

**PENETAPAN KADAR SIANIDIN DALAM EKSTRAK  
KULIT BATANG BAKAU MENGGUNAKAN METODE  
KLT – DENSITOMETRI**

**DETERMINATION OF CYANIDIN IN MANGROVE BARK  
EXTRACT USING TLC – DENSITOMETRY METHOD**

**HERMAYANA  
N011 18 1361**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**PENETAPAN KADAR SIANIDIN DALAM EKSTRAK KULIT BATANG  
BAKAU MENGGUNAKAN METODE KLT – DENSITOMETRI**

**DETERMINATION OF CYANIDIN CONTENT IN MANGROVE BARK  
EXTRACT USING TLC – DENSITOMETRY METHOD**

**SKRIPSI**

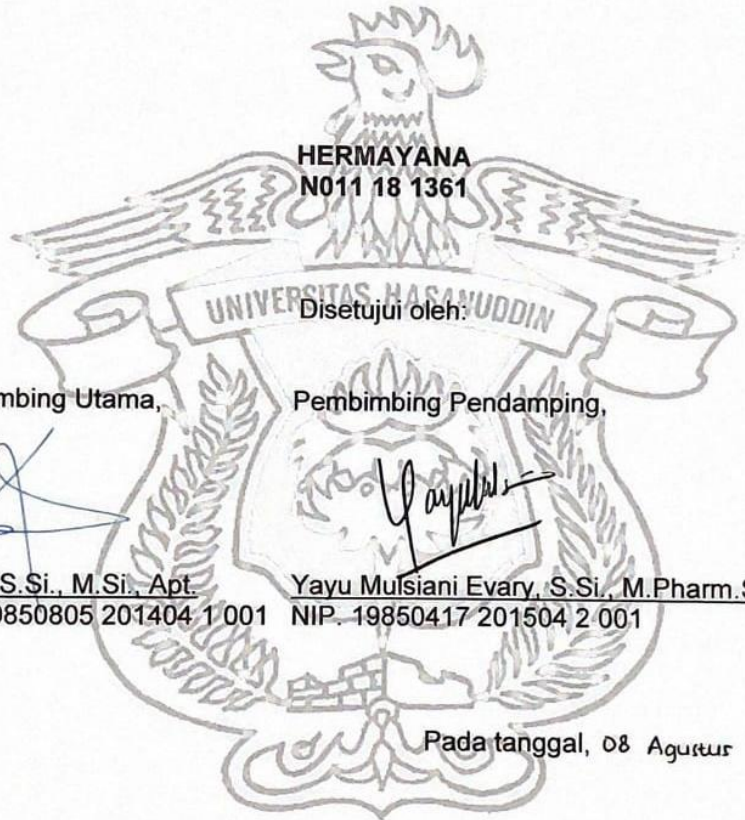
untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi  
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

**HERMAYANA  
N011 18 1361**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**PENETAPAN KADAR SIANIDIN DALAM EKSTRAK KULIT BATANG  
BAKAU MENGGUNAKAN METODE KLT – DENSITOMETRI**

**HERMAYANA  
N011 18 1361**



Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Ismail', is written over the name and NIP of the main supervisor.

Ismail, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 19850805 201404 1 001

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Yuyu Mulsiani Evary', is written over the name and NIP of the co-supervisor.

Yuyu Mulsiani Evary, S.Si., M.Pharm.Sc., Apt.  
NIP. 19850417 201504 2 001

Pada tanggal, 08 Agustus 2022

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**PENETAPAN KADAR SIANIDIN DALAM EKSTRAK KULIT BATANG  
BAKAU MENGGUNAKAN METODE KLT – DENSITOMETRI**

**DETERMINATION OF CYANIDIN CONTENT IN MANGROVE BARK  
EXTRACT USING TLC – DENSITOMETRY METHOD**

Disusun dan diajukan oleh:

**HERMAYANA  
N011 18 1361**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 08 Agustus 2022  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

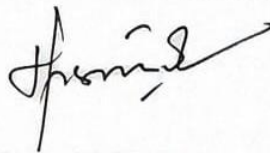


Ismail, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 19850805 201404 1 001



Yayu Mulsiani Evary, S.Si., M.Pharm.Sc., Apt.  
NIP. 19850417 201504 2 001

Ketua Program Studi S1 Farmasi,  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.  
NIP. 19860116 201012 2 009

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Hermayana

NIM : N011 18 1361

Judul Skripsi : "Penetapan Kadar Sianidin dalam Ekstrak Kulit Batang  
Bakau Menggunakan Metode KLT – Densitometri"

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar ke sarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh, batal demi hukum.

Makassar, 08 Agustus 2022

Penulis,



Hermayana

## ABSTRAK

**HERMAYANA.** Penetapan Kadar Sianidin dalam Ekstrak Kulit Batang Bakau Menggunakan Metode KLT – Densitometri (dibimbing oleh Ismail dan Yuyu Mulsiani Evary)

Sianidin merupakan salah satu contoh senyawa antosianidin, yang terkandung dalam tanaman bakau (*Rhizophora* sp.) yang memiliki banyak manfaat di bidang kesehatan dan digunakan sebagai pewarna alami pada produk pangan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar sianidin yang terkandung dalam tanaman bakau (*Rhizophora* sp.) dengan menggunakan metode analisis KLT – Densitometri yang telah divalidasi sebelumnya, dengan beberapa parameter validasi metode analisis antara lain, linearitas, LOD (*Limit of Detection*) dan LOQ (*Limit of Quantification*), akurasi dan presisi. Pengujian dilakukan menggunakan metode KLT-Densitometri diperoleh kadar sianidin yang terkandung pada tanaman bakau yakni 30,24 mg/100 g simplisia kering. Metode yang digunakan telah divalidasi dan hasil yang diperoleh memenuhi persyaratan yaitu linearitas dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,98; LOD 42,43 µg/mL dan LOQ 141,46 µg/mL; dan akurasi dengan nilai *percent recovery* 97,48%; 99,92%; dan 102,96%; serta presisi dengan nilai simpangan baku relatif (RSD) yaitu 4,41%.

Kata Kunci : Tanaman Bakau, *Rhizophora* sp., Sianidin, Validasi

## ABSTRACT

**HERMAYANA.** Determination Of Cyanidin Content in Mangrove Bark Extract using TLC – Densitometry Method (supervised by Ismail and Yuyu Mulsiani Evary)

Cyanidin is an example of anthocyanidin compounds, which are contained in mangrove plants (*Rhizophora* sp.) which have many health benefits and are used as natural dyes in food products. The purpose of this study was to determine the levels of cyanidin contained in mangroves (*Rhizophora* sp.) by using the TLC - Densitometry analysis method which has been validated, with several validation parameters of the analytical method, such as linearity, LOD (Limit of Detection) and LOQ (Limit of Quantification), accuracy, and precision. The test was carried out using the TLC-Densitometry method and the cyanidin content in mangroves was 30.24 mg/100 g dried simplicia. The method used has been validated and the results obtained meets the requirements, namely linearity with a correlation coefficient value of 0.98; LOD 42.43 µg/mL and LOQ 141.46 µg/mL; and accuracy with percent recovery of 97.48%; 99.92%; and 102.96%; and precision with the relative standard deviation (RSD) of 4.41%.

Keywords: Mangrove, *Rhizophora* sp., Cyanidin, Validation

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK .....	vi
ABSTRACT .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	5
II.1 Tanaman Bakau.....	5
II.1.1 Deskripsi Tanaman Bakau.....	5
II.1.2 Klasifikasi Tanaman Bakau .....	5
II.1.3 Morfologi Tanaman Bakau.....	6
II.1.4 Metabolit Sekunder pada Tanaman Bakau.....	7
II.1.5 Manfaat Tanaman Bakau .....	7
II.2 Sianidin .....	8
II.3 Metode Ekstraksi.....	10
II.3.1 Maserasi .....	10
II.3.2 Perkolasi.....	11
II.3.3 Soxhletasi .....	11
II.3.4 <i>Supercritical Fluid Extraction</i> .....	12
II.3.5 <i>Microwave-Assisted Extraction</i> .....	13
II.3.6 <i>Ultrasound-Assisted Extraction</i> .....	14
II.3.7 <i>Acelarated-Assisted Extraction</i> .....	15
II.4 KLT – Densitometri .....	15
II.4.1 Kromatografi Lapis Tipis .....	15
II.4.2 Densitometri .....	17
II.5 Validasi Metode Analisis .....	19
II.5.1 Linearitas .....	20
II.5.2 Akurasi.....	20
II.5.3 Presisi.....	21



II.5.4	Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi.....	22
BAB III	METODE KERJA .....	24
III.1	Alat dan Bahan.....	24
III.1.1	Alat .....	24
III.1.2	Bahan .....	24
III.2	Metode Kerja.....	24
III.2.1	Pengambilan dan Penyiapan Sampel.....	24
III.2.2	Susut Pengeringan .....	24
III.2.3	Ekstraksi Sampel .....	24
III.2.4	Penyiapan Larutan Baku .....	25
III.2.5	Validasi Metode Analisis.....	25
III.2.6	Penetapan Kadar Sianidin .....	26
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
IV.1	Validasi Metode Analisis .....	27
IV.1.1	Linearitas .....	27
IV.1.2	LOD dan LOQ.....	27
IV.1.3	Akurasi.....	27
IV.1.4	Presisi.....	28
IV.2	Penetapan Kadar Sianidin .....	28
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN .....	34
V.1	Kesimpulan .....	34
V.2	Saran .....	34
DAFTAR PUSTAKA.....		35
LAMPIRAN.....		39

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Rentang kesalahan yang diizinkan pada setiap konsentrasi analit pada matriks analit pada Matriks Sampel .....	21
Tabel 2. Hasil Uji Linearitas .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tabel 3. Hasil Perhitungan LOD dan LOQ.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tabel 4. Hasil Perhitungan Akurasi.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tabel 5. Hasil Perhitungan Presisi .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tabel 6. Hasil Perhitungan Kadar Sianidin pada Sampel .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman Bakau .....	5
Gambar 2. Bagian tanaman bakau (a) daun, (b) bunga, (c) buah dan hipokotil .....	6
Gambar 3. Batang tanaman bakau.....	7
Gambar 4. Struktur dasar antosianin.....	8
Gambar 5. Struktur dasar antosianidin.....	9
Gambar 6. Pola substitusi pada cincin B dari antosianidin.....	9
Gambar 7. Struktur sianidin.....	9
Gambar 8. Ekstraksi maserasi .....	10
Gambar 9. Ekstraksi perkolasi .....	11
Gambar 10. Alat ekstraksi soxhletasi .....	12
Gambar 11. Supercritical Fluid Extraction (SFE).....	13
Gambar 12. Microwave-Assisted Extraction (MAE) .....	14
Gambar 13. Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) .....	14
Gambar 14. Acelarated-Assisted Extraction .....	15
Gambar 15. Skema sistem optik densitometer.....	18
Gambar 16. Grafik linearitas baku sianidin .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 17. Hasil densitogram sampel .....	28
Gambar 18. Hasil densitogram linearitas .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 19. Hasil densitogram akurasi .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 20. Hasil densitogram presisi .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 21. Pohon bakau .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 22. Kulit batang bakau .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 23. Penghancuran sampel.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 24. Pengayakansimplisia .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 25. Penentuan susut pengeringan .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 26. Penimbangan simplisia.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 27. Ekstraksi menggunakan sonikator.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 28. Hasil ekstraksi .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 29. Baku sianidin .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 30. Baku sianidin seri pengenceran.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 31. Lempeng KLT uji linearitas.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 32. Lempeng KLT uji akurasi.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 33. Lempeng KLT uji presisi .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 34. Lempeng KLT sampel.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 35. Densitogram baku sianidin .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 36. Densitogram akurasi.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

Gambar 37. Densitogram presisi .....Error! Bookmark not defined.

Gambar 38. Densitogram sampel.....Error! Bookmark not defined.

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja..... 39

Lampiran 2. Perhitungan..... 39

Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian ..... 39

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di dunia yang memiliki 17.508 pulau, dengan garis pantai sepanjang 81.000 km. Hal ini menjadikan Indonesia memiliki potensi sumberdaya pesisir dan sumberdaya lautan yang besar. Salah satu contoh sumberdaya pesisir yakni hutan mangrove. Hutan mangrove di Indonesia memiliki luas mencapai 8.60 juta hektar. Hutan mangrove memiliki fungsi dalam bidang pendidikan dan penelitian, dimana hutan mangrove dapat dijadikan sebagai tempat pendidikan, konservasi, dan penelitian, sebagai upaya pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi (Rahim dan Dewi, 2017).

Bakau (*Rhizophora* sp.) merupakan salah satu jenis tanaman yang banyak dijumpai pada ekosistem hutan mangrove di Indonesia (Rahim dan Dewi, 2017). Penelitian terkait senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman bakau telah dilakukan, salah satunya penelitian yang dilakukan oleh Akasia *et al.* (2021) diperoleh hasil kandungan fitokimia yang terdapat dalam *Rhizophora apiculata* antara lain, fenol, alkaloid, flavonoid,

tanin, saponin, dan steroid. Kemudian pada *Rhizophora mucronata* memiliki kandungan fitokimia antara lain, fenol, flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid.

Selain itu, mangrove juga bermanfaat sebagai bahan obat. Bagian tanaman bakau yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat antara lain, buah, daun, kulit batang, dan akar (Noor *et al.*, 1999).

Antosianin banyak dimanfaatkan sebagai pewarna alami dalam produk pangan. Antosianin dan antosianidin merupakan senyawa yang memiliki potensi dalam bidang kesehatan. Studi ilmiah menunjukkan bahwa antosianidin dan antosianin memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antimikroba (Khoo *et al.*, 2017).

Pada penelitian Zhao *et al.* (2008) dilakukan pengujian antimikroba pada beberapa sampel yang mengandung antosianin dengan menggunakan metode difusi agar, dengan nilai konsentrasi hambat minimum yakni 50 mg/mL dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella enteridis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans*, dan dengan zona hambat berturut-turut  $14.33 \pm 0.29$ ,  $12.33 \pm 0.58$ , dan  $11.33 \pm 0.58$  mm. Aktivitas antimikroba berhubungan dengan kandungan total antosianin dan komposisinya termasuk sianidin sebagai turunannya.

Pada penelitian Denardin *et al.* (2015) dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada beberapa sampel yang memiliki kandungan fenolik total yakni,  $660.19 \pm 47.6$ ,  $799.80 \pm 54.7$ , dan  $816.50 \pm 63.6$  mg/100 g,

menggunakan metode DPPH diperoleh nilai  $IC_{50}$  berturut-turut  $48.05 \pm 12.21$ ,  $36.78 \pm 5.8$ , dan  $44.70 \pm 2.1$  mg/L.

Aktivitas lain dari sianidin yakni sebagai antiinflamasi, pada penelitian Gan *et al.* (2019), dengan menggunakan hewan coba yang tikus kolitis yang diinduksi 2,4,6-Trinitrobenzenesulfonic acid, diperoleh hasil bahwa sianidin dengan dosis  $200 \mu\text{mol/kg}$  secara signifikan dapat mengurangi gejala inflamasi.

Penelitian mengenai penentuan kadar antosianin telah dilakukan dengan beberapa metode seperti KLT dan KCKT oleh Wong *et al.* (2002), serta secara spektrofotometri UV-Vis (Lohachoompol *et al.*, 2004). Pada penelitian Filip *et al.* (2012) analisis antosianin dan antosianidin dilakukan dengan menggunakan beberapa metode antara lain, spektroskopi, HPLC, dan KLT – Densitometri. KLT – Densitometri merupakan metode yang sangat produktif dapat menganalisis puluhan sampel per hari, dan memberikan hasil yang signifikan serta efisiensi biaya yang lebih baik dibandingkan dengan metode kromatografi lainnya (Böhmdorfer *et al.*, 2018).

Siandin merupakan salah satu senyawa yang terkandung dalam kulit batang bakau, sehingga penelitian ini penting dilakukan untuk memberikan informasi terkait kadar sianidin yang terkandung dalam ekstrak kulit batang bakau.

## **I.2 Rumusan Masalah**

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini, antara lain:

1. Bagaimana validasi metode analisis penetapan kadar sianidin menggunakan KLT – Densitometri?
2. Berapa kadar sianidin yang terdapat dalam ekstrak kulit batang bakau?

## **I.3 Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan dari penelitian ini, antara lain:

1. Melakukan validasi metode analisis dengan pengujian parameter antara lain, akurasi, presisi, linearitas, batas deteksi dan batas kuantitasi pada metode penetapan kadar yang digunakan,
2. Menentukan kadar sianidin yang terdapat dalam ekstrak kulit batang bakau.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Tanaman Bakau

##### II.1.1 Deskripsi Tanaman Bakau

Bakau (*Rhizophora mucronata*) adalah salah satu jenis tumbuhan mangrove, yang sering dijumpai karena pertumbuhannya yang tersebar luas. Tanaman bakau umumnya tumbuh berkelompok pada daerah pasang surut, secara optimal tumbuh pada areal yang tergenang atau pada tanah yang kaya akan humus (Noor *et al.*, 1999).

##### II.1.2 Klasifikasi Tanaman Bakau

Klasifikasi tanaman baku menurut Backer dan Brink (1965) sebagai berikut:

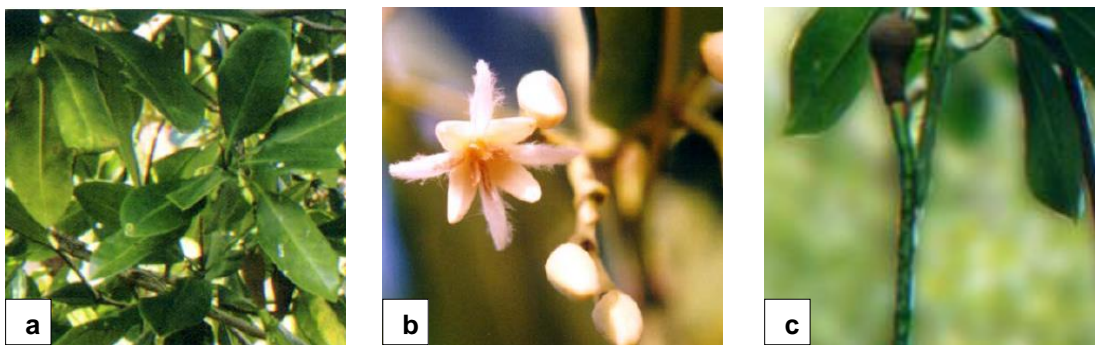
Kingdom : Plantae  
Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Ordo : Malpighiales  
Famili : Rhizophoraceae  
Genus : Rhizophora  
Spesies : *Rhizophora mucronata*



**Gambar 1. Tanaman Bakau**  
(sumber : Duke, 2006)

### II.1.3 Morfologi Tanaman Bakau

Pohon bakau memiliki ketinggian hingga 30 m, dengan diameter batang mencapai 35 cm. Struktur perakaran bakau adalah akar tunjang. Bagian kulit luar batang bakau berwarna abu-abu terang hingga tua, atau coklat terang, tekstur bersisik yang disebabkan oleh kulit luar yang retak-retak, sedangkan kulit dalam batang bakau memiliki tekstur berserabut berwarna merah muda hingga tua (Kusmana *et al.*, 2003). Daun bakau memiliki bentuk elips hingga bulat memanjang, dengan ujung yang meruncing, memiliki ukuran panjang 11-23 cm, lebar 5-13 cm, panjang tangkai 2,5-5,5 cm. Tanaman bakau memiliki bunga yang letaknya pada ketiak daun, dengan jumlah mahkota sebanyak empat berwarna putih, memiliki kelopak bunga berjumlah empat berwarna kuning pucat. Tanaman bakau memiliki buah yang berbentuk lonjong atau memanjang berwarna hijau kecoklatan. Memiliki hipokotil berbentuk silindris berukuran panjang 36-70 cm dan diameter 2-3 cm, dengan tekstur kasar atau berbintil (Noor *et al.*, 1999).



Gambar 2. Bagian tanaman bakau (a) daun, (b) bunga, (c) buah dan hipokotil (sumber : Noor *et al.*, 1999)



**Gambar 3. Batang tanaman bakau**  
(sumber : Kusmana *et al.*, 2003)

#### **II.1.4 Metabolit Sekunder pada Tanaman Bakau**

Pada penelitian Usman *et al.* (2019), metabolit sekunder yang diperoleh dari ekstrak etanol daun *Rhizophora* sp. antara lain, alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, senyawa fenolik, tanin dan saponin.

Pada penelitian Mahmiah *et al.* (2017), metabolit sekunder yang diperoleh setelah dilakukan skrining fitokimia pada sampel kulit batang *Rhizophora mucronata* antara lain, saponin, steroid, flavonoid, dan antrakinon.

#### **II.1.5 Manfaat Tanaman Bakau**

Mangrove dapat menghasilkan berbagai produk yang dapat digunakan secara langsung maupun tidak langsung, antara lain sebagai kayu bakar, bahan bangunan, keperluan rumah tangga, kertas, obat-obatan, dan perikanan (Noor *et al.*, 1999).

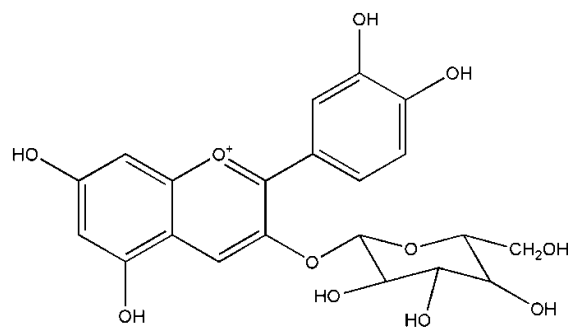
Kulit batang bakau telah digunakan untuk mengobati angina, bisul, dan infeksi jamur. Daun dan kulit kayunya telah digunakan sebagai antiseptik

untuk mengobati diare, disentri, demam, malaria, dan kusta (Elevitch dan Craig, 2006).

Air rebusan kulit batang *Rhizophora* sp. memiliki manfaat antara lain sebagai anti-diare dan antiemetik. Kulit batang bakau yang telah dilumatkan dapat menghentikan pendarahan pada luka baru. Daun muda yang digiling, kemudian dikonsumsi, dapat menghentikan pendarahan dan bermanfaat sebagai antiseptik. Air buah dan kulit akar muda bermanfaat sebagai pengusir nyamuk dari tubuh (Kusmana *et al.*, 2003).

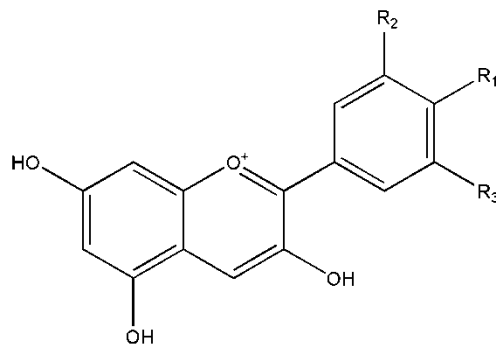
## II.2 Sianidin

Antosianin merupakan zat warna atau pigmen golongan flavonoid yang tersebar luas dalam tanaman, dan ditemukan hampir pada seluruh bagian tanaman. Antosianin bertanggung jawab pada warna merah, biru, dan ungu pada tanaman (Erlidawati *et al.*, 2018). Pada kondisi asam antosianin memiliki stabilitas yang tinggi. Sianidin merupakan salah satu golongan senyawa antosianidin, yang termasuk dalam golongan senyawa flavonoid (Mazza dan Enrico, 1993).



**Gambar 4. Struktur dasar antosianin**  
(sumber : Lee *et al.*, 2005)

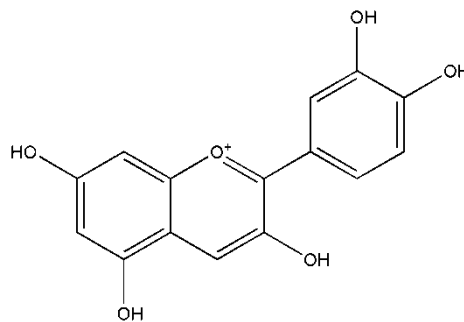
Aglikon antosianin yakni antosianidin akan terbentuk jika antosianin dihidrolisis dengan asam. Secara umum terdapat enam jenis antosianidin antara lain, sianidin, pelargonidin, peonidin, petunidin, malvidin dan delphinidin (Erlidawati *et al.*, 2018).



**Gambar 5. Struktur dasar antosianidin**  
(sumber : Seitz and Hinderer, 1988)

Anthocyanidin	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Pelargonidin	—OH	—H	—H
Cyanidin	—OH	—OH	—H
Delphinidin	—OH	—OH	—OH
Peonidin	—OH	—OCH <sub>3</sub>	—H
Petunidin	—OH	—OH	—OCH <sub>3</sub>
Malvidin	—OH	—OCH <sub>3</sub>	—OCH <sub>3</sub>

**Gambar 6. Pola substitusi pada cincin B dari antosianidin**  
(sumber : Seitz and Hinderer, 1988)



**Gambar 7. Struktur sianidin**  
(sumber : Harborne and Christine, 2001)

### II.3 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan senyawa kimia yang terdapat pada simplisia atau penyarian zat-zat aktif dari bagian tanaman dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi terdiri dari beberapa tahap antara lain, pembuatan serbuk simplisia, pembasahan, penyarian, dan pemekatan (Wewengkang dan Henki, 2021). Adapun beberapa metode ekstraksi sebagai berikut:

#### II.3.1 Maserasi

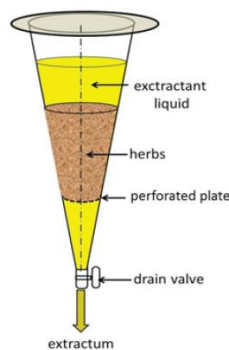
Pada proses ekstraksi secara maserasi, serbuk simplisia disimpan dalam wadah tertutup dan dibiarkan mengalami kontak dengan pelarut, dalam jangka waktu tertentu, disertai dengan proses pengadukan. Metode ekstraksi ini digunakan untuk senyawa kimia tumbuhan yang tidak tahan panas (termolabil) (Julianto, 2019).



**Gambar 8. Ekstraksi maserasi**  
(sumber : Julianto, 2019)

### II.3.2 Perkolasi

Pada proses ekstraksi perkolasi, digunakan perkolator yakni sebuah wadah sempit berbentuk kerucut yang terbuka pada kedua ujungnya. Simplisia serbuk dibasahi dengan sejumlah pelarut dan dibiarkan selama 4 jam dalam wadah tertutup. Kemudian bagian atas perkolator ditutup, pelarut ditambahkan hingga merendam sampel. Campuran sampel dan pelarut selanjutnya diekstraksi dalam wadah perkolator tertutup selama 24 jam. Selanjutnya saluran keluar perkolator dibuka, dan cairan yang terkandung di dalamnya akan menetes secara perlahan (Julianto, 2019).

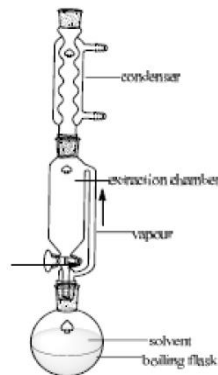


**Gambar 9. Ekstraksi perkolasi**  
(sumber : Julianto, 2019)

### II.3.3 Soxhletasi

Pada proses ekstraksi soxhletasi, dilakukan apabila senyawa yang diinginkan memiliki kelarutan yang terbatas pada pelarut, dan pengotor tidak larut dalam pelarut yang digunakan. Apabila senyawa yang diinginkan memiliki kelarutan tinggi pada pelarut tertentu maka penyaringan sederhana dapat digunakan untuk memisahkan senyawa dari zat yang tidak terlarut.

Kelebihan dari proses ekstraksi soxhletasi yakni proses ekstraksi ini dilakukan dalam satu wadah secara kontinu pelarut yang terkondensasi akan menetes dan merendam sampel dan membawa senyawa terlarut ke dalam labu penampung. Metode ekstraksi soxhletasi tidak dapat digunakan untuk senyawa termolabil disebabkan oleh pemanasan yang berkepanjangan menyebabkan senyawa yang diinginkan dapat terdegradasi (Juliando, 2019).



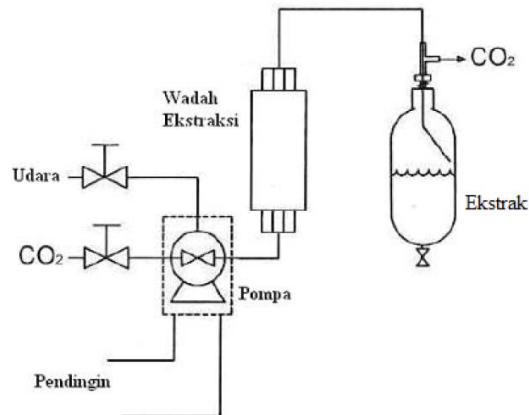
**Gambar 10. Alat ekstraksi soxhletasi**  
(sumber : Juliando, 2019)

### **II.3.4 *Supercritical Fluid Extraction***

Pada proses ekstraksi ini, gas superkritis digunakan untuk mengekstraksi senyawa aktif pada tumbuhan. Adapun contoh gas superkritis antara lain, karbon dioksida, nitrogen, metana, etana, etilen, nitrogen oksida, sulfur oksida, propana, propilena, amonia serta sulfur heksafluorida. Simplisia dimasukkan ke dalam bejana yang berisi gas dalam kondisi suhu dan tekanan yang terkendali. Senyawa aktif yang larut dalam gas akan terpisah ketika suhu dan tekanan lebih rendah. Suhu dan tekanan memiliki pengaruh yang besar. Saat tekanan meningkat, kepadatan tinggi dicapai oleh cairan



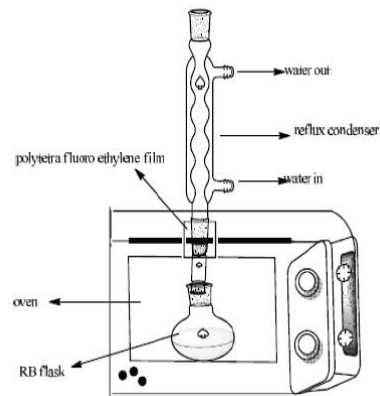
superkritis, demikian densitas medium meningkat dan kelarutan zat terlarut akan meningkat (Julianto, 2019).



**Gambar 11. *Supercritical Fluid Extraction (SFE)***  
(sumber : Julianto, 2019)

### **II.3.5 *Microwave-Assisted Extraction***

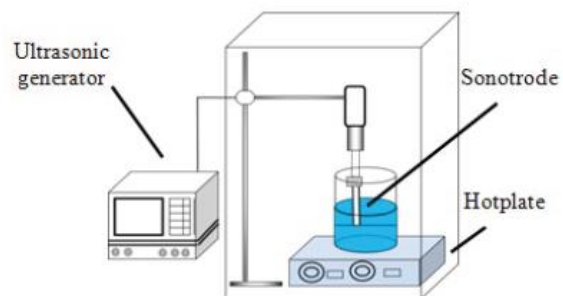
Pada metode ekstraksi ini, proses pemisahan senyawa aktif dari simplisia ke dalam pelarut dibantu dengan energi gelombang mikro (*microwave*). Gelombang mikro memiliki medan listrik, dimana listrik yang dialirkan menghasilkan panas. Meningkatnya konstanta dielektrik pelarut, menyebabkan pemanasan dihasilkan yang semakin cepat. Metode ekstraksi ini memanaskan sampel secara bersamaan. Panas yang dihasilkan selama proses ekstraksi akan mengganggu ikatan hidrogen yang lemah, sehingga meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam sampel (Julianto, 2019).



**Gambar 12. Microwave-Assisted Extraction (MAE)**  
(sumber : Julianto, 2019)

### II.3.6 *Ultrasound-Assisted Extraction*

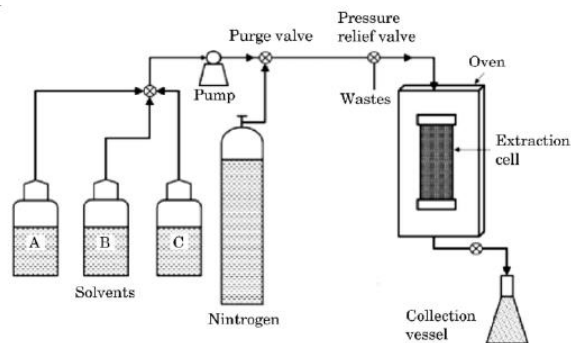
Metode ekstraksi ini, dapat mengekstraksi sejumlah senyawa bioaktif dalam waktu yang lebih singkat. Teknik ekstraksi ini yaitu meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam sampel, yang disebabkan oleh gangguan dinding sel oleh kavitasi akustik (Julianto, 2019).



**Gambar 13. Ultrasound-Assisted Extraction (UAE)**  
(sumber : Julianto, 2019)

### II.3.7 *Acelarated-Assisted Extraction*

Pada metode ekstraksi ini, teknik yang digunakan yakni ekstraksi pelarut dipercepat, dimana pelarut yang digunakan dalam suhu dan tekanan tinggi. Suhu yang tinggi, menyebabkan kapasitas pelarut meningkat untuk melarutkan analit, sehingga tingkat difusi juga meningkat. Suhu yang lebih tinggi, dapat menurunkan viskositas sehingga pelarut dapat menembus pori-pori matriks dengan mudah. Metode ekstraksi ini menggunakan waktu yang singkat dan jumlah pelarut yang lebih sedikit, dengan ukuran sampel 1-100 gram dalam menit (Julianto, 2019).



**Gambar 14. *Acelarated-Assisted Extraction***  
(sumber : Julianto, 2019)

## II.4 KLT – Densitometri

### II.4.1 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu jenis kromatografi planar. KLT merupakan metode yang paling sederhana diantara semua metode kromatografi yang banyak digunakan. Bejana tertutup (*chamber*) yang sesuai berisi pelarut dan pelat atau lempeng KLT merupakan alat dan

bahan yang digunakan dalam pemisahan dan analisis kualitatif maupun semikuantitatif. Pemisahan yang efisien dan dengan kuantifikasi yang akurat dapat diperoleh, dengan dilakukannya optimasi metode dan dengan menggunakan instrumen komersial yang ada. Pemisahan skala preparatif juga dapat menggunakan kromatografi planar, dengan menggunakan lempeng, peralatan, dan teknik khusus (Sherma and Bernard, 2003).

Pemisahan dalam kromatografi didasarkan pada perbedaan distribusi dari campuran komponen diantara dua fase, yakni fase diam (padat atau cair) dan fase gerak (cair atau gas), sehingga terjadi perbedaan migrasi dari komponen tersebut. Perbedaan migrasi terjadi akibat perbedaan tingkat afinitas masing-masing komponen dalam fase diam dan gerak. Sifat fisika dan kimia dari senyawa menentukan afinitasnya (Wulandari, 2011).

Interaksi yang terjadi pada analit dengan fase diam dan gerak, bergantung pada jenis fase diam yang digunakan. Salah satu metode pemisahan pada kromatografi yakni pemisahan berdasarkan polaritas, dimana senyawa-senyawa akan mengalami pemisahan karena adanya perbedaan polaritas. Afinitas analit didasarkan atas kedekatan polaritas analit terhadap fase diam dan fase gerak (*like dissolve like*). Dimana analit akan cenderung larut pada fase yang memiliki polaritas sama. Analit akan terpartisi antara dua fase yaitu fase padat-cair dan fase cair-cair. Antara fase padat dan cair, analit akan terpartisi, dimana faktor utama pemisahannya yakni adsorpsi. Antara fase cair dan fase cair, faktor pemisahan didasarkan atas

kelarutannya. Prinsip pemisahan analit karena afinitasnya pada fase padat dan cair adalah adsorpsi, sedangkan pemisahan analit karena afinitasnya pada fase cair dan cair disebut dengan partisi (Wulandari, 2011).

Nilai  $R_f$  (*Retardation Factor*) adalah parameter yang digunakan untuk menyatakan posisi noda pada fase diam setelah dilakukan elusi. Nilai  $R_f$  menggambarkan migrasi senyawa pada KLT. Nilai  $R_f$  yang baik berkisar pada 0,2 – 0,8. Nilai  $R_f$  ditentukan dengan cara menghitung perbandingan jarak migrasi noda analit dengan jarak migrasi fase gerak, adapun rumus yang digunakan untuk menghitung nilai  $R_f$ , sebagai berikut:

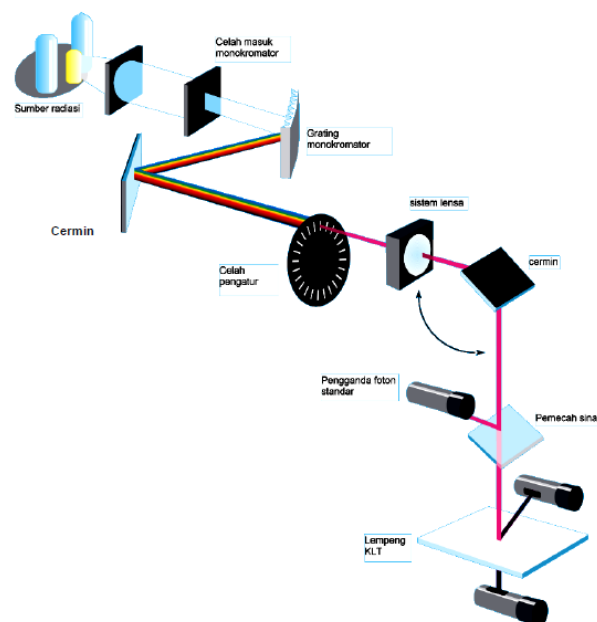
$$Retardation\ Factor = \frac{\text{Jarak migrasi analit}}{\text{Jarak migrasi eluen}} \quad (\text{Wulandari, 2011}).$$

#### **II.4.2 Densitometri**

Densitometri adalah salah satu metode analisis instrumental, untuk penentuan analit baik secara kualitatif maupun kuantitatif, yang didasarkan pada interaksi radiasi elektromagnetik (REM) dengan noda analit pada fase diam KLT (lempeng), dimana metode ini disebut sebagai metode KLT – Densitometri. Analisis kualitatif analit pada KLT – Densitometri diperoleh dari perbandingan nilai  $R_f$  analit dengan standar. Noda analit yang memiliki nilai  $R_f$  yang sama dengan standar, kemudian diidentifikasi kemurniannya dengan membandingkan spektrum densitometri analit dan standar. Analisis kuantitatif analit diperoleh dari perbandingan luas area noda analit dengan luas area noda standar pada fase diam yang diketahui konsentrasinya, atau

menghitung perbandingan densitas noda analit dengan noda standar (Wulandari, 2011).

Interaksi radiasi elektromagnetik (REM) adalah intensitas cahaya yang mengenai senyawa pada noda. Interaksi radiasi elektromagnetik dengan noda pada lempeng KLT menentukan intensitas cahaya yang diabsorpsi, ditransmisi, dan dipantulkan oleh noda analit dari intensitas semula. Apabila tidak terdapat noda pada lempeng KLT, maka cahaya akan dipantulkan kembali. Akan tetapi jika cahaya mengenai lempeng KLT yang memiliki noda, maka sebagian cahaya akan diserap, dan intensitas cahaya yang dipantulkan akan berbeda dengan intensitas yang datang (Wulandari, 2011).



(sumber : Wulandari, 2011)

**Gambar 15. Skema sistem optik densitometer**

Gambar di atas merupakan skema proses sistem optik densitometer, dimana sinar polikromatik yang dipancarkan akan masuk dan melewati celah

monokromator, kemudian sinar didispersikan menjadi sinar monokromatik. Sinar monokromatik dengan panjang gelombang terpilih selanjutnya akan keluar pada celah monokromator. Sinar monokromatik dengan panjang gelombang yang terpilih akan dipantulkan melalui cermin dan mengenai objek (lempeng KLT). Sinar tersebut dapat direfleksikan maupun diteruskan, dimana sinar yang direfleksikan atau diteruskan akan ditangkap oleh pengganda foton (*photomultiplier*) yang akan menggandakan sinar yang datang sehingga elektron yang dihasilkan terbaca oleh sistem pada komputer sebagai data output (Wulandari, 2011).

Adapun beberapa keunggulan penetapan kadar menggunakan metode KLT-Densitometri antara lain, dengan penggunaan fase gerak yang sedikit menjadikan metode ini lebih ekonomis, waktu analisis relatif lebih singkat, dan biaya operasional relatif lebih murah (Najib, 2018).

## **II.5 Validasi Metode Analisis**

Validasi metode analisis penting dilakukan dengan tujuan untuk memastikan bahwa metode yang akan digunakan dapat menghasilkan data yang valid dan telah sesuai dengan tujuan analisis. Adapun metode kuantitatif memiliki beberapa parameter untuk pengujian validasi antara lain, linearitas, akurasi, presisi, batas deteksi (LOD), batas kuantitasi (LOQ), dan lain-lain (Riyanto, 2016).

### II.5.1 Linearitas

Linearitas menggambarkan kemampuan suatu metode analisis dalam memberikan respon yang proporsional terhadap konsentrasi analit yang terdapat dalam sampel. Pada pengujiannya digunakan seri konsentrasi larutan yang berbeda antara 50 – 150% kadar analit pada sampel. Nilai koefisien korelasi ( $r$ ) digunakan sebagai parameter adanya hubungan linier pada analisis regresi linier  $y = a + bx$ . ( $y$  adalah respon instrumen,  $a$  adalah intersep,  $b$  adalah slope dan  $x$  adalah konsentrasi analit) (Riyanto, 2016).

### II.5.2 Akurasi

Akurasi merupakan parameter yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit sebenarnya. Akurasi selanjutnya dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*). Penentuan akurasi dapat dilakukan dengan dua cara yakni metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) atau metode penambahan baku (*standard addition method*). Pada kedua metode ini, akurasi dinyatakan sebagai rasio antara hasil yang diperoleh dengan hasil yang sebenarnya (Riyanto, 2016). Dari kedua metode tersebut, persen perolehan kembali dinyatakan sebagai rasio antara hasil yang diperoleh dengan hasil yang sebenarnya.

Nilai rentang kesalahan yang diizinkan pada setiap konsentrasi analit pada matriks sebagai berikut (Harmita, 2004) :



**Tabel 1. Rentang kesalahan yang diizinkan pada setiap konsentrasi analit pada matriks analit pada matriks sampel**

<b>Analit pada matriks sampel (%)</b>	<b>Rata-rata yang diperoleh (%)</b>
100	98 – 102
>10	98 – 102
>1	97 – 103
>0,1	95 – 105
0,01	90 – 107
0,001	90 – 107
0,0001 (1 ppm)	80 – 110
0,00001 (100 ppb)	80 – 110
0,000001 (10 ppb)	60 – 115
0,0000001 (1 ppb)	40 – 120

(Harmita, 2004).

### **II.5.3 Presisi**

Presisi merupakan parameter yang menunjukkan ukuran derajat kesesuaian antara hasil uji individual, yang diukur melalui penyebaran hasil uji individual jika diterapkan prosedur yang berulang pada sampel dari campuran yang homogen. Presisi selanjutnya diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). Presisi diterima jika metode memberikan nilai simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi sebesar 2% atau kurang, akan tetapi nilai ini fleksibel tergantung konsentrasi analit yang dianalisis. Nilai koefisien variasi akan meningkat seiring dengan menurunnya kadar analit yang dianalisis (Riyanto, 2016).

Presisi dapat dihitung dengan cara sebagai berikut:

$$RSD < 2^{(1-0,5 \log c)}$$

c = Konsentrasi analit sebagai fraksi desimal (misalnya untuk larutan konsentrasi 0,1% maka nilai c = 0,001) (Harmita, 2004).

#### II.5.4 Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas deteksi (LOD) merupakan parameter yang menunjukkan jumlah terkecil analit yang terdapat pada sampel yang masih dapat dideteksi dan memberikan respon yang signifikan. Batas kuantitasi (LOQ) merupakan parameter yang menunjukkan kuantitas terkecil analit yang terdapat pada sampel yang masih memenuhi kriteria cermat dan seksama.

Batas deteksi dan batas kuantitasi dapat diperoleh dari persamaan regresi linear dari kurva baku hasil pengujian linearitas (Choi *et al.*, 2015).

LOD dan LOQ dapat dihitung dengan rumus dibawah ini:

$$Q = \frac{K \times S_b}{S_l}$$

Keterangan:

Q = LOD atau LOQ

K = 3 untuk LOD dan 10 untuk LOQ

S<sub>b</sub> = Simpangan baku respon analitik dari blanko

S<sub>l</sub> = Slope (b) pada persamaan garis  $y = a + bx$

(Susanti dan Dachriyanus, 2017).

## **BAB III**

### **METODE KERJA**

#### **III.1 Alat dan Bahan**

##### **III.1.1 Alat**

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, alat-alat gelas (Pyrex<sup>®</sup>), ayakan nomor 18 (MBT<sup>®</sup>), *chamber* (Camag<sup>®</sup>), eksikator, lampu UV, mikropipet (Socorex<sup>®</sup>), oven (Selecta<sup>®</sup>), seperangkat alat KLT – Densitometer (Camag<sup>®</sup>), penghancur sampel (B-one<sup>®</sup>), sonikator (Branson<sup>®</sup>), dan timbangan analitik (Denver<sup>®</sup>)

##### **III.1.2 Bahan**

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, Aquadest, asam asetat (Merck<sup>®</sup>), asam format (Merck<sup>®</sup>), asam klorida (Merck<sup>®</sup>), baku kerja *Cyanidin 3-glucoside chloride*, ekstrak kulit batang bakau, etil asetat (Merck<sup>®</sup>), metanol (Merck<sup>®</sup>), dan lempeng silika F254 (Merck<sup>®</sup>).

#### **III.2 Metode Kerja**

##### **III.2.1 Pengambilan dan Penyiapan Sampel**

###### **III.2.1.1 Pengambilan Sampel**

Sampel kulit batang bakau diambil dari pulau Tibi, kabupaten Bulungan, provinsi Kalimantan Utara. Sampel kulit batang dipisahkan dari batang bakau, kemudian sampel disortasi basah.