

**PENETAPAN PARAMETER STANDAR MUTU SPESIFIK  
EKSTRAK ETANOL KLIKA ONGKEA  
(*Mezzettia parviflora* Becc.)**



**HUSNI KURNIA H.  
H51104039**



Tempo	24-11-09
Tempo	FARMASI
Tempo	LEKS
Tempo	Hadiing
Tempo	SKR - FOB
Tempo	KUR
Tempo	P

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2008**

PENETAPAN PARAMETER STANDAR MUTU SPESIFIK  
EKSTRAK ETANOL KLIKA ONGKEA  
(*Mezzettia parviflora* Becc.)

SKRIPSI

Untuk melengkapi tugas – tugas dan memenuhi syarat – syarat untuk  
mencapai gelar sarjana

HUSNI KURNIA H.  
H51104039

PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2008

PENETAPAN PARAMETER STANDAR MUTU SPESIFIK  
EKSTRAK ETANOL KLIKA ONGKEA  
(*Mezettia parviflora* Becc.)

HUSNI KURNIA H.  
H51104039

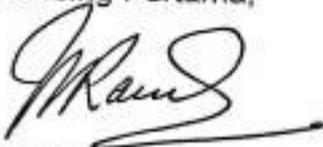
Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,



Mufidah, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 132 240 180

Pembimbing Pertama,



Dra. Hj. Naimah Ramli, Apt.  
NIP. 130 808 594

Pembimbing Kedua,



Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt.  
NIP. 131 637 601

Pada tanggal

## UCAPAN TERIMA KASIH



Alhamdulillah, kata yang penulis panjatkan kehadiran Allah Subhanahu wa Ta'ala atas segala rahmat, kasih sayang, perlindungan dan karunia-Nya yang tak terhitung banyaknya, penguasa segala ilmu pengetahuan sehingga dengan ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini. Salawat dan salam kepada junjungan Nabi Muhammad Shallallahu 'alaihi wasallam, para sahabat dan keluarga.

Skripsi dengan judul "Penetapan Parameter Standar Mutu Spesifik Ekstrak Etanol Klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.)" ini disusun sebagai salah satu syarat dalam mencapai gelar kesarjanaan pada Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin.

Penulis sungguh menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini banyak menghadapi kendala. Namun berkat dukungan dan bantuan berbagai pihak, penulis dapat melewati kendala-kendala tersebut. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada Ibu Mufidah, S.Si., M.Si., Apt. sebagai pembimbing utama, Ibu Dra. Hj. Naimah Ramli, Apt. sebagai pembimbing pertama, dan Ibu Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt. sebagai pembimbing kedua, atas waktu dan tenaga yang diluangkan dalam memberikan arahan dan bimbingan kepada penulis dalam menyusun skripsi ini.

Demikian pula penulis menyampaikan terima kasih kepada Dekan Fakultas Farmasi UNHAS beserta seluruh staf dan jajaran atas fasilitas,

dukungan, bantuan dan kerja sama sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini.

Selanjutnya untuk kawan - kawan yang saya banggakan keluarga besar capsule'04 terima kasih atas begitu banyaknya kisah menarik sejak kebersamaan agustus 2004 hingga kini dan tidak akan hilang ditelan waktu. Untuk kakak angkatan 2003 dan 2002 serta adik angkatan terima kasih atas dukungan dan bantuannya.

Dan terakhir untuk kedua mahluk mulia ciptaan-Nya yang paling penulis sayangi setelah Rasulullah, orang tua tercinta, Ayahanda Muh. Husain Iskandar dan Ibunda Niswah Oddi BM. Terima Kasih atas doa – doa yang engkau panjatkan disetiap sujudmu untuk kebaikanku. Serta terima kasih untuk saudara-saudaraku tersayang kak Asrul, dik Khairun dan dik Didil yang selalu memberi semangat dan menghibur dikala jenuh. Penulis menyadari bahwa karya kecil ini masih membutuhkan kritik dan saran konstruktif untuk menuju kesempurnaan. Semoga setiap yang kita kerjakan bernilai keberkahan disisi-Nya dan bermanfaat bagi semua, khususnya bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Amin.

Makassar, Juli 2008

Penyusun

## ABSTRAK

Telah dilakukan penetapan parameter standar mutu spesifik ekstrak etanol klika ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) Di dalam studi ini, dilakukan standardisasi ekstrak klika ongkea yang diperoleh dari tiga lokasi di Sulawesi Tenggara, yaitu Batanga, Pasarwajo dan Bungi. Ekstrak yang diperoleh berupa serbuk coklat kemerah-merahan, berbau khas, dan berasa agak sepat. Kisaran kadar senyawa yang larut dalam air 29,67% - 39,03% dan kisaran senyawa yang larut dalam etanol 51,58% - 67,95%. Sedangkan kisaran kadar total polifenol yaitu 67,91% - 79,25%. Ada 12 bercak yang terdeteksi oleh KLT-densitometer dan bercak 2 ( $R_f$  0,88) terdeteksi pada keempat fraksi (hexan, etil asetat, etanol, dan air). Oleh karena itu, bercak 2 dapat diteliti lebih lanjut sebagai senyawa identitas untuk ongkea.

Kata kunci : Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc), ekstrak, standar mutu spesifik

## ABSTRACT

Has been done the stipulating of specific quality standard parameter of the dried of ethanolic extract of ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc). In this study we standardized the ethanolic extract of ongkea which collected from three locations in South-east Sulawesi, i.e. Batanga, Pasarwajo and Bungi. The extract was the reddish brown powder, odour characteristic, and slightly bitter taste. The range of compound rate dissolving in water 29.67%-39.03% while the range of compound rate dissolving in ethanol 51.58%-67.95%. Whereas the total polyphenolic compound rate i.e. 67.91% - 79.25%. There are 12 spots identified by TLC-densitometer and the spot 2 (Rf 0.88) was identified in all of successively partition result (i.e. hexan, ethyl acetate, ethanol, and water) therefore the spot 2 could be studied furthermore as identity compound for ongkea.

Key word : Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.), extract, specific quality standard

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	4
II.1 Uraian Tanaman Ongkea.....	4
II.1.1 Taksonomi .....	4
II.1.2 Nama Lain .....	4
II.1.3 Morfologi Tanaman.....	5
II.1.4 Mikroskopik Tanaman.....	7
II.1.5 Kandungan Kimia .....	7
II.1.6 Kegunaan Tanaman .....	8
II.1.7 Data Ekologi .....	8
II.2 Ekstraksi .....	8

II.2.1 Defenisi Ekstrak.....	8
II.2.2 Faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak.....	9
II.2.3 Tujuan Ekstraksi.....	10
II.2.4 Jenis – jenis Ekstraksi.....	10
II.2.5 Maserasi.....	10
II.2.6 Proses Pembuatan Ekstrak .....	12
II.3 Kromatografi Lapis Tipis .....	14
II.4 Densitometer .....	17
II.5 Spektrofotometri Ultraviolet.....	18
II.6 Standardisasi .....	20
II.6.1 Parameter Standar Mutu Spesifik.....	21
II.6.1.1 Parameter Identitas Ekstrak.....	21
II.6.1.2 Parameter Organoleptik Ekstrak.....	21
II.6.1.3 Parameter Senyawa Terlarut dalam Pelarut Tertentu.....	21
II.6.1.4 Parameter Kandungan Kimia Ekstrak .....	21
II.6.1.5 Parameter Kadar Kandungan Kimia Tertentu .....	22
II.7 Polifenol.....	22
II.7.1 Analisis Polifenol.....	23
<b>BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN .....</b>	<b>26</b>
III.1 Alat dan Bahan yang digunakan .....	26
III.2 Penyiapan sampel .....	26
III.2.1 Pengambilan Sampel.....	26
III.2.2 Pengolahan Sampel.....	26

III.3 Ekstraksi dengan etanol.....	27
III.4 penetapan parameter spesifik.....	27
III.4.1 Parameter Identitas Ekstrak.....	27
III.4.2 Parameter Organoleptik.....	27
III.4.3 Parameter Senyawa Terlarut dalam Pelarut Tertentu.....	27
III.4.3.1 Kadar Senyawa Terlarut dalam Air .....	27
III.4.3.2 Kadar Senyawa terlarut dalam Etanol.....	28
III.4.4 Uji Kandungan Kimia Ekstrak .....	28
III.4.4.1 Kromatografi Lapis Tipis .....	28
III.4.4.2 Densitometer .....	28
III.4.5 Kadar Total Golongan Kandungan Kimia.....	29
III.4.5.1 Uji Kadar Total Polifenol .....	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	31
IV.1 Hasil Penelitian.....	31
IV.2 Pembahasan .....	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	37
V.1 Kesimpulan.....	37
V.2 Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA.....	39
LAMPIRAN .....	48

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Uji Organoleptik Ekstrak Etanol Klika Ongkea .....	42
2. Data Jumlah Ekstrak yang Larut dalam Etanol .....	43
3. Data Jumlah Ekstrak yang Larut dalam Air.....	44
4. Hasil Pengukuran KLT Densitometri Klika Ongkea.....	45
5. Nilai Serapan Asam Tannat.....	46
6. Nilai Serapan sampel Klika Ongkea .....	46
7. Hasil Perhitungan Kadar Total Polifenol .....	47

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Mezzettia parviflora</i> Becc. ....	6
2. Penampang Melintang <i>Mezzettia parviflora</i> Becc.....	7
3. Kromatografi Lapis Tipis.....	15
4. Kromatografi Lapis Tipis.....	16
5. Skema Mekanisme Kerja Spektrofotometer .....	19
6. Profil KLT Klika Ongkea (fase diam silika G-60 RP18 F <sub>254</sub> fase gerak metanol 80% visualisasi FeCl <sub>3</sub> ) .....	32
7. Kurva Baku Asam Tannat Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis ..	50
8. Kromatogram Lapis Tipis Densitometri Fraksi Air .....	52
9. Kromatogram Lapis Tipis Densitometri Fraksi Etanol.....	52
10. Kromatogram Lapis Tipis Densitometri Fraksi Etil Asetat.....	53
11. Kromatogram Lapis Tipis Densitometri Fraksi Heksan.....	53
12. Foto Daun <i>Mezzettia parviflora</i> Becc.....	54
13. Foto Buah <i>Mezzettia parviflora</i> Becc.....	54
14. Foto Buah <i>Mezzettia parviflora</i> Becc.....	55

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Penetapan Parameter Standar Mutu Spesifik Ekstrak Etanol Klika Ongkea ( <i>Mezzettia parviflora</i> Becc.).....	48
2. Contoh Perhitungan Jumlah Ekstrak Etanol Klika Ongkea ( <i>Mezzettia parviflora</i> Becc.) yang Terlarut dalam Pelarut Tertentu .....	49
3. Contoh Perhitungan Kadar Total Golongan Polifenol.....	50

## BAB I

### PENDAHULUAN

Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc). merupakan jenis dari suku Annonacea. Suku ini menghasilkan berbagai senyawa di antaranya alkaloid yang hampir semua dalam kelompok isokuinolin dan senyawa nonalkaloid, seperti terpenoid dan flavonoid di samping asam amino, protein, karbohidrat, dan lemak(1). *Mezzettia* mencakup empat spesies dan awalnya ditemukan terdistribusi di Pulau Andaman, Semenanjung Thailand, Semenanjung Malaysia, Sumatera, Kalimantan dan Maluku(2).

Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.) adalah salah satu spesies dari *Mezzettia* sp. yang telah digunakan secara empirik oleh masyarakat Buton sebagai obat untuk penyakit diabetes mellitus, asma, kolesterol, tekanan darah tinggi, kanker, dan dapat menurunkan bobot badan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa klica ongkea memiliki kemampuan sebagai antiradikal bebas, antimitotik, dan penghambatan terhadap enzim cyclooxygenase(3,4,5). Di samping itu kayunya telah dilaporkan melalui perlakuan dapat dengan mudah menyerap pengawet ACC (Arsenic Copper Chrome) sejumlah 430 kg/m<sup>3</sup>. Ekstrak kayu *Mezzettia* juga telah dilaporkan bersifat insektisidal: serangga *Cryptoterme cynocephalus* yang dipaparkan dengan paper filter yang telah diberi perlakuan ekstrak kayu menunjukkan angka kematian 55 – 75 % setelah 8 minggu(2).

Ekstrak tumbuhan obat yang dibuat dari simplisia nabati dapat dipandang sebagai bahan awal, bahan antara ataupun bahan baku produk jadi. Ekstrak sebagai bahan awal dianalogikan dengan komoditi bahan baku obat yang dengan teknologi fitofarmasi diproses menjadi produk jadi. Ekstrak sebagai bahan antara berarti masih menjadi bahan yang dapat diproses lagi menjadi fraksi – fraksi, isolat senyawa tunggal atau tetap sebagai campuran dengan ekstrak lain. Sedangkan ekstrak sebagai produk jadi berarti ekstrak yang berada dalam sediaan obat jadi siap digunakan oleh penderita. Kekonstanan kadar senyawa aktif merupakan syarat mutlak mutu ekstrak yang diproduksi(6).

Ekstrak sebagai bahan dan produk dibuat dari simplisia. Simplisia yang merupakan produk tentu saja kandungan kimianya tidak dapat dijamin kekonstanannya disebabkan berbagai faktor(7). Penelitian terhadap parameter identifikasi secara fisik dan kimia beberapa ekstrak tanaman obat perlu dilakukan mengingat, parameter ekstrak secara resmi belum ditetapkan, padahal produk-produk obat tradisional/ jamu saat ini banyak yang menggunakan bahan baku berupa ekstrak bahkan menurut ketentuan pemerintah harus menggunakan bahan baku berupa ekstrak(8). Oleh karena itu, untuk menjamin produk akhir mempunyai nilai parameter tertentu yang konstant terlebih dahulu diperlukan suatu proses standardisasi(9).

Ekstrak dapat dikarakterisasi menggunakan metode Penetapan Parameter Standar Umum Ekstrak Tanaman Obat dari Badan POM(10).

Persyaratan mutu ekstrak terdiri dari parameter standar non spesifik dan parameter standar spesifik. Parameter spesifik sebagian besar berupa analisis kimia yang memberikan informasi komposisi senyawa kandungan jenis dan kadar(6).

Penelitian ini merupakan langkah awal dalam penyiapan ekstrak terstandar untuk pengembangan sebagai bahan baku obat sehingga lebih dapat diterima terutama pada pengobatan modern atau sebagai fitofarmaka dari tumbuhan obat indonesia yang memenuhi syarat mutu, aman, dan bermanfaat.

**BAB II**  
**TINJAUAN PUSTAKA**

**II.1 Uraian Tanaman Ongkea**

**II.1.1 Taksonomi**

Regnum	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Anakdivisio	: Angiospermae
Kelas	: <b>Dicotyledoneae</b>
Anakkelas	: <b>Magnoliidae/Sympetalae</b>
Bangsa	: Magnoliales
Suku	: Annonaceae
Marga	: Mezzettia
Jenis	: <i>Mezzettia parviflora</i> Becc.(11)

**II.1.2 Nama Lain**

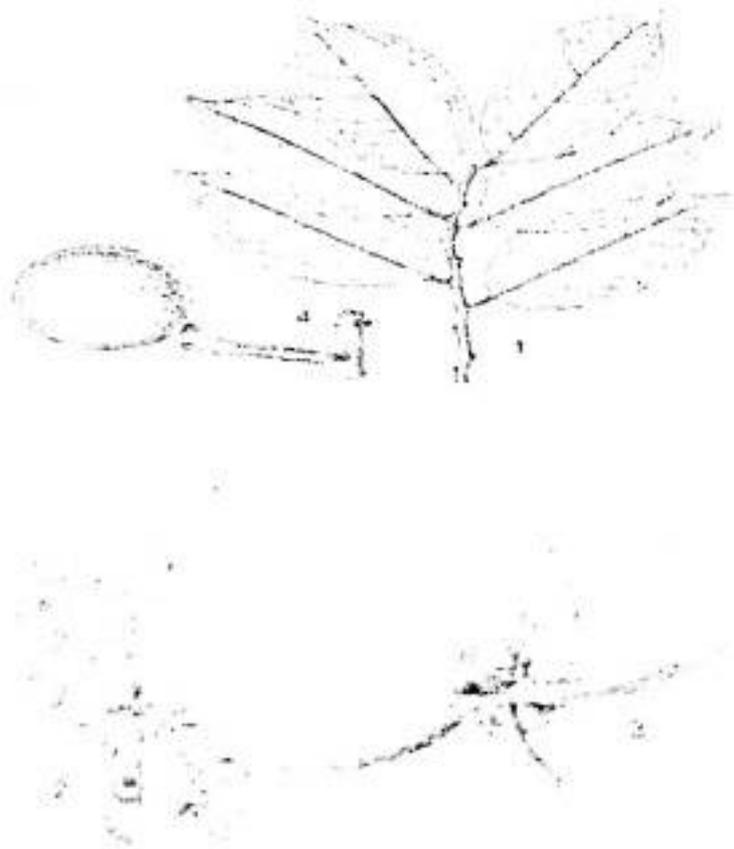
Nama daerah	:
Buton	: Ongkea
Palembang	: Makai
Bangka	: Limang
Serawak	: Kepayang babi
Sabah	: Karai
Nama dagang	: Mempisang(2, 12, 13)

### II.1.3 Morfologi Tanaman

Merupakan pohon yang selalu hijau pada tiap musim dengan ukuran kecil sampai besar ketinggian hingga 45 m, batang bulat lurus silindris, bagian yang tidak bercabang hingga 25 m, diameter dapat mencapai 80(-110) cm. Permukaan kulit batang kasar dengan retakan yang tidak teratur, mudah mengelupas, warna abu – abu ke coklat, kulit batang bagian dalam berserat berwarna coklat jingga dengan garis gelap antara kulit batang dalam dan luar(2,13).

Daun – daunnya distikus ( teratur secara beurutuan dalam 2 baris vertikal yang berlawanan), permukaan kasar, ujung daun tumpul, berwarna hijau dan abu – abu pada permukaan bawah. Bunga terletak pada fasikel aksilla, biseksual; jumlah sepal 3, tepi saling bersebelahan dan tidak tumpang tindih; jumlah petal 6 dalam 2 set lingkaran, saling bersebelahan tidak tumpang tindih, set lingkaran bagian dalam lebih kecil dari set lingkaran luar, warna hijau kekuningan; jumlah stamen 9-12 dalam 2 sampai 3 lingkaran; jumlah karpel 1 dengan 2 sel telur melapisi menuju ke dalam stigma. Buahnya apocarpus, bagian tunggal monocarpus sessil atau tipe singkat, bundar hingga elips atau obovoid, dengan dinding berkayu; bijinya mulus, pipih pada salah satu sisi dengan keras. Biji yang disemaikan menunjukkan tipe perkecambaan epigeal,

bagian kotiledon tidak muncul dan hipokotil memanjang, semua daun yang terbentuk distikus(2).



Gambar 1. *Mezzettia parviflora* Becc.(2)

Keterangan:

1. ranting dan daun
2. susunan bunga di tangkai
3. bunga
4. buah

*Mezzettia* mempertahankan monopordial arsitektur bahkan ketika dewasa. *Mezzettia* dapat dengan mudah dibedakan dari *Annonaceae* jenis lainnya oleh karpelnya yang tunggal dimana tidak ada genus lain di dalam keluarga ini yang demikian(2).

#### II.1.4 Mikroskopik tanaman



Gambar 2. Penampang Melintang *Mezzettia parviflora* Becc.(x20)(2)

Batas – batas cincin pertumbuhan tampak/tidak tampak, porous kayu menyebar, lempeng perforasi sederhana, lubang intervessel mengalami perubahan, bentuk lubang yang mengalami perubahan poligonal, kecil (4-7), medium(7-10), batas lubang saluran vessel tidak jelas, sama dengan lubang intervessel dalam ukuran dan bentuk karena sel pengangkut(2),

#### II.1.5 Kandungan Kimia

Hampir semua alkaloid yang terdapat pada Annonaceae adalah kelompok isokuinolin. Annonaceae juga menghasilkan berbagai senyawa nonalkaloid, seperti terpenoid dan flavonoid disamping asam amino, protein, karbohidrat, dan lemak(1).

### II.1.6 Kegunaan Tanaman

*Mezzetia parviflora* Becc. telah digunakan secara empirik oleh masyarakat buton sebagai obat diabetes mellitus, asma, kolesterol, tekanan darah tinggi, kanker, dan dapat menurunkan bobot badan.

### II.1.7 Data Ekologi

Spesies *mezzettia* tumbuh pada kondisi lembab, di dataran rendah-hutan hujan, kemiringan hingga 500(-1000) m. Biasanya ditemukan pada hutan *disterocarp* atau hutan rawa pada dataran menengah ataupun perbukitan, sering pada tanah kompos atau tanah berpasir yang *podzolis*. Dapat menyebar melalui biji. Biji *M. parviflora* menunjukkan dengan atau tanpa disemaikan memperlihatkan 15-20% perkecambahan dalam 2,5 – 4,5 bulan(2).

## II.2 Ekstraksi

### II.2.1 Definisi Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari *simplisia nabati* atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung(14).

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari *simplisia nabati* atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dari massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan(15).

## II.2.2 Faktor yang Mempengaruhi Mutu Ekstrak

Faktor biologi yang mempengaruhi mutu ekstrak meliputi beberapa hal yaitu :

1. Identitas jenis (spesies): jenis tumbuhan dari sudut keragaman hayati dapat dikonfirmasi sampai informasi genetik sebagai faktor internal untuk validasi jenis (species).
2. Lokasi tumbuhan asal: lokasi berarti faktor eksternal yaitu lingkungan (tanah dan atmosfer) dimana tumbuhan berinteraksi berupa energi (cuaca, temperatur, cahaya), dan materi (air, senyawa organik, dan anorganik).
3. Periode pemanenan hasil tumbuhan
4. Penyimpanan bahan tumbuhan
5. Umur tumbuhan dan bagian yang digunakan

Selain kelima faktor tersebut untuk bahan tumbuhan dari hasil budaya ada lagi faktor GAP (Good Agriculture Practice) sedangkan untuk bahan dari tumbuhan liar (wild crop) ada faktor kondisi proses pengeringan yang umumnya dilakukan di lapangan(6).

Sedangkan faktor kimia baik untuk bahan dari tumbuhan liar maupun dari tumbuhan obat hasil budidaya meliputi beberapa hal, yaitu:

1. Faktor internal meliputi jenis senyawa aktif, komposisi kuantitatif senyawa aktif, komposisi kualitatif senyawa aktif dan kadar total rata – rata senyawa aktif.

2. Faktor eksternal meliputi metode ekstraksi perbandingan ukuran alat ekstraksi, ukuran kekerasan dan kekeringan bahan, pelarut yang digunakan, kandungan logam berat, kandungan pestisida(6).

### **II.2.3 Tujuan Ekstraksi**

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik dan memisahkan senyawa yang mempunyai kelarutan berbeda-beda dalam berbagai pelarut komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam baik dari tumbuhan, hewan, dan biota laut dengan menggunakan pelarut organik tertentu. Proses ekstraksi ini didasarkan pada kemampuan pelarut organik untuk menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel secara osmosis yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dalam pelarut organik dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara di dalam dan di luar sel, mengakibatkan terjadinya difusi pelarut organik yang mengandung zat aktif keluar sel. Proses ini berlangsung terus menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel(6, 16).

### **II.2.4 Jenis – Jenis Ekstraksi**

Metode ekstraksi menggunakan pelarut dapat dilakukan secara dingin yaitu maserasi dan perkolasi, dan secara panas yaitu refluks, soxhlet, digesti, infus, dan dekok(6).

### **II.2.5 Maserasi**

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau

pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya(16).

Metode maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang diluar sel, maka larutan yang terpekat di desak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar sel dan didalam sel. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, stiraks dan lain-lain. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan(17).

Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol atau pelarut lain. Bila cairan penyari digunakan air maka untuk mencegah timbulnya kapang, dapat ditambahkan bahan pengawet, yang diberikan pada awal penyarian. Maserasi pada umumnya dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok kedalam sebuah bejana, ditambahkan dengan 75 bagian penyari, dan

ditutup, serta dibiarkan selama 5 hari, terlindung dari cahaya sambil sekali-kali diaduk. Setelah 5 hari sari diserakai, ampas diperas. Ampas ditambah cairan penyari secukupnya kemudian diaduk dan diserakai, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Bejana kemudian ditutup dan dibiarkan ditempat sejuk, terlindung dari cahaya, selama 2 hari. Kemudian endapan dipisahkan(17).

Pada penyarian dengan cara maserasi, perlu dilakukan pengadukan. Pengadukan diperlukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar butir serbuk simplisia, sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel. Hasil penyarian dengan cara maserasi perlu dibiarkan selama waktu tertentu. Waktu tersebut diperlukan untuk mengendapkan zat-zat yang tidak diperlukan tetapi ikut terlarut dalam cairan penyari seperti malam dan lain - lain(17).

#### **II.2.6 Proses Pembuatan Ekstrak**

Proses awal pembuatan ekstrak adalah tahapan pembuatan serbuk simplisia kering menggunakan peralatan tertentu sampai derajat kehalusan tertentu. Pada pemilihan cairan pelarut faktor utama adalah sebagai berikut: selektivitas, kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut, ekonomis, ramah lingkungan, dan keamanan(6).

Tahapan separasi dan pemurnian bertujuan menghilangkan/memisahkan senyawa yang tidak dikehendaki semaksimal mungkin tanpa berpengaruh pada senyawa kandungan yang dikehendaki sehingga diperoleh ekstrak yang lebih murni. Pemekatan berarti peningkatan jumlah senyawa terlarut secara penguapan pelarut tanpa sampai menjadi kondisi kering, ekstrak hanya menjadi kental(6).

Pengeringan berarti menghilangkan pelarut dari bahan sehingga menghasilkan serbuk, massa kering-rapuh, tergantung proses dan peralatan yang digunakan(6). Pengeringan beku (*freeze drying*) adalah salah satu metoda pengeringan yang mempunyai keunggulan dalam mempertahankan mutu hasil pengeringan, khususnya untuk produk-produk yang sensitif terhadap panas. Keunggulan pengeringan beku dibandingkan metoda lainnya, antara lain adalah :

- a. dapat mempertahankan stabilitas produk (menghindari perubahan aroma, warna, dan unsur organoleptik lain)
- b. dapat mempertahankan stabilitas struktur bahan (pengkerutan dan perubahan bentuk setelah pengeringan sangat kecil).
- c. dapat meningkatkan daya rehidrasi (hasil pengeringan sangat berongga dan *lyophile* sehingga daya rehidrasi sangat tinggi dan dapat kembali ke sifat fisiologis, organoleptik dan bentuk fisik yang hampir sama dengan sebelum pengeringan(18).

### II.3 Kromatografi Lapis Tipis

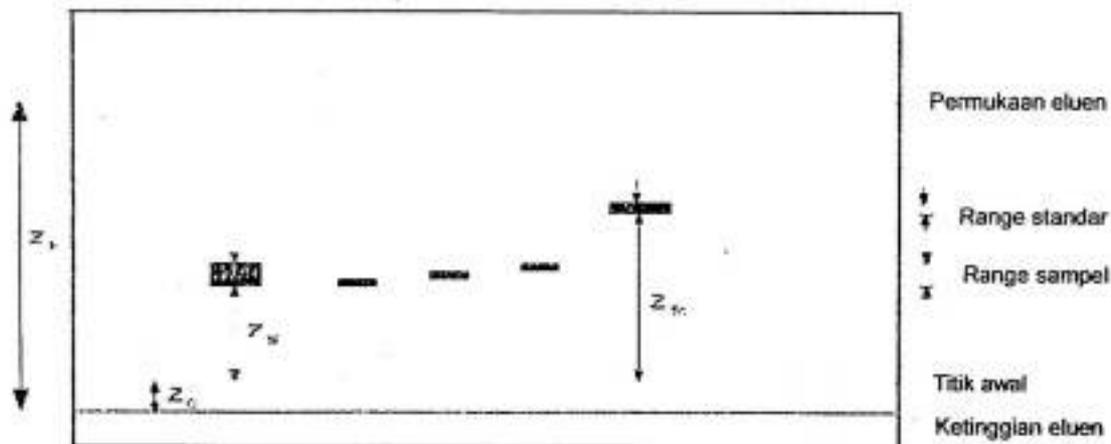
Kromatografi berarti suatu metoda analisa di mana suatu fase mobil melewati fase diam melalui tahapan sedemikian rupa sehingga suatu campuran unsur dipisahkan ke dalam berbagai komponen. Istilah Kromatografi Lapis Tipis diperkenalkan oleh E. Stahl pada tahun 1956 yang berarti suatu proses separasi kromatografi dimana fase diam yang terdiri dari suatu lapisan tipis diaplikasikan pada substrat padat(19).

Suatu prasyarat penting adalah bahwa unsur atau campuran unsur yang akan dianalisa harus dapat larut pada bahan pelarut atau campuran bahan pelarut. KLT digunakan jika:

1. Senyawa adalah nonvolatil atau sedikit menguap.
2. Senyawa yang sangat polar polar, dan nonpolar atau bersifat ion.
3. Sejumlah besar contoh harus dianalisa secara serempak, secara hemat biaya, dan di dalam suatu periode waktu terbatas.
4. Contoh yang akan dianalisa dapat merusakkan atau menghancurkan kolom LC ( Liquid chromatography) atau GC ( gas chromatography).
5. Bahan pelarut yang digunakan akan menyerang penjerap kolom LC.
6. Senyawa pada material yang dianalisa tidak bisa dideteksi oleh metoda LC atau GC atau hanya dengan tingkat kesukaran besar setelah kromatografi.

7. Komponen suatu campuran unsur setelah separasi harus dideteksi secara individu atau harus diperlakukan untuk berbagai metoda pendeteksian satu demi satu; berturut-turut.

Posisi suatu spot/noda di dalam lempeng KLT dapat diuraikan dengan bantuan faktor retardasi (Rf). Rf digambarkan sebagai hasil bagi antara jarak yang ditempuh noda dengan jarak tempuh solvent dari titik awal.



Gambar 3. Kromatogram Lapis Tipis (19)

$$R_f = \frac{Z_s}{Z_f - Z_0}$$

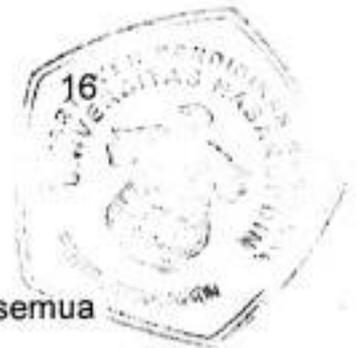
Dimana, Rf = Retardation factor (faktor retradasi)

Z<sub>s</sub> = jarak noda dari titik awal [mm]

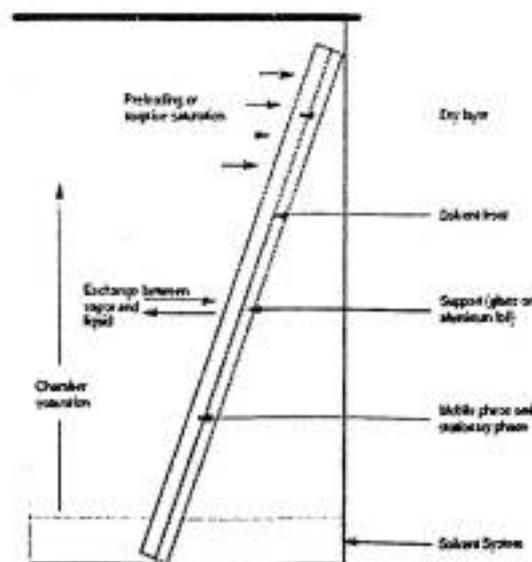
Z<sub>f</sub> = jarak tempuh eluen dari ketinggian eluen ke permukaan eluen [mm]

Z<sub>0</sub> = jarak antara titik awal dengan ketinggian eluen [mm]

Beberapa terminologi kromatografi yang penting diterangkan berikut dan digambarkan pada gambar 4 :



1. Kejenuhan chamber menjadi faktor pengendali ketika semua komponen sistem bahan pelarut sebelum dan sepanjang pengembangan berada dalam keseimbangan dengan semua ruang udara. Jika ada suatu bahan pelarut di dalam chamber yang mana tidak hadir di sistem bahan pelarut, komponen tambahan ini harus pula berada dalam keseimbangan dengan ruang udara .
2. Pre-Loading peralatan secara umum
3. Kejenuhan adsorpsi berarti kondisi itu di mana lempeng kromatografi dalam keadaan seimbangan dengan semua komponen ruang udara.
4. Kejenuhan kapiler.



Gambar 4. Kromatografi Lapis Tipis(19)

#### II.4 Densitometer (20,21)

Analisis kuantitatif dari suatu senyawa yang telah dipisahkan secara Kromatografi Lapis Tipis biasanya dilakukan dengan densitometer langsung pada lempeng KLT. Alat ini dapat bekerja secara serapan atau fluoresensi. Kebanyakan densitometer mempunyai sumber cahaya. Monokromator untuk memilih panjang gelombang yang cocok, system untuk fokus sinar pada lempeng, pengganda foton dan rekorder.

Berkas pada lapisan tipis dikuantisasi secara spektroskopi dengan transmisi atau pemantulan. Pada model transmisi, lapisan dilewati oleh berkas sinar dan energi yang ditransmisikan dan diukur. Pada model pemantulan, sinar disorotkan pada lapisan dan berkas sinar yang dipantulkan diukur. Metode pemantulan terutama efektif jika cuplikan berfluoresensi dan fluoresensi itu dapat diukur. Dengan kedua cara tersebut, energi yang ditransmisikan atau dipantulkan dicatat pada perekam sedemikian rupa sehingga bercak tampak sebagai puncak pada data perekam dan puncak ini dapat diukur dengan metode apa saja.

Gangguan utama pada serapan adalah fluktuasi latar belakang yang dapat dikurangi dengan beberapa cara misalnya dengan menggunakan alat berkas ganda, system transmisi dan pantulan secara bersamaan atau system dua panjang gelombang. Pada model pantulan, dapat digunakan sinar tampak maupun ultraviolet.

Jika senyawa dalam bercak berwarna atau mempunyai spektrum ultraviolet atau spektrum fluoresensi, analisis dapat dilakukan dengan memakai sinar yang panjang gelombangnya sesuai dan tidak ada perlakuan kimia lebih lanjut yang diperlukan. Akan tetapi, yang lebih lazim adalah menyemprot bercak dengan salah satu pereaksi agar bercak berwarna dan melakukan analisis dengan sinar tampak, mungkin memakai filter. Seringkali, bercak disemprot dengan asam sulfat dan diarangkan dalam tanur, dan bercak hitam diukur dengan densitometer. Namun, bercak yang diukur dengan system fluoresensi, serapan ultraviolet atau sinar tampak dapat ditetapkan lebih teliti dari pada bercak yang disemprot dengan pereaksi warna.

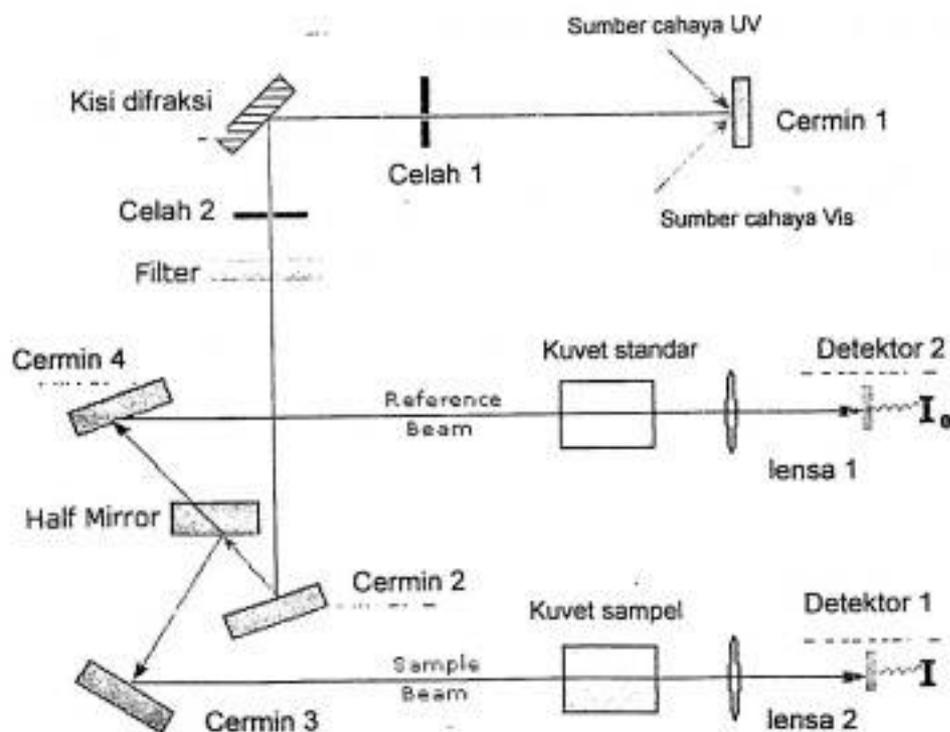
Kurva baku dibuat untuk setiap lempeng dan kadar senyawa dihitung seperti pada metode spektrofotometri. Ketelitian penetapan termasuk penotolan cuplikan, pengembangan kromatogram dan pengukuran 2- 5%.

Sistem fluoresensi biasanya lebih disenangi jika senyawa itu dibuat dapat berfluoresensi. Batas deteksi sistem ini lebih rendah dan kelinearan respon dan selektivitasnya lebih tinggi. Gangguan fluktuasi latar belakang juga lebih rendah.

## **II.5 Spektrofotometri Ultraviolet**

Serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum ultraviolet-tampak tergantung pada struktur elektronik dari molekul. Semua molekul

dapat mengabsorpsi radiasi dalam daerah UV-tampak karena mereka mengandung elektron, baik sekutu maupun menyendiri yang dapat dieksitasikan ke tingkat energi yang lebih tinggi (22). Panjang gelombang bergantung pada berapa kuat elektron itu terjadi dalam molekul itu. Elektron dalam suatu ikatan kovalen tunggal terikat dengan kuat, dan diperlukan radiasi berenergi tinggi, atau panjang gelombang pendek eksitasinya(23).



Gambar 5. Skema Mekanisme Kerja Spektrofotometer(24)

Suatu diagram komponen spektrofotometer ditunjukkan pada diagram diatas. Suatu berkas cahaya UV-Vis dari sumber cahaya

dipisahkan ke dalam panjang gelombang komponennya oleh suatu prisma atau kekisi difraksi. Masing - masing berkas cahaya monokromatik (panjang gelombang tunggal) selanjutnya dipecah jadi dua berkas cahaya dengan intensitas sama oleh suatu alat half-mirrored. Salah satu berkas cahaya, contoh/sampel (warna merah keunguan), lewat melalui suatu kontainer transparan kecil ( kuvet ) yang berisi suatu larutan sampel. Berkas cahaya lain ,standar (warna biru), melewati suatu kuvet serupa berisi hanya bahan pelarut. Intensitas berkas cahaya kemudian terukur oleh detektor elektronik dan membandingkannya. Intensitas berkas cahaya standar, penyerapan cahaya, digambarkan sebagai  $I_0$ . Intensitas berkas cahaya sampel digambarkan sebagai  $I$ . Dalam jangka waktu singkat, spektrometer secara otomatis meneliti semua komponen panjang gelombang yang diuraikan(24).

## II.6 Standardisasi

Standarisasi dalam kefarmasian adalah serangkaian parameter, prosedur dan cara pengukuran dan hasilnya merupakan unsur-unsur yang terkait paradigma mutu kefarmasian, mutu dalam artian memenuhi, syarat standar (kimia, biologi, dan farmasi), termasuk jaminan stabilitas sebagai produk kefarmasian pada umumnya(6).

Persyaratan mutu ekstrak terdiri dari 2:

1. Parameter standar umum (nonspesifik)

Parameter standar umum (nonspesifik) meliputi susut pengeringan dan bobot jenis, kadar air, kadar abu, sisa pelarut, residu pestisida, cemaran logam berat, cemaran mikroba.

## 2. Parameter standar spesifik

Parameter standar spesifik meliputi identitas ekstrak, organoleptik, senyawa terlarut dalam pelarut tertentu, uji kandungan kimia ekstrak, kadar total golongan kandungan kimia(6).

### **II.6.1 Parameter Standar Mutu Spesifik**

#### **II.6.1.1 Parameter Identitas Ekstrak**

Pemeriksaan identitas bertujuan memberikan identitas obyektif dari nama tanaman dan senyawa identitas yang menjadi petunjuk spesifik dengan metode tertentu(6).

#### **II.6.1.2 Parameter Organoleptik Ekstrak**

Organoleptik bertujuan sebagai pengenalan awal yang seobyektif mungkin dari ekstrak tanaman meliputi bentuk, bau, dan rasa(6).

#### **II.6.1.3 Parameter Senyawa Terlarut dalam Pelarut Tertentu**

Kelarutan senyawa dalam pelarut tertentu bertujuan untuk menentukan jumlah zat terlarut dalam pelarut etanol dan air identik dengan jumlah senyawa yang terkandung secara gravimetri(6).

#### **II.6.1.4 Parameter Kandungan Kimia Ekstrak**

Uji kandungan kimia ekstrak bertujuan untuk memberikan gambaran awal komposisi kandungan kimia berdasarkan pola kromatogram(6).

Parameter standar umum (nonspesifik) meliputi susut pengeringan dan bobot jenis, kadar air, kadar abu, sisa pelarut, residu pestisida, cemaran logam berat, cemaran mikroba.

## 2. Parameter standar spesifik

Parameter standar spesifik meliputi identitas ekstrak, organoleptik, senyawa terlarut dalam pelarut tertentu, uji kandungan kimia ekstrak, kadar total golongan kandungan kimia(6).

### II.6.1 Parameter Standar Mutu Spesifik

#### II.6.1.1 Parameter Identitas Ekstrak

Pemeriksaan identitas bertujuan memberikan identitas obyektif dari nama tanaman dan senyawa identitas yang menjadi petunjuk spesifik dengan metode tertentu(6).

#### II.6.1.2 Parameter Organoleptik Ekstrak

Organoleptik bertujuan sebagai pengenalan awal yang seobyektif mungkin dari ekstrak tanaman meliputi bentuk, bau, dan rasa(6).

#### II.6.1.3 Parameter Senyawa Terlarut dalam Pelarut Tertentu

Kelarutan senyawa dalam pelarut tertentu bertujuan untuk menentukan jumlah zat terlarut dalam pelarut etanol dan air identik dengan jumlah senyawa yang terkandung secara gravimetri(6).

#### II.6.1.4 Parameter Kandungan Kimia Ekstrak

Uji kandungan kimia ekstrak bertujuan untuk memberikan gambaran awal komposisi kandungan kimia berdasarkan pola kromatogram(6).



### II.6.1.5 Parameter Kadar Kandungan Kimia Tertentu

Penetapan kadar kandungan kimia tertentu bertujuan untuk memberikan data kadar kandungan kimia sebagai senyawa identitas atau senyawa yang diduga bertanggung jawab pada efek farmakologi(6).

### II.7 Senyawa Polifenol

Senyawa fenol meliputi aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan, yang mempunyai cincin yang sama yaitu cincin aromatik yang mengandung dua gugus hidroksil. Senyawa fenol cenderung mudah-larut dalam air karena umumnya mereka sering kali berikatan dengan gula sebagai glikosida, dan biasanya terdapat dalam vakuola sel(16).

Fenol menyerap di daerah UV pendek dan dapat dideteksi pada pelat silika gel yang mengandung indikator fluoresensi gelombang 253 nm, terlihat sebagai bercak gelap dengan latar berfluoresensi. Akan tetapi biasanya lebih baik mendeteksinya dengan pereaksi yang lebih khas, yang terbaik pereaksi folin ciocalteu(16).

Beberapa ribu senyawa fenol alam telah diketahui strukturnya. Flavonoid merupakan golongan terbesar, tetapi fenol monosiklik sederhana, fenilpropanoid, dan kuinon fenolik juga terdapat dalam jumlah besar. Beberapa golongan bahan polimer penting dalam tumbuhan lignin, melanin, dan tanin yang berasa pahit dan mempunyai kemampuan menyamak kulit (15). Tanin digunakan sebagai astringent, baik untuk saluran pencernaan, maupun kulit. Selain itu tanin juga dapat digunakan

sebagai obat antidiare. Tanin dapat menghambat kerja enzim topoisomerase I dan II (T1 dan T2), viral reverse transkriptase (RT) pada konsentrasi 0,01 µg/ml(25).

### II.7.1 Analisis Polifenol

Analisis polifenol terbagi atas :

#### a. Metode kolorimetri (26)

##### 1. Folin-Dennis Method dan modifikasinya (Metode Folin-Ciocalteu).

Reaksi metode ini berdasarkan reduksi oleh asam fosfomolibdat oleh fenol dalam suasana alkali. Metode ini untuk menentukan total polifenol dan total fenolik terlarut.

##### 2. Uji Vanilin-HCl

Uji ini spesifik untuk menentukan PAs atau tannin terkondensasi. Reaksi metode ini adalah eksoreaksi dimana vanilin akan bereaksi dengan cincin tersubstitusi dari flavonol menjadi suatu kromofor, nilai dari flavonol adalah nilai absorban dari larutan.

##### 3. Spesifik untuk PAs atau tannin terkondensasi

Reaksi metode ini adalah adalah endoreaksi dimana HCl depolimerasi dikatalisasi oleh tannin terkondensasi dalam butanol yang menghasilkan produk antosianin yang dapat dideteksi secara spektrofotometri. Tingkat polimerisasi dari PAs dapat dihitung melalui kombinasi tes butanol-asam dengan uji vanilin. Uji Butanol-

asam juga dapat dihitung melalui nilai rata – rata tannin yang tidak larut dari residu ekstrak atau dari NDF.

#### 4. Uji Rodanin

Spesifik untuk menentukan gallotannin. Sampel akan dihidrolisis kemudian melepaskan asam galat. Reaksi antara asam galat dan rodanin kering akan menghasilkan warna yang kuat sehingga dapat diukur secara spektrofotometri.

#### 5. Uji Wilson dan Hagerman

Spesifik untuk menentukan elagitannin. Sampel akan dihidrolisis kemudian melepaskan asam elagit. Reaksi antara asam elagit dan natrium nitrit akan menghasilkan warna yang dapat diukur secara spektrofotometri.

### b. Metode Gravimetri (27)

#### 1. Metode gravimetri dengan Ytterbium

Metode ini untuk menentukan tannin yang larut dalam ekstrak tumbuhan, tannin yang tidak larut tidak dapat diukur. Metode ini berdasarkan kemampuan dari ytterbium trivalen yang dapat mengendapkan polifenol secara selektif dari ekstrak tanaman.

#### 2. Metode Gravimetri dengan PVP

Metode ini untuk menentukan tannin yang larut dalam ekstrak tumbuhan, tannin yang tidak larut tidak dapat diukur. Metode ini berdasarkan pengikatan PVP dengan tannin secara areversibel.

Metode ini tidak sensitif dan pengikatan dengan tannin tidak dapat diukur.

c. Metode Pengendapan Protein (28)

Metode ini sangat berhubungan erat dengan efek biologis dari tannin. Pengendapan protein dapat dilakukan dengan uji difusi radial. Metode ini tergantung pada formasi kompleks antara tannin dengan serum albumin bovin yang ditanam pada agar. Ekstrak dari tanaman ditempatkan pada sumur dalam agar yang akan berdifusi ke dalamnya kemudian mengendapkan albumin jika mengandung tannin. Endapan yang terbentuk berupa cincin opak.

d. Metode Campuran (29)

Metode ini untuk menentukan tannin terkondensasi atau PAs yang dikombinasi dengan beberapa metode sehingga dapat memperkecil faktor kesalahan dan mengurangi waktu untuk analisa. Inovasi pada metode ini dapat digunakan untuk standar internal. Standar eksternal memiliki batasan yang serius karena penghilangan koefisien dari kromofor yang dihasilkannya biasanya berbeda dengan yang didapatkan dari ekstrak tanaman. Pada metode Giner-Chavez internal standar menghasilkan endapan tannin dengan ytterbium trivalen seperti pada metode Reed. Hal yang sama juga dapat dicapai dengan mengisolasi tannin dengan sephadex akan tetapi akan memakan waktu yang dua kali lebih banyak.

Metode ini tidak sensitif dan pengikatan dengan tannin tidak dapat diukur.

c. Metode Pengendapan Protein (28)

Metode ini sangat berhubungan erat dengan efek biologis dari tannin. Pengendapan protein dapat dilakukan dengan uji difusi radial. Metode ini tergantung pada formasi kompleks antara tannin dengan serum albumin bovin yang ditanam pada agar. Ekstrak dari tanaman ditempatkan pada sumur dalam agar yang akan berdifusi ke dalamnya kemudian mengendapkan albumin jika mengandung tannin. Endapan yang terbentuk berupa cincin opak.

d. Metode Campuran (29)

Metode ini untuk menentukan tannin terkondensasi atau PAs yang dikombinasi dengan beberapa metode sehingga dapat memperkecil faktor kesalahan dan mengurangi waktu untuk analisa. Inovasi pada metode ini dapat digunakan untuk standar internal. Standar eksternal memiliki batasan yang serius karena penghilangan koefisien dari kromofor yang dihasilkannya biasanya berbeda dengan yang didapatkan dari ekstrak tanaman. Pada metode Giner-Chavez internal standar menghasilkan endapan tannin dengan ytterbium trivalen seperti pada metode Reed. Hal yang sama juga dapat dicapai dengan mengisolasi tannin dengan sephadex akan tetapi akan memakan waktu yang dua kali lebih banyak.



## BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN

### III.1 Alat dan Bahan Yang Digunakan

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah eksikator, labu Erlenmeyer (*Pyrex*), cawan porselen, freeze dryer, labu tentukur (*Pyrex*), mikropipet, oven listrik (*Memmert*), penggiling (*Hammer mill*), pengaduk magnetik stirer, penyaring vakum, seperangkat alat kromatografi lapis tipis, penangas air, rotavapor (*Buchii*), sentrifuge, spektrofotometer UV-Vis, TLC Scanner (*Camag*), pengocok vortex, timbangan analitik (*Sartorius*).

Bahan-bahan yang akan digunakan adalah air suling, asam tannat (*Merck*), klika ongkea (*Mezzetia parviflora* Becc.), etanol (*Merck*), etil asetat, asam asetat, butanol, heksan, kloroform, metanol, lempeng KLT silika G-60 RP18 F<sub>254</sub> (*Merck*), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, FeCl<sub>3</sub>, reagens Folin Ciocalteu (*Merck*).

### III.2 Penyiapan Sampel

#### III.2.1 Pengambilan Sampel

Sampel diperoleh dari 3 lokasi di propinsi Sulawesi Tenggara yaitu Batanga, Bungi dan Pasarwajo.

#### III.2.2 Pengolahan Sampel

Sampel klika ongkea dicuci bersih lalu dikeringanginkan. Sampel kering kemudian diserbukkan.

### **III. 3 Ekstraksi dengan etanol 70%**

Sebanyak 1 kg sampel yang telah diserbukkan diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan etanol 70% 7,5 L selama 3 x 24 jam. Maserat disaring kemudian ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan rotavapor hingga mengental. Ekstrak kental kemudian diliofilisasi hingga diperoleh ekstrak kering. Dihitung rendamennya yaitu berat ekstrak yang diperoleh terhadap berat sampel yang ditimbang.

### **III.4 Penetapan Parameter Spesifik**

#### **III.4.1 Parameter identitas ekstrak**

Memberikan deskripsi tata nama sebagai identitas obyektif. Deskripsi tata nama meliputi nama ekstrak, nama latin tumbuhan (sistematika botani), bagian tumbuhan yang digunakan, dan nama Indonesia tumbuhan.

#### **III.4.2 Parameter Organoleptik**

Memberikan pengenalan awal pengenalan awal ekstrak secara obyektif berupa bentuk, warna, bau dan rasa.

#### **III.4.3 Parameter Senyawa Terlarut dalam Pelarut Tertentu**

##### **III.4.3.1 Kadar Senyawa yang Larut dalam Air**

2,5 gram ekstrak selama 24 jam dimaserasi dengan 50 ml air-kloroform LP menggunakan labu bersumbat sambil berkali – kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Disentrifuge selama beberapa menit kemudian diuapkan 10 ml filtrat hingga kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara,

dipanaskan residu pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$  hingga bobot tetap. Dihitung kadar dalam persen senyawa yang larut dalam air terhadap ekstrak awal .

#### **III.4.3.2 Kadar Senyawa yang Larut dalam Etanol**

2,5 gram ekstrak selama 24 jam dimaserasi dengan etanol (95%) menggunakan labu bersumbat sambil berkali – kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Disentrifuge selama beberapa menit kemudian diuapkan 10 ml filtrate hingga kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara, dipanaskan residu pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$  hingga bobot tetap. Dihitung kadar dalam persen senyawa yang larut dalam air terhadap ekstrak awal .

#### **III.4.4 Uji Kandungan Kimia Ekstrak**

##### **III.4.4.1 Kromatografi Lapis Tipis**

Ekstrak ditimbang sebanyak 500 mg, dipartisi berturut – turut dengan pelarut heksan, etil asetat, etanol, dan air menggunakan metode partisi padat-cair dengan bantuan pengocok vortex dan sentrifuge. Filtrat ditotol pada lempeng silica G-60 RP18 F<sub>254</sub> dielusi menggunakan cairan pengembang metanol 80%. Analisa hasil menggunakan instrumen densitometer (TLC Scanner) dan pewarnaan lempeng dengan pereaksi pereaksi  $\text{FeCl}_3$  1%.

##### **III.4.4.2 Densitometer**

Lempeng dideteksi menggunakan instrumen Camag TLC Scanner 3 pada panjang gelombang 225 – 275nm dengan kecepatan 10 mm/detik. Pendeteksian dilakukan untuk semua puncak yang terbentuk.

### III.4.5 Kadar Total Golongan Kandungan Kimia

#### III.4.5.1 Uji Kadar Total Polifenol

##### (a) Pembuatan Larutan Standar

Ditimbang asam tannat sebanyak 0,05 gram lalu dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml, kemudian dilarutkan dengan 100 ml air suling sampai batas tanda. Larutan stok yang dibuat kemudian diencerkan hingga diperoleh larutan standar dengan konsentrasi 5ppm, 10ppm, 15ppm, 20ppm, 25ppm,. Masing – masing larutan standar dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, kemudian ditambah dengan 500,0  $\mu$ l reagen Folin Ciocalteu, dikocok menggunakan vortex selama 1 menit dan ditambah 2,0 ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (15% b/v), dikocok menggunakan vortex selama 1 menit lalu ditambah dengan aquadest sampai garis tanda (10,0 ml ).

##### (b) Pembuatan Larutan Sampel

Ekstrak ditimbang seksama 10,0 mg masing – masing tiga kali, dimasukkan dalam labu takar 10,0 ml kemudian ditambahkan aquadest 2 ml lalu dikocok menggunakan vortex selama 1 menit dan ditambah aquadest sampai 10 ml. Setelah itu disentrifuge 3000 rpm selama 20 menit, lalu supernatan dipisahkan. Supernatan sampel 250,0  $\mu$ l dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, kemudian ditambah dengan 500,0  $\mu$ l reagen Folin Ciocalteu, dikocok menggunakan vortex selama 1 menit dan ditambah 2,0 ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (15% b/v),

dikocok menggunakan vortex selama 1 menit lalu ditambah dengan aquadest sampai garis tanda (10,0 ml).

**(c) Pembuatan larutan blanko**

Reagen Folin Ciocalteu 500,0  $\mu$ l ditambah 2,0 ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (15% b/v), divorteks selama 1 menit lalu ditambah dengan aquadest sampai garis tanda (10,0 ml).

**(d) Penentuan Total Polifenol**

Larutan blanko, asam tannat dan sampel masing-masing dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal. Total polifenol sampel dihitung berdasarkan persamaan kurva baku asam tannat dan serapan sampel.

**BAB IV**  
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**IV.1 Hasil**

**(1) Parameter Identitas Ekstrak**

Deskripsi tata nama

- a. Nama latin : *Mezzettia parviflora* Becc.
- b. Bagian tumbuhan yang digunakan : Klika
- c. Nama ekstrak : Ekstrak klika ongkea ( *Mezzettiae* Cortex Extractum)
- d. Nama Indonesia tumbuhan : Ongkea

**(2) Organoleptik**

Bentuk : serbuk

Warna : coklat kemerahan

Bau : khas

Rasa : agak sepat

**(3) Senyawa terlarut dalam pelarut tertentu**

(a) Kisaran kadar senyawa yang larut dalam air : 29,67% – 39,03%

(b) Kisaran kadar senyawa yang larut dalam etanol : 51,58% – 67,95%

**(4) Uji Kandungan Kimia Ekstrak dengan KLT Densitometer**

Penjerap = silika G 60 RP18 F<sub>254</sub>

Cairan Pengembang = metanol 80%

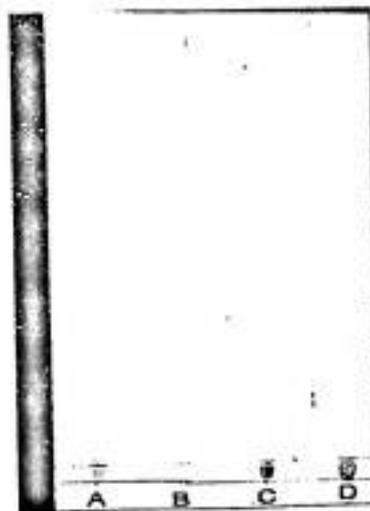
Alat = Camag TLC Scanner 3

Kecepatan = 10 mm/s  
 Panjang gelombang = 225 – 275 nm  
 Mode = pendeteksian semua puncak

Hasil perekaman kromatogram dengan KLT densitometer menunjukkan adanya 12 bercak berbeda yang terdistribusi pada keempat fraksi (dapat dilihat pada tabel 4).

#### (5) Deteksi KLT senyawa dengan $\text{FeCl}_3$

Visualisasi dengan pereaksi semprot  $\text{FeCl}_3$  menunjukkan hasil positif terhadap polifenol ditandai dengan terbentuknya warna hitam pada fraksi air dan fraksi etanol.



Gambar 6. Profil KLT ekstrak etanol klinka onkea (fase diam silika gel G-60 RP18 F<sub>254</sub>, fase gerak metanol 80% visualisasi  $\text{FeCl}_3$ ).

Keterangan:

- A. fraksi air
- B. fraksi etanol
- C. fraksi etil asetat
- D. fraksi heksan

#### (6) Kadar total polifenol

Kadar total polifenol dari ketiga daerah yaitu :

- a. Batanga = 67,91%
- b. Pasarwajo = 73,26%
- c. Bungi = 79,25%

Kisaran kadar total polifenol klika onkea yaitu 67,91 % –79,25%

#### IV.2 Pembahasan

Standardisasi dalam kefarmasian tidak lain adalah serangkaian parameter, prosedur, dan cara pengukuran yang hasilnya merupakan unsur – unsur terkait paradigma mutu kefarmasian dalam artian memenuhi syarat standar termasuk jaminan stabilitas sebagai produk kefarmasian umumnya. Standardisasi juga berarti proses menjamin bahwa produk akhir (obat, ekstrak, atau produk ekstrak) mempunyai nilai parameter tertentu yang konstan dan ditetapkan terlebih dahulu.

Penetapan parameter standar mutu dari ekstrak tanaman obat perlu dilakukan untuk menjamin mutu dari ekstrak tanaman obat yang digunakan sebagai obat mengandung kadar senyawa aktif yang konstan dan dapat dipertanggungjawabkan. Persyaratan mutu ekstrak terdiri dari parameter standar spesifik dan parameter standar non spesifik. Parameter standar spesifik terdiri dari identitas ekstrak, organoleptik, kelarutan senyawa dalam pelarut tertentu, kandungan kimia ekstrak dan total kandungan kimia tertentu.

#### (6) Kadar total polifenol

Kadar total polifenol dari ketiga daerah yaitu :

- a. Batanga = 67,91%
- b. Pasarwajo = 73,26%
- c. Bungi = 79,25%

Kisaran kadar total polifenol klika onkea yaitu 67,91 % –79,25%

#### IV.2 Pembahasan

Standardisasi dalam kefarmasian tidak lain adalah serangkaian parameter, prosedur, dan cara pengukuran yang hasilnya merupakan unsur – unsur terkait paradigma mutu kefarmasian dalam artian memenuhi syarat standar termasuk jaminan stabilitas sebagai produk kefarmasian umumnya. Standardisasi juga berarti proses menjamin bahwa produk akhir (obat, ekstrak, atau produk ekstrak) mempunyai nilai parameter tertentu yang konstan dan ditetapkan terlebih dahulu.

Penetapan parameter standar mutu dari ekstrak tanaman obat perlu dilakukan untuk menjamin mutu dari ekstrak tanaman obat yang digunakan sebagai obat mengandung kadar senyawa aktif yang konstan dan dapat dipertanggungjawabkan. Persyaratan mutu ekstrak terdiri dari parameter standar spesifik dan parameter standar non spesifik. Parameter standar spesifik terdiri dari identitas ekstrak, organoleptik, kelarutan senyawa dalam pelarut tertentu, kandungan kimia ekstrak dan total kandungan kimia tertentu.

Parameter identitas ekstrak bertujuan memberikan identitas obyektif dari ekstrak berupa deskripsi tata nama. Deskripsi tata nama tersebut meliputi : nama ekstrak yaitu ekstrak klika onkea (*Mezzettiae Cortex Extractum*), nama latin tumbuhan yaitu *Mezzettia parviflora* Becc., bagian tumbuhan yang digunakan yaitu bagian klika.

Parameter organoleptik ekstrak bertujuan memberikan pengenalan awal ekstrak secara obyektif berupa bentuk, warna, bau dan rasa serta dapat digunakan sebagai dasar untuk menguji mutu simplisia secara fisis. Ekstrak klika onkea berbentuk serbuk, berwarna coklat, berbau khas, dan berasa gak sepat.

Parameter senyawa terlarut dalam pelarut tertentu bertujuan memberikan gambaran awal jumlah senyawa kandungan yang dapat diekstraksi. Ekstrak dimaserasi dengan pelarut air dan etanol untuk menentukan jumlah solut yang identik dengan jumlah senyawa kandungan secara gravimetri. Sampai saat ini cairan pelarut yang memenuhi syarat farmasian atau pharmaceutical grade adalah air dan etanol atau campuran keduanya, pelarut air dimaksudkan untuk melarutkan senyawa polar dan etanol untuk senyawa kurang polar dalam ekstrak. Hasil penentuan jumlah senyawa yang larut dalam air pada ekstrak klika onkea yang berasal dari Matang, Bungin, dan Pasarwajo masing-masing 29,67%; 34,72%; 39,03% sedangkan untuk jumlah senyawa yang larut dalam etanol yaitu 67,95%; 71,58%; 55,36%. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah ekstrak etanol klika

Parameter identitas ekstrak bertujuan memberikan identitas obyektif dari ekstrak berupa dekripsi tata nama. Deskripsi tata nama tersebut meliputi : nama ekstrak yaitu ekstrak klika onkea (*Mezzettiae Cortex Extractum*), nama latin tumbuhan yaitu *Mezzettia parviflora* Becc., bagian tumbuhan yang digunakan yaitu bagian klika.

Parameter organoleptik ekstrak bertujuan memberikan pengenalan awal ekstrak secara obyektif berupa bentuk, warna, bau dan rasa serta dapat digunakan sebagai dasar untuk menguji mutu simplisia secara fisis. Ekstrak klika onkea berbentuk serbuk, berwarna coklat, berbau khas, dan berasa agak sepat.

Parameter senyawa terlarut dalam pelarut tertentu bertujuan memberikan gambaran awal jumlah senyawa kandungan yang dapat diekstraksi. Ekstrak dimaserasi dengan pelarut air dan etanol untuk menentukan jumlah solut yang identik dengan jumlah senyawa kandungan secara gravimetri. Sampai saat ini cairan pelarut yang memenuhi syarat kefarmasian atau pharmaceutical grade adalah air dan etanol atau campuran keduanya, pelarut air dimaksudkan untuk melarutkan senyawa polar dan etanol untuk senyawa kurang polar dalam ekstrak. Hasil penentuan jumlah senyawa yang larut dalam air pada ekstrak klika onkea yang berasal dari Batanga, Bungi, dan Pasarwajo masing-masing 29,67%; 34,72%; 39,03% sedangkan untuk jumlah senyawa yang larut dalam etanol yaitu 67,95%; 51,58%; 55,36%. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah ekstrak etanol klika

Parameter identitas ekstrak bertujuan memberikan identitas obyektif dari ekstrak berupa deskripsi tata nama. Deskripsi tata nama tersebut meliputi : nama ekstrak yaitu ekstrak klika onkea (*Mezzettiae Cortex Extractum*), nama latin tumbuhan yaitu *Mezzettia parviflora* Becc., bagian tumbuhan yang digunakan yaitu bagian klika.

Parameter organoleptik ekstrak bertujuan memberikan pengenalan awal ekstrak secara obyektif berupa bentuk, warna, bau dan rasa serta dapat digunakan sebagai dasar untuk menguji mutu simplisia secara fisis. Ekstrak klika onkea berbentuk serbuk, berwarna coklat, berbau khas, dan berasa agak sepat.

Parameter senyawa terlarut dalam pelarut tertentu bertujuan memberikan gambaran awal jumlah senyawa kandungan yang dapat diekstraksi. Ekstrak dimaserasi dengan pelarut air dan etanol untuk menentukan jumlah solut yang identik dengan jumlah senyawa kandungan secara gravimetri. Sampai saat ini cairan pelarut yang memenuhi syarat kefarmasian atau pharmaceutical grade adalah air dan etanol atau campuran keduanya, pelarut air dimaksudkan untuk melarutkan senyawa polar dan etanol untuk senyawa kurang polar dalam ekstrak. Hasil penentuan jumlah senyawa yang larut dalam air pada ekstrak klika onkea yang berasal dari Batanga, Bungi, dan Pasarwajo masing-masing 29,67%; 34,72%; 39,03% sedangkan untuk jumlah senyawa yang larut dalam etanol yaitu 67,95%; 51,58%; 55,36%. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah ekstrak etanol klika

ongkea lebih banyak terekstraksi dalam pelarut etanol yang bersifat kurang polar. Kemungkinan hal ini dapat dipengaruhi oleh cairan penyari ekstrak yaitu etanol 70%. Sementara senyawa terekstraksi oleh pelarut air yang bersifat polar diduga sebagai senyawa polifenol.

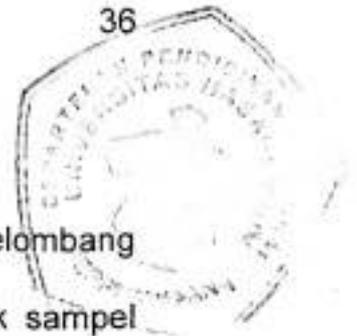
Hasil perekaman kromatogram menggunakan KLT densitometer menunjukkan terdeteksinya 12 bercak berdasarkan spektrum yang terbentuk. Bercak 1 dan 2 terdeteksi pada semua fraksi namun bercak 1 berada dibawah tempat penotolan sehingga Rf bernilai negatif (-0,01) sehingga bercak 2 adalah kandidat senyawa identitas ekstrak yang lebih baik. Bercak 2 tersari pada semua fraksi namun lebih banyak pada fraksi etanol (AUC = 32543,4) dan air (AUC = 23434,7) dibandingkan pada fraksi etil asetat (AUC = 4884,8) dan heksan (AUC = 2306,2). Hal ini disebabkan bercak 2 merupakan senyawa polar dengan nilai Rf 0.88 artinya lebih dulu terelusi oleh fase gerak metanol 80% dan tidak tertahan oleh fase diam (silika gel 60 RP18 F<sub>254</sub>) silika gel fase terbalik bersifat non polar. Visualisasi bercak 2 dengan pereaksi semprot FeCl<sub>3</sub> menunjukkan warna biru kehitaman sehingga diduga sebagai kelompok senyawa fenolik. Namun bercak 2 tersebut hanya tampak jelas pada fraksi etanol dan air, hal ini kemungkinan disebabkan rendahnya konsentrasi bercak 2 yang tersari oleh hexan dan etil asetat.

Penentuan kadar total polifenol di dalam ekstrak klika onkea dilakukan dengan metode folin ciocalteu. Reaksi metode ini berdasarkan reduksi terhadap fenol oleh reagen folin ciocalteu (asam fosfomolibdat) dalam

ongkea lebih banyak terekstraksi dalam pelarut etanol yang bersifat kurang polar. Kemungkinan hal ini dapat dipengaruhi oleh cairan penyari ekstrak yaitu etanol 70%. Sementara senyawa terekstraksi oleh pelarut air yang bersifat polar diduga sebagai senyawa polifenol.

Hasil perekaman kromatogram menggunakan KLT densitometer menunjukkan terdeteksinya 12 bercak berdasarkan spektrum yang terbentuk. Bercak 1 dan 2 terdeteksi pada semua fraksi namun bercak 1 berada dibawah tempat penotolan sehingga  $R_f$  bernilai negatif (-0,01) sehingga bercak 2 adalah kandidat senyawa identitas ekstrak yang lebih baik. Bercak 2 tersari pada semua fraksi namun lebih banyak pada fraksi etanol (AUC = 32543,4) dan air (AUC = 23434,7) dibandingkan pada fraksi etil asetat (AUC = 4884,8) dan heksan (AUC = 2306,2). Hal ini disebabkan bercak 2 merupakan senyawa polar dengan nilai  $R_f$  0.88 artinya lebih dulu terelusi oleh fase gerak metanol 80% dan tidak tertahan oleh fase diam (silika gel 60 RP18 F<sub>254</sub>) silika gel fase terbalik bersifat non polar. Visualisasi bercak 2 dengan pereaksi semprot  $FeCl_3$  menunjukkan warna biru kehitaman sehingga diduga sebagai kelompok senyawa fenolik. Namun bercak 2 tersebut hanya tampak jelas pada fraksi etanol dan air, hal ini kemungkinan disebabkan rendahnya konsentrasi bercak 2 yang tersari oleh hexan dan etil asetat.

Penentuan kadar total polifenol di dalam ekstrak klika onkea dilakukan dengan metode folin ciocalteu. Reaksi metode ini berdasarkan reduksi terhadap fenol oleh reagen folin ciocalteu (asam fosfomolibdat) dalam



suasana alkalis ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  15%) serapan diukur pada panjang gelombang ( $\lambda_{\text{max}}=742\text{nm}$ ) ultraviolet-sinar tampak. Kadar total polifenol untuk sampel yang berasal dari Batanga, Bungi, dan Pasarwajo masing masing 67,91%; 79,25%; 73,26%. Perbedaan kadar total polifenol dari ketiga sampel dapat disebabkan oleh berbagai faktor. Kandungan senyawa kimia atau metabolit sekunder dipengaruhi oleh faktor luar seperti tanah, atmosfer, temperatur, cahaya, unsur hara ataupun dengan memperhatikan sifat biologis tumbuhan. Sampel yang berasal dari Bungi memiliki kadar polifenol yang lebih tinggi dari lainnya. Hal ini dapat disebabkan oleh lebih tingginya intensitas cahaya diterima sementara kelembaban juga lebih tinggi sebab berada dekat air terjun. Energi cahaya menggiatkan beberapa proses dan sistem enzim yang terlibat dalam rangkaian metabolisme disamping itu paparan sinar UV yang tinggi akan memacu gen pencetus polifenol. Akan tetapi kelembaban tinggi akan mengakibatkan penurunan aktivitas transpirasi sehingga mengakibatkan penurunan penyerapan unsur hara. Tekanan lingkungan semacam ini akan memacu pembentukan metabolit sekunder sebagai mekanisme pertahanan secara fisiologis. Hal ini terjadi karena biosintesis metabolit sekunder dikendalikan oleh jumlah dan macam enzim, sehingga aktivitasnya sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan terutama kelembaban, sedangkan karbohidrat sebagai hasil asimilat merupakan prekursor(34).

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### V.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh parameter standar mutu ekstrak sebagai berikut :

1. Deskripsi tata nama
  - a. Nama latin : *Mezzettia parviflora* Becc.
  - b. Bagian tumbuhan yang digunakan : Klika
  - c. Nama ekstrak : Ekstrak klika ongkea (*Mezzettiae* Cortex Extractum)
  - d. Nama Indonesia tumbuhan : Ongkea
2. Melalui pemeriksaan organoleptik diperoleh bentuk ekstrak berupa serbuk berwarna coklat kemerahan, berbau khas dan berasa agak sepat .
3. Kisaran kadar senyawa yang larut dalam air: 29,67% – 39,03% sedangkan kisaran kadar senyawa yang larut dalam etanol: 51,58% – 67,95%.
4. Hasil perekaman kromatogram dengan KLT densitometer menunjukkan adanya 12 bercak berbeda yang terdistribusi pada keempat fraksi.
5. Kisaran kadar total polifenol adalah 67,91% - 79,25%, kadar polifenol tertinggi ditunjukkan oleh klika ongkea yang berasal dari daerah Bungi.

## V.2 Saran

Disarankan untuk melakukan penelitian senyawa identitas klika ongkea.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Hakim, E.H., Achmad, S.A., Makmur, L., Mujahidin & Syah, Y.M. 2001. *Profil Kimia Annonaceae*. Natural Product Chemistry. Indonesia. Vol. 1.No. 1. Indonesia.
2. Sosef, M.S.M., Hong, L.T. & Prawirohatmodjo, S.(editor). 1998. *PROSEA (Plant Resources, of South East Asia) Jilid 5(3); Timber tree; lesser known timber* . Prosea Foundation. Indonesia: 374-375
3. Yulianti, I. S. 2006. *Fraksinasi dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Antiradikal Bebas Ekstrak Klika Ongkea ( Mezzettia parviflora Becc.)*. Skripsi Farmasi UNHAS. Makassar.
4. Evary, Y.M. 2007. *Uji Aktivitas Penghambatan Siklooksigenase-1 (COX-1) Ekstrak Klika Ongkea (Mezzettia parviflora Becc)*. Skripsi Farmasi UNHAS, Makassar.
5. Suparman. 2007. *Isolasi Senyawa Antimitosis Ekstrak Klika Ongkea (Mezzettia parviflora Becc.)*. Skripsi Farmasi UNHAS. Makassar.
6. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
7. Hafid, A. F. 2000. *Penetapan Parameter Standar Ekstrak Etanol Temulawak Sebagai Bahan Baku Kapsul Temulawak*. Airlangga University Library, Surabaya
8. Wahyono, S.. 2000. *Penelitian Parameter Identifikasi Beberapa Ekstrak Tanaman Obat secara Fisik dan Kimia*. Badan Litbang kesehatan Departemen Kesehatan. Jakarta.
9. Kasanah, N.. 2006. *Standardisasi Fraksi Etil Asetat Daun Cassia Siamea Lamk*. Airlangga University Library. Surabaya
10. Ruslan K., Kumolosasi E., Mayasari D. 2002. Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Kulit Batang Pule (*Alstonia scholaris* (L)r. br.) yang beraktivitas antioksidasi. *Acta Pharmaceutica Indonesia*. Vol. 27.No.3. Bandung. 50-56

11. Anonim. *Mezzettia parviflora*. <http://www.ZipcodeZoo.com/>. diakses tanggal 11 Februari 2008
12. Anonim. *Mezzettia parviflora*. <http://www.worldagroforestrycentre.org/>. diakses tanggal 11 Februari 2008
13. Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna di Indonesia*. cetakan pertama. jilid II. Terjemahan oleh Badan Litbang Kehutanan. Penerbit Departemen kehutanan. Jakarta. 771
14. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 1979. *Farmakope Indonesi.*, Edisi III. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. 9
15. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Departemen Kesehatan RI. Jakarta
16. Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB. Bandung
17. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan RI. 10-12
18. Tambunan, A. H. & Lamhot P. Manalu. 2000. Mekanisme Pengeringan Beku Produk Pertanian. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia Vol.2*, No.3, (Juni 2000). Jakarta. 66-74
19. Gitter, R.J., Bobbit, J.M., A.E.. 1985. *Pengantar kromatografi*. Terjemahan oleh kosasih Padmawinata. 1991. Penerbit ITB. Bandung. 14-16
20. Sudjadi. 1986. *Metode Pemisahan*. UGM Press. Yogyakarta. 174
21. Hahn deinstrop, E.. 2007. *Applied Thin Layer Chromatography*. Wiley VCH VERLAG GmbH & Co.KgaA. weinheim-Germany.
22. Sastrohamidjojo. 1985. *Spektroskopi Liberty*. Yogyakarta. 11-13
23. Day, Jr. & Underwood, W.L. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Edisi ke Enam. Penerbit Erlangga. Jakarta. 382
24. Anonim. *uv-visible Spectroscopy*. <http://www.cem.msu.edu/>. diakses tanggal 10 Juni 2008.

25. Mahtuti. 2004. *Pengaruh Daya Antimikroba Asam Tanat Terhadap Pertumbuhan Bakteri Salmonella typhi Secara In Vitro*. Unair. Surabaya
26. Waterman P.G. & Mole S. 1994. *Analysis of Phenolic Plant Metabolites*. Blackwell Scientific Publications. Oxford. UK
27. Makkar H.P.S., Blummel M., Besker K. 1995. Formation Of Complexes Between Polyvinyl Pyrrolidones or Polyethylene Glycols and Tannin and Their Implication In Gas Production And True Digestibility In In Vitro Techniques. *Br. J. Nutrition*, 73: 897-913
28. Horvath, P.J. 1981. *The Nutritional and Ecological of Acer-Tannins and Related Polyphenols*. M.S. Thesis. Cornell University, Ithaca, NY. USA
29. Giner, C.B.I. 1996. *Condensed Tannins in Tropical Forages*. Ph.D. Thesis. Cornell University, Ithaca, NY, USA
30. Cilliers, J.J.L., Singleton, V.L., dan Lamuela, R.. 1990. Total Polyphenols in Apples and Ciders; Correlation with Chlorogenic Acid. *Journal of Food Science* 55 (5) , 1458–1459
31. Anonim, 2007. *Geografis kota bau – bau*, <http://www.BPS Kota Bau-Bau.go.id/>, diakses tanggal 05 mei 2008
32. Anonim, 2007. *Geografis kota buton*, <http://www.BPS Kabupaten buton.go.id/>, diakses tanggal 05 mei 2008
33. Karen, S. & Vernon L.S.. 1977. *Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Method*. American Journal of Enology and Viticulture 28(1). University of California, Davis. 49-55
34. Herbert, R.B. 1989. *The Biosynthesis of Secondary Metabolites*. 2nd ed. Chapman and Hal. New York.
35. Andersen, Oyvind M. & Kenneth R. Markham (editor). 2006. *Flavonoid : Chemistry, Biochemistry, and Application*. Tylor & Francis Group: CRC Press. New York. 397
36. Lutfun, N. & Satyajit D.S.. 2007. *Chemistry for Pharmacy Students, General, Organic and Natural Product Chemistry*. John Wiley & Son. United Kingdom

25. Mahtuti. 2004. *Pengaruh Daya Antimikroba Asam Tanat Terhadap Pertumbuhan Bakteri Salmonella typhi Secara In Vitro*. Unair. Surabaya
26. Waterman P.G. & Mole S. 1994. *Analysis of Phenolic Plant Metabolites*. Blackwell Scientific Publications, Oxford. UK
27. Makkar H.P.S., Blummel M., Besker K. 1995. Formation Of Complexes Between Polyvinyl Pyrrolidones or Polyethylene Glycols and Tannin and Their Implication In Gas Production An True Digestibility In In Vitro Techniques. *Br. J. Nutrition*, 73: 897-913
28. Horvath, P.J. 1981. *The Nutritional and Ecological of Acer-Tannins and Related Polyphenols*. M.S. Thesis. Cornell University, Ithaca, NY. USA
29. Giner, C.B.I. 1996. *Condensed Tannins in Tropical Forages*. Ph.D. Thesis. Cornell University, Ithaca, NY, USA
30. Cilliers, J.J.L., Singleton, V.L., dan Lamuela, R.. 1990. Total Polyphenols in Apples and Ciders; Correlation with Chlorogenic Acid. *Journal of Food Science* 55 (5) , 1458–1459
31. Anonim, 2007. *Geografis kota bau – bau*, <http://www.BPS Kota Bau-Bau.go.id/>, diakses tanggal 05 mei 2008
32. Anonim, 2007. *Geografis kota buton*, <http://www.BPS Kabupaten buton.go.id/>, diakses tanggal 05 mei 2008
33. Karen, S. & Vernon L.S.. 1977. *Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Method*. American Journal of Enology and Viticulture 28(1). University of California, Davis. 49-55
34. Herbert, R.B. 1989. *The Biosynthesis of Secondary Metabolites*. 2nd ed. Chapman and Hal. New York.
35. Andersen, Oyvind M. & Kenneth R. Markham (editor). 2006. *Flavonoid : Chemistry, Biochemistry, and Application*. Tylor & Francis Group: CRC Press. New York. 397
36. Lutfun, N. & Satyajit D.S.. 2007. *Chemistry for Pharmacy Students, General, Organic and Natural Product Chemistry*. John Wiley & Son. United Kingdom

25. Mahtuti. 2004. *Pengaruh Daya Antimikroba Asam Tanat Terhadap Pertumbuhan Bakteri Salmonella typhi Secara In Vitro*. Unair. Surabaya
26. Waterman P.G. & Mole S. 1994. *Analysis of Phenolic Plant Metabolites*. Blackwell Scientific Publications. Oxford. UK
27. Makkar H.P.S., Blummel M., Besker K. 1995. Formation Of Complexes Between Polyvinyl Pyrrolidones or Polyethylene Glycols and Tannin and Their Implication In Gas Production An True Digestibility In In Vitro Techniques. *Br. J. Nutrition*, 73: 897-913
28. Horvath, P.J. 1981. *The Nutritional and Ecological of Acer-Tannins and Related Polyphenols*. M.S. Thesis. Cornell University, Ithaca, NY. USA
29. Giner, C.B.I. 1996. *Condensed Tannins in Tropical Forages*. Ph.D. Thesis. Cornell University, Ithaca, NY, USA
30. Cilliers, J.J.L., Singleton, V.L., dan Lamuela, R.. 1990. Total Polyphenols in Apples and Ciders; Correlation with Chlorogenic Acid. *Journal of Food Science* 55 (5) , 1458–1459
31. Anonim, 2007. *Geografis kota bau – bau*, <http://www.BPS Kota Bau-Bau.go.id/>, diakses tanggal 05 mei 2008
32. Anonim, 2007. *Geografis kota buton*, <http://www.BPS Kabupaten buton.go.id/>, diakses tanggal 05 mei 2008
33. Karen, S. & Vernon L.S.. 1977. *Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Method*. American Journal of Enology and Viticulture 28(1). University of California, Davis. 49-55
34. Herbert, R.B. 1989. *The Biosynthesis of Secondary Metabolites*. 2nd ed. Chapman and Hal. NewYork.
35. Andersen, Oyvind M. & Kenneth R. Markham (editor). 2006. *Flavonoid : Chemistry, Biochemistry, and Application*. Tylor & Francis Group: CRC Press. New York. 397
36. Lutfun, N. & Satyajit D.S.. 2007. *Chemistry for Pharmacy Students, General, Organic and Natural Product Chemistry*. John Wiley & Son. United Kingdom

Tabel 1. Uji Organoleptik Ekstrak Etanol Klika Ongkea

Asal Tanaman	Organoleptik			
	Bentuk	Warna	Bau	Rasa
Batanga	Serbuk	Coklat kemerahan	Khas	agak sepat
Pasarwajo	Serbuk	Coklat kemerahan	Khas	agak sepat
Bungi	Serbuk	Coklat kemerahan	Khas	agak sepat

Tabel 2. Jumlah Ekstrak yang Larut dalam etanol

No	Asal Tanaman	Cawan Kosong (gram)	Cawan + Residu (gram)	Residu (gram)	Kadar ekstrak larut etanol (%)	Rata – rata (%)
1	Batanga (1)	27,2344	27,5736	0,3392	67,80	67,95
	Batanga (2)	51,2178	51,5650	0,3546	69,44	
	Batanga (3)	47,7765	47,7765	0,3331	66,61	
2	Pasarwajo (1)	27,2180	27,4913	0,2733	54,66	55,36
	Pasarwajo (2)	47,4146	47,6942	0,2790	55,80	
	Pasarwajo (3)	51,1920	51,4702	0,2782	55,64	
3	Bungi (1)	27,2189	27,4840	0,2651	53,02	51,58
	Bungi (2)	47,7405	47,9832	0,2427	48,54	
	Bungi (3)	36,6664	36,9323	0,2629	53,18	
Kisaran kadar ekstrak yang larut dalam etanol = 51,58% – 67,95%						

Keterangan:

Cara perhitungan dapat dilihat pada lampiran II.

Tabel 3. Jumlah Ekstrak yang Larut dalam air

No	Asal Tanaman	Cawan Kosong (gram)	Cawan + Residu (gram)	Residu (gram)	Kadar ekstrak larut air (%)	Rata – rata (%)
1	Batanga (1)	27,2345	27, 3816	0,1471	29,42	29,67
	Batanga (2)	51,2178	51,3692	0,1516	30,32	
	Batanga (3)	47,4434	47,5892	0,1463	29,26	
2	Pasarwajo (1)	27,2180	27,4099	0,1918	38,36	39,03
	Pasarwajo (2)	47,4146	47,6104	0,1967	39,34	
	Pasarwajo (3)	51,1918	51,3887	0,1969	39,38	
3	Bungi (1)	27,2196	27,3948	0,1752	35,04	34,72
	Bungi (2)	47,4205	47,5989	0,1784	35,68	
	Bungi (3)	51,1929	51,3601	0,1672	33,44	
Kisaran kadar ekstrak yang larut dalam air = 29, 67% – 39,03%						

Keterangan =

Cara perhitungan dapat dilihat pada lampiran II

Tabel 4. Hasil Pengukuran Kromatografi Lapis Tipis Densitometer Klika  
Ongkea

senyawa	Rf	Nilai AUC spot untuk			
		Fraksi air	Fraksi Etanol	Fraksi Etil asetat	Fraksi Heksan
Bercak 1	-0,01	2424,6	1104,8	1421,6	2014,6
Bercak 2	0,88	23434,7	32543,4	4884,8	2306,2
Bercak 3	0,79	2419,0	-	-	-
Bercak 4	0,84	-	-	5386,5	-
Bercak 5	0,75	1973,0	9747,1	5243,4	-
Bercak 6	0,50	-	1330,3	-	4828,4
Bercak 7	0,50	-	-	-	2539,6
Bercak 8	0,58	-	1682,4	5677,7	-
Bercak 9	0,15	-	-	845,9	3552,0
Bercak 10	0,42	-	-	3371,0	-
Bercak 11	0,26	-	2370,2	2304,0	3736,5
Bercak 12	0,69	1554,7	-	-	-

Keterangan :

fase diam = silika G 60 RP18 F<sub>254</sub>

fase gerak = metanol 80%



Tabel 5. Nilai Serapan Asam Tannat

Konsentrasi asam tannat dalam pelarut air (bpj)	ABSORBAN
5	0,25495
10	0,44976
15	0,67979
20	0,85938
25	0,98944

Keterangan : diukur pada  $\lambda_{max} = 742 \text{ nm}$

Tabel 6. Nilai Serapan dari Sampel Ekstrak Etanol Klika Ongkea (*Mezzettia parviflora* Becc.)

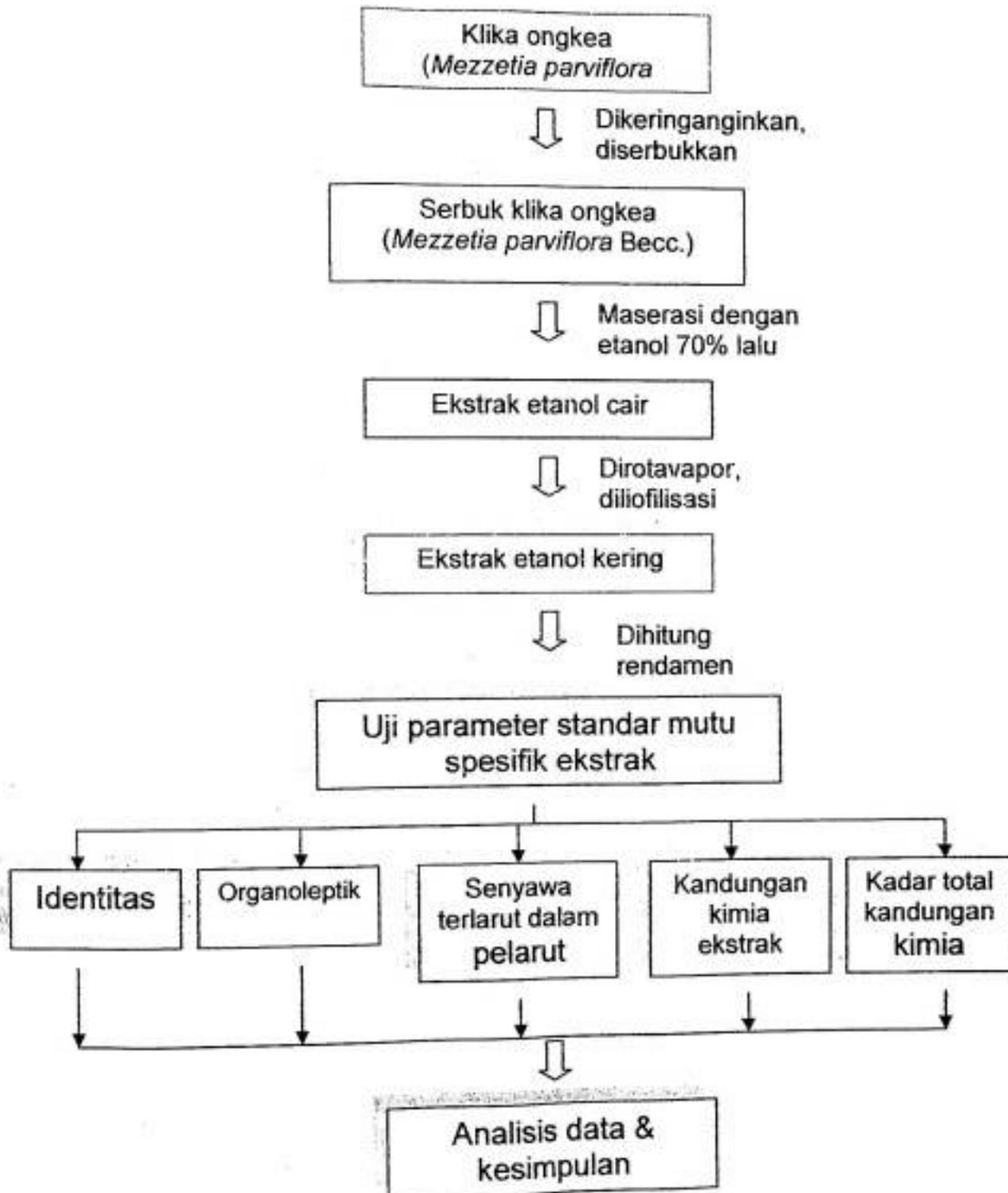
SAMPel		ABSORBAN	ABSORBAN RATA - RATA
Batanga	1	0,77411	0,72146
	2	0,75742	
	3	0,60798	
	4	0,66793	
	5	0,79989	
Bungi	1	0,85281	0,82806
	2	0,88375	
	3	0,73669	
	4	0,89628	
	5	0,77080	
Pasawajo	1	0,75050	0,77172
	2	0,89717	
	3	0,75657	
	4	0,65550	
	5	0,79884	

Tabel 7. Hasil Perhitungan Kadar Total Polifenol

No	Sampel	Kadar Polifenol (%b/b)
1	Batanga	67,91
2	Pasarwajo	73,25
3	Bungi	79,25
Kisaran kadar total polifenol = 67,91% – 79,25%		

Keterangan : Contoh perhitungan pada lampiran III

LAMPIRAN I. Skema kerja penetapan parameter standar mutu spesifik ekstrak etanol klika ongska (*Mezzettia Cortex Extractum*)



LAMPIRAN II. Contoh perhitungan jumlah ekstrak etanol klica Ongkea (*Mezzettiae Cortex Extractum*) yang terlarut dalam pelarut tertentu.

Berdasarkan data pada tabel 3 :

$$\text{Bobot awal ekstrak} = 2,5 \text{ g}$$

$$\text{Bobot Cawan kosong} = 27,2345 \text{ g}$$

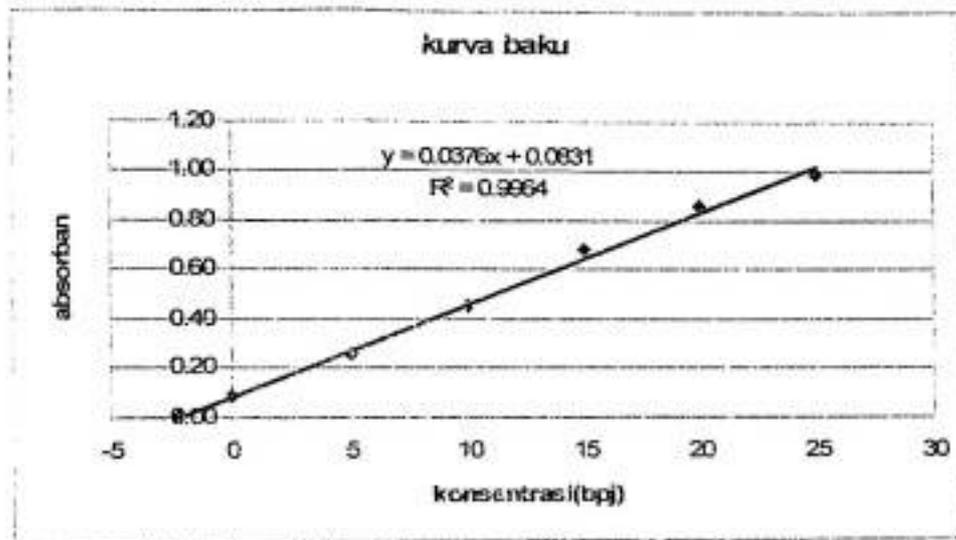
$$\text{Bobot cawan + ekstrak} = 27,3816 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot akhir ekstrak} &= (27,3816 - 27,2345)\text{g} \\ &= 0,1471\text{g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar senyawa ( \% )} &= \frac{0,1471(50/10)}{2,5} \times 100 \% \\ &= 29,42 \% \end{aligned}$$

## LAMPIRAN III. Contoh perhitungan kadar polifenol

Dik : Persamaan dari kurva baku asam tannat ( Data nilai serapan pada Tabel 5)



Gambar 7. Kurva baku asam tannat menggunakan spektrofotometer UV-Vis

$$y = 0,0376x + 0,0831$$

Dit : % kadar polifenol = ...?

Penyelesaian :

$$y = 0,0376x + 0,0831$$

jika serapan sampel adalah 0,828066 maka,

$$y = 0,828066$$

$$0,828066 = 0,0357x + 0,0831$$

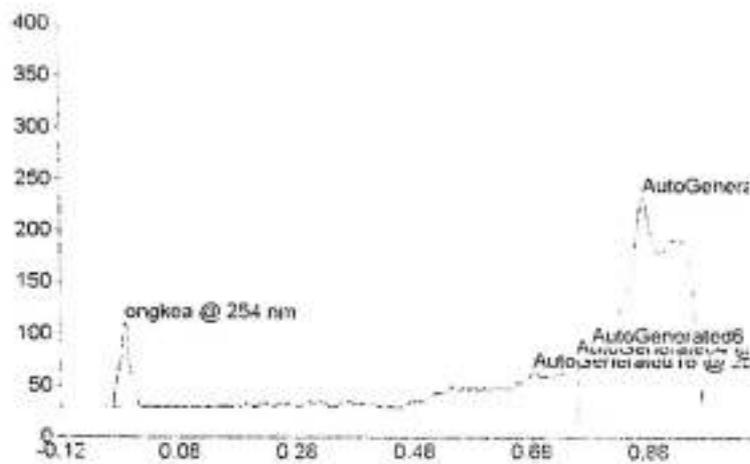
$$x = 19,81293$$

Faktor pengenceran =  $10 \text{ ml} / 0,25 \text{ ml} = 40$

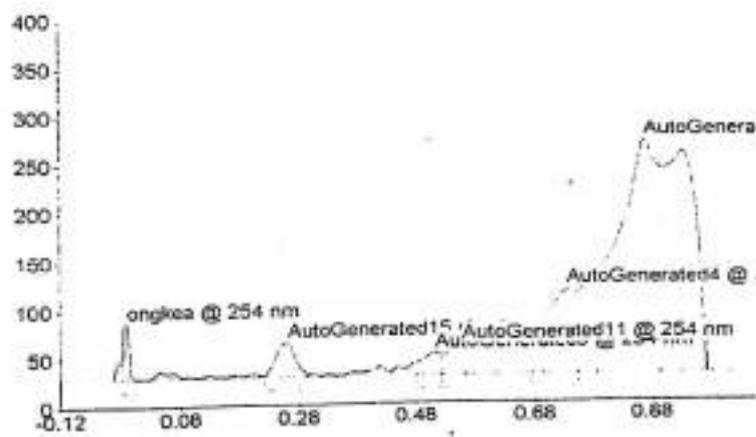
$$\% k = \frac{\left( \text{Vol.} \right) \left( x \right) \left( \text{faktor pengenceran} \right)}{\text{Berat Sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{\frac{10}{1000} \text{ L} \times 19,81293 \text{ mg / L} \times 40}{10 \text{ mg}} \times 100\%$$

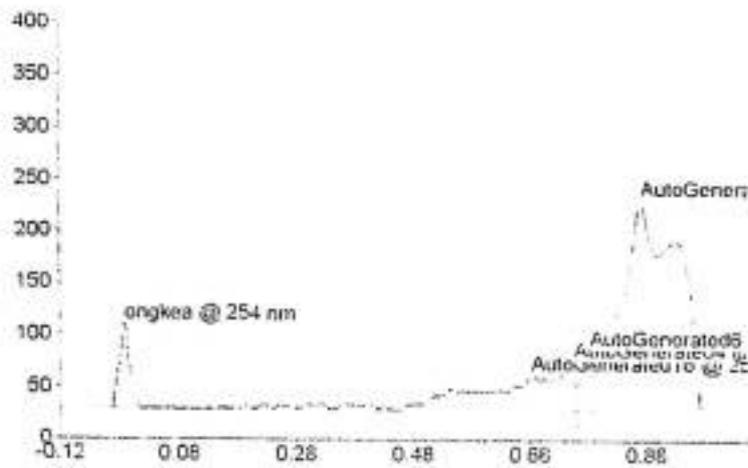
$$= 79,25\%$$



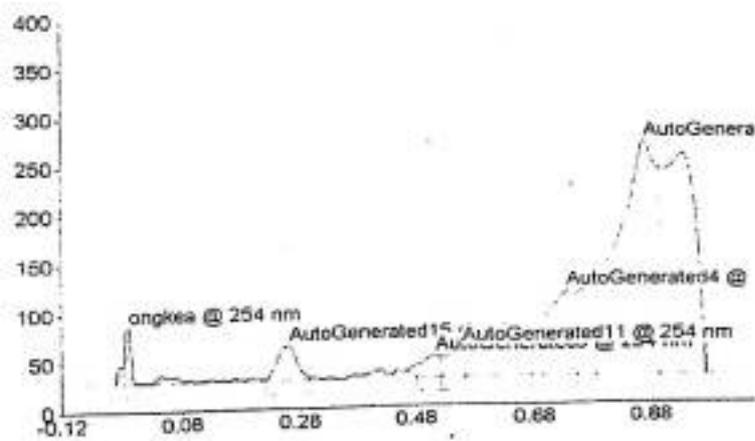
Gambar 8. Kromatogram LapisTipis Densitometer fraksi air



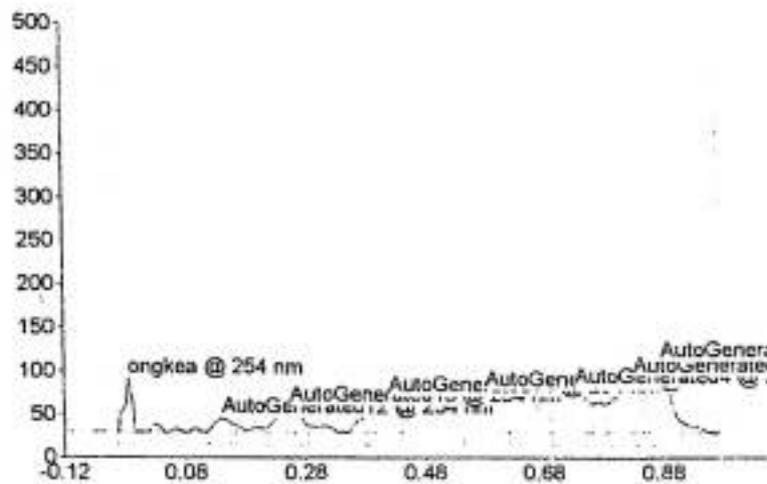
Gambar 9. Kromatogram LapisTipis Densitometer fraksi etanol



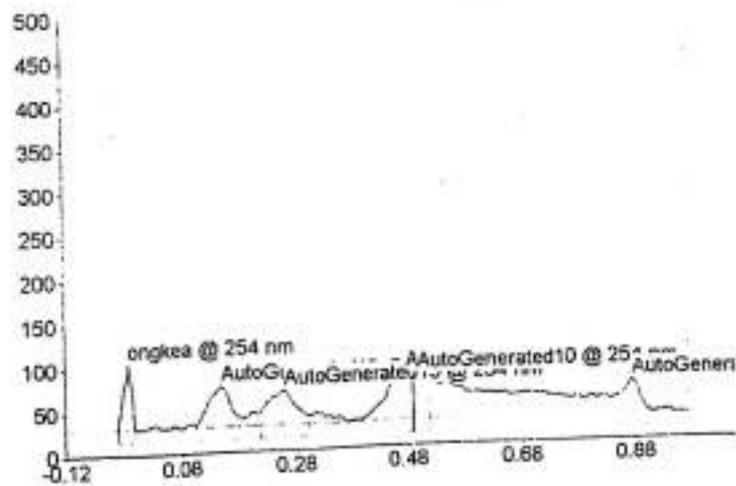
Gambar 8. Kromatogram LapisTipis Densitometer fraksi air



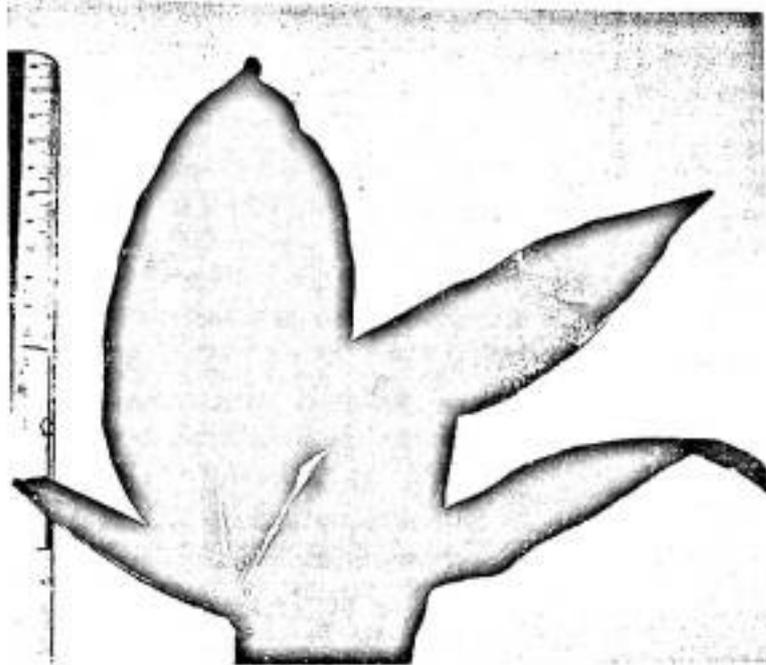
Gambar 9. Kromatogram LapisTipis Densitometer fraksi etanol



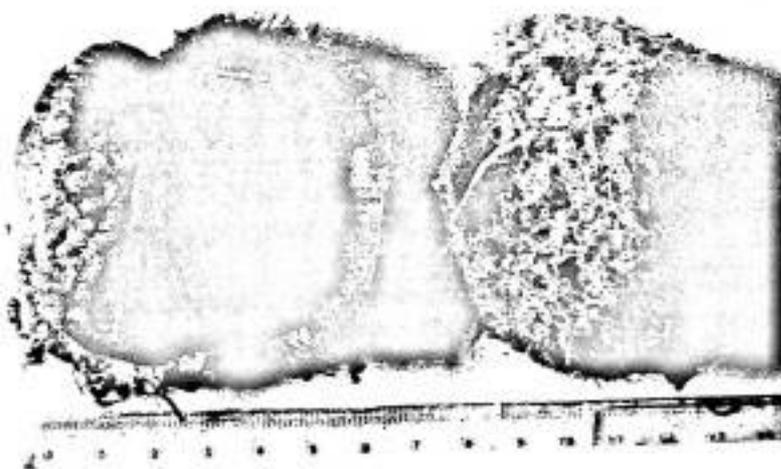
Gambar 10. Kromatogram Lapis Tipis Densitometer fraksi etil asetat



Gambar 11. Kromatogram Lapis Tipis Densitometer fraksi heksan



Gambar 12. Foto Daun *Mezzettia parviflora* Becc.



Gambar 13. Foto Buah *Mezzettia parviflora* Becc.



Gambar 14. Foto *Mezzettia parviflora* Becc.