentrasi} = \frac{x \cdot p \cdot \text{ppm}}{1000}$$

$$= \frac{0,75\% \times 100 \times 1000 \text{ ppm}}{1000}$$

$$= 0,75 \text{ mg}$$

$$\text{Kadar} = \frac{0,75 \times 3 \text{ ml} \times 6,54 \times 100 \text{ gram}}{49,99 \text{ gram}}$$

$$= 29,435 \text{ mg} / 100 \text{ gram}$$

$$= 0,294 \text{ mg} / \text{gram}$$

C. Replikasi III

$$\text{Berat sampel} = 49,99 \text{ gram}$$

$$\text{Berat ekstrak} = 6,54 \text{ gram}$$

$$\text{Ppm} = 100 \text{ ppm}$$

$$\text{Pengambilan ekstrak} = 0,5 \text{ ml}$$

$$\text{Pengambilan ekstrak (kuvet)} = 3 \text{ ml}$$

$$\text{Absorbansi (y)} = 0,030$$

Jadi,

$$Y = 0,026x + 0,0106$$

$$0,030 = 0,026x + 0,0106$$

$$0,026x = 0,030 - 0,0106$$

$$0,026x = 0,0194$$

$$x = \frac{0,0194}{0,026} = 0,75\%$$

$$\text{konsentrasi} = \frac{x \cdot \text{ppm}}{1000}$$

$$= \frac{0,75\% \times 100 \times 1000 \text{ ppm}}{1000}$$

$$= 0,75 \text{ mg}$$

$$\text{Kadar} = \frac{0,75 \times 3 \text{ ml} \times 6,54 \times 100 \text{ gram}}{49,99 \text{ gram}}$$

$$= 29,435 \text{ mg} / 100 \text{ gram}$$

$$= 0,294 \text{ mg} / \text{gram}$$

- Kadar rata-rata flavonoid pada sampel/ gram

$$= \frac{0,294 + 0,294 + 0,294}{3}$$

$$= 0,294 \text{ mg} / \text{gram}$$

2. Refluks

A. Replikasi I

$$\text{Berat sampel} = 49,97 \text{ gram}$$

$$\text{Berat ekstrak} = 18,53 \text{ gram}$$

$$\text{Ppm} = 100 \text{ ppm}$$

$$\text{Pengambilan ekstrak} = 0,5 \text{ ml}$$

$$\text{Pengambilan ekstrak (kuvet)} = 3 \text{ ml}$$

$$\text{Absorbansi (y)} = 0,044$$

Jadi,

$$Y = 0,026x + 0,0106$$

$$0,044 = 0,026x + 0,0106$$

$$0,026 x = 0,044 - 0,0106$$

$$0,026 x = 0,0334$$

$$x = \frac{0,0334}{0,026} = 1,28 \%$$

$$\text{konsentrasi} = \frac{x \cdot \text{ppm}}{1000}$$

$$= \frac{1,28 \% \times 100 \times 1000 \text{ ppm}}{1000}$$

$$= 1,28 \text{ mg}$$

$$\text{Kadar} = \frac{1,28 \text{ mg} \times 3 \text{ ml} \times 18,53 \times 100 \text{ gram}}{49,97 \text{ gram}}$$

$$= 142,395 \text{ mg} / 100 \text{ gram}$$

$$= 1,424 \text{ mg/ gram}$$

B. Replikasi II

$$\text{Berat sampel} = 49,97 \text{ gram}$$

$$\text{Berat ekstrak} = 18,53 \text{ gram}$$

$$\text{Pengambilan ekstrak} = 0,5 \text{ ml}$$

$$\text{Pengambilan ekstrak (kuvet)} = 3 \text{ ml}$$

$$\text{Absorbansi (y)} = 0,037$$

Jadi,

$$Y = 0,026x + 0,0106$$

$$0,037 = 0,026x + 0,0106$$

$$0,026 x = 0,037 - 0,0106$$

$$0,026 x = 0,0264$$

$$x = \frac{0,0264}{0,026} = 1,01 \%$$

$$\text{konsentrasi} = \frac{x.p.ppm}{1000}$$

$$= \frac{1,01 \% \times 100 \times 1000 \text{ ppm}}{1000}$$

$$= 1,01 \text{ mg}$$

$$\text{Kadar} = \frac{1,01 \times 3 \text{ ml} \times 18,53 \times 100 \text{ gram}}{49,97 \text{ gram}}$$

$$= 112,360 \text{ mg} / 100 \text{ gram}$$

$$= 1,123 \text{ mg} / \text{gram}$$

C. Replikasi III

$$\text{Berat sampel} = 49,97 \text{ gram}$$

$$\text{Berat ekstrak} = 18,53 \text{ gram}$$

$$\text{Ppm} = 100 \text{ ppm}$$

$$\text{Pengambilan ekstrak} = 0,5 \text{ ml}$$

$$\text{Pengambilan ekstrak (kuvet)} = 3 \text{ ml}$$

$$\text{Absorbansi (y)} = 0,061$$

Jadi,

$$Y = 0,026x + 0,0106$$

$$0,061 = 0,026x + 0,0106$$

$$0,026 x = 0,061 - 0,0106$$

$$0,026 x = 0,0504$$

$$x = \frac{0,0504}{0,026} = 1,94 \%$$

$$\text{konsentrasi} = \frac{x.p.ppm}{1000}$$

$$= \frac{1,94 \% \times 100 \times 1000 \text{ ppm}}{1000}$$

$$= 1,94 \text{ mg}$$

$$\text{Kadar} = \frac{1,94 \times 3 \text{ ml} \times 18,53 \times 100 \text{ gram}}{49,97 \text{ gram}}$$

$$= 113,556 \text{ mg} / 100 \text{ gram}$$

$$= 1,135 \text{ mg} / \text{gram}$$

- Kadar rata-rata flavonoid pada sampel/ gram

$$= \frac{1,424 + 1,123 + 1,135}{3}$$

$$= 1,227 \text{ mg} / \text{gram}$$

Lampiran 7 Perhitungan standar deviasi absorbansi flavonoid

$$\text{standar deviasi} = \frac{\sqrt{(X1 - X)^2 + (X2 - X)^2 + (X3 - X)^2}}{N - 1}$$

Keterangan : X1 = Absorbansi senyawa flavonoid sampel replikasi I

X2 = Absorbansi senyawa flavonoid sampel replikasi II

X3 = Absorbansi senyawa flavonoid sampel replikasi III

X = Absorbansi rata-rata senyawa flavonoid sampel

1. Maserasi

Data standar deviasi

$$X1 = 0,030 \text{ mg/g}$$

$$X2 = 0,030 \text{ mg/g}$$

$$X3 = 0,030 \text{ mg/g}$$

$$X = 0,030 \text{ mg/gta standar deviasi}$$

$$\text{standar deviasi} = \frac{\sqrt{(0,030 - 0,030)^2 + (0,030 - 0,030)^2 + (0,030 - 0,030)^2}}{3}$$

$$= \frac{\sqrt{(0)^2 + (0)^2 + (0)^2}}{3}$$

$$\text{SD} = \sqrt{0} = 0$$

$$2\text{sd} = 2 \times 0 = 0$$

A. Nilai simpangan absorbansi flavonoid sampel replikasi I

$$0,030 - 0,030 = 0 < 0, \text{ jadi data diterima}$$

B. Nilai simpangan absorbansi flavonoid sampel replikasi II

$$0,030 - 0,030 = 0 < 0, \text{ jadi data diterima}$$

C. Nilai simpangan absorbansi flavonoid sampel replikasi III

$$0,030 - 0,030 = 0 < 0, \text{ jadi data diterima}$$

$$Rsd = \frac{sd}{\bar{X}} \times 100\% = \frac{0}{0,030} \times 100\% = 0\%$$

Nilai simpangan flavonoid pada ekstrak maserasi 0 % < 2% jadi

data diterima

2. Refluks

Data standar deviasi

$$X1 = 0,044 \text{ mg/g}$$

$$X2 = 0,037 \text{ mg/g}$$

$$X3 = 0,061 \text{ mg/g}$$

$$\bar{X} = 0,047 \text{ mg/gta standar deviasi}$$

$$\begin{aligned} \text{standar deviasi} &= \frac{\sqrt{(0,044 - 0,047)^2 + (0,037 - 0,047)^2 + (0,061 - 0,047)^2}}{3} \\ &= \frac{\sqrt{(-0,003)^2 + (-0,01)^2 + (0,014)^2}}{3} \end{aligned}$$

$$SD = \frac{\sqrt{0,000009 + 0,0001 + 0,000196}}{3}$$

$$= \sqrt{0,00040} = 0,02$$

$$2sd = 2 \times 0,02 = 0,04$$

A. Nilai simpangan absorbansi flavonoid sampel replikasi I

$$0,044 - 0,047 = -0,003 < 0,04, \text{ jadi data diterima}$$

B. Nilai simpangan absorbansi flavonoid sampel replikasi II

$$0,037 - 0,047 = -0,01 < 0,04, \text{ jadi data diterima}$$

C. Nilai simpangan absorbansi flavonoid sampel replikasi III

$$0,061 - 0,047 = 0,014 < 0,04 \text{ jadi data diterima}$$

$$Rsd = \frac{sd}{\bar{x}} \times 100\% = \frac{0,02}{0,047} \times 100\% = 0,43\%$$

Nilai simpangan flavonoid pada ekstrak refluks $0,43\% < 2\%$ jadi

data diterima

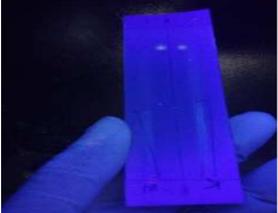
Lampiran 8 Gambar Penelitian

A. Cara Kerja

No.	Gambar	Keterangan
1.		Tanaman krokot
2.		Proses penimbangan simplisia krokot herba yang sudah dikeringkan
3.		proses pengayakan serbuk krokot herba
4.		Proses pengekstraksi refluks selama 2 jam
5.		Proses pengambilan filtrate tanaman krokot

6.		Proses pengentalan ekstrak tanaman krokot
.		Proses pemisahan ekstrak dari pengotor dengan cara penambahan n-heksana
9.		proses pemisahaan ekstrak fase atas dan bawah
10.		Ekstrak kental

B. Identifikasi Senyawa Flavonoid

No.	Gambar	Keterangan
1.		<p>Hasil Identifikasi dengan Reaksi</p> <p>Warna menggunakan Naoh</p>
2.		<p>Hasil Identifikasi dengan Reaksi</p> <p>Warna menggunakan H₂SO₄ (pekat)</p>
3.		<p>Proses pengaktifan plat KLT</p>
4.		<p>Proses penjuanan bejana</p>
5.		<p>Hasil bercak flavonoid</p>

C. Uji Spektrofotometri UV-Vis

No.	Gambar	keterangan
1.		Larutan rutin dan pelarut
		Membuat konsentrasi sebanyak 10,20,30,40,50 ppm
2.		Kuvet
3.		Tempat pengujian sampel
4.		Alat spektrofotometri uv-vis

IDENTITAS MAHASISWA

Nama : ADE RISQI ARIFIYAH
NIM : 18081068
Jenis Kelamin : Perempuan
TTL : 4 November 1997
Alamat : Jln teuku umar RT 02/04 kel. Debong Tengah Kec.
Tegal Selatan, Kota Tegal.
No. Tlp/HP : 089612225716
Riwayat pendidikan
SD : MI Ihsaniyah 01 Debong Tengah
SMP : SMP N 19 Kota Tegal
SMA/K Sederajat : SMK Farmasi Harapan Bersama Kota Tegal
DIII : Politeknik Harapan Bersama Kota Tagal
Judul Penelitian : PENGARUH METODE EKSTRAKSI REFLUKS
DAN MASERASI TERHADAP KANDUNGAN
FLAVONOID EKSTRAK ETANOL KROKOT
Nama Ayah : MASRUCHIN
Nama Ibu : YULI ASTUTI
Pekerjaan Ayah : Pedagang
Pekerjaan Ibu : Ibu Rumah Tangga
Alamat : Jln teuku umar RT 02/04 kel. Debong Tengah Kec.
Tegal Selatan, Kota Tegal



Yayasan Pendidikan Harapan Bersama
PoliTeknik Harapan Bersama
PROGRAM STUDI D III FARMASI

Kampus I : Jl. Mataram No. 9 Tegal 52142 Telp. 0283-352000 Fax. 0283-353353
 Website : www.poltektegal.ac.id Email : farmasi@poltektegal.ac.id

No : 094.06/FAR.PHB/III/2021
 Hal : Keterangan Praktek Laboratorium

SURAT KETERANGAN

Dengan ini menerangkan bahwa mahasiswa berikut :

Nama : Ade Risqi Arifiyah
 NIM : 18081068
 Judul KTI : Pengaruh Metode Ekstraksi Refluks Dan Maserasi Terhadap
 Kandungan Flavonoid Ekstrak Etanol Krokot Dengan Metode
 Spektrofotometri UV-Vis

Benar – benar telah melakukan penelitian di Laboratorium DIII Farmasi PoliTeknik
 Harapan Bersama Tegal.

Demikian surat keterangan ini untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Tegal, 30 Maret 2021
 Mengetahui,

Ka. Prodi DIII Farmasi

apt. Sari Prabdari, S.Farm.,M.M
 NIPY. 08.015.223

Ka. Laboratorium

apt. Meliyana Perwita S, M.Farm
 NIPY.09.016.312