

**PENENTUAN KADAR FENOL TOTAL FRAKSI N-HEKSAN,
KLOROFORM, DAN METANOL HERBA PEGAGAN
(*Centella asiatica* (L.) Urban)**



TUGAS AKHIR

Oleh:

ZAHRA SUGIANI

20080105

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

2023

**PENENTUAN KADAR FENOL TOTAL FRAKSI N-HEKSAN,
KLOROFORM, DAN METANOL HERBA PEGAGAN
(*Centella asiatica* (L.) Urban)**



TUGAS AKHIR

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

Oleh:

ZAHRA SUGIANI

20080105

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

2023

HALAMAN PERSETUJUAN

**PENENTUAN KADAR FENOL TOTAL FRAKSI N-HEKSAN,
KLOOROFORM, DAN METANOL HERBA PEGAGAN
(*Centella asiatica* (L.) Urban)**

TUGAS AKHIR



DIPERIKSA DAN DISETUJUI OLEH :

PEMBIMBING I


apt. Purgivanti, S.Si M.Farm
NIDN. 0619057802

PEMBIMBING II


Kusnadi, M.Pd
NIDN. 0616038701




HALAMAN PENGESAHAN

Tugas Akhir ini diajukan oleh :

NAMA : Zahra Sugiani
NIM : 20080105
Skim TA : KTI/Tim Riset Dosen/Publikasi*)
Program Studi : Diploma III Farmasi
Judul Tugas Akhir : Penentuan Kadar Fenol Total Fraksi N-Heksan,
Kloroform dan Metanol Herba Pegagan
(*Centella asiatica* (L.) Urban).

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

TIM PENGUJI

Ketua Penguji : Dr. Aldi Budi Riyanta, M.T. (.....) 
Anggota Penguji 1 : Kusnadi, M.Pd (.....) 
Anggota Penguji 2 : Joko Santoso M.Farm (.....) 

Tegal, 14 April 2023

Program Studi Diploma III Farmasi

Ketua Program Studi,

 
Apt. Sari Prabandari, S.farm.,MM

NIPY. 08. 015.223

*) Coret yang tidak perlu

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 | : ZAHRA SUGIANI |
| NIM | : 20080105 |
| Tanda Tangan | :  |
| Tanggal | : 14 April 2023 |

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR
UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

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

Nama : Zahra Sugiani
NIM :20080105
Program Studi : Diploma III Farmasi
Jenis Karya : Tugas Akhir
Skim TA : Tim Riset Dosen

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 :

Penentuan Kadar Fenol Total Fraksi N-Heksan, Kloroform dan Metanol Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban).

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti/Noneksklusif ini Politeknik Harapan Bersama Tegal berhak menyimpan, mengalihmedian/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat dan mempublikasi karya ilmiah saya selama tahap mencantumkan nama saya sebagai penulis/ pencipta dan pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Tegal
Pada Tanggal : 14 April 2023

Yang Menyatakan



(Zahra Sugiani)

20080105

MOTTO

“Allah tidak akan membebani seseorang melainkan sesuai dengan kemampuannya” (Q.S Al-Baqarah:286)

Berpikir tentang masa depan dan berusaha keras memang penting. Tetapi menghargai diri sendiri, menyemangati diri sendiri dan memastikan dirimu terus bahagia adalah hal yang sangat penting.”

“I have come to love myself for who I am, for who I was, and for who I hope to become” – RM BTS

Kupersembahkan untuk :

1. Kedua orang tua saya
2. Sahabat-sahabatku
3. Teman-teman Angkatan
4. Keluarga kecil prodi DIII Farmasi
5. Almamaterku

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan nikmat dan karuniannya sehingga penulis dapat menyelesaikan Laporan Tugas Akhir yang berjudul “**PENENTUAN KADAR FENOL TOTAL FRAKSI N-HEKSAN, KLOOROFORM DAN METANOL HERBA PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urban)**” dengan baik. Laporan tugas akhir ini ditunjukkan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar derajat Ahli Madya pada program studi Farmasi Politeknik Harapan Bersama.

Dalam penyusunan Laporan tugas akhir ini, penulis banyak mendapatkan bimbingan, bantuan pengarahan, dan dukungan dari berbagai pihak. Untuk itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Bapak Agung Hendarto, S.E., M.A. selaku Direktur Politeknik Harapan Bersama.
2. Ibu apt. Sari Prabandari, S.Farm.,M.M, Selaku Ketua Prodi Diploma III Farmasi Politeknik Harapan Bersama.
3. Ibu apt. Purgiyanti,S.Si,M.Farm selaku pembimbing I yang dengan penuh kesabaran dan ketelatenan dalam memberikan arahan dan bimbingan.
4. Bapak Kusnadi, M.Pd, selaku pembimbing II yang dengan penuh kesabaran dan ketelatenan dalam memberikan arahan dan bimbingan.
5. Kedua orang tua yang telah memberikan dukungan moral, material serta doa dan semangat dalam penyusunan Laporan Tugas Akhir.

6. Laboran farmasi yang telah membantu dalam proses penelitian, terimakasih atas tenaga dan waktunya.
7. Teman-teman dan sahabat semua yang selalu memberikan dukungan dan semangat dalam menyelesaikan Laporan Tugas Akhir.

Semoga Allah SWT memberikah ampunan, melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya serta melipat gandakan pahala amal kebijakan semua pihak yang telah memberikan bantuan kepada penulis selama proses penyelesaian Laporan tugas akhir.

Untuk itu, penulis sangat mengharap kritik dan saran dari semua pihak yang bersifat membangun lebih baiknya laporan tugas akhir. Penulis berharap semoga laporan tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Tegal, 14 April 2023

Penulis

Zahra Sugiani

INTISARI

Sugiani, Zahra., Purgiyanti., Kusnadi., 2023. Penentuan Kadar Fenol total Fraksi N-Heksan, Kloroform dan Metanol Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban).

Pegagan memiliki kandungan kimia diantaranya adalah senyawa golongan triterpen ester glikosida yaitu asiatikosida dan madekosida, senyawa golongan triterpen dan senyawa golongan fenolik. Senyawa fenolik mempunyai satu fenol atau lebih (polifenol) cincin fenol, yakni gugus hidroksi yang terkait pada cincin aromatis dan menyebabkan mudahnya senyawa ini teroksidasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan fraksinasi terhadap kadar total fenol herba pegagan.

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Kadar fenol total dilakukan dengan menggunakan larutan standar asam galat dan pereaksi Folin-Ciocalteu diukur pada panjang gelombang 740nm. Analisis data menggunakan regresi linear. Hasil penelitian kadar fenol total yang terkandung paling tinggi yaitu pada fraksi kloroform yaitu sebesar 6,554 mgGAE/g diikuti fraksi metanol sebesar 4,979 mgGAE/g dan fraksi n-heksan sebesar 0,664 mgGAE/g. Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa fraksi kloroform merupakan fraksi yang memiliki kadar fenol paling besar diantara fraksi yang lain.

Kata kunci : Herba pegagan, Fraksinasi, Total fenol, Spektrofotometri UV-Vis

ABSTRACT

Sugiani, Zahra., Purgiyanti., Kusnadi., 2023. Determination of total phenol levels of N- Heksan, Cloroform, and Methanol Fractions of Pegagan Herbs (Centella asiatica (L.) Urban)

Centella asiatica has chemical constituents, including triterpene ester glycoside compounds, namely asiaticoside and madecoside, triterpene group compounds and phenolic group compounds. Phenolic compounds have one or more phenol (polyphenol) phenol rings, namely the hydroxy groups attached to the aromatic rings which make these compounds easy to oxidize. This research aimed to determine the effect of differences in fractionation on the total phenolic content of *Centella asiatica* herb.

The extraction method used in this study was the maceration method with 96% ethanol solvent. Total phenol content was carried out using a standard solution of gallic acid and Folin-Ciocalteu reagent was measured at a wavelength of 740nm. Data analysis using linear regression. The results showed that the total phenol content was highest in the chloroform fraction, which was 6.554 mgGAE/g, followed by the methanol fraction, which was 4.979 mgGAE/g, and the n-hexane fraction, which was 0.664 mgGAE/g. Based on the research, it can be concluded that the chloroform fraction is the fraction that has the highest phenol content among the other fractions.

Keywords : *Centella asiatica, Fractination, Total Phenol, Spectrofotometry UV-Vis*

DAFTAR ISI

| | |
|---|------|
| HALAMAN JUDUL..... | ii |
| HALAMAN PERSETUJUAN..... | iii |
| HALAMAN PENGESAHAN..... | iv |
| HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS | v |
| HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS..... | vi |
| MOTTO..... | vii |
| PRAKATA..... | viii |
| INTISARI..... | x |
| ABSTRACT..... | xi |
| DAFTAR ISI..... | xii |
| DAFTAR TABEL..... | xiv |
| DAFTAR GAMBAR | xv |
| DAFTAR LAMPIRAN | xvi |
| BAB I PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1 LATAR BELAKANG | 1 |
| 1.2 RUMUSAN MASALAH | 3 |
| 1.3 BATASAN MASALAH | 4 |
| 1.4 TUJUAN PENELITIAN | 4 |
| 1.5 MANFAAT PENELITIAN..... | 4 |
| 1.6 KEASLIAN PENELITIAN..... | 5 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS..... | 7 |
| 2.1 TINJAUAN PUSTAKA | 7 |
| 2.1.1 Pegagan (<i>Centella asiatica</i>) | 7 |
| 2.1.2 Simplisia..... | 9 |
| 2.1.3 Ekstrak dan Ekstraksi..... | 10 |
| 2.1.4 Maserasi | 12 |
| 2.1.5 Pelarut | 13 |
| 2.1.6 Fraksinasi | 16 |
| 2.1.7 Senyawa Fenol | 17 |

| | | |
|----------|---------------------------------------|----|
| 2.1.8 | Spektrofotometri UV-Vis | 18 |
| 2.2 | HIPOTESIS | 21 |
| BAB III | METODE PENELITIAN..... | 22 |
| 3.1 | OBJEK PENELITIAN | 22 |
| 3.2 | SAMPEL DAN TEKNIK SAMPLING | 22 |
| 3.3 | VARIABEL PENELITIAN | 22 |
| 3.4 | TEKNIK PEGUMPULAN DATA | 23 |
| 3.4.1 | Cara Pengambilan Data..... | 23 |
| 3.4.2 | Alat dan Bahan Penelitian..... | 23 |
| 3.4.3 | Cara Kerja | 23 |
| 3.5 | ANALISA DATA | 32 |
| BAB IV | HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN | 33 |
| BAB V | KESIMPULAN DAN SARAN..... | 46 |
| DAFTAR | PUSTAKA | 47 |
| LAMPIRAN | | 50 |

DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel 1. 1 Keaslian Penelitian..... | 5 |
| Tabel 1. 2 Lanjutan Keaslian Penelitian..... | 6 |
| Tabel 4. 1 Hasil Uji Mikroskopis Serbuk Herba Pegagan | 34 |
| Tabel 4. 2 Hasil Uji Bebas Etanol | 36 |
| Tabel 4. 3 Hasil Rendemen Fraksi Herba Pegagan | 38 |
| Tabel 4. 4 Data Absorbansi Larutan Standar Asam Galat..... | 40 |
| Tabel 4. 5 Data Kurva Baku Asam Galat | 42 |
| Tabel 4. 6 Kandungan Fenol Total Berdasarkan Fraksi | 44 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| Gambar 2. 1 Pegagan (<i>Centella asiatica</i>) | 7 |
| Gambar 2. 2 Senyawa Fenol (Suwardi, 2019) | 18 |
| Gambar 2. 3 Spektrofotometri UV-Vis (Dokumentasi Pribadi, 2022)..... | 18 |
| Gambar 2. 4 Pembacaan spektrofotometri UV-Vis (Rizqi, 2019)..... | 19 |
| Gambar 3. 1 Skema Pembuatan Serbuk simplisia | 24 |
| Gambar 3. 2 Skema Uji Mikroskopis..... | 25 |
| Gambar 3. 3 Skema Pembuatan Ekstrak Pegagan | 26 |
| Gambar 3. 4 Skema Uji Bebas Pelarut..... | 26 |
| Gambar 3. 5 Skema Uji Identifikasi Senyawa Fenol | 27 |
| Gambar 3. 6 Skema Fraksinasi | 28 |
| Gambar 3. 7 Skema Penentuan Panjang Gelombang Maksimum..... | 29 |
| Gambar 3. 8 Skema Pembuatan Larutan Induk | 31 |
| Gambar 3. 9 Skema Penentuan Kandunagn Fenol Total..... | 31 |
| Gambar 4. 1 Hasil uji Identifikasi Senyawa Fenol | 36 |
| Gambar 4. 2 Reaksi fenol dengan $FeCl_3$ | 37 |
| Gambar 4. 3 kurva Panjang Gelombang Maksimum..... | 41 |
| Gambar 4. 4 Reaksi Senyawa Fenol dengan Reagen <i>Folin-Ciocalteau</i> | 42 |
| Gambar 4. 5 Kurva Baku Asam Galat..... | 43 |
| Gambar 4. 6 Kandungan Fenol Tolat Masing-Masing Fraksi | 44 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|----|
| Lampiran 1 Perhitungan Berat sampel dan Rendemen | 51 |
| Lampiran 2 Perhitungan Pembuatan Larutan | 54 |
| Lampiran 3 Perhitungan Kadar Fenol Fraksi | 56 |
| Lampiran 4 Proses Maserasi | 58 |
| Lampiran 5 Proses Fraksinasi | 60 |
| Lampiran 6 Proses Uji Fenol Total | 63 |
| Lampiran 7 Publikasi Jurnal | 66 |
| Lampiran 8 Surat Keterangan Laboratorium | 73 |
| Lampiran 9 Surat Keterangan Uji Plagiat | 74 |

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Indonesia merupakan negara beriklim tropis yang menjadi rumah bagi keanekaragaman hayati yang tak terbatas jumlah dan jenisnya. Keanekaragaman hayati ini berupa bahan-bahan alami untuk obat tradisional. Indonesia adalah salah satu negara dengan ragam obat di dunia dan memiliki berbagai jenis tanaman yang berkhasiat sebagai obat tradisional. Seiring dengan semakin populernya obat tradisional karena harganya yang terjangkau, mudah diracik dan bahannya yang mudah didapat, kualitas bahan yang digunakan dalam pengobatan harus dijaga pada tingkat yang tinggi untuk memenuhi kebutuhan masyarakat (Aminah *et al.*, 2015).

Adanya gaya hidup *back to nature* yang menjadi tren saat ini membuat masyarakat terinspirasi kembali untuk memanfaatkan bahan alam, termasuk tanaman yang bisa digunakan sebagai obat herbal. Banyak sekali jenis tanaman di Indonesia yang diketahui berkhasiat sebagai obat dan telah dipergunakan dalam pengobatan secara turun temurun oleh masyarakat di Indonesia. Salah satu tanaman yang bisa digunakan sebagai pengobatan yaitu herba pegagan (Purgiyanti *et al.*, 2019).

Herba merupakan bagian berharga dari tanaman yang meliputi daun, batang, bunga, dan akaryang bias digunakan sebagai obat. Pegagan (*Centella asiatica*) ialah tanaman liar yang biasa tumbuh di ladang, perkebunan, tepi jalan, pekarangan dan tempat lembat lainnya. Berasal dari Asia tropis dan

dapat ditemukan didaerah dataran rendah hingga dataran tinggi dengan ketinggian 2.500 meter. Tanaman ini bermanfaat untuk keperluan pengobatan dan dapat ditemukan di tanah yang agak lembab, cukup cahaya, atau agak terlindung (Astia, 2018). Pegagan memiliki berbagai khasiat diantaranya yaitu untuk meningkatkan fungsi kognitif, selain itu pegagan juga berkhasiat untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti batu ginjal, peluruh air seni, memar, infeksi usus, disentri, wasir, anti radang, pegal, rematik (Mirza *et al.*, 2013). Pegagan merupakan tumbuhan dengan kandungan kimia antara lain senyawa golongan triterpen ester glikosida yaitu asiatikosida dan madekosida, senyawa golongan triterpen dan senyawa golongan fenolik (Wijoyo, 2012).

Senyawa fenol merupakan golongan senyawa yang paling besar dan berperan sebagai antioksidan alami di dalam tumbuhan. Senyawa fenolik mempunyai satu fenol atau lebih (polifenol) cincin fenol, yakni gugus hidroksi yang terkait pada cincin aromatis dan menyebabkan mudahnya senyawa ini teroksidasi. Bentuk umum dari senyawa fenol, yaitu polifenol yang dapat membentuk senyawa eter, ester atau yang lainnya (Dhurhania & Novianto, 2019).

Senyawa fenol yang terdapat pada herba pegagan dapat ditarik menggunakan metode ekstraksi yang selanjutnya dilakukan fraksinasi. Fraksinasi merupakan ekstraksi dengan beberapa pelarut yang tingkat kepolarannya berbeda-beda (Septiana & Asnani, 2013). Pada penelitian kali ini dilakukan penetapan kadar fenol total dengan fraksinasi dari beberapa

pelarut yaitu non polar dengan pelarut n-heksan, semi polar dengan pelarut kloroform dan polar dengan pelarut metanol. Pelarut tersebut dipilih berdasarkan tingkat kepolaritasannya yang dapat ditunjukkan lebih pasti dengan besarnya nilai konstanta yang dimiliki oleh pelarut, n-heksan sebagai pelarut non polar memiliki nilai indeks polaritas 0,1, pelarut kloroform sebagai pelarut semi polar memiliki nilai indeks polaritas sebesar 4,1 (Sundari *et al.*, 2021) dan methanol sebagai pelarut polar memiliki nilai indeks polaritas sebesar 5,1 (Mangindaan & Lesnussa, 2013) semakin besar nilai konstanta maka pelarut semakin polar (Alfianingsih, 2016).

Dari beberapa penelitian sebelumnya menyatakan bahwa herba pegagan memiliki kandungan senyawa fenol. Berdasarkan uraian diatas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang “PENENTUAN KADAR FENOL TOTAL FRAKSI N-HEKSAN, KLOOROFORM, DAN METANOL HERBA PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urban)”

1.2 RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan suatu masalah, sebagai berikut:

1. Adakah pengaruh perbedaan pelarut fraksinasi terhadap kadar total fenol pada herba pegagan (*Centella asiatica*) ?
2. Berapakah kadar senyawa fenol total yang terkandung pada herba pegagan (*Centella asiatica*) berdasarkan perbedaan pelarut pada fraksinasi ?

1.3 BATASAN MASALAH

1. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah herba pegagan (*Centella asiatica*) yang didapat di daerah Tegal.
2. Identifikasi sampel dengan mikroskopis.
3. Perbuatan ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica*) dilakukan dengan metode maserasi dengan perbandingan pelarut yaitu 1:3 yang didiamkan selama 3 hari menggunakan pelaut etanol 96%.
4. Identifikasi fenol pada ekstrak menggunakan uji kualitatif.
5. Metode fraksinasi dilakukan menggunakan pelarut n-Heksan, kloroform, dan metanol.
6. Penetapan kadar total senyawa fenol dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.

1.4 TUJUAN PENELITIAN

1. Mengetahui pengaruh perbedaan fraksinasi terhadap kadar total fenol herba pegagan (*Centella asiatica*).
2. Mengetahui berapa kadar total fenol yang terkandung pada herba pegagan berdasarkan perbedaan fraksinasi.

1.5 MANFAAT PENELITIAN

1. Menambah pengetahuan tentang kadar total fenol yang terkandung dalam herba pegagan (*Centella asiatica*).

2. Dapat mengetahui fraksi manakah yang lebih banyak menarik senyawa fenol yang terdapat pada herba pegagan (*Centella asiatica*).

1.6 KEASLIAN PENELITIAN

Tabel 1. 1 Keaslian Penelitian

| Pembeda | Rumayati (2014) | Lushaini (2015) | Sugiani (2022) |
|----------------------------|---|--|---|
| Judul | Uji Aktivitas | Kandungan Total | Penentuan Kadar Total |
| Penelitian | Antioksidan, Total Fenol Dan Toksisitas Dari Ekstrak Daun Dan Batang Lakum (<i>Cayratia trifolia</i> (L) Domin) | Fenol, Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksik Daun Kedadai (<i>Ficus variegata</i> Blume) | Fenol Fraksi N-Heksan, Kloroform, Metanol Herba pegagan (<i>Centella asiatica</i>) |
| Sampel Penelitian | Daun Dan Batang Lakum | Daun Kedadai | Herba Pegagan |
| Variabel Penelitian | Variabel Bebas : Ekstrak Daun dan Batang Lakum. Variabel Terikat : Uji Aktivitas Antioksidan Total Fenol dan Toksisitas Pada Ekstrak Daun dan Batang Lakum (<i>Cayratia trifolia</i> (L) Domin). Variabel Terkontrol : Metode Ekstraksi maserasi, Penentuan Kandungan Total Fenol, Dengan Metode Folin-Ciocalteu, Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH | Variabel Bebas : Daun Kedadai (<i>Ficus variegata</i> Blume). Variabel Terikat : Kandungan Total Fenol, Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksik Pada Daun Kedadai (<i>Ficus variegata</i> Blume). Variabel Terkontrol : Metode ekstraksi maserasi, penentuan kandungan total fenol, uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, uji toksisitas dengan metode BSLT | Variable Bebas : Fraksi n-Heksan, kloroform, dan methanol. Variabel Terikat : Penentuan kadar total fenol pada herba pegagan (<i>Centella asiatica</i>). Variabel Terkontrol : Metode ekstraksi secara maserasi, fraksinasi, penentuan kadar total fenol dengan metode spektrofotometri uv-vis. |

Tabel 1. 2 Lanjutan Keaslian Penelitian

| Metode Penelitian | Ekperimen | Eksperimen | Eksperimen |
|--------------------------|---|--|---|
| Hasil penelitian | Aktivitas Antioksidan Terdapat Pada Fraksi Metanol Batang Lakum Dengan Nilai IC ₅₀ 60ppm dan Kandungan Total Fenol Tertinggi yaitu sebesar 57,7 mg/ml. | Ekstrak Daun kedadai berpotensi sebagai antioksidan dan antikanker, kandungan total fenol tertinggi pada fraksi methanol | Penentuan kadar fenol total berdasarkan perbedaan pelarut frasinasi dengan nilai tertinggi terdapat paa fraksi kloroform yaitu sebesar 6,554 mg GAE/g |

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS

2.1 TINJAUAN PUSTAKA

2.1.1 Pegagan (*Centella asiatica*)



**Gambar 2. 1 Pegagan (*Centella asiatica*)
(Anggraini, 2015)**

1. Klasifikasi Pegagan

Menurut BPOM (2010) dalam penelitian Haliza, (2020) pegagan memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Divisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Magnoliopsida*

Sub kelas : *Rosidae*

Bangsa : *Apiales*

Suku : *Apiaceae*

Marga : *Centella*

Jenis : *Centella asiatica* (L.) Urban

2. Morfologi Pegagan

Pegagan berbentuk herba tahunan yang aromatik. Batangnya sangat pendek dari batang tumbuh geragih atau stolon yang menjalar ditanah dengan panjang 5-10cm. Daun tunggal, tersusun dalam bentuk roset yang terdiri dari 2-10 lembaran daun, kadang-kadang sedikit berbulu. Panjang tangkai daunnya mencapai 40cm. Selain daun berbentuk ginjal, lebar dan bulat dengan diameter mencapai 10cm, tepi daun beringgit dan bergerigi. Pangkal dari tangkai daun melekuk ke dalam dan melebar seperti pelepah. Akar bercabang dan tulang daun menjari. Bunga menyerupai payung tunggal yang tersusun atas 3 bunga. Tangkai bunga panjangnya 5-50 mm, lebih pendek dari tangkai daun. Daun pelindung berjumlah 2 dan panjangnya 3-4mm berbentuk telur (Haliza, 2020).

3. Kandungan Kimia Pegagan

Tanaman pegagan mengandung glikosida asiaticoside, thankuniside, isothankuniside, madeccasoside, brahminoside, brahmic acid, madasiatic acid, hydrocotyline, mesoinositol, centellose, carotenoids, garam mineral (seperti garam kalium, natrium, magnesium, kalsium, besi), zat pahitvellarine dan zat samak. (Haliza, 2020).

Pegagan merupakan tumbuhan dengan kandungan kimia antara lain senyawa golongan triterpen ester glikosida yaitu

asiatikosida dan madekosida, senyawa golongan triterpen dan senyawa golongan fenolik (Wijoyo, 2012).

4. Manfaat Pegagan

Pegagan berkhasiat yaitu memiliki efek anti-neoplastik, efek pelindung tukak lambung, menurunkan tekanan dinding pembuluh. mempercepat penyembuhan luka, penambah nafsu makan, demam, gigitan ular, menyegarkan badan, menurunkan panas, batuk kering, mimisan. peningkatan kecerdasan dan anti trombosis. Pegagan juga mengandung senyawa golongan fenolat yang dapat berfungsi sebagai antioksidan atau penangkal radikal bebas (Haliza, 2020).

2.1.2 Simplisia

Simplisia merupakan bahan alam yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan (Ananda, 2017).

Macam-macam simplisia yaitu :

1. Simplisia nabati adalah simplisia berupa tanaman utuh, bagian tanaman dan eksudat tanaman.
2. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat yang dihasilkan hewan yang masih belum berupa zat kimia murni.
3. Simplisia mineral adalah simplisia berasal dari bumi, baik telah diolah atau belum, tidak berupa zat kimia murni.

Bahan baku merupakan bagian penting yang terdapat dalam proses produksi. Sifat mutu suatu simplisia mempunyai pengertian bahwa simplisia yang akan digunakan sebagai bahan baku harus memenuhi persyaratan mutu yang tercantum dalam monografi resmi yang diterbitkan oleh kementerian kesehatan, seperti Materia Medika Indonesia. Persyaratan kualitas sederhana simplisia untuk bahan baku lainnya adalah kadar air.

Besarnya kadar air dapat digunakan sebagai salah satu ukuran menyatakan terjadinya kerusakan bahan pangan. kandungan air dalam jumlah tertentu yang sesuai persyaratan mutu bermanfaat untuk memperpanjang daya tahan bahan selama masa penyimpanan (Saputri, 2020).

Simplisia dinilai cukup aman dan layak digunakan sebagai bahan baku pembuatan produk bila kadar air kurang dari 10% (Adestia, 2018).

2.1.3 Ekstrak dan Ekstraksi

1. Ekstrak

Ekstrak adalah suatu produk yang tercipta pada saat zat aktif diambil melalui proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut. Pelarut yang digunakan kemudian diuapkan, kembali sehingga zat aktif dalam ekstrak menjadi pekat. Bentuk dari ekstrak yang dihasilkan dapat berupa esktak kental atau ekstrak kering tergantung jumlah pelarut yang diuapkan (Marjoni, 2016).

Menurut Marjoni, (2016) ekstrak dibagi menjadi 3 yaitu:

- a. Ekstrak cair (*Extracta Fluida*) adalah ekstrak hasil penyarian bahan alam dan masih mengandung pelarut.
- b. Ekstrak kental (*Extracta spissa*) adalah ekstrak yang telah mengalami proses penguapan dan sudah tidak mengandung cairan pelarut lagi, tetapi konsistensinya tetap cair pada suhu kamar.
- c. Ekstrak kering (*Extracta sicca*) adalah ekstrak yang telah mengalami proses penguapan dan tidak lagi mengandung pelarut dan berbentuk padat (kering).

2. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya. dengan menggunakan pelarut tertentu. Tujuan dari ekstraksi yaitu untuk menarik semua zat aktif dan komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Ekstaksi dapat dilakukan dengan berbagai metode dan cara yang sesuai dengan sifat dan tujuan ekstraksi itu sendiri (Marjoni, 2016).

Sampel yang akan diekstraksi dapat berbentuk sampel segar ataupun sampel kering. Sampel yang biasa digunakan adalah sampel segar karena penetrasi pelarut akan berlangsung lebih cepat. Selain itu penggunaan sampel segar dapat mengurangi kemungkinan terbentuknya polimer resin atau artefak lain yang dapat terbentuk selama proses pengeringan. Penggunaan sampel

kering juga memiliki kelebihan yaitu dapat mengurangi kadar air yang terdapat di dalam sampel, sehingga dapat mencegah kemungkinan rusaknya senyawa akibat aktivitas anti mikroba (Marjoni, 2016).

2.1.4 Maserasi

Maserasi merupakan salah satu cara ekstraksi yang sangat sederhana, yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dengan pelarut yang cocok dan tanpa pemanasan. Prinsip kerja dari maserasi adalah proses melarutnya zat aktif berdasarkan seberapa baik mereka larut dalam pelarut (*like dissolved like*). Ekstraksi zat aktif dilakukan dengan cara merendam simplisia nabati dalam pelarut yang akan digunakan selama beberapa hari pada suhu kamar dan terlindungi atau terhindar dari cahaya langsung. 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 berbeda didalam sel mengandung zat aktif sedangkan pelarut yang berbeda di luar sel belum terisi zat aktif, sehingga terjadi ketidakseimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam dengan konsentasi zat aktif yang ada di luar sel (Suwardi, 2019).

Maserasi adalah metode ekstraksi dengan cara merendam cairan kemudian disaring. Maserasi biasanya dilakukan pada suhu antara 15°

sampai 20° C selama tiga hari hingga bahan aktif yang diinginkan larut. Kecualj dinyatakan lain, maserasi dilakukan dengan tingkat kehalusan tertentu, memasukan ke dalam bejana kemudian menuangkan dengan 70 bagian pelarut, menutupnya kemudian mendiamkannya selama 3-5 hari ditempat yang telindung dari cahaya. Diaduk berulang-ulang, diserkai dan diperas. Ampas dari hasil maserasj dicuci dengan pelarut secukupnya hingga diperoleh 100 bagian ekstrak. Berjana ditutup dan dibiarkan selama 2 hari di tempat yang sejuk dan terlindungi dari sinar matahari kemudian dipisahkan endapannya (Marjoni, 2016).

Keuntungan dari metode maserasi adalah membutuhkan peralatan yang sedikit, peralatan yang digunakan sederhana, mudah dilakukan, biaya relatif murah, dan proses ekstraksi lebih hemat penyari. Sedangkan kelemahannya dari metode maserasi yaitu membutuhkan waktu lama untuk menyelesaikannya, dan kemampuan ekstraktor untuk mengekstraksi zat aktif hanya 50 % (Marjoni, 2016).

2.1.5 Pelarut

Pelarut merupakan cairan yang mampu melarutkan zat lain yang biasanya berbentuk berupa padatan tanpa mengalami perubahan kimia. Dalam bentuk cairan dan padatan, tiap molekul saling terikat akibat adanya gaya tarik anatar molekul, gaya tarik menarik tersebut akan mempengaruhi pembentukan larutan (Ayu, 2017).

Pengelompokan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi berdasarkan kepolaran

1. Pelarut polar

Pelarut dengan tingkat kepolaran tinggi merupakan pelarut yang cocok untuk semua jenis zat aktif. Di samping menarik senyawa yang bersifat polar, pelarut polar juga tetap dapat menarik senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran lebih rendah, karena senyawa polar cenderung bersifat universal. Contoh pelarut yang bersifat polar antara lain metanol, etanol, air dan asam asetat.

2. Pelarut semi polar

Pelarut semi polar merupakan pelarut yang memiliki tingkat kepolaran lebih rendah dibandingkan dengan pelarut polar. Pelarut ini baik digunakan untuk melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat semi polar dari tumbuhan. Pelarut semi polar dapat mengekstrak senyawa fenol, alkaloid, terpenoid, aglikon dan glikosida. Contoh pelarut yang bersifat semi polar antara lain kloroform, etil asetat, dan aseton.

3. Pelarut non polar

Pelarut non polar baik digunakan untuk menarik senyawa-senyawa yang sama sekali tidak larut dalam pelarut polar seperti minyak (Marjoni, 2016).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian yaitu pelarut non polar (n-heksan), pelarut semi polar (kloroform), pelarut polar (metanol).

Penggunaan pelarut yang berbeda kepolaritasnya diharapkan akan memperoleh pelarut yang optimum dalam menarik senyawa fenol yang ada pada herba pegagan.

1. n-Heksan

n-Heksana ($\text{CH}_2(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$) adalah pelarut petroleum yang mudah menguap. Ikatan pada heksana bersifat tunggal dan kovalen sehingga menyebabkan n-heksana tidak reaktif sehingga sering digunakan sebagai pelarut inert pada reaksi senyawa organik. Heksana mempunyai karakteristik sangat tidak polar dan mudah menguap.

2. Kloroform

Kloroform (CHCl_3) merupakan salah satu senyawa haloform yang mudah menguap, tidak berwarna, titik leleh -63.5°C ; titik didih 61°C . Senyawa ini diproduksi melalui proses klorinasi metana atau melalui reaksi haloform. Kloroform digunakan sebagai pelarut dan bahan dasar untuk membuat senyawa lainnya. Menurut Minhatun (2014), pelarut kloroform dapat menarik senyawa fenolik dan steroid.

3. Metanol

Methanol merupakan pelarut yang dapat melarutkan beberapa kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, flavanoid, dan polifenol. Metnol merupakan senyawa polar. Selain itu, methanol dapat menghambat reaksi oksidasi polifenol yang

menyebabkan oksidasi fenolat dan kemudahannya saat penguapan (Yuliani, 2018).

2.1.6 Fraksinasi

Ekstraksi bertingkat adalah proses ekstraksi menggunakan pelarut yang berbeda dengan polaritas yang berbeda (Septiana & Asnani, 2013). Ekstraksi bertingkat ini biasa disebut dengan fraksinasi. Menurut Kamus Besar Bahasa Indonesia, fraksinasi diartikan sebagai proses, cara, pembuatan menjadi fraksi - fraksi (bagian - bagian). Fraksinasi dilakukan secara bertingkat berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu dari non polar, semi polar, dan polar. Senyawa yang memiliki sifat nonpolar akan larut dalam pelarut non polar, senyawa yang memiliki sifat semi polar akan larut dalam pelarut semi polar, dan yang bersifat polar akan larut kedalam pelarut polar (Alfianingsih, 2016).

Fraksinasi dapat dilakukan menggunakan beberapa metode. Metode yang paling sering digunakan adalah fraksinasi dengan menggunakan corong pisah. Corong pisah adalah alat laboratorium yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen dalam campuran antara dua fase pelarut yang memiliki massa jenis berbeda yang tidak saling bercampur.

2.1.7 Senyawa Fenol

Fenol adalah senyawa yang mempunyai sebuah cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Senyawa fenol biasanya lebih mudah larut dalam air karena umumnya mereka sering kali berkaitan dengan gula sebagai glikosida. Fenol merupakan metabolit sekunder yang tersebar dalam tumbuhan. Senyawa fenol dalam tumbuhan dapat berupa fenol sederhana, antraquinon, asam fenolat, flavonoid, kumarin, lignin, dan tanin (Suwardi, 2019).

Senyawa fenolik dapat di deteksi dengan menambahkan larutan besi (III) klorida 1% dalam etanol atau air kepada larutan sampel, yang akan menimbulkan warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam yang kuat. Cara ini, yang dimodifikasi dengan menggunakan campuran larutan besi (III) klorida 1% masih tetap digunakan sebagai cara umum untuk mendeteksi senyawa fenol pada kromatogram kertas (Suwardi, 2019).

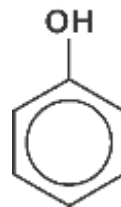
1. Sifat Dan Fungsi Senyawa Fenol

Fungsi fenol sederhana pada tumbuhan antara lain sebagai transport elektron pada fotosintesis dan pengaturan enzim tertentu. Selain itu juga berfungsi memacu perkembangan biji.

2. Fenol Sebagai Senyawa Antioksidan

Senyawa fenol merupakan kelas utama antioksidan yang berada dalam tumbuh-tumbuhan. Kandungan senyawa fenol banyak diketahui sebagai terminator radikal bebas dan pada umumnya

kandungan senyawa fenol berkolerasi positif terhadap aktivitas antiradikal. Salah satu antioksidan alami yaitu asam galat. Asam galat termasuk dalam senyawa fenol dan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Estimasi kandungan fenol total dapat dilakukan dengan menggunakan pereaksi Follin-Ciocalteau. Metode ini berdasarkan kekuatan mereduksi dari gugus hidroksil fenol. Semua senyawa fenol termasuk fenol sederhana dapat bereaksi dengan Follin-Ciocalteau. Kandungan fenol total dalam tumbuhan dinyatakan dalam GAE (galluc acid equivalent) yaitu jumlah kesetaraan miligram asam galat dalam 100 gram sampel (Wachidah, 2013).



Gambar 2. 2 Senyawa Fenol (Suwardi, 2019)

2.1.8 Spektrofotometri UV-Vis

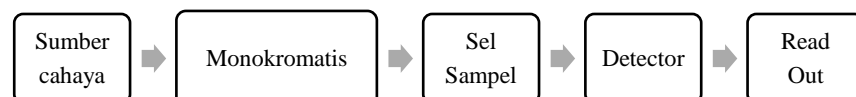


Gambar 2. 3 Spektrofotometri UV-Vis (Dokumentasi Pribadi, 2022)

Spektrofotometri sesuai dengan namanya adalah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spectrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi. Jadi spektrofotometer digunakan untuk mengukur energy relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi panjang gelombang (Nugroho, 2017).

Keuntungan spektrofotometri menggunakan fotometer adalah panjang gelombang dari sinar putih lebih mudah dideteksi dibandingkan dengan metode lain, seperti prisma, grating atau celah optis. Pada spektrofotometri panjang gelombang yang benar-benar terseleksi dengan bantuan alat pengurai cahaya seperti prisma suatu spektrofotometer tersusun dari sumber spektrum tampak yang kontinu. Monokromator sel pengabsorbsian untuk mengukur perbedaan absorpsi antara sampel dan blanko ataupun pembanding (Nugroho, 2017).

Secara sederhana instrumen spektrofotometri yang disebut spektrofotometer terdiri dari:



Gambar 2. 4 Pembacaan spektrofotometri UV-Vis (Rizqi, 2019)

Fungsi masing-masing bagian:

1. Sumber sinar polikromatis berfungsi sebagai sumber sinar polikromatis dengan berbagai macam rentang panjang gelombang.
2. Monokromator berfungsi sebagai pemilih panjang gelombang, yang memungkinkan hanya cahaya monokromatik dari sumber cahaya polikromatik yang melewatinya. Pada gambar diatas disebut sebagai pendispersi atau penyebar cahaya, dengan adanya pendispersi hanya satu jenis cahaya atau cahaya dengan panjang gelombang tunggal yang mengenai sel sampel. Pada gambar diatas hanya cahaya hijau yang melewati pintu keluar.
3. Sel sampel berfungsi sebagai tempat meletakkan sampel UV-VIS dan UV-VIS menggunakan kuvet sebagai tempat sampel. Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa atau gelas, namun kuvet dari kuarsa yang terbuat dari silika memiliki kualitas yang lebih baik.
4. Detektor berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik. Macam-macam detector yaitu Detektor foto (*Photo detector*), Photocell, misalnya Cds, Phototube, Hantaran foto, Dioda foto, Detektor panas
5. *Read out* merupakan suatu sistem baca yang menangkap besarnya isyarat listrik yang berasal dari detector (Nugroho,2017).

Spektrofotometri UV-Visible dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Pada umumnya sampel harus diubah menjadi suatu larutan yang jernih untuk

sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang dipakai antara lain:

1. Pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel).
2. Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis.
3. Kemurniannya harus tinggi atau derajat untuk analisis (Fatyanti, 2017).

Prinsip kerja Spektrofotometri adalah bila cahaya (monokromatik maupun campuran) jatuh pada suatu medium homogen, sebagian dari sinar masuk akan dipantulkan sebagian diserap dalam medium itu dan sisanya diteruskan. Nilai yang keluar dari cahaya yang diteruskan dinyatakan dalam nilai absorbansi karena memiliki hubungan dengan konsentrasi sampel (Hasibuan, 2015).

2.2 HIPOTESIS

Hipotesis penelitian ini adalah :

1. Adanya pengaruh perbedaan pelarut fraksinasi terhadap kadar total fenol pada herba pegagan (*Centella asiatica*)
2. Diperoleh kadar senyawa fenol total yang terkandung pada herba pegagan (*Centella asiatica*) berdasarkan perbedaan pelarut fraksinasi

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 OBJEK PENELITIAN

Objek dari penelitian ini adalah penentuan kadar fenol total fraksi n-Heksan, kloroform, dan metanol herba pegagan (*Centella asiatica*).

3.2 SAMPEL DAN TEKNIK SAMPLING

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah herba pegagan (*Centella asiatica*) yang didapat dari daerah Tegal. Teknik sampling yang digunakan adalah Teknik *random sampling*.

3.3 VARIABEL PENELITIAN

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah fraksi dengan pelarut n-Heksan, kloroform, metanol

2. Variable Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar fenol total pada herba pegagan (*Centella asiatica*)

3. Variable Terkontrol

Variable terkontrol pada penelitian ini adalah metode ekstraksi secara maserasi, penentuan kadar fenol total dengan metode Spektrofometri UV-Vis.

3.4 TEKNIK PEGUMPULAN DATA

3.4.1 Cara Pengambilan Data

1. Jenis data yang digunakan bersifat kualitatif dan kuantitatif.
2. Metode pengumpulan data menggunakan eksperimen Laboratorim Farmasi di Politeknik Harapan Bersama Tegal.

3.4.2 Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi neraca analitik, batang pengaduk, beaker glass, tabung reaksi, gelas ukur, chamber, cawan porselin, pipet volume, mikro pipet, corong kaca, kuvet, water bath, spektrofotometri uv-vis.

2. Bahan

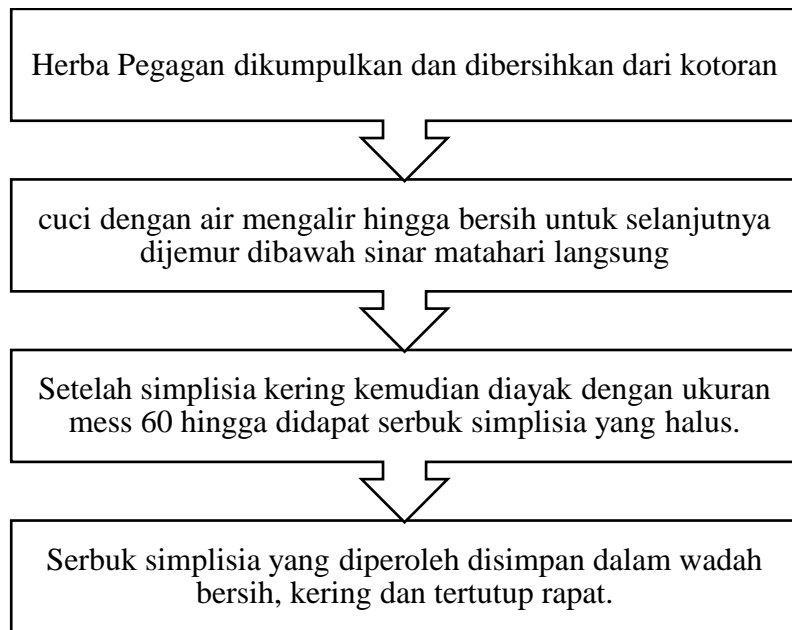
Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi herba pegagan, etanol 96%, Aquadest, n-heksan, kloroform, $FeCl_3$, H_2SO_4 , Asam asetat, metanol, Asam galat, Reagen Folin-ciocalteau.

3.4.3 Cara Kerja

1. Pembuatan Serbuk Simplisia

Mengumpulkan herba pegagan kemudian dibersihkan dari kotoran, kemudian dicuci menggunakan air mengalir hingga bersih untuk selanjutnya dijemur dibawah sinar matahari langsung. Setelah simplisia kering kemudian dirajang dan diayak menggunakan ukuran mesh 60 hingga didapat serbuk

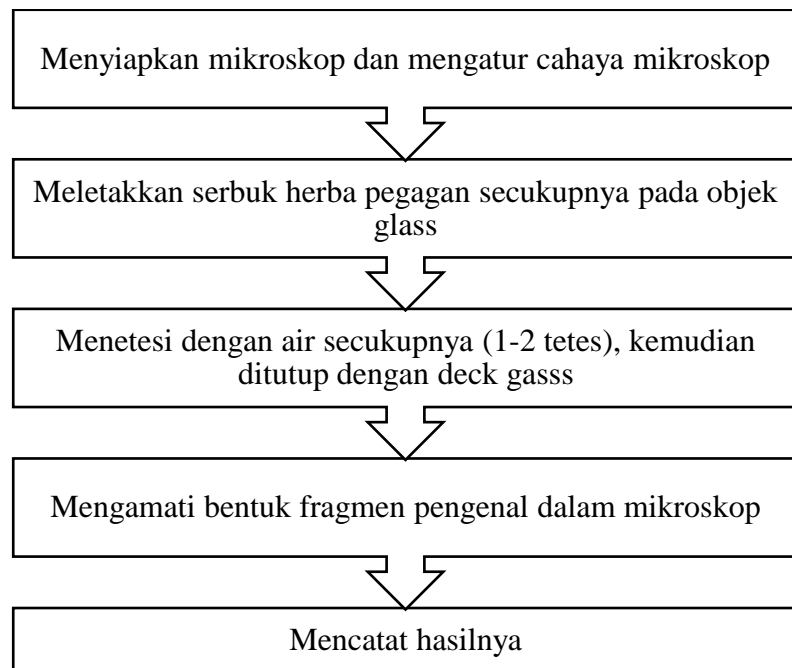
simplisia yang halus. Serbuk simplisia yang diperoleh disimpan dalam wadah bersih, kering dan tertutup rapat (Purdiyanti *et al.*, 2019).



Gambar 3. 1 Skema Pembuatan Serbuk simplisia

2. Uji Mikroskopis

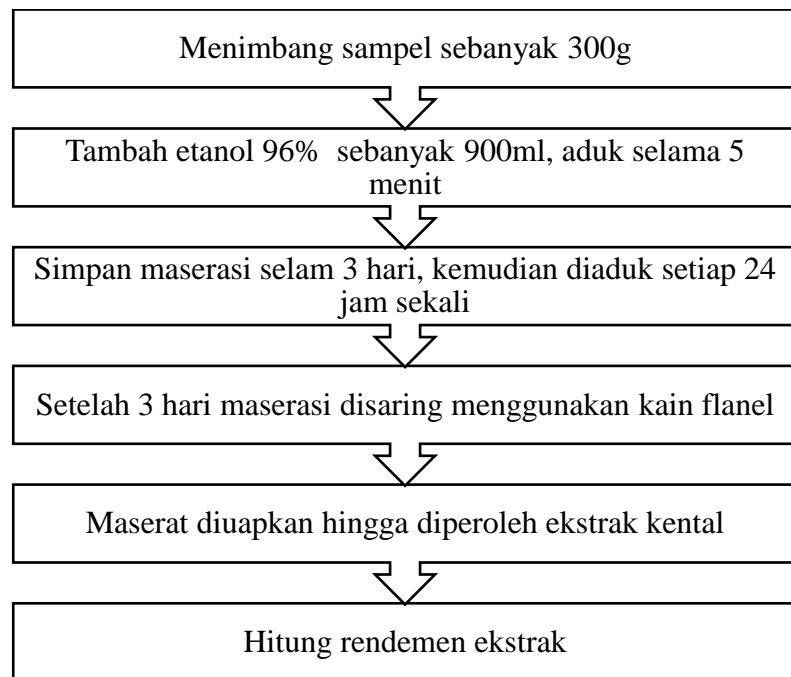
Untuk membuktikan bahwa serbuk yang digunakan benar-benar herba pegagan maka perlu dilakukan uji mikroskopis. Serbuk herba pegagan diletakkan diatas objek glass secukupnya kemudian ditetesi air secukupnya (1-2 tetes). Kemudian ditutup dengan deck glass dan diamati dengan mikroskop (Fatyanti, 2017).



Gambar 3. 2 Skema Uji Mikroskopis

3. Pembuatan ekstrak pegagan

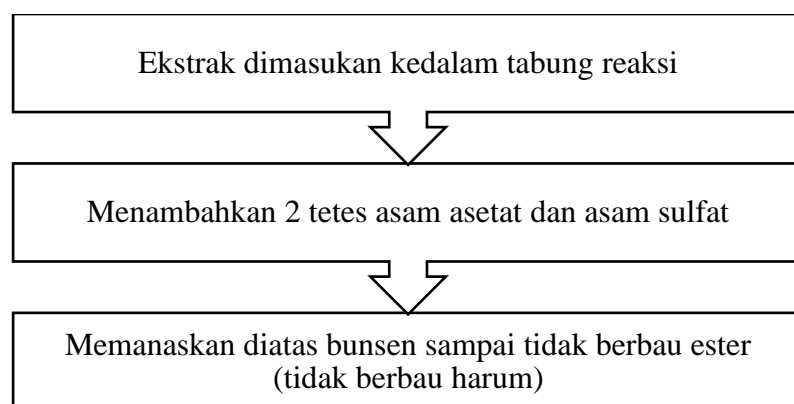
Penelitian ini menggunakan pegagan sebanyak 300g kemudian diekstraksi dengan metode maserasi. Menyiapkan 300g sampel pegagan, tambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 900ml, aduk selama 5 menit. Setelah 3 hari maserasi disaring dengan kain flanel, kemudian ekstrak diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Setelah itu hitung rendemen ekstrak (Dewatisari, 2020).



Gambar 3. 3 Skema Pembuatan Ekstrak Pegagan

4. Uji bebas pelarut

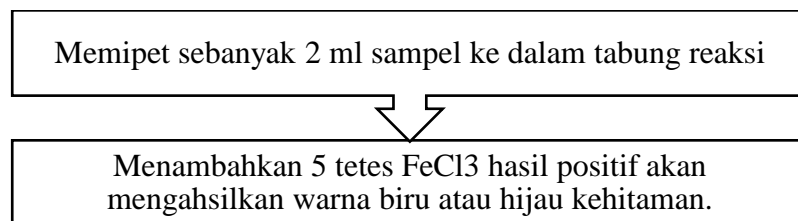
Uji bebas pelarut etanol dilakukan dengan cara ekstrak ditambahkan dengan H_2SO_4 pekat dan CH_3COOH . Dikatakan bebas pelarut etanol jika tidak terdapat bau khas etanol pada ekstrak (Sinta, 2019).



Gambar 3. 4 Skema Uji Bebas Pelarut

5. Uji Identifikasi Senyawa Fenol

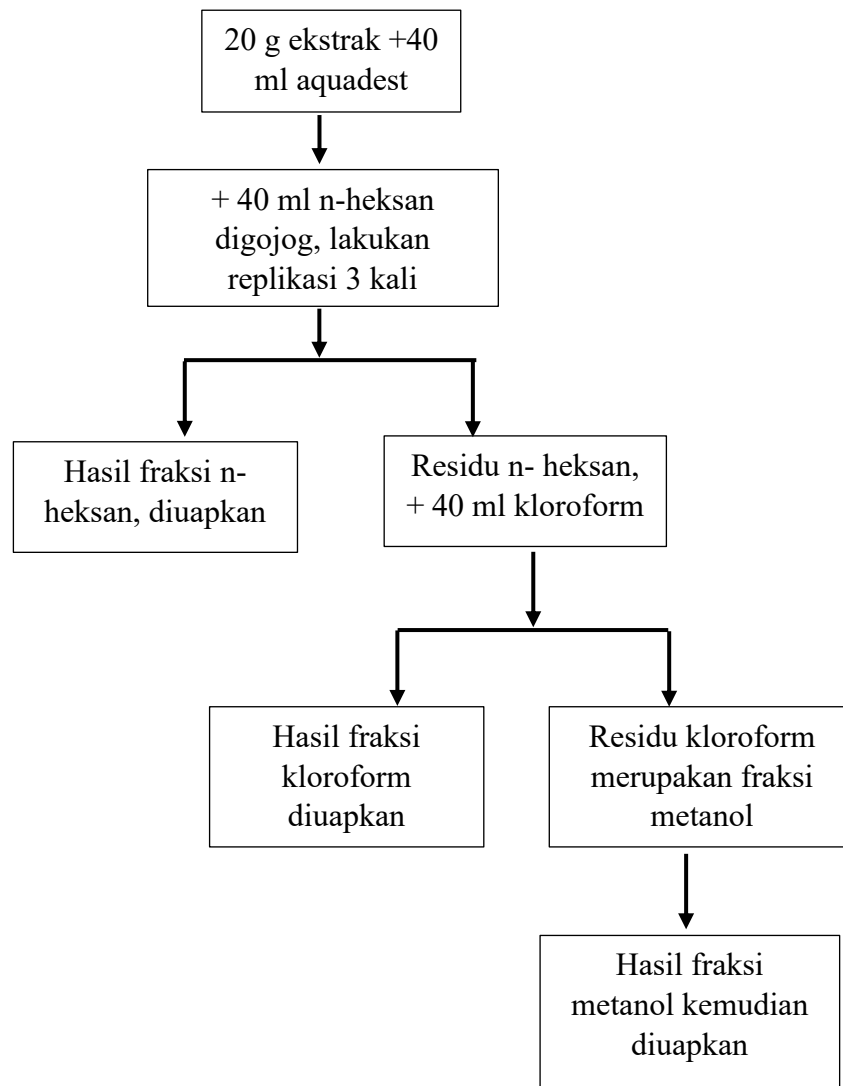
Menyiapkan ekstrak sebanyak 2ml masukan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan FeCl_3 sebanyak 5 tetes akan menghasilkan warna biru atau hijau kehitaman (Haliza, 2020).



Gambar 3. 5 Skema Uji Identifikasi Senyawa Fenol

6. Fraksinasi

Ekstrak herba pegagan ditimbang 20g. larutkan dengan pelarut air 40ml, kemudian difraksinasi sebanyak 3 kali dengan n-heksan menggunakan corong pisah, fraksi n-heksan yang didapat diuapkan. Residu yang didapat dari fraksi n-heksan dilanjutkan fraksinasi 3 kali dengan pelarut kloroform masing-masing 40ml, fraksi kloroform yang didapat diuapkan. Residu yang didapat dari fraksi kloroform dilanjutkan fraksinasi 3 kali dengan pelarut metanol masing-masing 40ml, Hasil yang didapat adalah fraksi metanol, kemudian residu diuapkan sampai pekat (Sandy *et al.*, 2021).



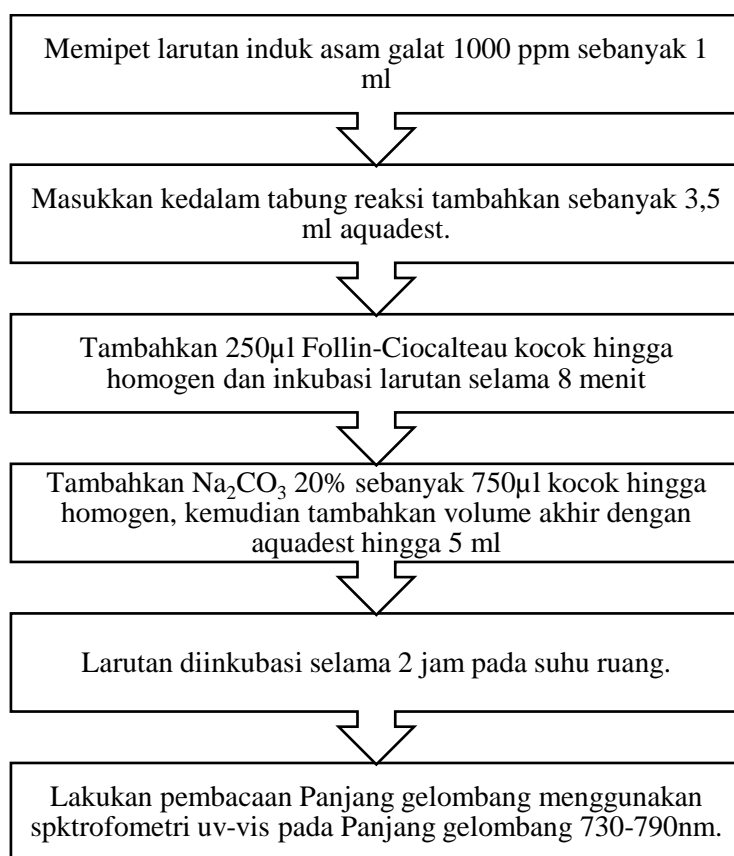
Gambar 3. 6 Skema Fraksinasi

7. Uji Spektrofotometri UV-Vis

a. Penentuan Panjang gelombang maksimum

Memipet larutan induk asam galat 1000 ppm sebanyak 1 ml, kemudian masukkan kedalam tabung reaksi tambahkan sebanyak 3,5 ml aquadest. Selanjutnya

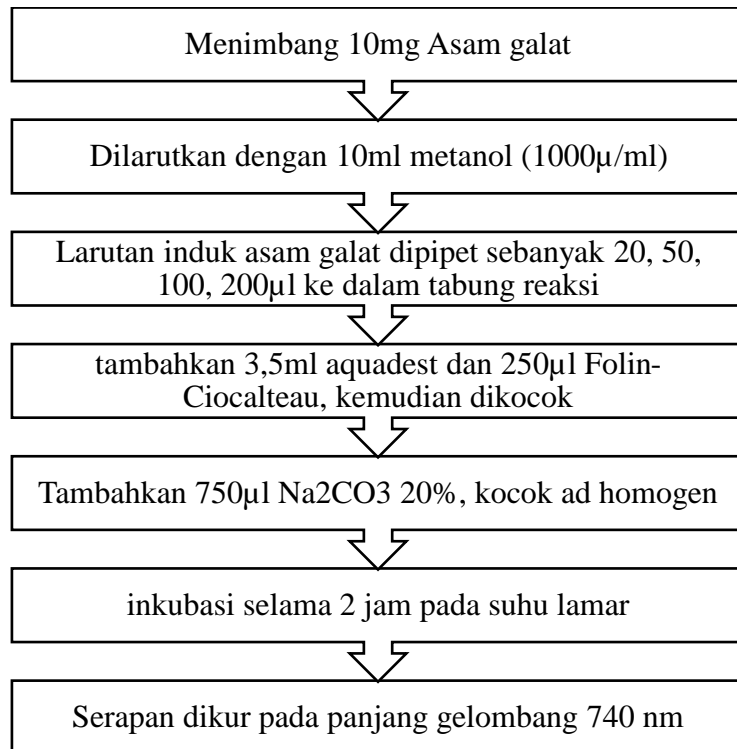
tambahkan 250 μ l Follin-Ciocalteau kocok hingga homogen dan inkubasi larutan selama 8 menit. Kemudian tambahkan Na₂CO₃ 20% sebanyak 750 μ l kocok hingga homogen, kemudian tambahkan volume akhir dengan aquadest hingga 5 ml dan larutan diinkubasi selama 2 jam pada suhu ruang. Lakukan pembacaan Panjang gelombang menggunakan spektrofometri uv-vis pada Panjang gelombang 730-790nm.



Gambar 3. 7 Skema Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

b. Pembuatan kurva kalibrasi asam galat

Ditimbang sebanyak 10mg asam galat kemudian dilarutkan dalam 10ml metanol ($1000\mu\text{g/mL}$), selanjutnya larutan induk asam galat (1000ppm) dipipet sebanyak 20, 50, 100, dan $200\mu\text{l}$ ke dalam tabung reaksi. Pada masing-masing tabung ditambahkan 3,5ml aquadest dan $250\mu\text{l}$ reagen Folin-Ciocalteu dan dikocok. Diamkan selama 8 menit, kemudian ditambahkan $750\mu\text{l}$ Na_2CO_3 20% kocok sampai homogen, tambahkan volume akhir menjadi 5ml dengan aquadest. Larutan diinkubasi selama 2 jam pada suhu kamar. Serapan diukur pada panjang gelombang 740nm, dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat (mg/L) dengan absorban (Purdiyanti *et al.*, 2019).

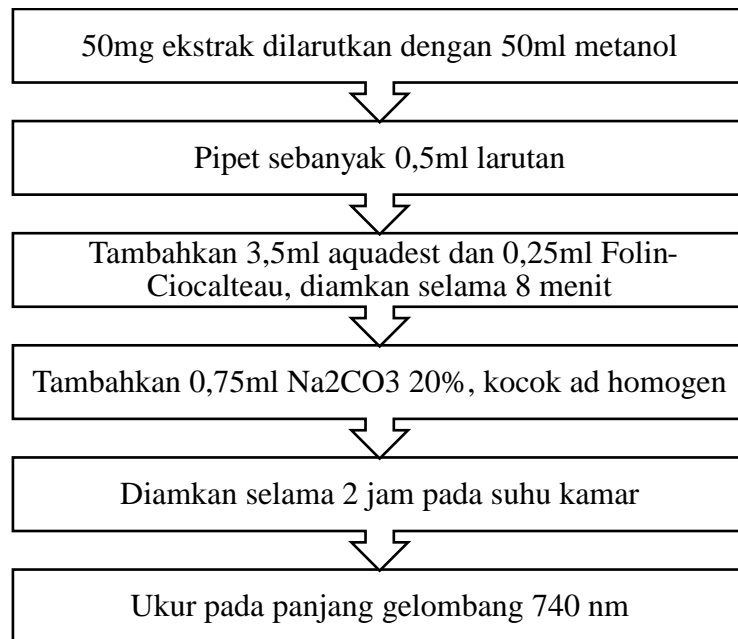


Gambar 3. 8 Skema Pembuatan Larutan Induk dan Kurva Kalibrasi Asam Galat

c. Penentuan Kandungan Total Fenol

Ditimbang masing-masing 50 mg sampel ekstrak kemudian dilarutkan dalam 50 mL dengan Metanol (2000 µg/mL). Dipipet sebanyak 0,5 ml larutan ekstrak sampel dan ditambahkan 3,5 ml aquades dan 0,25 ml Folin-Ciocalteu dan dikocok. Didiamkan selama 8 menit, kemudian ditambahkan 0,75 ml Na₂CO₃ 20% kocok sampai homogen. Larutan didiamkan selama 2 jam pada suhu kamar. Serapan diukur pada panjang gelombang 740 nm. Pengukuran dilakukan 3 kali pengulangan sehingga

kadar fenol yang diperoleh hasilnya didapat sebagai mg ekuivalen asam galat/100 gram sampel. (Purdiyanti *et al.*, 2019).



Gambar 3. 9 Skema Penentuan Kandungan Fenol Total

3.5 ANALISA DATA

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini menggunakan Regresi linear dari program Microsoft excel.

BAB IV


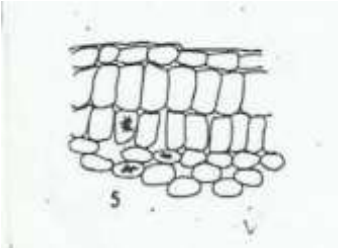


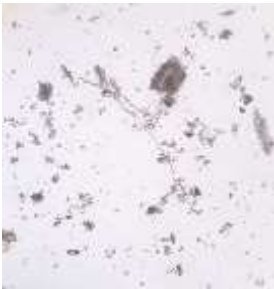
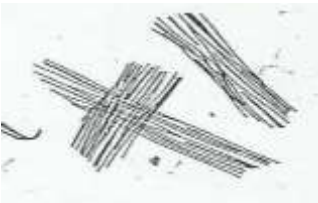
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian tentang penentuan kadar fenol total fraksi n-heksan, kloroform dan methanol herba pegagan (*Centella asiatica*) bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan fraksinasi terhadap kadar total fenol herba pegagan dan untuk mengetahui berapa kadar total fenol yang terkandung pada herba pegagan berdasarkan perbedaan fraksinasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah herba pegagan. Langkah awal yang dilakukan pada penelitian ini adalah membuat simplisia herba pegagan. Herba pegagan yang telah dikumpulkan kemudian dicuci dengan air mengalir hingga bersih yang bertujuan untuk menghilangkan tanah dan pengotor yang melekat pada bahan simplisia. Selanjutnya dilakukan pengeringan dengan dijemur dibawah sinar matahari langsung. Setelah simplisia kering kemudian dihaluskan dan diayak dengan ukuran mesh 60 hingga didapat serbuk simplisia yang halus. Serbuk simplisia yang didapat disimpan dalam wadah bersih, kering, dan tertutup rapat.

Serbuk simplisia herba pegagan yang didapat selanjutnya dilakukan uji makroskopis dan mikroskopis, bertujuan untuk mengetahui apakah serbuk yang diperoleh benar-benar serbuk simplisia herba pegagan atau tidak. Dari hasil uji secara makroskopis yang diperoleh, herba pegagan memiliki bentuk serbuk dengan bau khas aromatic, berasa pahit dan memiliki warna hijau. Untuk lebih membuktikan lagi bahwa serbuk yang dibuat adalah serbuk simplisia herba pegagan, maka selanjutnya dilakukan uji identifikasi secara mikroskopis.

Tabel 4. 1 Hasil Uji Mikroskopis Serbuk Herba Pegagan

| No. | Hasil Penelitian | Depkes RI, 1977 | Keterangan |
|-----|---|--|------------|
| 1. | Epidermis atas dengan mesofil | Epidermis atas dengan mesofil | (+) |
| |  |  | |
| 2. | Rambut penutup | Rambut penutup | (+) |
| |  |  | |
| 3. | Serabut sklerenkim | Serabut sklerenkim | (+) |
| |  |  | |

Berdasarkan hasil pengamatan secara mikroskopis yang tertera pada tabel diatas menyatakan positif (+) bahwa serbuk yang digunakan adalah herba pegagan dengan didapatkan epidermis atas dengan mesofil, rambut penutup dan serabut sklerenkim yang mana sesuai dengan buku acuan, pada gambar tersebut

menunjukkan bagian-bagian yang mencolok pada herba pegagan dan sesuai dengan buku *Materia Medika Indonesia* tahun 1977. Setelah dilakukan uji mikroskopis, selanjutnya membuat ekstrak herba pegagan dengan menggunakan metode maserasi.

Metode maserasi dipilih karena dapat mengekstrak senyawa dengan baik dan dapat mencegah dekomposisi senyawa yang labil terhadap panas (Ardiningsih & Nofiani, 2012). Selain itu maserasi memiliki prosedur yang sederhana, mudah didapat, murah, dan cepat. Pada proses maserasi langkah pertama yang harus dilakukan yaitu menimbang simplisia herba pegagan sebanyak 300 gram dengan perbandingan 1:3 menggunakan pelarut etanol 96%. Pemilihan etanol 96% sebagai pelarut karena lebih selektif yaitu hanya menarik senyawa bioaktif yang diinginkan, tidak beracun, absorpsinya baik, dan mudah menguap sehingga dalam mendapatkan ekstrak kental lebih cepat dibandingkan dengan etanol 70% (Misna, 2016)

Proses maserasi dilakukan selama 3 hari dengan dilakukan pengadukan setiap 24 jam sekali agar simplisia tersari dengan sempurna. Selama 3 hari maserasi disimpan pada ruangan tertutup tidak terkena sinar matahari langsung. Hal ini dilakukan untuk mencegah terjadinya degradasi komponen-komponen senyawa kimia yang terkandung dalam serbuk sampel yang tidak tahan terhadap cahaya langsung. Setelah 3 hari maserasi disaring menggunakan kain flannel bertujuan untuk memisahkan ekstrak dan ampas (Bachtiar, 2021). Ekstrak yang didapat kemudian diuapkan *waterbath* dengan suhu kurang dari 50°C untuk menghilangkan pelarut yang digunakan dan tersisa ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 70,53 gram sehingga rendemen yang diperoleh sebesar 23,51%. Setelah

didapat ekstrak kental, dilakukan uji pelarut bebas etanol untuk memastikan bahwa ekstrak tidak mengandung etanol. Uji bebas pelarut etanol dilakukan dengan cara mengambil ekstrak sebanyak 2 tetes kemudian ditambahkan dengan H₂SO₄ pekat dan asam asetat. Ekstrak dikatakan bebas pelarut etanol jika tidak terdapat bau khas etanol atau ester pada ekstrak. Berdasarkan hasil yang didapat ekstrak tidak berbau etil asetat atau ester.

Tabel 4. 2 Hasil Uji Bebas Etanol

| Perlakuan | Hasil | Literatur |
|--|---------------------------|------------------|
| 2 tetes ekstrak + H ₂ SO ₄ pekat + asam asetat | + (tidak berbau ester) | Haliza, 2020 |

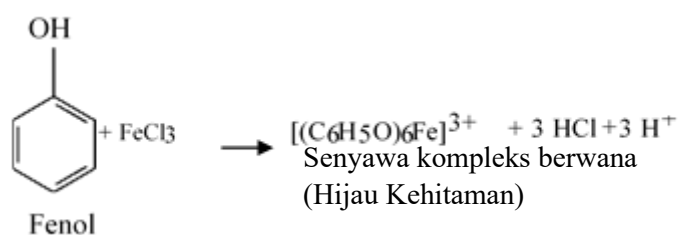
(Sumber: data primer penelitian)

Tahap selanjutnya ekstrak dilakukan uji identifikasi senyawa fenol , bertujuan untuk memastikan bahwa herba pegagan mengandung senyawa fenol. dengan cara mengambil sebanyak 2ml sampel ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 5 tetes FeCl₃ akan menghasilkan warna biru atau hijau kehitaman.



Gambar 4. 1 Hasil uji Identifikasi Senyawa Fenol
(Dokumentasi pribadi, 2023)

Berdasarkan hasil yang di dapatkan yaitu positif (+) bahwa herba pegagan mengandung senyawa fenol yang ditandai dengan timbulnya warna biru atau hijau kehitaman setelah penambahan FeCl_3 sebanyak 5 tetes karena FeCl_3 bereaksi dengan ion hidroksida, sehingga terbentuk endapan berwarna biru atau hijau kehitaman (Fatyanti, 2017).



Gambar 4. 2 Reaksi fenol dengan FeCl_3 (Manongko, 2020)

Ekstrak selanjutnya difraksinasi menggunakan beberapa pelarut yang memiliki tingkat polaritas yang berbeda-beda. Fraksinasi dilakukan bertingkat berdasarkan kepolarannya yaitu dari non polar, semi polar dan polar. Senyawa yang memiliki sifat non polar akan larut pada pelarut non polar, senyawa yang memiliki sifat semi polar akan larut pada pelarut semi polar, dan senyawa polar akan larut pada pelarut polar (Alfianingsih, 2016). Pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu n-heksan bersifat non polar, kloroform bersifat semi polar, dan metanol bersifat polar. Pemilihan pelarut tersebut merupakan perwakilan dari masing-masing sifat kepolaran pelarut.

Pada proses fraksinasi ekstrak kental dengan pelarut n-heksan didapat dua fase yaitu fase non polar (n-hesan) yang berada dibagian atas dan fase polar (residu ekstrak) yang berada dibagian bawah. Hal ini dikarekan berat jenis n heksan lebih

kecil yaitu sebesar 0,6174 g/ml (Fisnik, 2015) dibandingkan dengan berat jenis residu dimana dalam langkah awal terdapat penambahan air dengan berat jenis sebesar 1 g/ml. Selanjutnya residu n-heksan (fase polar) difraksinasi dengan pelarut kloroform (fase semipolar), didapat dua fase yaitu fase semi polar (kloroform) yang berada dibagian bawah dan fase polar (residu n-heksan) yang berada dibagian atas. Hal ini dikarenakan kloroform memiliki berat jenis yang lebih besar yaitu sebesar 1,474-1,479 g/ml (Anggraini & Fitria, 2021) dibandingkan dengan berat jenis residu n-heksan. Selanjutnya residu kloroform (polar) difraksinasi dengan pelarut metanol (polar) di dapat dua fase yaitu fase polar (metanol) yang berada dibagian atas dan fase polar (residu kloroform) yang ada dibagian bawah. Hal ini dikarenakan berat jenis metanol lebih kecil yaitu sebesar 0,7915 g/ml (Muti'ah *et al.*, 2013) dibandingkan dengan berat jenis kloroform.

Setelah dilakukan fraksinasi pada ketiga fraksi yaitu n-Heksan, kloroform dan methanol, maka selanjutnya hasil fraksi yang didapat diuapkan diatas *waterbath* untuk mendapatkan ekstrak yang kental. Setelah ekstrak kental didapat kemudian masing-masing ekstrak di hitung rendemen ekstraknya.

Tabel 4. 3 Hasil Rendemen Fraksi Herba Pegagan

| No | Pelarut Fraski | Rendemen Fraksi (%) |
|----|------------------|---------------------|
| 1. | Fraksi n-Heksan | 0,65% |
| 2. | Fraksi Kloroform | 0,85% |
| 3. | Fraksi metanol | 58,4% |

(Sumber: data primer penelitian)

Berdasarkan tabel diatas, hasil perhitungan rendemen pada masing-masing fraksi yaitu fraksi n-Heksan sebesar 0,65%, fraksi kloroform sebesar 0,85% dan fraksi methanol sebesar 58,4%. Berdasarkan hasil rendemen menunjukkan bahwa rendemen fraksi metanol memiliki nilai yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi n-Heksan dan kloroform, hal ini dikarenakan fraksi n-Heksan dan fraksi kloroform lebih mudah menguap dibandingkan dengan fraksi metanol pada proses penguapan dengan *waterbath* (Yanty *et al.*, 2019).

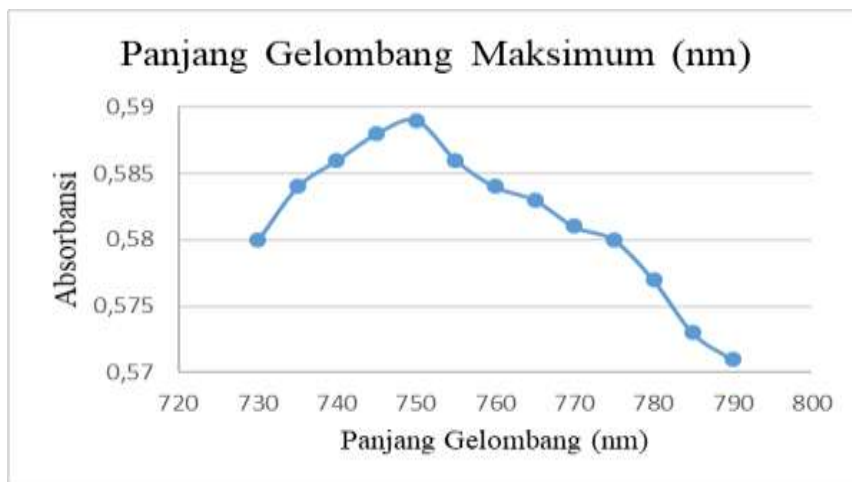
Penentuan kadar fenol total dilakukan menggunakan metode spektrofometri UV-Vis dengan menggunakan prinsip *Folin-Ciocaltea*. Pada tahap spektrofotometri UV-Vis dilakukan penentuan Panjang gelombang maksimum terlebih dahulu. Larutan yang digunakan untuk menentukan Panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometri UV-Vis yaitu larutan standar baku asam galat 1000 ppm menggunakan reagen *Folin-Ciocalteu* dan serapannya diukur pada Panjang gelombang 730-790nm. Larutan blanko yang digunakan yaitu methanol. Penggunaan metanol dikarenakan pada saat proses pelarutan asam galat telah menggunakan pelarut metanol. Larutan blanko bertujuan untuk membuat titik nol konsentrasi dari grafik kalibrasi. Penentuan Panjang gelombang maksimum bertujuan untuk memudahkan penyerapan absorbansi agar mendapatkan absorbansi terbaik yang memiliki serapan tertinggi (Bachtiar, 2021). Berikut hasil pengukuran Panjang gelombang maksimum larutan standar asam galat.

Tabel 4. 4 Data Absorbansi Larutan Standar Asam Galat

| No | Panjang Gelombang | Absorbansi |
|----|-------------------|------------|
| 1 | 730 | 0,580 |
| 2 | 735 | 0,584 |
| 3 | 740 | 0,586 |
| 4 | 745 | 0,588 |
| 5 | 750 | 0,589 |
| 6 | 755 | 0,586 |
| 7 | 760 | 0,584 |
| 8 | 765 | 0,583 |
| 9 | 770 | 0,581 |
| 10 | 775 | 0,580 |
| 11 | 780 | 0,577 |
| 12 | 785 | 0,573 |
| 13 | 790 | 0,571 |

(Sumber: data primer penelitian)

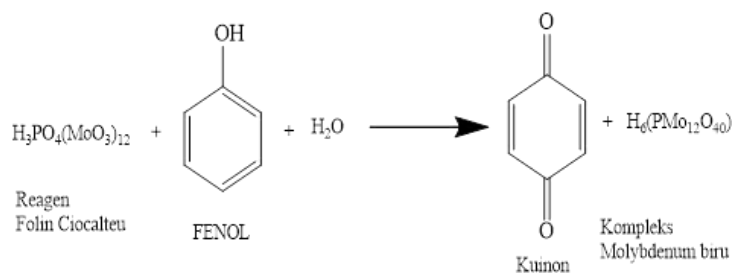
Dari data absorbansi penentuan Panjang gelombang, maka didapati grafik sebagai berikut.



Gambar 4. 3 Kurva Panjang Gelombang Maksimum

Berdasarkan kurva diatas nilai absorbansi tertinggi terdapat pada Panjang gelombang 750 nm dengan absorbansi 0,589. Panjang gelombang yang didapat tidak jauh dari panjang gelombang yang terdapat pada teoritis yaitu 765 nm (Alfian & Susanti, 2012). Langkah selanjutnya yaitu membuat kurva kalibrasi asam galat menggunakan reagen Folin-Ciocalteu. Reagen Folin-Ciocalteu digunakan karena senyawa fenolik yang bereaksi dengan folin akan membentuk larutan berwarna yang dapat diukur absorbansinya. Berikut reaksi reagen Folin-Ciocalteu dengan senyawa fenol.

Prinsip pengukuran kandungan fenol dengan reagen Folin-ciocalteu adalah dengan terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru dan serapannya dapat diukur pada Panjang gelombang 750 nm. Penambahan Na_2CO_3 bertujuan untuk membentuk Susana basa agar terjadi reaksi reduksi Folin-Ciocalteu oleh gugus hidroksil dari fenolik (Alfian & Susanti, 2012). Semakin besar konsentrasi senyawa fenolik dalam sampel maka semakin pekat warna biru yang dihasilkan (Wachidah, 2013).



Gambar 4. 4 Reaksi Senyawa Fenol dengan Reagen *Folin-Ciocalteu*
(Manongko, 2020)

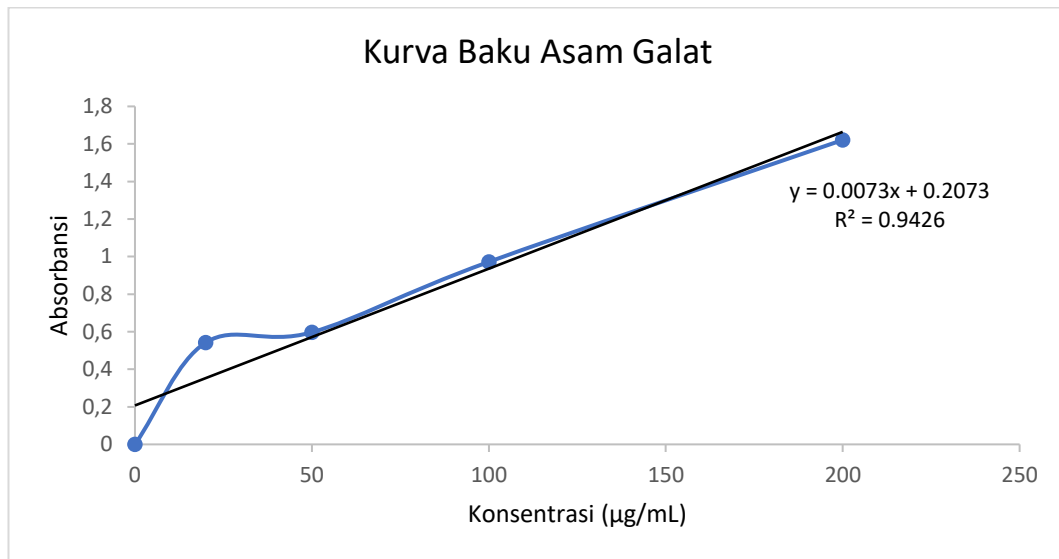
Standar fenolat yang digunakan adalah asam galat, karena asam galat sangat efektif untuk membentuk senyawa kompleks dengan reagen Folin-Ciocalteu. Sebelum dilakukan pemeriksaan kadar fenol total, terlebih dahulu membuat variasi konsentrasi 0, 20, 50, 100, 200 ppm.

Tabel 4. 5 Data Kurva Baku Asam Galat

| NO | Konsentrasi (ppm) | Absorbansi rata-rata |
|----|-------------------|----------------------|
| 1 | 0 | 0 |
| 2 | 20 | 0,542 |
| 3 | 50 | 0,597 |
| 4 | 100 | 0,972 |
| 5 | 200 | 1,621 |

(Sumber: data primer penelitian)

Dari data konsentrasi dan absorbansi kurva baku asam galat, maka didapati grafik sebagai berikut.



Gambar 4. 5 Kurva Baku Asam Galat

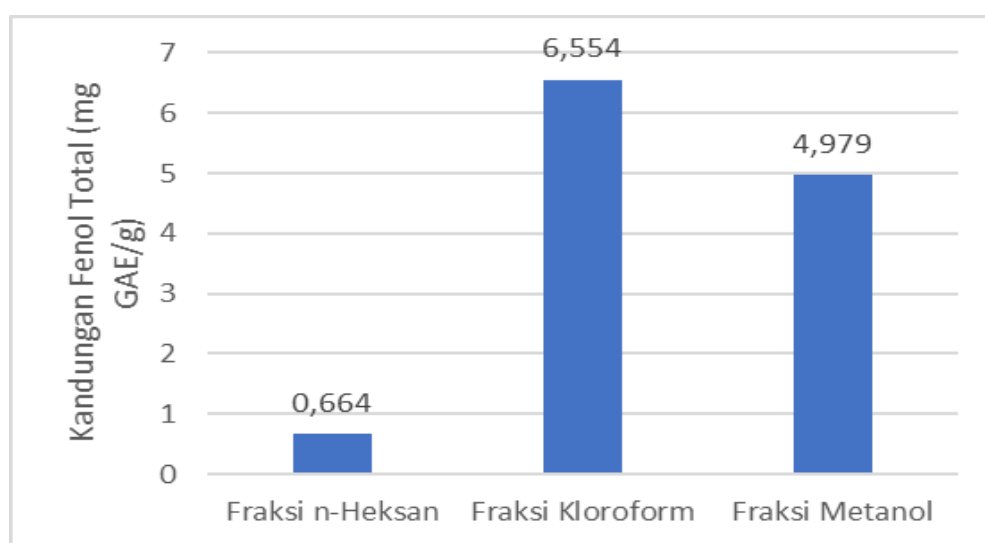
Dari hasil yang diperoleh pada grafik diatas yaitu didapat persamaan regresi asam galat adalah $y = 0,0073x + 0,2073$ dengan harga kofisiensi korelasi (r) adalah 0,9426. Selanjutnya yaitu mengukur kadar fenol total pada masing-masing fraksi n-heksan, fraksi kloroform, dan fraksi metanol herba pegagan pada Panjang gelombang 750 nm. Kandungan fenol total yang terdapat dalam tumbuhan dapat ditentukan dengan spektrofotometri dengan reagen Folin-Ciocalteau dan dinyatakan dalam GAE (gallic acid equivalent) yaitu jumlah kesetaran milligram asam galat dalam 100 gram sampel. Berikut hasil data kadar kandungan fenol total dalam fraksi n-heksan, fraksi kloroform, dan fraksi metanol.

Tabel 4. 6 Kandungan Fenol Total Berdasarkan Fraksi

| No. | Sampel | Absorbansi | Kandungan Fenol |
|-----|------------------|------------|-----------------|
| | | rata-rata | Total |
| 1. | Fraksi n-Heksan | 0,217 | 0,664 |
| 2. | Fraksi Kloroform | 0,303 | 6,554 |
| 3. | Fraksi Metanol | 0,280 | 4,979 |

(Sumber: data primer penelitian)

Dari data kandungan fenol total pada tabel diatas, maka didapati grafik sebagai berikut.

**Gambar 4. 6 Kandungan Fenol Tolat Masing-Masing Fraksi**

Berdasarkan grafik diatas hasil penentuan kadar total fenol pada fraksi n-heksan, fraksi kloroform dan fraksi metanol menunjukkan bahwa kandungan senyawa fenol yang terdapat pada fraksi n-heksan sebanyak 0,664 mg GAE/g, fraksi kloroform sebanyak 6,554 mg GAE/g, dan fraksi metanol sebanyak 4,979 mg GAE/g. Kadar fenol total yang paling tinggi yaitu ditunjukkan pada fraksi kloroform

sebanyak 6,554 mg GAE/g, artinya dalam setiap gram ekstrak setara dengan 6,554 mg asam galat.

Kadar total fenol yang paling banyak tidak selalu terdapat pada pelarut polar, namun tergantung dari struktur senyawa fenol yang dijumpai (Mulyanita *et al.*, 2019). Menurut (Andrie & Idiawati, 2014) senyawa fenol banyak dijumpai pada senyawa yang bersifat semi polar dan polar. Pada pelarut semi polar (kloroform) mampu mengekstrak senyawa fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon dan glikosida. Jadi, dapat dikatakan bahwa fraksi kloroform mampu mengekstraksi senyawa fenol pada herba pegagan lebih efektif karena memiliki kandungan total fenol yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan fraksi metanol. Sebaliknya, fraksi n-heksan bersifat non-polar, sehingga sedikit sekali dijumpai senyawa golongan fenol. Hasil dari penelitian ini berbanding terbalik dengan penelitian (Rumyati *et al.*, 2014) dalam penelitian tersebut menyatakan bahwa kandungan total fenol yang tertinggi yaitu terdapat dalam fraksi metanol dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan fraksi kloroform. Pada penelitian ini hasil kandungan total fenol dalam fraksi metanol memiliki nilai rendah dibandingkan dengan fraksi kloroform, hal ini diduga karena komponen-komponen yang bersifat polar seperti karbohidrat ikut terekstrak sehingga dapat menyebabkan kandungan fenol total perberat sampel menjadi rendah (Septiana & Asnani, 2012).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah :

1. Berdasarkan perbedaan fraksinasi terhadap kadar total fenol herba pegagan (*Centella asiatica*), semua fraksi mengandung senyawa fenol.
2. Kadar total fenol yang terkandung pada herba pegagan berdasarkan perbedaan fraksinasi secara berurutan dari yang tertinggi yaitu fraksi kloroform 6,554 mg GAE/g, fraksi metanol 4,979 mg GAE/g, dan fraksi n-heksan 0,664 mg GAE/g.

5.2 SARAN

1. Dilakukan penelitian lebih lanjut tentang kadar total fenol berdasarkan fraksinasi dengan metode ekstraksi yang berbeda sehingga mendapatkan hasil yang paling tepat.
2. Dilakukan penelitian uji aktivitas antioksidan dari herba pegagan berdasarkan fraksi n-heksan, kloroform dan methanol, agar dapat mengetahui kadar total antioksidan pada fraksi herba pegagan.
3. Dilakukan penelitian lebih lanjut untuk uji bebas pelarut pada fraksi n-heksan, kloroform dan metanol pada herba pegagan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adestia, Tifana. (2018). "Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Flavonoid Total Daun Nangka (*Artocarpus Heterophyllus* Lmk.)." Karya Tulis Ilmiah. Tegal: DIII Farmasi Politeknik Harapan Bersama.
- Alfian, R., & Susanti, H. (2012). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Dengan Variasi Tempat Tumbuh Secara Spektrofotometri. *Pharmaciana*, 2(1).
- Alfianingsih, S. (2016). Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan, Kloroform dan Etanol dari Ekstrak Etanol Daun Rambutan (*nephelium lappaceum*, l.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 152(3), 28.
- Aminah, S., Tezar, R., & Yanis, M. (2015). Kandungan Nutrisi dan Sifat Fungsional Tanam an Kelor (*M oringa oleifera*). *Buletin Pertanian Perkotaan Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Jakarta*, 5(30), 35–44.
- Andrie, R., & Idiawati, N. (2014). Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksisitas Ekstrak Daun Malek (*Litsea garciae* Vidal). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 3(4), 21–25. <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmipa/article/view/7849>
- Ananda, Adestia. (2017). "Formulasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Krim Ekstrak Maserasi Rimpang Temu Giring (*Curcuma heyneana*)."
- Karya Tulis Ilmiah. Tegal: DIII Farmasi Politeknik Hrapan Bersama.
- Anggraini, D. I., & Fitria, D. (2021). *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis* Uji Potensi Sari Buah Nanas (*ananas comosus l .*) Terhadap Penurunan Kadar Logam Tembaga (cu) dengan Metode Spektrofotometri Serapan Atom (ssa) test the potential of pineapple (*Ananas comosus L .*) Juice To Reduce Con. 7(1), 7–14.
- Ardiningsih, P., & Nofiani, R. (2012). Total Fenol Fraksi Etil Asetat Dari Buah Asam Kandis. *Jurnal Kimia Khatulistiwa* 1(1).
- Astia, M. (2018). Formulasi Permen Jelly Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* (L .) *Urb .*) Dengan Variasi Basis Karagenan DaUn Konjak. *V*(1), 1–76.
- Ayu, Wulandari. (2017). Pengaruh Perbedaan Pelarut Terhadap Polarisasi Kromatografi Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb). Karya Tulis Ilmiah. Tegal: DIII Farmasi Politeknik Harapan Bersama.
- Bachtiar, K. A. (2021). *Uji Aktivitas Antioksidan Pada Buah Salak Pondoh (Sallca edulis Reinw) Dari Kota Yogyakarta, Banjarnegara, dan Cirebon Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. x(x).*
- Dewatisari, W. F. (2020). Perbandingan Pelarut Kloroform dan Etanol terhadap Rendemen Ekstrak Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain .)

- Menggunakan Metode Maserasi. *Journal. Jurusan Biologi, Fakultas Sains Dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar, September*, 127–132.
- Dhurhania, C. E., & Novianto, A. (2019). Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*). *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 5(2), 62.
- Fatyanti, Salamah Nurul. (2017), "Penentuan Kadar Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Sukun (*Artocarpus altilis* L.)" Karya Tulis Ilmiah. Tegal: DIII Farmasi Politeknik Harapan Bersama.
- Haliza, M.N. (2020.) "Formulasi Sediaan Serum Spray Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Sebagai Anti Aging Alami." Karya Tulis Ilmiah. Tegal: DIII Farmasi Politeknik Harapan Bersama.
- Fisnik, A. (2015). Density and refractive index study of the ternary system benzene-ethanol- hexane Density and refractive index study of the ternary system benzene-ethanol-hexane View online : <http://dx.doi.org/10.1063/1.4944301> View Table of Contents : <http://aip.scitation.org>. August, 1–6.
- Hasibuan, E. (2015). *Pengenalan Spektrofotometri Pada Mahasiswa Yang Melakukan Penelitian di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran USU*.
- Mangindaan, R. E. P., & Lesnussa, M. S. P. (2013). Aktivitas Sitotoksik Dari Ekstrak Bintang Ular (*Ophiomastix annulosa*) Terhadap Perkembangan Awal Embrio Bulu Babi (*Tripneustes gratilla*). *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*, 1(3), 18. <https://doi.org/10.35800/jplt.1.3.2013.3725>
- Manongko, P.S., Sangi, M.S., & Momuat, L.I. (2020). Uji Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). *Jurnal Mipa*, 9 (2), 64-69
- Misna, K. D. (2016). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Antibacterial Activity Extract of Garlic (*Allium cepa* L.) Skin Against *Staphylococcus aureus*. 2(2).
- Mulyanita, Djali, M., & Setiasih, I. S. (2019). Total Fenol, Flavonoid dan Aktivitas Antimikroba Ekstrak Limbah Kulit Lidah Buaya (*Aloe chinensis baker*). *Jurnal Vokasi Kesehatan*, 5(2), 100.
- Muti'ah, R., Hayati, E. K., & Triastutik, Y. (2013). Pemisahan dan Identifikasi Ekstrak Kasar Seskuiterpen Daun Bunga Matahari (*helianthus annuus* L.) dengan Kromatografi Lapis Tipis. *Alchemy*, 2(3).
- Purgiyanti, Purba, A. V., & Winarno, H. (2019). Penentuan kadar fenol total dan uji aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* L. Urban) dan buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*(Scheff.) Boerl.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 8(2), 40–45.
- Rizqi, Fatikhatul. (2019) "Pengaruh Perbedaan Metode Pengeringan Terhadap

- Kadar Total Fenol Drai Ekstrak Buah Cabai Rawit (*Capsicum frutescent* L.)." Karya Tulis Ilmiah. Tegal: DIII Farmasi Politeknik Harapan Bersama.
- Rumyati, Idiawati, N., & Destiarti, L. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan, Total Fenol dan Toksisitas dari Ekstrak Daun dan Batang Lakum (*Cayratia trifolia* (L.) Domin). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 3(3), 30–35.
- Sandy, M., Wardani, T. S., & Septiarini, A. D. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak, Fraksi N-Heksan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) Terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. *Media Farmasi Indonesia*, 16(2), 1–10.
- Septiana, A. T., & Asnani, A. (2012). Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumpun Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. *Argointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 6 No. 1, 22–28.
- Sundari, R. S., Rizkuloh, L. R., & Mardianingrum, R. (2021). Pengaruh Perbedaan pelarut Terhadap Kadar Fenol Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Gadung (*Dioscorea hispida* Dennst.). *Jurnal Biopropal Industri*, 12(1), 43–49.
- Sinta, Eka Roya. (2019). " Pengaruh Perbedaan Jenis Pelarut Polar Terhadap Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Pada Bakteri *Staphylococcus aureus*." Karya Tulis Ilmiah. Tegal: DIII Farmasi Politeknik Harapan Bersama.
- Suwardi, Rizqi Ahmad. (2019). "Uji Total Fenol Dan Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* var. *ascolaicum*)." Karya Tulis Ilmiah. Tegal: DIII Farmasi Politeknik Harapan Bersama.
- Wachidah, L. N. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan Serta Penentuan Kadar Fenolat dan Flavonoid Total dari Buah Pajiroto (*Medinilla speciosa* Blume).
- Wijoyo, Ir. Padmiarso M. (2012). Cara Tuntas Menyembuhkan Diabetes dengan Herbal. Jakarta : Pusaka Argo Indonesia.
- Yanty, Y. N., Sopianti, D. S., & Veronica, C. (2019). Fraksinasi dan Skrining Fraksi Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L) Roxb) dengan Metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis). *Borneo Journal of Phamascientech*, 3(1), 56–64.

LAMPIRAN

Lampiran 1

Perhitungan Berat Sampel dan Rendemen

1. Rendemen Ekstrak

$$\begin{aligned}
 \text{Berat Sampel} &= 300 \text{ gram (x)} \\
 \text{Berat beaker Kosong} &= 96,42 \text{ gram (a)} \\
 \text{Berat beaker + isi} &= 166,95 \text{ gram (b)} \\
 \text{Berat Ekstrak} &= b - a \\
 &= 166,95 - 96,42 \text{ gram} \\
 &= 70,53 \text{ gram (y)}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{y}{x} \times 100\% \\
 &= \frac{70,53 \text{ gram}}{300 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 23,51\%
 \end{aligned}$$

2. Rendemen Fraksi

a) Fraksi n-heksan

$$\begin{aligned}
 \text{Berat Sampel} &= 20 \text{ gram (x)} \\
 \text{Berat beaker kosong} &= 73,69 \text{ gram (a)} \\
 \text{Berat beaker + isi} &= 73,82 \text{ gram (b)} \\
 \text{Berat Ekstak} &= b - a \\
 &= 73,82 - 73,69 \text{ gram} \\
 &= 0,13 \text{ (y)}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{y}{x} \times 100\% \\
 &= \frac{0,13 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 0,65\%
 \end{aligned}$$

b) Rendemen Fraksi Kloroform

$$\begin{aligned}
 \text{Berat Sampel} &= 20 \text{ gram (x)} \\
 \text{Berat beaker kosong} &= 76,18 \text{ gram (a)} \\
 \text{Berat beaker + isi} &= 76,35 \text{ gram (b)} \\
 \text{Berat Ekstak} &= b - a \\
 &= 76,35 - 76,18 \text{ gram} \\
 &= 0,17 \text{ (y)}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{y}{x} \times 100\% \\
 &= \frac{0,17 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 0,85\%
 \end{aligned}$$

c) Rendemen Fraksi Metanol

$$\begin{aligned}
 \text{Berat Sampel} &= 20 \text{ gram (x)} \\
 \text{Berat beaker kosong} &= 72,87 \text{ gram (a)} \\
 \text{Berat beaker + isi} &= 84,55 \text{ gram (b)} \\
 \text{Berat Ekstak} &= b - a \\
 &= 84,55 - 72,87 \text{ gram} \\
 &= 11,68 \text{ (y)}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{y}{x} \times 100\% \\ &= \frac{11,68 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 58,4\%\end{aligned}$$

Lampiran 2

Perhitungan Pembuatan Larutan

1. Pembuatan Larutan Pereaksi

a. Pembuatan Larutan Asam Galat 1000 ppm (mg/L)

$$= \frac{10 \text{ mg asam galat}}{10 \text{ ml metanol}}$$

$$= \frac{10 \text{ mg}}{0,01 \text{ L}}$$

$$= 1000 \text{ ppm}$$

b. Pembuatan Larutan Na_2CO_3 20 %

20 gram Na_2CO_3 + 100 ml aquadest

c. Perhitungan Pengenceran Asam Galat 1000 ppm

1) 20 ppm

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

$$X \cdot 1000 = 10 \text{ mL} \cdot 20$$

$$X = \frac{200}{1000}$$

$$= 0,20 \text{ mL}$$

2) 50 ppm

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

$$X \cdot 1000 = 10 \text{ mL} \cdot 50$$

$$X = \frac{500}{1000}$$

$$= 0,50 \text{ mL}$$

3) 100 ppm

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

$$X \cdot 1000 = 10 \text{ mL} \cdot 100$$

$$X = \frac{1000}{1000}$$

$$= 1 \text{ mL}$$

4) 200 ppm

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

$$X \cdot 1000 = 10 \text{ mL} \cdot 200$$

$$X = \frac{2000}{1000}$$

$$= 2 \text{ mL}$$

2. Pembuatan Larutan Induk Sampel 2000 ppm (mg/L)

$$= \frac{100 \text{ mg sampel}}{50 \text{ mL metanol}}$$

$$= \frac{100 \text{ mg}}{0,05 \text{ ml}}$$

$$= 2000 \text{ ppm}$$

Lampiran 3

Perhitungan Kadar Fenol Fraksi N-Heksan, Kloroform, dan Metanol

$$\text{Konsentrasi awal} = 200 \text{ ppm (mg/L)}$$

$$\text{Volume yang diambil} = 0,5 \text{ ml}$$

$$\text{Volume total} = 5 \text{ ml}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi awal} &= \text{Konsentrasi awal} \times \frac{\text{Volume yang diambil}}{\text{Volume total}} \\ &= 2000 \text{ ppm} \times \frac{0,05 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \\ &= 200 \text{ ppm} \end{aligned}$$

$$\text{Faktor Pengenceran} = \frac{2000 \text{ ppm}}{200 \text{ ppm}} = 10$$

$$\text{Persamaan regresi linier : } y = ax + b$$

$$= 0,0073 \text{ (slope)} + 0,2073 \text{ (intersept)}$$

$$R^2 = 0,9426$$

$$\text{Rumus penentuan Kadar Fenol} = \frac{(\text{absorbansi sampel} - \text{intersept}) \times Fp}{\text{Slope} \times \text{Konsentrasi Awal}} \times 100\%$$

1. Perhitungan % Kadar Fenol Total Fraksi N-Heksan

$$\begin{aligned} \text{Kadar Fenol} &= \frac{(\text{absorbansi sampel} - \text{intersept}) \times Fp}{\text{Slope} \times \text{Konsentrasi Awal}} \times 100\% \\ &= \frac{(0,217 - 0,2073) \times 10}{0,0073 \times 2000 \text{ ppm}} \times 100\% \\ &= \frac{0,0097}{2000} \times 100\% \end{aligned}$$

$$= \frac{13,287}{2000} \times 100\%$$

$$= 0,664 \%$$

2. Perhitungan % Kadar Fenol Total Fraksi Kloroform

$$\text{Kadar Fenol} = \frac{\frac{(\text{absorbansi sampel} - \text{intersept})}{\text{Slope}} \times Fp}{\text{Konsentrasi Awal}} \times 100\%$$

$$= \frac{\frac{(0,303 - 0,2073)}{0,0073} \times 10}{2000 \text{ ppm}} \times 100\%$$

$$= \frac{\frac{0,0957}{0,0073} \times 10}{2000} \times 100\%$$

$$= \frac{131,0958}{2000} \times 100\%$$

$$= 6,554\%$$

3. Perhitungan % Kadar Fenol Total Fraksi Metanol

$$\text{Kadar Fenol} = \frac{\frac{(\text{absorbansi sampel} - \text{intersept})}{\text{Slope}} \times Fp}{\text{Konsentrasi Awal}} \times 100\%$$




$$= \frac{\frac{(0,280 - 0,2073)}{0,0073} \times 10}{2000 \text{ ppm}} \times 100\%$$



$$= \frac{\frac{0,0724}{0,0073} \times 10}{2000} \times 100\%$$

$$= \frac{99,589}{2000} \times 100\%$$




$$= 4,979\%$$





Lampiran 4
Prosen Maserasi




| No | Gambar | Keterangan |
|----|---|------------------------|
| 1 |  | Menimbang bahan |
| 2 |  | Maserasi selama 3 hari |
| 3 |  | Menyaring ekstrak |

| | | |
|---|--|------------------|
| 4 |  | Proses penguapan |
| 5 |  | Hasil penguapan |

Lampiran 5
Proses Fraksinasi




| No | Gambar | Keterangan |
|----|---|----------------------------|
| 1 |  | Mengukur Pelarut n-heksan |
| 2 |  | Mengukur Pelarut kloroform |
| 3 |  | Mengukur pelarut metanol |





| | | | | |
|---|--|---|--|-----------------------------|
| 4 | |  | | Menimbang Filtrat |
| 5 | |  | | Proses fraksinasi n-heksan |
| 6 | |  | | Proses fraksinasi kloroform |
| 7 | |  | | Proses fraksinasi metanol |



| | | | |
|----|--|---|--|
| 8 | |  | Hasil fraksi n-heksan, kloroform, dan methanol |
| 9 | |  | Proses penguapan |
| 10 | |  | Hasil penguapan |

Lampiran 6

Proses Uji Fenol Total Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis


| No | Gambar | Keterangan |
|----|---|----------------------------------|
| 1 |  | Menimbang hasil fraksi n-heksan |
| 2 |  | Menimbang hasil fraksi kloroform |
| 3 |  | Menimbang hasil fraksi metanol |

| | | |
|---|---|---|
| 4 |  | Membuat larutan induk asam galat |
| 5 |  | Membuat larutan Na_2CO_3 20% |
| 6 |  | Membuat larutan seri |
| 7 |  | Membuat larutan sampel |

| | | |
|---|--|--|
| 8 |  | Memasukkan kuvet kedalam spektrofotometri UV-Vis |
| 9 |  | Membaca absorbansi sampel |

Lampiran 7

Publikasi Jurnal Dalton : Jurnal Pendidikan Kimia dan Ilmu Kimia

Dalton : J. Pendid. Kim. dan Ilmu. Kim. (e-ISSN 2621-3060) Vol. 06, No. 01, 2023
DOI: <http://dx.doi.org/10.31602/dl.v6i1.10454>Dalton :
Jurnal Pendidikan
Kimia dan Ilmu Kimia 

ORIGINAL ARTICLE

PENENTUAN KADAR FENOL TOTAL FRAKSI n-HEKSAN, KLOOROFORM DAN METANOL HERBA PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urban)Zahra Sugiani^{1*}, Purgiyanti¹, Kusnadi¹Received: 09 Maret 2023 | Accepted: 22 April 2023 | Published online: 30 April 2023
UPT Publikasi dan Pengelolaan Jurnal Uniska-Daltonjurnal 2023

Abstrak Pegagan memiliki kandungan kimia diantaranya adalah senyawa golongan triterpen ester glikosida yaitu asiaticosida dan madecosida, saponin alkaloid, tanin dan senyawa golongan fenolik. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh perbedaan fraksinasi terhadap kadar total fenol herba pegagan. Metode yang digunakan untuk menarik senyawa fenol yang ada pada herba pegagan dengan maserasi dilanjutkan dengan fraksinasi dan menentukan kadar fenol total menggunakan spektrofotometri UV-Vis yang diukur pada panjang gelombang 740nm. Hasil penelitian kadar fenol total yang terkandung paling tinggi yaitu pada fraksi kloroform yaitu sebesar 6,554 mgGAE/g diikuti fraksi metanol sebesar 4,979 mgGAE/g dan fraksi n-heksan sebesar 0,664 mgGAE/g. Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa fraksi kloroform merupakan fraksi yang memiliki kadar fenol paling besar diantara fraksi yang lain.

Kata Kunci: Herba pegagan, Fraksinasi, Total fenol, Spektrofotometri UV-Vis



This is an open access article under the CC-BY 4.0 License. Copyright © 2023 by authors.

✉ Zahra Sugiani
zahrasugiani02@gmail.com¹DIII Farmasi, Politeknik Harapan Bersama, Tegal, Indonesia

Abstract *Centella asiatica* has chemical constituents, including triterpene ester glycoside compounds, namely asiaticoside and madecoside, saponins, alkaloids, tannins, and phenolic group compounds. The purpose of this study was to determine the effect of differences in fractionation on the total phenolic content of *Centella asiatica*. The method used to extract the phenolic compounds present in *Centella asiatica* herb was by maceration followed by fractionation and determining the total phenol content using UV-Vis spectrometry measured at a wavelength of 740nm. The results of the study showed that the total phenolic content was highest in the chloroform fraction, which was 6,554% gallic acid equivalent/100 grams, followed by the methanol fraction and the n-hexane fraction. Based on this research, it can be concluded that the chloroform fraction is good and has the most amount of phenolic compounds.

Keywords: *Centella asiatica*, Fractionation, Total Phenol, Spectrophotometry UV-Vis

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara beriklim tropis yang diyakini memiliki keanekaragaman hayati yang tak terbatas jumlah dan jenisnya. Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keanekaragaman obat di dunia dan memiliki berbagai jenis tanaman yang berkhasiat sebagai obat tradisional. Adanya gaya hidup *back to nature* yang menjadi tren saat ini membuat masyarakat terinspirasi kembali untuk memanfaatkan bahan alam, termasuk tanaman

yang bisa digunakan sebagai obat herbal. Salah satu tanaman yang bisa digunakan sebagai pengobatan yaitu herba pegagan (Purdiyanti et al., 2019).

Herba merupakan seluruh bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai obat, meliputi daun, batang, bunga, dan akar (Astia, 2018). Pegagan memiliki berbagai khasiat diantaranya yaitu untuk meningkatkan fungsi kognitif, selain itu pegagan juga berkhasiat untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti batu ginjal, peluruh air seni, memar, infeksi usus, disentri, wasir, anti radang, pegal, rematik. Pegagan memiliki kandungan kimia diantaranya adalah senyawa golongan triterpen ester glikosida yaitu asiaticosida dan madecosida, senyawa golongan triterpen dan senyawa golongan fenolik (Wijoyo, 2012).

Senyawa fenol yang terdapat pada herba pegagan dapat ditarik menggunakan metode ekstraksi yang selanjutnya dilakukan fraksinasi. Fraksinasi merupakan ekstraksi dengan beberapa

pelarut yang tingkat kepolarannya berbeda-beda (Septiana & Asnani, 2013). Pada penelitian kali ini dilakukan penetapan kadar fenol total dengan fraksinasi dari beberapa pelarut yaitu non polar dengan pelarut n-heksan, semi polar dengan pelarut kloroform dan polar dengan pelarut metanol. Pelarut tersebut dipilih berdasarkan tingkat kepolarannya yang dapat ditunjukkan lebih pasti dengan besarnya nilai konstanta yang dimiliki oleh pelarut, n-heksan sebagai pelarut non polar memiliki nilai indeks polaritas 0,1, pelarut kloroform sebagai pelarut semi polar memiliki nilai indeks polaritas sebesar 4,1 (Sundari et al., 2021) dan metanol sebagai pelarut polar memiliki nilai indeks polaritas sebesar 5,1 (Mangindaan & Lesnussa, 2013) semakin besar nilai konstanta maka pelarut semakin polar (Alfianingsih, 2016).

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium farmasi Politeknik Harapan Bersama Kota Tegal pada bulan Agustus-Oktober 2022

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi neraca analitik (*Ohaus*), batang pengaduk, beaker glass 100 ml (*Iwaki pyrex*), tabung reaksi (*Pyrex*), gelas ukur 100 ml (*Pyrex*), chamber, cawan porselin 100 ml (*Pyrex*), spatel logam, corong pisah (*Pyrex*), labu ukur (*Pyrex*), klem, statif, penjepit kayu, bunsen, kaki tiga, pipet volume (*Pyrex*), mikro pipet (*Dragonlab*), corong kaca, kuvet, water bath (*Thermostat water bath*), spektrofotometri uv-vis (*Thermo*).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi herba pegagan (*Centella asiatica*), etanol 96% (*Bratachem*), Aquadest, n-heksan (*Bratachem*), kloroform (*Bratachem*), FeCl_3 (*Bratachem*), H_2SO_4 (*Bratachem*), Asam asetat (*E.Merck*), metanol (*E.Merck*), Asam galat (*Brataco*), Reagen Folin-ciocalteu (*E.Merck*).

Pembuatan Serbuk Simplisia

Herba Pegagan dikumpulkan dan dibersihkan dari kotoran, kemudian dicuci dengan air mengalir hingga bersih untuk selanjutnya dijemur dibawah sinar matahari langsung. Setelah simplisia kering kemudian dihaluskan dan diayak dengan ukuran mesh 60 hingga didapat serbuk simplisia yang halus. Serbuk simplisia yang diperoleh disimpan dalam wadah bersih, kering dan tertutup rapat.

Pembuatan Ekstrak Herba Pegagan

Penelitian ini menggunakan pegagan sebanyak 300g kemudian diekstraksi dengan metode maserasi. Menyiapkan 300g sampel pegagan, tambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 900ml, aduk selama 5 menit. Setelah 3 hari maserasi disaring dengan kain flanel, kemudian ekstrak diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Setelah itu hitung rendemen ekstrak.

Identifikasi Senyawa Fenol

Menyiapkan ekstrak herba pegagan sebanyak 2ml masukan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan FeCl_3 sebanyak 5 tetes akan menghasilkan warna biru atau hijau kehitaman.

Fraksinasi

Ekstrak herba pegagan ditimbang 20g, larutkan dengan pelarut air 40ml, kemudian difraksinasi sebanyak 3 kali dengan n-heksan menggunakan corong pisah, fraksi n-heksan yang didapat diuapkan. Residu yang didapat dari fraksi n-heksan dilanjutkan fraksinasi 3 kali dengan pelarut kloroform masing-masing 40ml, fraksi kloroform yang didapat diuapkan. Residu yang didapat dari fraksi kloroform dilanjutkan fraksinasi 3 kali dengan pelarut methanol masing-masing 40ml, hasil yang didapat adalah fraksi methanol, kemudian residu diuapkan sampai pekat.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Memipet larutan induk asam galat 1000ppm sebanyak 1ml, kemudian masukan kedalam tabung reaksi tambahkan sebanyak 3,5 ml aquadest. Selanjutnya tambahkan 250µl Folin-Ciocalteu kocok hingga homogen dan inkubasi larutan selam 8 menit. Kemudian tambahkan Na_2CO_3 20% sebanyak 750µl kocok hingga homogen, kemudian tambahkan volume akhir dengan aquadest hingga 5 ml dan larutan diinkubasi selama 2 jam pada suhu ruang. Lakukan pembacaan Panjang gelombang menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada Panjang gelombang 730-790nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi herba pegagan dilakukan dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan sampel dan pelarut 1:3 (b/v). pemilihan etanol 96% sebagai pelarut karena selektif tidak beracun, absorbansinya baik dan etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan. Proses maserasi dilakukan selama 3 hari dengan dilakukan pengadukan setiap 24 jam sekali selama ± 5 menit agar simplisia tersari dengan sempurna. Hasil ekstraksi yang didapat kemudian disaring untuk memisahkan antara maserat dengan residu, kemudian maserat hasil ekstraksi diuapkan diatas waterbath dengan suhu $< 50^\circ\text{C}$ yang bertujuan

Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat

Ditimbang sebanyak 10mg asam galat kemudian dilarutkan dalam 10ml methanol ($1000\mu\text{g}/\text{mL}$), selanjutnya larutan induk asam galat (1000ppm) dipipet sebanyak 20,50,100 dan 200µl kedalam tabung reaksi. Pada masing-masing tabung ditambahkan 3,5ml aquadest dan 250µl Na_2CO_3 20% kocok sampai homogen, tambahkan volume akhir menjadi 5ml dengan aquadest. Larutan diinkubasi selama 2 jam pada suhu kamar. Serapan diukur pada panjang gelombang 740nm, dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat (mg/L) dengan absorbansi.

Penentuan Kandungan Total Fenol

Ditimbang masing-masing 50 mg sampel ekstrak kemudian dilarutkan dalam 50 ml dengan methanol ($2000\mu\text{g}/\text{mL}$), dipipet sebanyak 0,5 ml larutan ekstrak sampel dan ditambahkan 3,5ml aquadest dan 0,25 ml Folin-Ciocalteu dan dikocok. Didiamkan selam 8 menit, kemudian ditambahkan 0,75 ml Na_2CO_3 20% kocok sampai homogen. Larutan didiamkan selam 2 jam pada suhu kamar. Serapan diukur pada panjang gelombang 740nm. Pengukuran dilakukan 3 kali pengulangan sehingga kadar fenol yang diperoleh hasilnya didapat sebagai mg ekuivalen asam galat/100 gram sampel.

untuk menghilangkan pelarut untuk mendapatkan ekstrak kental. Berdasarkan hasil rendemen ekstrak herba pegagan diperoleh sebesar 23,51%. Setelah didapat ekstrak kental selanjutnya dilakukan uji bebas etanol.

Uji bebas pelarut etanol dilakukan untuk memastikan bahwa ekstrak tidak mengandung etanol. Uji bebas pelarut etanol dilakukan dengan cara mengambil ekstrak sebanyak 2 tetes kemudian ditambahkan dengan H_2SO_4 pekat dan asam asetat, kemudian dipanaskan diatas api bunsen. Ekstrak dikatakan bebas pelarut etanol jika tidak terdapat bau khas etanol atau ester pada ekstrak.



Tabel 1. Hasil Uji Bebas Etanol

| Pertakuan | Hasil | Literatur |
|---|---------------------------|--------------|
| 2 tetes ekstrak + H ₂ SO ₄ pekat + asam asetat | + (tidak berbau ester) | Haliza, 2020 |

Berdasarkan tabel 1, menunjukan bahwa ekstrak herba pegagan bebas etanol ditandai dengan tidak adanya bau khas etanol atau ester saat dicium.

Ekstrak herba pegagan dilakukan uji fenolik, bertujuan untuk memastikan bahwa herba pegagan mengandung senyawa fenol. Hasil yang di dapatkan

yaitu positif (+) bahwa herba pegagan mengandung senyawa fenol yang ditandai dengan timbulnya warna biru atau hijau kehitaman setelah penambahan FeCl₃ sebanyak 5 tetes karena FeCl₃ bereaksi dengan ion hidroksida, sehingga terbentuk endapan berwarna biru atau hijau kehitaman (Fatyanti, 2017).

Gambar 1. Reaksi Fenol dengan FeCl₃

Ekstrak selanjutnya difraksinasi menggunakan beberapa pelarut yang memiliki tingkat polaritas yang berbeda-beda. Fraksinasi dilakukan bertingkat berdasarkan kepolarnya yaitu dari non polar, semi polar dan polar. Senyawa yang memiliki sifat non polar akan larut pada pelarut non polar, senyawa yang memiliki sifat semi polar akan larut pada pelarut semi polar, dan senyawa polar akan larut pada pelarut polar (Alfianingsih, 2016). Pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu n-heksan bersifat non polar, kloroform bersifat semi polar, dan metanol bersifat polar.

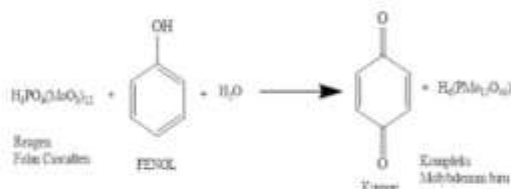
Pada proses maserasi langkah pertama yang dilakukan yaitu menimbang ekstrak pegagan 20 gram larutkan dengan pelarut air sebanyak 40ml, kemudian difraksinasi dengan 40ml n-Heksan digojog sebanyak 3 kali, maka akan terbentuk dua fase yang terpisah yaitu fase non polar (n-Heksan) yang berada di bagian atas dan fase polar (ekstrak) yang berada dibagian bawah karena memiliki berat jenis yang lebih besar dari berat jenis n-Heksan. Selanjutnya residu yang tertinggal difraksinasi dengan pelarut kloroform, maka akan terbentuk dua fase yang memisah yaitu fase polar (residu n-Heksan) yang berada bagian atas dan fase semi polar

(kloroform) yang berada dibagian bawah karena kloroform memiliki berat jenis yang lebih berat dari pada residu n-heksan. Residu yang tertinggal dari fraksinasi sebelumnya difraksinasi dengan pelarut metanol sebanyak 40ml kemudian digojog sebanyak 3 kali, selanjutnya hasil fraksi diuapkan diatas waterbath. Berdasarkan hasil rendemen diatas menunjukkan bahwa rendemen fraksi metanol memiliki nilai yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi n-Heksan dan kloroform, hal ini dikarekan fraksi n-Heksan dan fraksi kloroform lebih mudah menguap dibandingkan dengan fraksi air pada proses penguapan dengan *waterbath*.

Penentuan kadar fenol total dilakukan menggunakan metode spektrofometri UV-Vis dengan menggunakan prinsip *Folin-Ciocalteu*, diukur pada Panjang gelombang 750 nm dengan nilai absorbansi sebesar 0,589. Larutan blanko yang digunakan yaitu metanol. Penggunaan metanol dikarenakan pada saat proses pelarutan asam galat telah menggunakan pelarut metanol. Prinsip pengukuran kandungan fenol dengan reagen *Folin-ciocalteu* adalah dengan terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru. Penambahan Na₂CO₃ bertujuan untuk membentuk suasana basa agar terjadi reaksi

reduksi *Folin-Ciocalteu* oleh gugus hidroksil dari fenolik (Alfian & Susanti, 2012). Semakin besar konsentrasi senyawa fenolik dalam sampel

maka semakin pekat warna biru yang dihasilkan (Wachidah, 2013).



Gambar 2. Reaksi Senyawa fenol dengan Reagen *Folin-Ciocalteu*

Standar fenolat yang digunakan adalah asam galat, karena asam galat sangat efektif untuk membentuk senyawa kompleks dengan reagen *Folin-Ciocalteu*. Maka diperoleh kurva baku asam galat (tabel 2). Dari data konsentrasi dan

absorbansi kurva baku asam galat maka didapat grafik (gambar 3).

Tabel 2. Data Kurva Baku Asam Galat

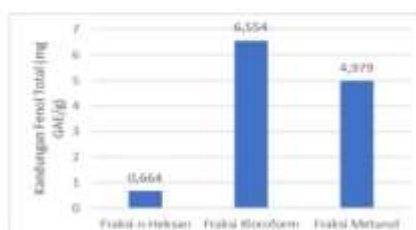
| NO | Konsentrasi (ppm) | Absorbansi rata-rata |
|----|-------------------|----------------------|
| 1 | 0 | 0 |
| 2 | 20 | 0,542 |
| 3 | 50 | 0,597 |
| 4 | 100 | 0,972 |
| 5 | 200 | 1,621 |



Gambar 3. Grafik Kurva Baku Asam Galat

Dari hasil pada gambar 3, telah dilakukan pengamatan absorbansi kurva baku asam galat yang dilakukan pada Panjang gelombang 750nm didapat persamaan regresi asam galat adalah $y = 0,0073x + 0,2073$ dengan harga koefisien korelasi (r) adalah 0,9426. Kandungan fenol total

yang terdapat dalam tumbuhan dapat ditentukan dengan spektrofotometri dengan reagen *Folin-Ciocalteu* dan dinyatakan dalam GAE (*gallic acid equivalent*) yaitu jumlah kesetaraan milligram asam galat dalam 100 gram sampel.



Gambar 4. Kandungan Fenol total Masing-masing Praktikum

Berdasarkan grafik pada gambar 4 diatas hasil penentuan kadar total fenol pada fraksi n-heksan, fraksi kloroform dan fraksi metanol menunjukan bahwa kandungan senyawa fenol yang terdapat pada fraksi n-heksan sebanyak 0,664 mg GAE/g, fraksi kloroform sebanyak 6,554 mg GAE/g, dan fraksi metanol sebanyak 4,979 mg GAE/g. Kadar fenol total yang paling tinggi yaitu ditunjukkan pada fraksi kloroform sebanyak 6,554 mg GAE/g, artinya dalam setiap gram ekstrak setara dengan 6,554 mg asam galat.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap penentuan kadar fenol total fraksi n-heksan, kloroform dan metanol menunjukan semua fraksi mengandung senyawa fenol. Kadar total fenol yang terkandung pada herba pegagan berdasarkan perbedaan fraksinasi secara

Kadar fenol total yang paling banyak tidak selalu terdapat pada pelarut polar, namun tergantung dari struktur senyawa fenol yang dijumpai (Mulyanita et al., 2019). Pada pelarut semi polar (kloroform) mampu mengekstrak senyawa fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon dan glikosida. Jadi, dapat dikatakan bahwa fraksi kloroform mampu mengekstraksi senyawa fenol pada herba pegagan lebih efektif karena memiliki kandungan total fenol yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan fraksi metanol.

berurutan dari yang tertinggi yaitu fraksi kloroform sebesar 6,554 mg GAE/g, fraksi methanol sebesar 4,979 mg GAE/g, dan fraksi n-heksan sebesar 0,664 mg GAE/g.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfian, R., & Susanti, H. (2012). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*hibiscus sabdariffa linn*) Dengan Variasi Tempat Tumbuh Secara Spektrofotometri. *Pharmaciana*, 2(1).
- Alfianingsih, S. (2016). Aktivitas Antibakteri Fraksi n-heksan, Kloroform dan Etanol Dari Ekstrak Etanol Daun Rambutan (*nephelium lappaceum*, L) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Revista CENIC, Ciencias Biológicas*, 152(3), 28.
- Mangindaan, R. E. P., & Lesnussa, M. S. P. (2013). Aktivitas Sitotoksik Dari Ekstrak Bintang Ular (*Ophiomastix annulosa*) Terhadap Perkembangan Awal Embrio Bulu Babi (*Tripneustes gratilla*). *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*, 1(3), 18.
- Mulyanita, Djali, M., & Setiasih, I. S. (2019). Total Fenol, Flavonoid dan Aktivitas Antimikroba Ekstrak Limbah Kulit Lidah Buaya (*Aloe chinensis baker*). *Jurnal Vokasi Kesehatan*, 5(2), 100.
- Purdiyanti, Purba, A. V., & Winarno, H. (2019). Penentuan kadar fenol total dan uji aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica L. Urban*) dan buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*(Scheff.) Boerl.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 8(2), 40–45.
- Septiana, A. T., & Asnani, A. (2013). Antioxiidan activity of *Sargassum duplicatum* seaweed extract. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 14(2), 79–86.
- Sundari, R. S., Rizkuloh, L. R., & Mardianingrum, R. (2021). Pengaruh Perbedaan pelarut Terhadap Kadar Fenol Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Gudung (*Dioscorea Hispida Denast*). *Jurnal Biopropal Industri*, 12(1), 43–49.
- Wachidah, L. N. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan Serta Penentuan Kadar Fenolat dan Flavonoid Total dari Buah Pajiroto (*Medinilla speciosa Blume*).
- Wijoyo, Ir. Padmiarso M. (2012). Cara Tuntas Menyembuhkan Diabetes dengan Herbal.

Jakarta : Pusaka Argo Indonesia.

Lampiran 8

Surat Keterangan Laboratorium



POLITEKNIK HARAPAN BERSAMA
The True Vocational Campus

D-3 Farmasi

No : 012.06/FAR.PHB/IV/2023
Hal : Keterangan Praktek Laboratorium

SURAT KETERANGAN

Dengan ini menerangkan bahwa mahasiswa berikut :

Nama : Zahra Sugiani
NIM : 20080105
Judul Tugas Akhir : Penentuan Kadar Fenol Total Fraksi N-Heksan, Kloroform, Dan Metanol Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban)

Benar – benar telah melakukan penelitian di Laboratorium Diploma III Farmasi Politeknik Harapan Bersama Tegal.

Demikian surat keterangan ini untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Tegal, 4 April 2023
Mengetahui,

Ketua Panitia Tugas Akhir

PANITIA TA
Diploma III FARMASI
Politeknik Harapan Bersama
apt. Rosaria Ika Pratiwi, M.Sc
NIPY. 06.016.301

Kepala Laboratorium


apt. Muladi Putra Mahardika, M.Farm
NIPY. 03.021.488

Lampiran 9

Surat Keterangan Uji Plagiat



POLITEKNIK HARAPAN BERSAMA
The True Vocational Campus

D-3 Farmasi

SURAT KETERANGAN UJI PLAGIAT

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Intan Cristy Mayasari Azeqi

NIP : 10.015.204

Jabatan : Staff Perpustakaan

Menerangkan bahwa Tugas Akhir:

Judul : Penentuan Kadar Fenol Total Fraksi N-Heksan, Kloroform dan Metanol Herba Pegagan (*Centella asiatica*)

Yang ditulis oleh:

Nama Mahasiswa : ZAHRA SUGIANI

NIM : 20080105

Alamat Email : zahrasugiani02@gmail.com

Telah dilakukan pengecekan kesamaan (*Plagiarism*) dengan hasil indikasi plagiat 35%

Demikian keterangan ini dibuat sebagai salah satu syarat pendaftaran sidang Tugas Akhir (TA).

Tegal, 31 Maret 2025

Petugas Perpustakaan

Politeknik Harapan Bersama,

CURICULUM VITAE



Nama : Zahra Sugiani
NIM : 20080105
Jenis Kelamin : Perempuan
TTL : Tegal, 10 Oktober 2002
Alamat : Jalan Darmatirta Gg Betik 2, RT.2/RW.3,
Kel. Margadana, Kec. Margadana

RIWAYAT PENDIDIKAN

SD : SD Negeri Margadana 01 Tegal
SMP : SMP Negeri 18 Tegal
SMA : SMA Negeri 5 Tegal
D-III : Politeknik Harapan Bersama Tegal

NAMA ORANG TUA

Ayah : Basyir Sugiyono
Ibu : Laelatul Mubarakah

PEKERJAAN ORANG TUA

Ayah : Wiraswasta
Ibu : Ibu Rumah Tangga
Alamat : Jalan Darmatirta Gg Betik 2, RT.2/RW.3,
Kel. Margadana, Kec. Margadana
Judul Penelitian : Penentuan Kadar Fenol Total Fraksi N-Heksan, Kloroform,
dan Metanol Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban)