SKRIPSI

ANALISIS KADAR FLAVONOID DAN ALKALOID EKSTRAK DAUN SESEWANUA (*Clerodendron squamatum* Vahl) YANG DIPEROLEH DARI METODE EKSTRAKSI REFLUKS

TASYA AMANDA MULYADI
D1B121063

PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MEGAREZKY
MAKASSAR
2025

ANALISIS KADAR FLAVONOID DAN ALKALOID TOTAL EKSTRAK DAUN SESEWANUA (*Clerodendron squamatum* Vahl) YANG DIPEROLEH DARI METODE EKSTRAKSI REFLUKS

SKRIPSI

Diajukan Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk Mencapai Gelar Sarjana Farmasi Pada Universitas Megarezky

Oleh,

TASYA AMANDA MULYADI

NIM : D1B121063

PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MEGAREZKY
MAKASSAR
2025

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini

Nama	: Tasya Amanda Mulyadi
NIM	: D1B121063
Tempat/Tanggal Lahir	: Makassar, 12 Desember 2002
Program Studi	: S1 Farmasi
Judul	: Analisis Kadar Flavonoid Dan Alkaloid Total Ekstrak Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl) Yang Diperoleh Dari Metode Refluks

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya sendiri dan bukan plagiat, apabila dalam skripsi ini ternyata ditemukan unsur plagiat, maka saya siap mendapatkan sanksi akademik terkait dengan hal tersebut.

Makassar, Juni 2025

Penyusun

Tasya Amanda Mulyadi
D1B121063

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi dengan judul :

Analisis Kadar Flavonoid dan Alkaloid Total Ekstrak Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl) Yang Diperoleh Dari Metode Refluks

Telah disetujui untuk diajukan ke ujian skripsi dan diuji oleh tim penguji. Berikut kami yang bertanda tangan :

Pembimbing I	Pembimbing II
apt. Sri Wahyuningsih, S.Si., M.Si	Irwan, SH., MH
NIDN : 0904108902	NIDN : 0902039003

Mengetahui,

Ketua Program Studi S1 Farmasi

Dr. apt. Nurnikma Awaluddin, S.Farm., M.Si

NIDN. 0922029102

HALAMAN PENGESAHAN

Pada hari ini Sabtu tanggal 09 Agustus 2025 bertempat di Ruang Tutorial 2, Lantai 3 Gedung D Fakultas Farmasi Universitas Megarezky Makassar, telah dilaksanakan Ujian Skripsi sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan Program Sarjana Farmasi terhadap mahasiswa atas nama :

Nama : Tasya Amanda Mulyadi

NIM : D1B121063

Program Studi : S1 Farmasi

Judul Skripsi : Analisis Kadar Flavonoid Dan Alkaloid Total Ekstrak Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl) Yang Diperoleh Dari Metode Refluks

Yang telah disetujui oleh **Tim Penguji Skripsi**, sebagai berikut :

Tim penguji	**Tanda tangan**
1. apt. Sri Wahyuningsih, S.Si., M.Si.	(.....)
2. Irwan, SH., MH.	(.....)
3. apt. Ahmad Irsyad Aliah, S.Farm., M.Si.	(.....)

Mengetahui

Dekan Fakultas Farmasi Ketua	Program Studi S1 Farmasi
Dr. apt. Besse Yuliana, S.Si.,M.Si	apt. Nurhikma A, S.Farm., M.Si
NIDN. 0923117901	NIDN. 0922029102

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Subhanahu Wa Ta'ala karena atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul:

"Analisis Kadar Flavonoid Dan Alkaloid Total Ekstrak Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl) Yang Diperoleh Dari Metode Ekstraksi Refluks"

Penyusunan karya tulis ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi, Universitas Megarezky Makassar. Penulis menyadari bahwa tanpa bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak, karya tulis ini tidak akan dapat terselesaikan dengan baik.

Dengan penuh rasa hormat dan cinta, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada kedua orang tua tercinta Bapak Mulyadi Samir dan Ibu Irma Hapsari, yang senantiasa mendoakan, mendampingi, serta memberikan semangat, kasih sayang, dan dukungan moril maupun materil tanpa henti. Tanpa keikhlasan dan doa dari Ayah dan Ibu, penyusunan skripsi ini tidak akan pernah terwujud.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya juga penulis sampaikan kepada:

1. Bapak Dr. H. Alimuddin, SH., MH., M.Kn sebagai Pembina Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar, atas arahan dan pembinaan yang senantiasa menjadi fondasi dalam pengembangan institusi dan mahasiswa.

2. Ibu Alm. Hj. Suryani, SH., MH sebagai Pendiri Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar, atas dedikasi dan kontribusi luar biasa dalam mendirikan lembaga pendidikan yang menjadi wadah pengembangan ilmu dan karakter.
3. Bapak Moch. Noer Alim Qalby, S.H., LLM Sebagai Ketua Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar, atas dukungan dan kebijakan strategis yang memfasilitasi proses pendidikan dan penelitian secara berkelanjutan.
4. Bapak Prof. Dr. Anwar Ramli, SE., M.Si sebagai Rektor Universitas Megarezky, atas motivasi dan arahannya dalam membangun budaya akademik yang unggul dan berdaya saing.
5. Ibu Dr. apt. Besse Yuliana, S.Si., M.Si, sebagai Dekan Fakultas Farmasi, atas kesempatan dan dukungan yang diberikan selama masa studi.
6. Ibu Apt. Nurhikma Awaluddin, S.Farm., M.Si sebagai Ketua Program Studi Sarjana Farmasi, atas bimbingan akademik yang berkelanjutan dan inspiratif.
7. Ibu apt. Sri Wahyuningsih, S.Si., M.Si selaku Pembimbing I dan Bapak Irwan, Sh., MH selaku Pembimbing II, yang telah memberikan arahan, saran, dan evaluasi dalam penyusunan karya tulis ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
8. Bapak apt. Imran Firman, S.Farm., M.Si sebagai Pembimbing Akademik (PA), atas pendampingan dan bimbingan akademik selama masa studi penulis

9. Seluruh Dosen dan Staf Akademik Universitas Megarezky, atas ilmu, perhatian, dan pelayanan yang diberikan selama proses studi.
10. Teman-teman seperjuangan dan semua pihak yang turut membantu secara langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan karya ilmiah ini.
11. Tim Laboratorium, atas bantuan teknis dan fasilitas yang diberikan selama proses penelitian.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan karya ilmiah ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan karya ini di masa mendatang.

Akhir kata, semoga karya ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca, serta menjadi kontribusi yang berarti dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

Makassar, Juni 2025

Tasya Amanda Mulyadi

DAFTAR ISI

SAMPUL ..... **ii**
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI ..... **iii**
HALAMAN PERSETUJUAN ..... **iv**
HALAMAN PENGESAHAN ..... **v**
KATA PENGANTAR ..... **vi**
DAFTAR ISI ..... **ix**
DAFTAR GAMBAR ..... **xi**
ABSTRAK ..... **xii**
ABSTRACT ..... **xiii**
BAB I PENDAHULUAN **1**
A. Latar Belakang 1
B. Rumusan Masalah 4
C. Tujuan penelitian 4
D. Manfaat penelitian 4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA **6**
A. Tanaman Sesewanua 6
B. Simplisia 8
C. Ekstraksi 11
D. Partisi Cair-Cair (PCC) 25
E. Flavonoid 26
F. Alkaloid 29
G. Spektrofotometri UV-Vis 29
H. Kerangka Teori 32
I. Kerangka Konsep 33
J. Hipotesis 34
BAB III METODE PENELITIAN **36**
A. Jenis Penelitian 36

B. Lokasi dan Waktu Penelitian 36
C. Sampel Penelitian 36
D. Alat dan Bahan 36
E. Prosedur Kerja 37
F. Pembuatan Ekstrak 37
G. Partisi Cair-Cair (PCC) 38
H. Evaluasi Parameter Spesifik dan Non Spesifik 38
I. Penetapan Kadar Flavonoid Total 40
J. Penetapan Kadar Alkaloid Total 42
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 45
A. Hasil Penelitian 45
B. Pembahasan 48
BAB V PENUTUP 60
A. Kesimpulan 60
B. Saran 60
DAFTAR PUSTAKA 61
LAMPIRAN 66
A. Skema Kerja 66
B. Dokumentasi 73
C. Perhitungan 76

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun Sesewanua 6
Gambar 2.2 Maserasi 13
Gambar 2.3 Perkolasi 18
Gambar 2.4 Sokhletasi 20
Gambar 2.5 Refluks 22
Gambar 2.6 Flavonoid 28
Gambar 2.7 Spektrofotometri UV-Vis 32

ABSTRAK

TASYA AMANDA MULYADI (NIM: D1BI21063) "Analisis Kadar Flavonoid Dan Alkaloid Total Ekstrak Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl) Yang Diperoleh Dari Metode Ekstraksi Refluks" (Dibimbing oleh Sri Wahyuningsih dan Irwan).

Flavonoid dan alkaloid berperan sebagai antioksidan alami yang mampu menangkal radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil parameter spesifik dan non spesifik serta mengetahui kadar flavonoid dan alkaloid total dari ekstrak daun sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl) yang diperoleh melalui metode ekstraksi refluks. Penilaian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium, dengan proses ekstraksi metode refluks menggunakan pelarut etanol 96%, dilanjutkan partisi cair-cair dengan pelarut n-heksan, etil asetat dan air. Penilaian dilakukan berdasarkan parameter spesifik dan non spesifik (organoleptik, kadar air, kadar sisa etanol, kadar sari larut etanol, identifikasi senyawa). Penetapan kadar flavonoid dan alkaloid total menggunakan spektrofotmetri UV-Vis dengan kuarsetin dan kafein sebagai standar. Didapatkan ekstrak kental, berwarna hijau kehitaman, aromatis dan rasa agak kelat. Pada kadar air didapatkan fraksi n-heksan sebesar 8,89%, fraksi etil asetat dan fraksi air sebesar 10%. Kadar sari larut etanol pada fraksi n-heksan sebesar 8%, fraksi etil asetat 14,5% dan fraksi air 13%. Kadar sisa etanol pada fraksi n-heksan 0%, fraksi etil asetat dan fraksi air sebesar 1%. Pada uji kadar flavonoid total menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki kadar flavonoid tertinggi sebesar 1,74%, fraksi etil asetat 1,68%, fraksi n-heksan 1,15%, fraksi air 0,88%. Kadar alkoid tertinggi pada fraksi air sebesar 0,88%, ekstrak etanol 0,86%, fraksi etil asetat sebesar 0,87%, fraksi n-heksan 0,09%. Berdasarkan hasil tersebut, penelitian ini berhasil mengevaluasi parameter spesifik dan non spesifik ekstrak daun sesewanua dan metode refluks terbukti efektif dalam mengekstraksi senyawa aktif dari daun sesewanua yang berpotensi sebagai bahan dasar dalam pengembangan produk fitofarmaka.

Kata Kunci: Alkaloid, Flavonoid, Refluks, Sesewanua

ABSTRACT

TASYA AMANDA MULYADI (NIM: D1BI21063) *"Analysis of Total Flavonoid and Alkaloid Content of Sesewanua Leaf Extract (Clerodendron squamatum Vahl) Obtained from Reflux Extraction Method" (Supervised by Sri Wahyuningsih dan Irwan).*

Flavonoids and alkaloids act as natural antioxidants that can ward off freee radicals. This research aimed to determine the results of specific and non-specific parameters and to determine the total flavonoid and alkaloid levels of sesewanua leaf extract (*Clerodendron squamatum* Vahl) obtained through the reflux extraction method. This assessment is a laboratory experimental study, with a reflux extraction process using 96% ethanol solvent, followed by liquid-liquid partition with n-hexane, ethyl acetate and water solvents. The assessment was carried out based on specific and non-specific parameters (organoleptic, water content, residual ethanol content, ethanol soluble extract content, compound identification). Determination of total flavonoid and alkaloid level use UV-Vis Spectrophotometry with quercetin and caffeine as standars. The extract was thick, blackish green, aromatic and slightly astringent in taste. At water content, the n-hexane fraction was 8.89%, the ethyl acetate fraction and the water fraction were 10%. The ethanol soluble extract content in the n-hexane fraction was 8%, the ethyl acetate fraction was 14.5% and water fraction was 13%. The residual ethanol content in the n-hexane fraction was 0%, the ethyl acetate fraction and the water fraction was 1%. The total flavonoid content test showed that the etanol extract had highest flavonoid content of 1.74%, the ethyl acetate fraction was 1.68%, the n-hexane fraction was 1.15% and the water fraction was 0.88%. The highest alkaloid content was in the water fraction of 0.88%, the ethanol extract was 0.86%, the ethyl acetate fraction was 0.87%, and the n-hexane fraction was 0.09%. Based on these result, this research successfully evaluated the specific and non-specific parameters of sesewanua leaf axtract and the reflux method was proven effective in extracting active compounds from sesewanua leaves which have the potential as basic materials in the development of phytopharmaceutical products.

Keywords: Alkaloids, Flavonoids, Reflux, Sesewanua

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Sulawesi Utara merupakan wilayah bagian timur Indonesia yang memiliki keanekaragaman flora yang luar biasa, iklimnya yang lembab membuatnya cocok untuk pertanian dan perkebunan serta perkembangbiakan flora. Karena kondisi iklimnya, beberapa tanaman endemik memiliki potensi untuk tumbuh disana dan digunakan sebagai bahan baku obat tradisional. Salah satu tumbuhan endemik yang ada di daerah ini yaitu tanaman sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.) (Melo *et al*., 2015).

Tanaman Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.) merupakan salah satu tumbuhan yang banyak dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional oleh masyarakat di Sulawesi Utara. Biasanya pada wilayah tersebut tumbuhan ini digunakan sebagai obat tradisional yang mengobati berbagai macam penyakit seperti mengobati antipiretik, antibakteri, antikanker, patah tulang dan antiinflamasi. Dimana manfaat tersebut dapat diambil dari kandungan senyawa bioaktifnya yang mengandung beberapa senyawa, salah satu nya yaitu senyawa flavonoid, alkaloid dan tannin yang berpotensi berfungsi sebagai antiokosidan (Hohakay *et al.*, 2019). Senyawa flavonoid dan alkaloid ini merupakan jenis senyawa metabolit sekunder yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan (widiasari, 2024). Senyawa ini dapat dilakukan penarikan menggunakan metode ekstraksi, baik ekstraksi dingin maupun ekstraksi panas (Wicaksono *et al*., 2023).

Senyawa flavonoid merupakan senyawa polifenol yang banyak ditemukan pada tumbuhan, flavonoid banyak melakukan aktivitas biologis yang bermanfaat bagi kesehatan manusia. Dimana antioksidan menjadi sifat utama flavonoid, yang memungkinkan mereka mengikat ion logam yang dapat memicu reaksi radikal bebas (Shiyan, 2024). Alkaloid merupakan salah satu metabolit sekunder yang memiliki fungsi sebagai analgetik, antipiretik, antimikroba, obat jantung, dan hipotensi, antioksidan (Ismiadi *et al*, 2024). Antioksidan ini lah yang dapat mencegah, menahan, dan melambatkan oksidasi (Suleman *et al*., 2023). Tiga mekanisme yang dilakukan oleh flavonoid untuk mencegah radikal bebas terbantuk yaitu; memperlambat pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS), menghancurkan ROS dan mengontrol atau melindungi dengan antioksidan (Hobir, 2020).

Secara umum, metode ekstraksi biasanya dibedakan berdasarkan apakah ada atau tidak ada proses pemanasan (ekstraksi dingin atau panas). Pemanasan ini juga dapat berpengaruh pada seberapa efektif proses ekstraksi. Selain itu ini juga bergantung pada senyawa yang ditargetkan setelah proses ekstraksi, dimana setiap metode ekstraksi masing-masing memiliki kelebihannya sendiri (Sudarwati & Fernanda, 2019). Keuntungan dari metode ekstraksi panas yaitu mempercepat proses penyarian senyawa karena selama prosesnya melibatkan pemanasan. Metode ini meliputi metode refluks, metode soxhlet, metode dekoksi dan metode infusa (Sudarwati & Fernanda, 2019).

Berdasarkan penelitian sebelumnya oleh (Hohakay *et al*., 2019) menunjukkan bahwa daun sesewanua mengandung flavonoid dengan nilai 7,8mg/g, pada

penelitian (Zulfiayu, 2024) menyatakan bahwa terdapat kadar flavonoid pada daun sesewanua dengan metode maserasi dan pelarut etanol 96%.

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi panas yaitu metode refluks. Metode refluks dipilih karena selain waktu yang diperlukan lebih singkat. Metode ini juga mengalami kontak langsung dengan pelarut secara terus-menerus. Hal ini berarti pelarut yang digunakan lebih sedikit sehingga lebih efektif dalam menarik senyawa metabolit (Lestari, 2021).

Telah ada penelitian sebelumnya oleh Lestari (2021), mengenai penentuan kadar flavonoid total fraksi n-heksan, etil asetat, dan air dengan metode ekstrtaksi maserasi. Kebaruan dari penelitian ini yang akan peneliti lakukan yaitu pada penelitian ini menggunakan sampel berbeda yaitu daun sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.) dengan metode ekstraksi yaitu metode ekstraksi refluks.

Berdasarkan permasalahan tersebut, peneliti mempertimbangkan pentingnya ekstraksi flavonoid dan alkaloid dari daun sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.) dan kebutuhan untuk mengevaluasi kualitas ekstrak melalui parameter spesifik dan non spesifik. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efektivitas metode ekstraksi etanol terhadap kadar flavonoid dan alkaloid total menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Diharapkan, hasil penelitian ini dapat memberikan informasi yang berguna mengenai metode ekstraksi yang optimal serta memberikan gambaran tentang kualitas ekstrak daun sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.) untuk aplikasi lebih lanjut.

B. Rumusan Masalah

Dari latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan suatu permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimana parameter spesifik dan non spesifik dalam menentukan kualitas ekstrak daun sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl) yang diperoleh dari metode ekstraksi refluks?
2. Berapa kadar flavonoid dan alkaloid total yang terkandung pada ekstrak daun sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl) yang diekstraksi menggunakan metode refluks?

C. Tujuan penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu :

1. Untuk mengetahui parameter spesifik dan non spesifik pada daun sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl).
2. Untuk menentukan kadar flavonoid dan alkaloid total yang terkandung dalam esktrak daun sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl) yang dihasilkan menggunakan metode ekstraksi refluks.

D. Manfaat penelitian

1. Untuk Peneliti

   Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi bagi penelitian selanjutnya yang lebih mendalam terkait produk atau sediaan dari ekstrak daun sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl).

2. Untuk Masyarakat

   Memberikan informasi kepada masyarakat tentang potensi daun sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl) sebagai bahan baku alami dengan kandungan flavonoid yang bermanfaat bagi kesehatan.

3. Untuk Institusi

   Mendukung pengembangan kurikulum atau modul pembelajaran dan meningkatkan reputasi institusi dalam penelitian berbasis pengembangan herbal lokal dan teknologi analisis.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Sesewanua

1. Sesewanua (*Clerodendron squamatum Vahl*)

   a. Klasifikasi daun sesewanua (*Clerodendron squamatum Vahl*) (GBIF, 2023)



Gambar 2.1 *Daun Sesewanua (Clerodendron squamatum Vahl)*
Sumber : (Irawati & Arini, 2015)

Kingdom : Plantae

Phylum : Tracheophyta

Class : Magnoliopsida

Ordo : Lamiales

Family : Lamiaceae

Genus : Clerodendron

Spesies : *Clerodendron squamatum* Vahl.

   b. Morfologi daun sesewanua

Tanaman sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.) biasanya tumbuh di daerah tropis dengan ketinggian yang rendah hingga sedang. Dapat

ditemukan di pekarangan atau tumbuh liar sebagai tanaman hias. Tanaman ini memiliki sistem perakaran serabut. Dimana akar berfungsi sebagai penopang dan penyerap air serta nutrisi dari tanah. Batang *Clerodendron squamatum* Vahl berbentuk tegak, berkayu dan bercabang. Kulit batangnya berwarna coklat keabu-abuan. Batangnya cukup kuat dan mencapai tinggi hingga 2-3 meter (Kuntorini, 2011). Daun nya berbentuk bulat telur (Ovale) dengan ujung runcing dan tepi rata. Permukaan daun halus, berwarna hijau tua di bagian atas dan hijau muda dibagian bawah. Daunnya tersusun secara berlawanan (opposite) pada batang. Bunga pada tanaman ini berwarna putih terang dan berbentuk seperti pagoda dengan susunan bertingkat. Kelopak bunga berbentuk corong dan panjang. Bunga muncul secara berkelompok di ujung cabang atau batang. Buah pada tanaman ini berbentuk bulat kecil, berwarna hijau saat muda dan berubah menjadi hitam saat matang. Buah ini mengandung biji kecil yang digunakan sebagai alat untuk reproduksi generative (Nuraini, 2020).

c. Nama daerah

Tanaman sesewanua termasuk dalam family lamiaceae, dengan sinonim nama latin yaitu *Clerodendron speciosissimum Paxt*, *Clerodendron japonicum Sweet* atau *Clerodendron kaempferi Fisch, ex Morr*. (GBIF, 2023). Nama umum tanaman ini yaitu sesewanua (Sulawesi Utara), biasanya banyak ditemukan di kota Manado tepatnya di kabupaten Minahasa.

d. Kandungan daun sesewanua

Tumbuhan dari family lamiacea digunakan secara luas sebagai tanaman obat. Beberapa jenis tanaman digunakan sebagai antipiretik, antiinflamasi, antibakteri, patah tulang dan penurun bengkak. *Clerodendron squamatum* Vahl juga disebut sesewanua di Indonesia termasuk dalam family lamiaceae, sehingga memiliki kemungkinan untuk digunakan sebagai tanaman obat. Daun sesewanua mengandung flavonoiod dan alkaloid yang dapat berpotensi sebagai antioksidan (Huselan *et al*., 2015). Daun sesewanua juga dapat berkhasiat sebagai antikanker, dimana ekstrak dari daun ini termasuk dalam aktivitas antikanker sedang (Yudistira, 2017).

B. Simplisia

Istilah "simplisia" mengacu pada bagian-bagian tanaman atau bahan alam yang masih berbentuk seperti wujud asli nya atau belum mengalami perubahan bentuk, yang biasanya digunakan sebagai bahan suatu sediaan obat. Simplisia adalah bahan alami yang biasa digunakan untuk membuat obat-obatan. Ini dapat berupa bahan kering atau serbuk dari bahan yang telah dikeringkan dan umumnya dianggap sebagai bahan yang aman dan tidak berbahaya untuk digunakan sebagai bahan obat (Saputri & Pitaloka, 2023). Simplisia yang digunakan sebagai obat yang belum diproses dan dikeringkan kecuali dinyatakan dengan cara lain. Suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60°C kecuali dinyatakan secara berbeda. Simplisia terdiri dari tiga kategori yaitu, simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia mineral (pelican) (Charisma & Ningsih, 2023).

a. Penggolongan Simplisia

Simplisia dapat dibagi menjadi 3 golongan yaitu :

1) Simplisia Nabati

Simplisia nabati terdiri dari tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan merupakan isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau dipisahkan dari selnya atau zat nabati lain yang dipisahkan dari tumbuhan dengan cara tertentu (Maslahah, 2024). Biasanya simplisia nabati sering dikenal sebagai tanaman obat. Tanaman obat sendiri merupakan tanaman yang memiliki sifat penyembuh dan pencegahan penyakit (Lutfiah, 2022).

2) Simplisia Hewani

Simplisia hewani merupakan simplisia yang terdiri dari zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan utuh, seperti minyak ikan dan madu (Maslahah, 2024). Simplisia ini juga dapat berupa zat bermanfaat yang dihasilkan oleh hewan dan masih berupa bahan kimia campuran (Lutfiah, 2022).

3) Simplisia mineral (pelikan)

Simplisia mineral atau pelikan merupakan bahan mineral atau pelikan yang belum diolah atau telah diolah secara sederhana. Salah satu contohnya yaitu serbuk seng, walaupun sering digunakan, serbuk seng kurang efektif untuk menghasilkan simplisia dibandingkan dengan tanaman budidaya karena kualitas simplisia yang dihasilkannya tidak konsisten (Maslahah, 2024). Simplisia ini juga dapat berupa bahan kimia campuran meskipun telah mengalami proses pengolahan (Lutfiah, 2022).

b. Tahap-tahap dalam pembuatan simplisia

Pada umumnya, pembuatan simplisia melalui beberapa tahap yaitu: (Fikayuniar, 2023)

1) Pengumpulan bahan baku

Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kadar senyawa aktif dalam simplisia, yaitu: bagian tanaman yang digunakan, umur tanaman (bagian tanaman saat panen), waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh.

2) Sortasi basah

Dilakukannya sortasi basah untuk membedakan kotoran dan bahan asing lainnya dari bahan simplisia.

3) Pencucian

Pencucian dilakukan untuk membersihkan tanah atau kotoran lain yang melekat pada bahan simplisia.

4) Perajangan

Perajangan dilakukan untuk memudahkan proses pengeringan, pengepakkan dan penggilingan, dimana bahan-bahan yang lebih sederhana dibagi menjadi bagian-bagian kecil.

5) Pengeringan

Pengeringan dilakukan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama dengan mengurangi kadar air dan mencegah reaksi enzimatik yang menyebabkan simplisia menjadi kurang baik atau rusak. Sortasi kering merupakan

pengeringan sebenarnya yang merupakan dari tahap akhir pembuatan simplisia.

6) Pengepakkan dan penyimpanan

Cara pengepakkan, pembungkusan dan pewadahan, persyaratan gudang simplisia, sortasi dan pemeriksaan mutu, dan cara pengawetan merupakan hal yang perlu diperhatikan dalam penyebab kerusakan simplisia.

7) Pemeriksaan mutu

Kualifikasi simplisia diperiksa saat diterima atau dibeli dari pengumpul atau pedagang simplisia.

C. Ekstraksi

1) Definisi Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode yang digunakan untuk memisahkan suatu bagian dari campuran, ekstraksi menggunakan sejumlah pelarut sebagai pemisah. Salah satu metode pemisahan kimia yang dikenal sebagai ekstraksi menggunakan pelarut tertentu untuk memisahkan atau menarik satu atau lebih bagian atau senyawa-senyawa dari suatu sampel. Pada umumnya, ekstraksi akan menjadi lebih baik jika permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan pelaruut lebih luas. Akibatnya, semakin halus serbuk simplisia, maka semakin baik simplisianya. Terdapat berbagai metode dalam melakukan ekstraksi, masing-masing metode memiliki kelebihan dan kekurangannya. Metode dipilih berdasarkan sifat senyawa, pelarut yang digunakan dan sumber daya yang tersedia. Dalam melakukan ekstraksi, struktur bahan, suhu, dan tekanan harus diperhatikan. Jenis, sifat fisik, dan sifat kimia senyawa yang akan

diekstraksi menentukan metode ekstraksi yang digunakan (Hujjatusnaini *et al*., 2021).

2) Metode Ekstraksi

a. Metode ekstraksi secara dingin

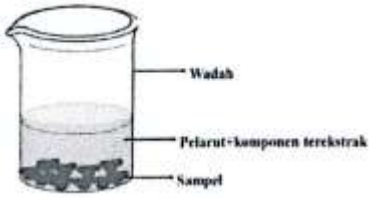
1) Maserasi

Maserasi adalah metode ekstraksi simplisia yang merendam bahan atau simplisia yang tidak tahan panas dalam pelarut tertentu selama waktu tertentu. Metode ini dilakukan pada suhu ruang 20-30°C untuk mencegah pelarut menguap terlalu banyak karena suhu, dilakukan pengadukan selama 15 menit untuk mencampur bahan dan pelarut (Hujjatusnaini *et al*., 2021).

Proses maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan ini memasuki dinding sel dan memasuki ronggal sel yang mengandung zat aktif. Karena perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan yang di luar sel, zat aktif tersebut larut, dan larutan tersebut didesak keluar (Hujjatusnaini *et al*., 2021). Prinsip maserasi adalah bahwa tekanan yang berbeda di dalam dan di luar sel memecahkan dinding dan membran sel. Ini dapat mengakibatkan larutnya metabolit sekunder dalam sitoplasma sel dalam larutan penyari atau pelarut organik. Jika mempertimbangkan kelarutan atau polaritas senyawa aktif dalam bahan alam, pemilihan pelarut yang tepat untuk proses maserasi dapat menghasilkan hasil yang tinggi. Oleh karena

sebaran polaritas yang besar, pelarut methanol dan etanol biasanya digunakan dalam proses maserasi (Handoyo *et al*., 2020).

Ekstraksi maserasi memiliki beberapa kelebihan yaitu, metode ini mudah dan tidak perlu melalui proses pemanasan, sehingga meminimalisir kerusakan pada bahan alam atau simplisia terurai (Susanty & Bachmid, 2016). Namun, di sisi lain teknik masserasi kurang efektif, karena membutuhkan waktu yang cukup lama dan hanya dilakukan dengan perendaman tanpa bantuan metode lain, sehingga osmosis pelarut ke dalam padatan berlangsung statis. Keuntungan utama dari teknik ekstraksi maserasi adalah prosedurnya lebih mudah digunakan dan peralatan yang praktis. Lebih sedikit dan tidak memerlukan pemanasan sehingga bahan organik yang ada tidak terurai. Namun, jika digunakan dalam skala produksi besar seperti industri, memakan waktu yang relatif lebih lama (Yulianti & Santoso, 2020).



Gambar 2.2 *ilustrasi ekstraksi dengan cara maserasi*
Sumber (Issusilaningtyas et al., 2024)

Adapun metode maserasi terbagi menjadi 3, yaitu:

a) Maserasi konvensional

Maserasi konvensional merupakan metode maserasi yang paling sederhana, dimana biasa dikenal dengan metode perendaman karena sampel direndam dalam pelarut tanpa mengalami proses

penggojogan atau pengadukan. Walaupun tanpa penggojogan, gerak kinetik pelarut tetap bergerak pada suhu kamar, yang merupakan dasar penarikan senyawa dari sampel. Namun, penggojogan rutin mempercepat proses maserasi (Yulianti & Santoso, 2020).

Kelebihan dari maserasi ini yaitu dapat digunakan untuk jenis senyawa temostabil maupun termolabil. Selain itu, tidak diperlukan alat yang spesifik, dapat digunakan apa saja untuk proses perendaman dan prosedurnya sederhana. Kekurangan dari maserasi ini sendiri yaitu membutuhkan waktu yang lama, dan membutuhkan pelarut dalam jumlah yang cukup banyak (Yulianti & Santoso, 2020).

b) Maserasi dengan ultrasonik

Estraksi ultrasonik adalah pengembangan dari metode maserasi. Gelombang ultrasonik berfrekuensi tinggi, atau ultrasonik digunakan untuk memproses ekstrak. Prinsip kerjanya adalah untuk mengamati sifat akustik gelombang ultrasonik yang dirambat melalui medium. Saat gelombang tersebut merambat melalui medium, medium yang dilewati akan bergetar. Perambatan medium dengan cairan dikenal sebagai ekstraksi ultrasonik bath memperkuat proses. Penggabungan meningkatkan proses ekstraksi dengan meningkatkan osmosis bahan dengan pelarut. Metode ekstraksi gelombang ultrasonik, atau sonokimia, mengubah proses kimia dengan menggunakan gelombang ultrasonik. Metode ini lebih

efisien, membutuhkan waktu lebih singkat dan biasanya lebih cepat daripada ekstraksi maserasi pada umumnya (Setyantoro *et al*., 2019).

c) Maserasi dengan magnetik stirrer

Metode ekstraksi adalah tahap pertama penyelidikan kandungan senyawa dalam bahan alam melalui proses perendaman dengan pelarut tertentu. Ekstraksi paling dasar, yaitu maserasi. Alat maserasi konvensional dengan bejana kaca dan pengadukan yang dilakukan secara manual memiliki beberapa kelemahan. Kebocoran bejana terjadi karena tekanan kuat pada pelarut di dalamnya. Selain itu, proses ekstraksi melalui maserasi memerlukan banyak pelarut, dan pengadukan yang tidak teratur. Akibatnya, pelarut menjadi jenuh saat senyawa kimia ditarik dari tumbuhan. Dengan demikian, untuk meningkatkan penarikan zat aktif dari tumbuhan, alat maserasi dengan kombinasi pengaduk berkesinambungan harus dibuat (Zaini *et al*., 2020).

Sebuah alat maserasi skala laboratorium yang menggunakan pengadukan magnetik otomatis dikenal sebagai Macerator-Magnetic Stirrer (M-MS) yang diharapkan dapat menyelesaikan masalah kejenuhan proses ekstraksi secara maserasi sambil mengoptimalkan proses ekstraksi. Alat M-MS (No. Hak Cipta: 000193896) telah diuji secara mekanik dan elektronik untuk memastikannya laik. Proses optimalisasi alat M-MS diperrlukan

untuk menentukan laju pengadukan yang ideal untuk menarik kandungan berkhasiat dari ekstrak yang dihasilkan dari maserasi M-MS (Zaini *et al*., 2020). Alat magneik stirrer biasanya digunakan oleh laboran untuk menganalisis sampel larutan. Alat ini digunakan untuk mengaduk atau mencampur suatu larutan dengan larutan yang lainnya sehingga larutan menjaddi homogen. Selama proses pengadukan atau campuran, laboran hanya perlu mengatur kecepatan putaran atau pengadukan, dan menunggu proses selama 10-60 menit. Saat ini, alat magnetik stirrer hanya memiliki knop pengatur untuk mengontrol kecepatan pengaduk. Namun, petugas laboran atau pengguna biasanya menggunakan stopwatch atau perkiraan waktu untuk menghitung berapa lama waktu pengadukan sampel (Irsyad *et al*., 2016).

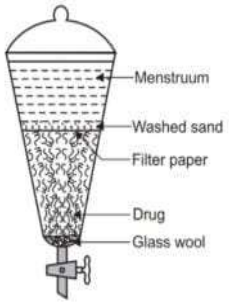
2) Perkolasi

Selama berabad-abad, ekstraksi konvensional perkolasi telah digunakan dalam pengolahan bahan alam untuk tujuan farmasi. Proses ini melibatkan aliran pelarut melalui bahan alam yang akan di ekstraksi, seperti tumbuhan obat atau bahan alam lainnya. Biasanya, proses ini dilakukan dengan menggunakan kolom atau wadah yang berisi bahan alam yang telah dihancurkan atau dipotong menjadi potongan kecil. Tergantung pada sifat senyawa yang diinginkan, pelarut dapat berupa pelarut organik atau air. Pelarut mengalir melalui bahan alam dan melarutkan senyawa penting saat melewati matriks alami. Pada akhir

proses hasil ekstraksi dikumpulkan (Issusilaningtyas *et al*., 2024). Karena tidak membutuhkan banyak waktu atau tindakan, perkolasi adalah salah satu metode yang paling umum digunakan untuk mengeluarkan senyawa tanaman. Perkolasi merupakan proses yang berkelanjutan dimana pelarut menstrum yang sudah matang terus-menerus menggantikan pelarut yang sudah jenuh. Secara umu, sampel diperkuat dalam pelarut selama 24 jam atau hingga tiga kali di percolator. Setelah itu, hasil ekstrak dikumpulkan (Mun'im & Ahmad, 2023).

Secara perkolasi, ekstraksi dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi sebelumnya. Cairan penyari mengalir dari atas kebawah melalui serbuk, melarutkan zat aktif dalam sel-sel hingga jenuh. Perkolasi ekstraksi, yang dilakukan pada suhu ruang (30^oC), meningkatkan efesiensi proses ekstraksi dengan mengurangi bahan bakar sekaligus menjaga suhu selama proses ekstraksi. Suhu meningkatkan kelarutan bahan aktif dalam cairan penyari. Diharapkan bahwa suhu ekstraksi yang terkontrol akan mengurangi bariabiliyas penelitian, yang berarti bahwa akan diperoleh rendemen yang banyak (Wahyuni *et al*., 2024). Banyak orang menggunakan perkolasi untuk membuat tingtura dan ekstrak cair. Sampel diberi pelarut yang tepat untuk ekstraksi perkolasi dkemudian dibiarkan selama empat jam dalam wadah tertutup dengan baik. Bagian atas perkolator ditutup setelah sampel yang telah dibasahi dimasukkan

ke dalam wadah. Diatas sampel, pelarut ditambahkan hingga menutupi dan membentuk lapisan tipis. Biarkan perkolator ditutup selama 24 jam. Kemudian, tempat keluar larutan perkolator diatur agar cairannya menetes secara perlahan. Secara bertahap, pelarut ditambahkan sesuai kebutuhan dan dibiarkan meresap. Sekitar tiga perempat volume ekstrak harus ditambahkan untuk mencapai volume yang diinginkan. Selanjutnya, sisa sampel ditekan dan cairan dimasukkan ke perkolator. Sampai tetesan pelarut yang keluar dari perkolator saat menguap tidak tersisa dan tidak meninggalkan residu, prosedur ini diulangi (Mun'im & Ahmad, 2023).



Gambar 2.3 *Metode perkolasi sederhana*
Sumber (Issusilaningtyas et al., 2024)

b. Metode ekstraksi secara panas

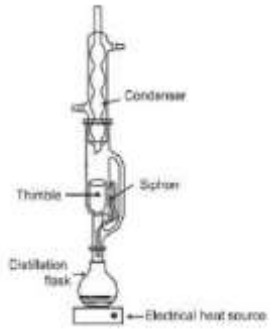
1) Sokletasi

Salah satu metode terbaik untuk memisahkan senyawa bioaktif dari alam adalah ekstraksi dengan soxhletasi. Metode ini memiliki beberapa kelebihan dibandingkan dengan metode ekstraksi lain, seperti sampel harus berkontak dengan pelarut murni secara berulang dan dapat mengekstraksi lebih banyak sampel tanpa bergantung pada jumlah

pelarut yang banyak (Wijaya *et al*., 2022). Metode sokletasi adalah salah satu metode ekstraksi panas yang dapat menghasilkan lebih banyak ekstrak, membutuhkan lebih sedikit pelarut, dilakukan lebih cepat dan sampel terekstraksi dengan sempurna karena dilakukan secara konsisten. Oleh karena itu, metode ini dapat digunakan dalam pencarian induk obat (Maria *et al*., 2023).

Pada teknik sokhlet, dibagi menjadi tiga tahap yaitu, perebusan, pembilasan dan penguapan. Setelah sampel dimasukkan ke dalam timble, seperti yang dilakukan oleh sokhlet tradisional, timble diturunkan ke dalam pelarut yang sedang mendidih, dan timble kemudian dinaikkan segera setalah pelarut mendidih. Pelarut yang direfluks meresap atau membilas zat terlarut dari sampel herbal selama tahap pembilasan. Aliran pelarrut selama proses penguapan ditampung pada wadah simplisia atau ekstraksi agar tidak kembali ke labu destilasi. Setelah itu, aliran pelarut mengalir keluar dari wadah melalui tabung ke labu destilasi. Teknik sokhlet ini memiliki banyak keuntungan: tidak membutuhkan banyak instruksi dan dapat mengesktrak massa sampel lebih besar daripada metode alternatif terbaru, seperti ekstraksi cairan superkritis dan gelombang mikro, pelarut dapat digunakan kembali, tidak tergantung jenis senyawa, metode sederhana, dan perpindahan transfer kesetimbangan berulang kali karena pelarut baru bersentuhan dengan matriks. Namun, teknik ini memerlukan waktu yang lama dan penggunaan panas tidak dianjurkan untuk senyawa termolabil, pelarut

yang banyak dan proses laboratorium intensif. Ini juga tidak disarankan untuk pelarut yang memiliki titik didih tinggi karena dapat merusak senyawa yang tidak tahan panas. Dalam teknik ini, pelarut dan waktu sangat penting. Secara umum, sampel diekstraksi pada titik didih pelarut selama waktu yang lama, karena panas dapat merusak senyawa target termolabil. Bentuk senyawa artefal juga dapat terjadi ketika bahan terpapar bahan kimia organik selama waktu yang lama (Mun'im & Ahmad, 2023).



Gambar 2.4 *Metode sokhletasi*
Sumber (Mun'im & Ahmad, 2023)

2) Refluks

Metode refluks merupakan salah satu metode ekstraksi secara panas. Metode ini termasuk metode ekstraksi yang sederhana, murah dan mudah digunakan di skala industri yang lebih besar. Metode ekstraksi refluks dapat memberikan rendemen tertinggi daripada ekstraksi masserasi dan soxhlet. Hal ini disebabkan oleh fakta bahwa teknik ekstraksi panas dapat menyari bahan-bahan yang terkandung dalam simplisia (Wahyuni *et al*., 2024). Refluks yaitu ekstraksi pelarut pada temperature titik didihnya selema waktu tertentu dengan jumlah pelarut

yang relative konstan dan pendingin balik. Ekstraksi dapat berlangsung dengan baik, dan pelarut dapat menarik senyawa dalam sampel dengan lebih baik (Susanty & Bachmid, 2016).

Metode refluks dapat dilakukan dengan cara, menimbang 50 gram simplisia yang telah dirajang, kemudian dimasukkan ke dalam albu alas dengan menambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 300mL terlebih dahulu. Masukkan sampel ke dalam pelarut hingga terendam antara pelarut dan sampel, lalu panaskan selama empat jam pada suhu 70ºC. Setelah itu, saring agar ampas dan filter terpisah. Untuk menghasilkan ekstrak kental, rotary evaporator digunakan untuk menguapkan pelarut sehingga didapatkan ekstrak kental (Wahyuni *et al*., 2024).

Untuk mengekstrak sampel yang relatif tahan panas, metode refluks digunakan dengan menggodok sampel dalam pelarut yang diletakkan dalam wadah dan dilengkapi dengan kondensor dalam waktu yang lebih cepat, biasanya tiga hingga tujuh jam (Lestari, 2021). Teknik refluks dimana pelarut ditetapkan pada suhu titik didihnya selama waktu tertentu dan dalam jumlah pelarut yang relative konstan dengan pendingin balik. Refluks umunya dilakukan berulang-ulang (tiga hingga enam kali) agar hasil penyarian lebih baik atau sempurna. Senyawa yang tidak tahan panas dapat diuraikan dengan cara ini (Aprilyanie *et al*., 2023).

Prinsip kerja metode refluks bekerja dengan cara pelarut volatile yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi tetapi akan didinginkan

oleh kondensor. Akibatnya, pelarut yang sebelumnya dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor sebelum kembali ke wadah reaksi, dimana ia akan tetap ada selama reaksi (Azhari *et al*., 2020). Selanjutnya, kain saring digunakan untuk menyaring larutan. Dengan menggunakan rotary evaporator, filtrate diuapkan kemudian dikeringkan selama dua hari dalam oven pada suhu 50°C, agar pelarut yang digunakan tidak tersisa dan sampel yang diuji tidak terpengaruh oleh pelarut (Susanty & Bachmid, 2016).



Gambar 2.5 *Metode refluks*
Sumber (Supaya, 2019)

3) Pelarut

Dalam proses ekstraksi senyawa kimia, pemilihan pelarut yang tepat sangat penting, karena pelarut yang tepat akan melarutkan senyawa dengan polaritas yang serupa, sesuai ddengan prinsip “like dissolves like”. Pelarut dapat diklasifikasikan berdasarkan polaritasnya menjadi 3 kategori yaitu: (Agusman *et al*., 2022)

a. Pelarut polar

Pelarut polar merupakan pelarut yang momen dipolnya tinggi, menyebabkan pelarut ini dapat melarutkan senyawa-senyawa polar melalui interaksi dipol-dipol atau ikatan hydrogen. Zat polar dapat dilarutkan oleh pelarut polar melalui: pembentukan molekul hidrogen, pengurangan gaya tarik yang digunakan untuk menarik ion yang berlawanan dalam solid, melalui reaksi asam basa, ikatan kovalen diputuskan dari elektrolit kuat, semakin banyak jumlah gugus polar dalam molekul maka kelarutan zat tersebut semakin besar dan jika semakin besar gugus non polar atau semakin banyak rantai cabang kelarutan zat tersebut maka akan semakin kecil (Fitriana *et al*., 2022). Contoh umum pelarut polar adalah air, methanol dan etanol. Pelarut ini efektif dalam mengekstraksi senyawa seperti alkaloid kuartener, komponen fenolik, karotenoid, tannin, gula, asam amino dan glikosida.

b. Pelarut semi polar

Pelarut semi-polar memiliki polaritas menengah dan dapat melarutkan baik senyawa polar maupun non-polar. Adapun sifat pelarut semi-polar dalam melarutkan suatu senyawa yaitu: dapat meningkatkan derajat polaritas pelarut non polar, dapat berfungsi sebagai pelarut antara, dapat mencampurkan pelarut polar dan pelarut non polar, sehingga membanu pelarutan senyawa non polar dalam pelarut polar dan senyawa polar dalam pelarut non polar (Fitriana *et al*., 2022). Contoh dari pelarut semi-polar

yaitu: etil asetat dan aseton. Pelarut ini mampu mengekstraksi senyawa seperti fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon dan glikosida.

c. Pelarut non polar

Pelarut non polar memiliki momen dipol yang sangat rendah atau bahkan tidak ada sama sekali, sehingga pelarut ini efektif dalam melarutkan senyawa non polar melalui gaya dispersi london. Dimana sifat pada pelarut ini yaitu: memiliki konstanta dielektrik (kd) yang rendah, dapat melarutkan senyawa non polar dengan tekanan internal yang sama, tidak dapat memecah ikatan kovalen, tidak dapat membentuk ikatan hydrogen melarutkan senyawa non polar karena interaksi dipol, semakin banyak jumlah gugus polar dalam molekul maka kelarutan zat akan semaki kecil, begitupun sebaliknya jika gugus non polar semakin besar atau semakin banyak rantai maka kelarutan zat tersebut akan semakin besar (Fitriana *et al*., 2022). Contoh pelarut non polar yang biasa digunakan yaitu: n-heksana dan benzene. Pelarut ini biasanya digunakan untuk mengekstraksi senyawa seperti lilin, lipid dan minyak yang mudah menguap.

Tabel 2.1 Polaritas Pelarut (Fitriana *et al*., 2022)

Tetapan Dialektrik Pelarut	Pelarut	Zat Terlarut
80	Air	Garam Anorganik, Garam Organik
50	Glikol	Gula, Tanin
30	Metil dan Etil, Alkohol, Aldehida, Keton	Minyak Jarak, Waks Resin, Minyak Menguap

20	Alkohol Tinggi, Eter, Ester dan Oksida	Elektrolit Lemah Termasuk Barbiturat, Alkaloid dan Fenol
5	Heksana, Benzena, Karbon Tetraklorida, Etil Eter, Petroleum Eter	Minyak Tetap (Fixed oil), Lemak, Petrolatum, Parafin
0	Minyak Mineral dan Minyak Sayur Tetap	Hidrokarbon lain

D. Partisi Cair-Cair (ECC)

Teknik fraksinasi yang paling umum digunakan yaitu Partisi Cair-Cair (PCC). Dalam teknik ini, ekstrak akan dicampur dengan air, kemudian dicampur dengan n-heksan. Campuran ini dikocok dan didiamkan selama sekitar tiga puluh menit hingga terbentuk dua lapisan. Setelah lapisan n-heksan terpisah, sisa ekstrak dicampur dengan etil asetat untuk menghasilkan fraksi etil asetat dan fraksi air, yang kemudian dipecahkan menggunakan rotary evaporator (Wijayanti, 2025).

Fraksinasi adalah proses pemisahan dan pengelompokkan kandungan kimia ekstrak berdasarkan kepolaran (Ulfah *et al*., 2020). Proses ini menggunakan dua pelarut yang tidak tercampur dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Fraksinasi bertingkat menggunakan pelarut yang berbeda berdasarkan tingkat kepolaritasannya menghasilkan ekstrak alami yang berbeda. Sehingga senyawa metabolit sekunder dapat tertarik secara maksimal oleh pelarut (Putri *et al*., 2023).

Metode fraksinasi biasanya digunakan untuk menentukan sifat kepolaran senyawa yang akan dipisahkan (senyawa target). Karena itu, metode fraksinasi memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode lain karena dapat memisahkan senyawa bioaktif berdasarkan tingkat kepolaran mereka. Senyawa polar larut dalam pelarut polar, sedangkan senyawa semi polar dan non polar larut dalam

pelarut non polar. Karena metode fraksinasi memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya, pemilihan pelarut untuk fraksinasi bergantung pada sifat analitnya. Sifat analit dan pelarut harus memiliki karakteristik yang sama (Putri *et al*., 2023).

Fraksinasi bekerja berdasarkan perbedaan kelarutan komponen dalam pelarut yang berbeda. Dalam proses ini, beberapa bahan larut dalam pelarut awal, dan sebagian lainnya larut dalam pelarut kedua. Prinsip "like dissolves like" digunakan, dimana senyawa polar larut dalam pelarut polar, semi-polar dalam pelarut semi-polar dan non polar larut dalam pelarut non polar. Pengocokan memisahkan pelarut menjadi dua lapisan yang tidak saling bercampur. Lapisan yang memiliki massa jenis lebih tinggi berada dibawah, sementara pelarut yang memiliki massa jenis lebih rendah berada diatas (Wijayanti, 2025).

Fraksinasi memiliki tujuan utama untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya, sehingga fraksi bioaktif yang lebih spesifik dapat dihasilkan dengan senyawa bioaktif yang paling terisolasi. Keuntungan dari metode ini yaitu, memiliki kemampuan untuk membedakan senyawa bioaktif secara lebih tepat, serta mengurangi waktu total pengujian karena prosedurnya yang singkat (Wijayanti, 2025).

E. Flavonoid

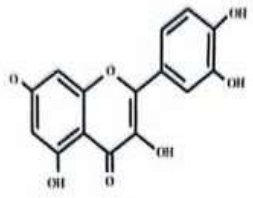
Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang ditemukan dalam tumbuhan. Senyawa ini biasanya digunakan sebagai antimikroba, antijamur, antivirus, antikanker dan antitumor, serta sebagai antibakteri, sitotoksik dan antihipertensi. Kerangka dasar flavonoid biasanya terdiri dari senyawa polar karena

memiliki gugus –OH yang membentuk ikatan hidrogen (A. O. Putri *et al*., 2024). Flavonoid termasuk golongan terbesar dari senyawa fenol alam yang dapat meningkatkan sistem kekebalan (Auliah *et al*., 2015). Dimana flavonoid biasanya ditemukan di bagian tumbuhan seperti kulit, daun, buah, biji dan akar. Flavonoid juga ada di setiap tumbuhan hijau, dan dapat ditemukan dalam ekstrrak tumbuhan (Lindawati & Ni'ma, 2022).

Flavonoid adalah poliefnol dengan 15 atom karbon dalam konfigurasi C6-C3-C6, yang berarti kerangka karbonnya terdiri dari dua gugus C6 (cincin benzene tersubstitusi) yang terhubung oleh rantai alifatik tiga karbon. Salah satu jenis bahan kimia yang sering ditemukan di alam adalah flavonoid, dimana lebih dari 9000 flavonoid telah dilaporkan hingga saat ini. Kebutuhan flavonoid berkisar antara 20 mg dan 500 mg, dan banyak ditemukan dalam suplemen makanan seperti the, anggur merah, apel, bawang dan tomat. Flavonoid biasanya ditemukan pada tanaman yang berwarna kuning, merah, oranye, biru dan ungu pada buah, bunga dan daun. Salah satu jenis polifenol yang larut dalam air adalah flavonoid (Arifin & Ibrahim, 2018). Flavonoid merupakan senyawa yang mudah larut dalam pelarut polar dan non polar (Wahyuni et al., 2020).

Pada tanaman, flavonoid dalam bentuk glikosilasi atau metilasi memiliki struktur yang lebih stabil, lebih mudah diakses dan lebih mudah dalam bioaktivitasnya. Glikosilasi flavonoid dapat dicapai melalui proses biologi yang dikenal sebagai glycosyltransferase, dimana enzim mengkatalisis untuk menempelkan molekul gula ke dalam aglycon, yang menghasilkan glikosida. Proses metilasi kelompok hidrosil pada flavonoid diikuti oleh methyltransferase,

yang melekat pada gugus metil ke aglycon untuk menghasilkan methoksida. Atom oksigen atau kerbon dapat dimetilasi untuk membentuk senyawa O-metilisasi atau C-metilisasi. Metilasi flavonoid mengubah sifat farmakologi dan biokimia senyawa metilasi dibandingkan dengan induknya. Ini menunjukkan bahwa ini adalah salah satu metode yang paling efisien untuk mengubah produk alami menjadi suatu penemuan obat (Arifin & Ibrahim, 2018).



Gambar 2.6 *Struktur umum senyawa flavonoid*

Dalam penelitian in vitro, flavonoid memiliki gugus hidroksil yang tersubstitusi pada posisi orto dan para terhadap gugus –OH dan –OR. Akibatnya, aktivitas antioksidannya tinggi dan dapat mencegah kerusakan pada bagian seluler yang disebabkan oleh reaksi kimia yang melibatkan radikal bebas. Flavonoid mengaktifkan jalur sinyal enzim endogen seperti SOD, Cat dan GPx dalam proses penghambatan pembentukan ROS. Ini mencegah pembentukan hydrogen peroxide (H2O2) dan hydroxyl radical (OH). Flavonoid, khususnya senyawa yang terdiri dari gugus flavon, memiliki kemampuan untuk menunjukkan aktivitas antiinflamasi dengan mengontrol ekspresi gen proinflamasi seperti siklooksigenase-2, sintase oksida nitrat yang dapat diinduksi, dan beberapa sitokin. Kandungan flavonoid seperti rutin, isoquercitrin dan quercitrin dari tumbuhan telah terbukti dapat menghambat aktivitas COX-2 atau 5-LOX secara in vitro. Produksi mediator

inflamasi seperti prostaglandin dan leukotrin berkurang jika kedua jalur enzim tersebut dihambat (Husna et al., 2022).

F. Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan senyawa metabolit sekunder yang bersifat basa dengan satu atau lebih atom nitrogen yang umumnya berada dalam gabungan system siklik. Alkaloid dapat ditemukan pada berbagai bagian tanaman seperti bunga, biji, daun, ranting, akar dan kulit batang. Alkaloid umumnya ditemukan dalam kadar kecil dan harus dipisahkan dari campuran senyawa yang rumit yang berasal dari jaringan tumbuhan. Alkaloid merupakan zat aktif dari tanaman yang berfungsi sebagai obat dan aktivator kuat bagi sel imu yang dapat menghancurkan bakteri, virus, jamur dan sel kanker (Maisarah *et al*., 2023).

Pada umumnya senyawa alkaloid terdapat dalam 2 bentuk yaitu, bentuk bebas/bentuk basa dan dalam bentuk garamnya. Alkaloid dalam bentuk basa akan mudah larut dalam pelarut organik seperti eter dan kloroform, sedangkan senyawa alkaloid dalam bentuk garam lebih mudah larut dalam air. Alkaloid biasanya berasa pahit dan memiliki aktivitas farmakologi tertentu (Sukardiman *et al*., 2020).

Sifat alkaloid hamper mirip dengan beberapa senyawa amina maka dapat bereaksi dengan garam-garam valensi dua dari mercuri (Hg^{2+}), gold (Au^{2+}) dan platinum (Pt^{2+}) dan dapat membentuk kristal-kristal yang spesifik dan dapat digunakan untuk identifikasi secara kualitatif (Sukardiman *et al*., 2020).

G. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis biasa digunakan untuk mengevaluasi fosfat pada sedimen menggunakan interaksi antara cahaya/sinar pada panjang gelombang

tertentu dengan materi yang terdiri dari molekul atau atom dengan electron valensi. Cahaya/sinar dapat berupa cahaya visible (tampak), cahaya ultraviolet (tidak tampak) atau inframerah. Radiasi elektromagnetik adalah istilah lain untuk cahaya yang berasal dari sumber tertentu. Spektroskopi emisi, absorpsi dan hamburan adalah istilah yang biasa digunakan untuk menggambarkan interaksi antara cahaya atau radiasi elektromagnetik dengan materi (Angraini & Yanti, 2021).

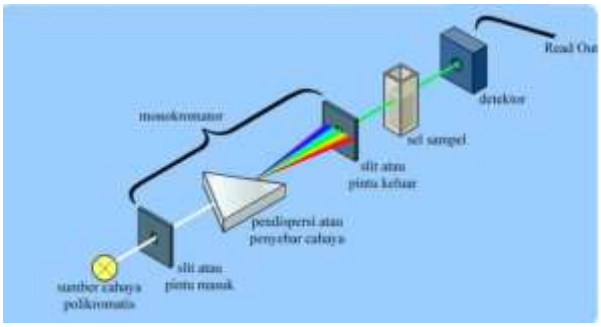
Salah satu alat yang paling umum digunakan dalam analisis kimia adalah spektrofotometer UV-Vis yang digunakan untuk mendeteksi senyawa (padat atau cair) berdasarkan absorbansi foton. Agar sampel dapat menyerap foton dalam daerah UV-Vis (panjang gelombang foton antara 200 nm dan 700 nm), sampel biasanya harus diperlakukan atau derivatisasi, misalnya dengan menambah reagen untuk menghasilkan garam kompleks. Senyawa kompleks unsur memungkingkan identifikasinya. Kualitas dan validitas kinerja hasil pengukuran spektrofotometer dalam analisis kimia didasarkan pada standar ISO 17025, Good Laboratory Practice (GLP) atau saran Pharmacopeia (Irawan, 2019).

Dalam spektrofotometri UV-Vis, cahaya yang digunakan memiliki panjang gelombang (200-400 nm) untuk sinar ultraviolet dan (400-800 nm) untuk sinar tampak (visible). Energi sinar ultraviolet dan sinar tampak berkisar antara (40-1,8 eV), yang memungkinkan elektron untuk bergerak ke tingkat energi yang lebih tinggi pada kulit terluar. Tingkat energi suatu molekul sebanding dengan energi radiasi cahaya dalam bentuk foton, yang besarnya tergantung pada panjang gelombang cahaya, dan dalam mekanika kuantum, spektrum panjang gelombang

cahaya yang diserap oleh molekul menunjukkan perbedaan tingkat energi pada molekul (Afandi & Purwanto, 2018).

Spektrofotometri UV-Vis adalah metode analisis spektroskopis yang menggunakan sumber ultraviolet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm). Ini digunakan lebih banyak untuk analisis kuantitatif daripada kualitatif karena melibatkan energi elektronik yang signifikan pada molekul yang dianalisis. Metode analisis yang dikenal sebagai spektrofotometri bergantung pada penggunaan prisma atau kisi difraksi dengan detektor fototube untuk mengukur serapan sinar monokromatis oleh lajur larutan berwarna pada panjang gelombang tertentu (Amiliza & Leni, 2022). Keunggulan dari analisis Spektrofotometri UV-Vis adalah bahwa panjang gelombang cahaya putih dapat dipilih dengan lebih mudah. Meskipun metode ini sederhana, tetapi ini sangat peka untuk mengidentifikasi konsentrasi analit yang sangat kecil (Firdaus et al., 2024).

Prinsip kerja dari alat ini yaitu, sinar polikromatis melalui monokromator dan diubah menjadi sinar monokromatis. Sebagian dari sinar ini diserap oleh sel sampel, dan sebagian lagi diteruskan ke footsel, yang mengubah energi cahaya menjadi energi listrik. Sinyal ini kemudian dikirim ke detektor untuk diubah menjadi nilai serapan (Amiliza Miarti & Leni Legasari, 2022).



Gambar 2.7 *Prinsip Kerja Spektrofotometri UV-Vis*

Spektrofotometri terdiri dari : (Angraini & Yanti, 2021)

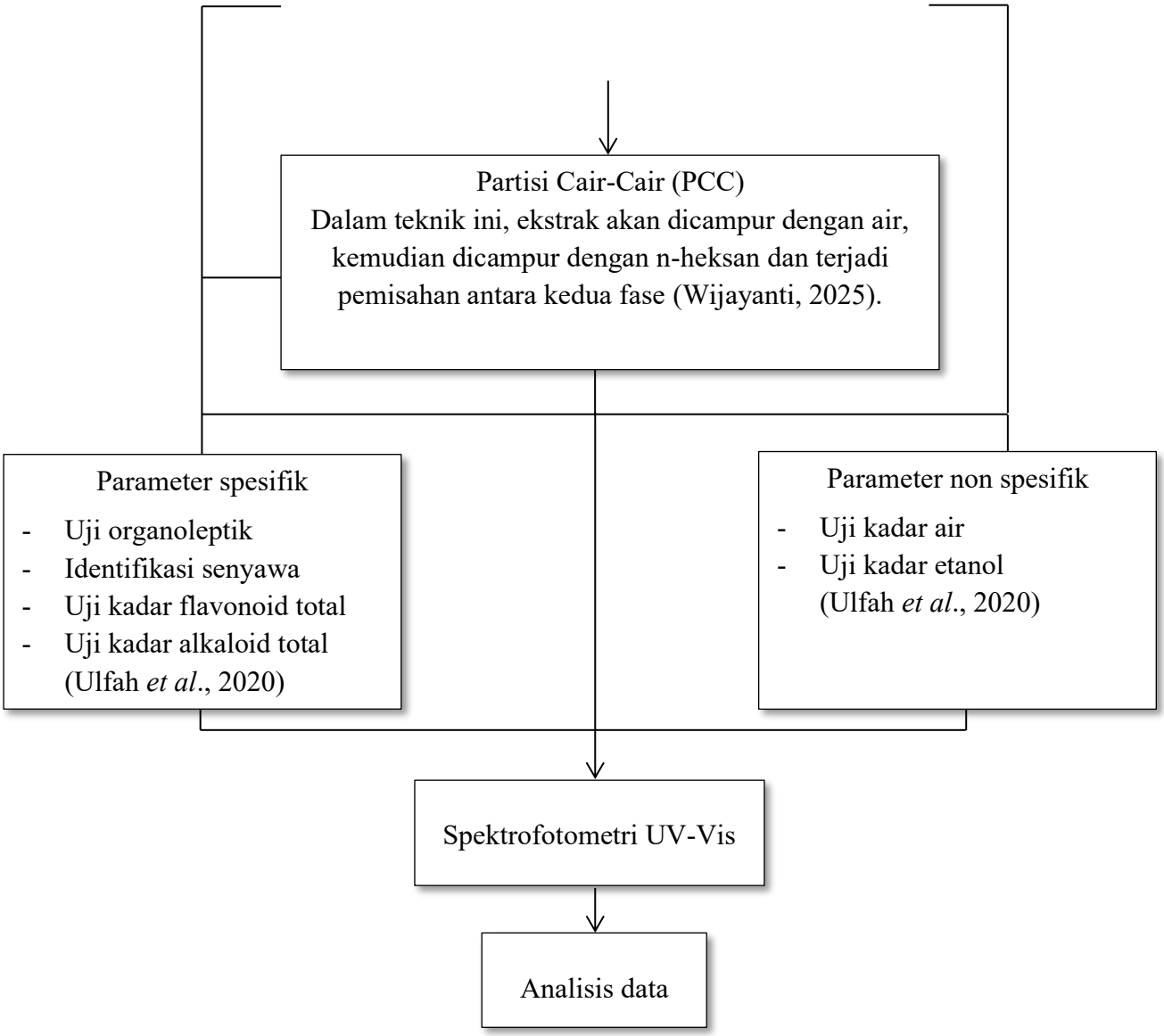
1. Sumber cahaya, berupa cahaya polikromatis dari lampu Tungsten/Wolfram pada daerah visible (400-800 nm) dan lampu Deuterium pada daerah ultraviolet (0-400 nm).
2. Monokromator untuk memilih panjang gelombang.
3. Tempat sampel (kuvet/sel sampel), memiliki bentuk persegi panjang dan lebar 1 cm, memiliki permukaan yang lurus dan sejajar secara optis, transparan, tidak mudah rapuh oleh bahan kimia dan sederhana namum solid.
4. Detektor, digunakan untuk mengumpulkan sinar yang melewati sampel.
5. Read Out, ini adalah suatu system yang mengumpulkan isyarat listrik dari detektor dan mengeluarkannya dalam bentuk angka transmittan atau absrobansi yang ditampilkan pada display alat.

H. Kerangka Teori

Tanaman Sesewanua
(*Clerodendron quamatum Vahl*)
Daun sesewanua mengandung flavonoiod dan alkaloid yang dapat berpotensi sebagai antioksidan (Huselan et al., 2015)

↓

Ekstraksi dengan metode refluks
Metode ini termasuk metode ekstraksi yang sederhana, murah dan mudah digunakan di skala industri yang lebih besar (Aprilyanie et al., 2023).



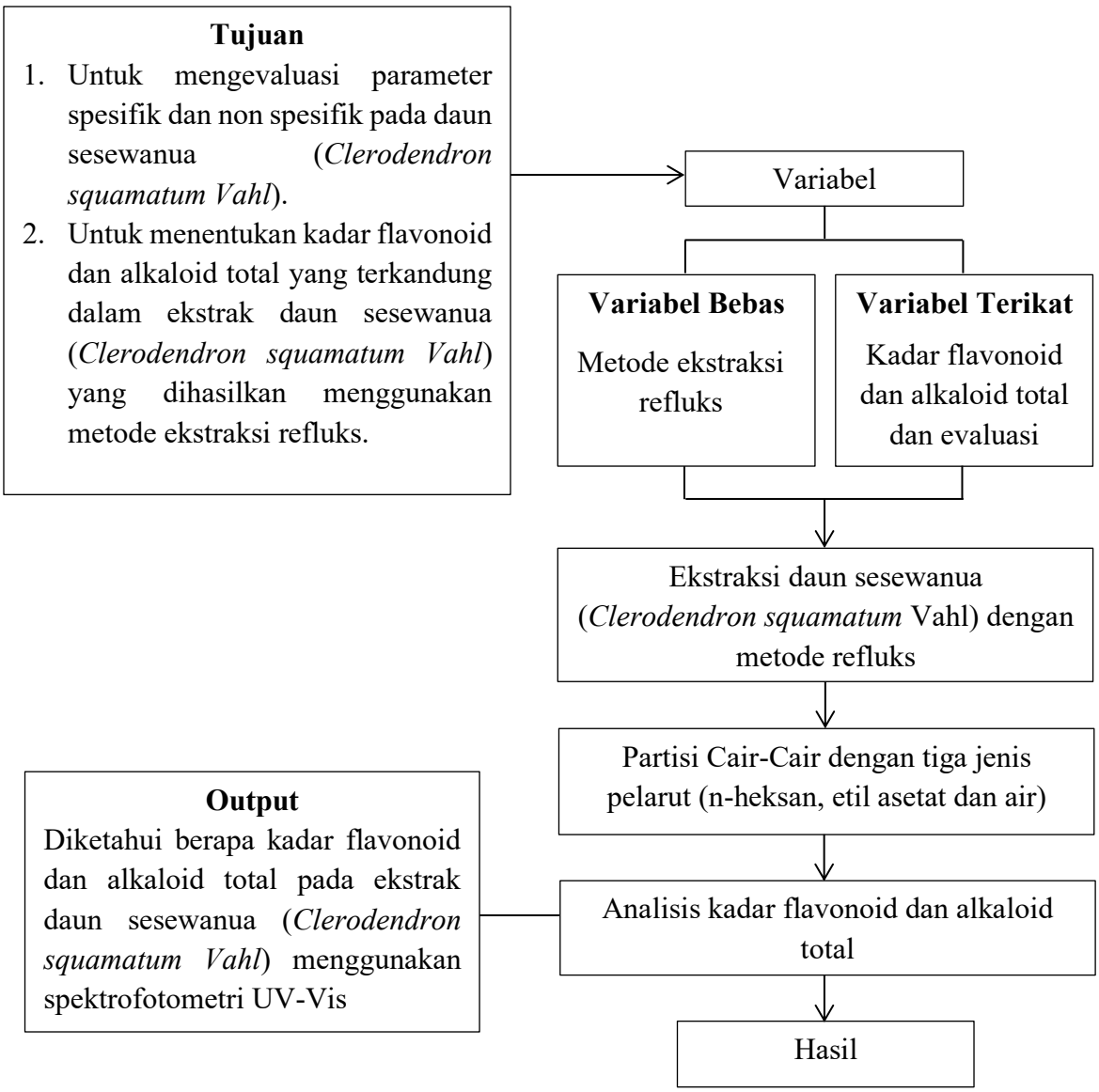
I. Kerangka Konsep

Judul

Analisis Kadar Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum Vahl*) Yang Diperoleh Dari Metode Ekstraksi Refluks

Masalah

1. Bagaimana hasil evaluasi antara parameter spesifik dan non spesifik dalam menentukan kualitas ekstrak daun sesewanua (*Clerodendron squamatum Vahl*) yang dihasilkan?
2. Bagaimana kadar flavonoid dan alkaloid total yang terkandung pada ekstrak daun sesewanua (Clerodendron squamatum Vahl) yang diekstraksi menggunakan metode refluks



J. Hipotesis

a. Hipotesis Nol (H_0)

Tidak terdapat pengaruh metode ekstraksi refluks terhadap kadar flavonoid dan alkaloid total dari ekstrak etanol daun sesewanua (*Clerodendron squamatum Vahl*) dan parameter spesifik dan non spesifik.

b. Hipotesis Awal (H_1)

Terdapat pengaruh metode ekstraksi refluks terhadap kadar flavonoid dan alkaloid total dari ekstrak etanol daun sesewanua (*Clerodendron squamatum Vahl*) dan parameter spesifik dan non spesifik.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini termasuk jenis penelitian kuantitatif dengan menggunakan metode eksperimental. Dalam penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk melihat kadar flavonoid dan alkaloid total dengan metode refluks dan parameter spesifik dan non spesifik dari ekstrak etanol daun sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl).

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Instrumen Fakultas Farmasi Universitas Megarezky Makassar.

C. Sampel Penelitian

Sampel yang akan diteliti adalah daun sesewanua (*Clerodendron squamatm Vahl*)

D. Alat dan Bahan

1. Alat

   Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu aluminium foil, batang pengaduk, blender, botol coklat 100ml, corong pisah 500mL (IWAKI), gelas ukur 50mL, gelas ukur 250mL, gelas kimia 500mL, kaca arloji, kain saring, kuvet, labu ukur 100mL (pyrex), pipet tetes, rotary evaporator, seperangkat alat refluks, spektrofotometri UV-Vis, timbangan analitik, toples dan vial.

2. Bahan

   Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu alumunium klorida 10% (AlCl3), aquadest, natrium asetat (CH3COONa), daun sesewanua

(*Clerodendron squamatum Vahl*), etanol 96%, etil asetat, etanol p.a, kuarsetin dan n-heksan.

E. Prosedur Kerja

1. Persiapan Sampel

   Pengambilan sampel dilakukan pada pagi hari. Sampel yang digunakan adalah daun sesewanua (*Clerodendron squamatum Vahl*)

2. Penyediaan Bahan Uji

   Daun sesewanua (*Clerodendron squamatum Vahl*) segar diambil dari pohon, kemudian dilakukan sortasi basah terhadap kotoran atau bahan asing yang terbawa saat pengambilan sampel. Daun sesewanua (*Clerodendron squamatum Vahl*) yang telah disortasi kemudian dicuci bersih dan dikeringkan. Setelah kering, sampel dirajang agar memudahkan saat diserbuk dengan menggunakan blender kemudian ditimbang lagi sebagai berat kering simplisia. Serbuk simplisia dimasukkan ke dalam wadah plastik serta disimpan ditempat yang kering dan terlindungi dari sinar matahari.

F. Pembuatan Ekstrak

1. Metode Refluks

   Ditimbang serbuk daun sesewanua (*Clerodendron squamatum Vahl*) sebanyak 100 gram lalu dimasukkan kedalam labu alas bulat lalu ditambahkan n-heksan sebanyak 1000mL. Setelah itu, sampel dipanaskan pada suhu 50°C selama 3 jam. Uap pelarut yang terkondensasi menjadi molekul pelarut kemudian turun kembali menuju labu alas bulat, dimana sampel akan disaring kembali. Proses ini tidak berhenti sampai pencairan selesai. Ekstrak cair

pertama kali diekstraksi dan kemudian dievaporasi untuk menghasilkan ekstrak kental. Ekstrak dikeringkan hingga bebas pelarut pada suhu kamar.

G. Partisi Cair-Cair (PCC)

Ekstrak yang telah diperoleh, difraksinasi dengan pelarut bertingkat yaitu pelarut n-heksan dan air menggunakan metode partisi cair-cair (PCC). Ekstrak kental dilarutkan dengan sedikit etanol lalu ditambahkan 500 mL aquadest, kocok hingga homogen. Setelah itu dimasukkan ke dalam corong pisah, ditambahkan n-heksan sebanyak 500 mL atau dengan perbandingan volume 1:10, kemudian dikocok hingga homogen, biarkan terjadi pemisahan. Dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Setelah didapatkan dua fraksi yang berbeda yaitu fraksi n-heksan dan fraksi air. Fraksi dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* hingga diperoleh fraksi kental.

H. Evaluasi Parameter Spesifik dan Non Spesifik

1. Uji Organoleptik

   Yaitu dengan pengenalan secara fisik dengan menggunakan panca indera dalam mendeskripsikan bentuk, bau, warna dan rasa. Parameter organoleptik ekstrak bertujuan untuk memberikan pengenalan awal terhadap simplisia dan ekstrak menggunakan panca indera (Utami, 2020)

2. Uji Kadar Air

   Penentuan kadar air dengan cara dipanaskan cawan uji dengan menggunakan oven dengan suhu 105°C selama kurang lebih 1 jam. Kemudian didinginkan cawan uji dalam desikator selama 30 menit, lalu timbang berat cawan kosong menggunakan neraca analitik (a). Setelah itu, dimasukkan 1 gram sampel

kedalam cawan dan ditimbang (b). kemudian panaskan cawan yang berisi sampel kedalam oven selama 4 jam dengan suhu 105ºC. Setelah pemanasan selesai lalu dinginkan cawan yang berisi sampel kedalam desikator selama 30 menit dan ditimbang cawan berisi sampel setelah pemanasan (c).

Perhitungan kadar air. Kadar air yang baik yaitu tidak lebih dari 10% (KEMENKES RI, 2022).

$$Kadar\ air\ \% = \frac{(\mathrm{b} - \mathrm{c})}{(\mathrm{b} - \mathrm{a})} x\ 100\%$$

Keterangan:

a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat cawan + sampel setelah dikeringkan

3. Uji Kadar Sisa Etanol

Sampel ditimbang sebanyak 1 gram. Setelah itu, dilarutkan dalam aquades sampai 25 mL. Kemudian dimasukkan ke dalam labu destilasi, suhu destilasi diatur pada 78,5ºC. Proses destilasi selama ± 2 jam atau dihentikan apabila tidak menetes lagi. Kemudian kumpulkan destilat sekitar 10-20 mL atau kebih kecil dari volume cairan uji. Tambahkan air hingga 25 mL. tetapkan bobot jenis pada cairan, lalu hitung persentase dalam volume dari etanol dalam cairan menggunakan table bobot jenis dan kadar etanol pada Farmakope Indonesia Edisi IV.

4. Uji Kadar Senyawa Larut Dalam Etanol

Sejumlah 1 gram ekstrak dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mL etanol 96% menggunakan labu tersumbat sambil sesekali dikocok selama 6 jam

pertama dan diamkan selama 18 jam dan disaring dengan cepat untuk menghindari penguapan etanol. Sejumlah 20 mL filtrate diuapkan hingga kering dalam cawan yang telah ditara. Residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap.

$$\text{Sari larut etanol \%} = \frac{W1-W2}{W1-W0} X \frac{100}{20} X\ 100\%$$

Keterangan :

W0 = Berat cawan kosong

W1 = Berat cawan + sampel yang digunakan

W2 = Berat cawan + hasil pengeringan

5. Uji Senyawa Flavonoid

Sampel yang berupa ekstrak dilarutkan dengan etanol 96% sejumlah kecil logam magnesium bubuk kemudian ditambahkan HCl pekat beberapa tetes, jika membentuk warna merah, oranye atau kuning menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Alasa et al., 2017).

6. Uji Senyawa Alkaloid

Larutkan 50 mg ekstrak dengan beberapa mL HCl dan saring. Kemudian filtrat diuji dengan menambahkan satu atau dua tetes pereaksi Mayer dan Dragendorff dalam tabung reaksi yang berbeda. Reaksi positif ditandai dengan adanya endapan putih atau kekuningan pada pereaksi Mayer dan adanya endapan orange pada pereaksi Dragendorff (Alasa et al., 2017).

I. Penetapan Kadar Flavonoid Total

1. Pembuatan Larutan Baku Standar Kuersetin

Ditimbang sebanyak 10 mg kuersetin baku dilarutkan dengan etanol p.a dan dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL sampai garis tanda batas, lalu dilakukan penggojokan hingga homogen sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 100 ppm.

2. Penentuan Panjang Gelombang (maks) Kuersetin

   Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin dilakukan dengan membaca larutan baku kuersetin dengan konsentrasi 100 ppm pada panjang gelombang 400-800 nm. Hasil panjang gelombang maksimum tersebut yang digunakan untuk mengukur serapan dari sampel. Didapatkan Panjang gelombang 424,1175 nm.

3. Penentuan Linearitas Kurva Kalibrasi Kuarsetin

   Dibuat seri kadar menggunakan kuersetin sebagai baku standar. Penentuan kurva baku kuersetin dibuat seri sebesar 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 ppm. Diambil larutan seri kadar masing-masing konsentrasi sebanyak 1 mL, kemudian direaksikan dengan 1 mL $AlCl_3$ dan 1 mL natrium asetat. Selanjutnya diukur dengan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum dan dibuat kurva kalibrasi antara konsentrasi dengan nilai absorbansi. Penentuan kurva kalibrasi baku pembanding menggunakan rumus $y = bx + a$.

4. Penetapan Uji Flavonoid Total

   Sampel ekstrak daun sesewanua dari ketiga fraksi (n-heksan dan air) dibuat dengan konsentrasi 30% yaitu 30 mg sampel dalam 10 mL etanol p.a. Diambil sampel masing-masing sebanyak 3 mL, kemudian ditambahkan 1 mL $AlCl_3$ dan

1 mL natrium asetat. Selanjutnya diukur absorbansi pada spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dan dicatat hasil nilai absorbansinya.

5. Pengumpulan Data dan Analisis Data

Data primer yang diperoleh dari nilai absorbansi larutan pembanding di buat kurva kalibrasi hingga diperoleh persamaan regresi linier. Kadar total dari senyawa flavonoid dihitung dengan memasukkan nilai absorbansi dan konsentrasi pada Microsoft excel yang dimana dari hasil itu akan di dapat nilai a,b dan r. Kadar total dari senyawa dapat dihitung dengan persamaan regresi linier yaitu: y=ax+b

Untuk menghitung kadar flavonoid total menggunakan rumus :

$$\text{KFT} = \frac{\text{C x V}}{\text{m}} \text{ X } 100\%$$

Keterangan:

C : Konsentrasi flavonoid (mg/L)

V : Volume total ekstrak (L)

m : Berat sampel (g)

J. Penetapan Kadar Alkaloid Total

1. Pembuatan Larutan Baku Kafein

Ditimbang sebanyak 10 mg kafein dilarutkan dengan aquadest panas dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL sampai garis tanda batas, lalu dilakukan penggojokan hingga homogen sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 100 ppm.

2. Penentuan Panjang Gelombang (maks) Kafein

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan membaca larutan baku kafein dengan konsentrasi 100 ppm pada panjang gelombang 200-400 nm. Hasil panjang gelombang maksimum tersebut yang digunakan untuk mengukur serapan dari sampel. Didapatkan Panjang gelombang 219,00 nm.

3. Penentuan Kurva Standar Kafein

   Dibuat seri kadar menggunakan kuersetin sebagai baku standar. Penentuan kurva baku kafein dibuat seri sebesar 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 ppm. Selanjutnya diukur dengan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum dan dibuat kurva kalibrasi antara konsentrasi dengan nilai absorbansi. Penentuan kurva kalibrasi baku pembanding menggunakan rumus $y = bx + a$.

4. Penetapan Uji Alkaloid Total

   Sampel ekstrak daun sesewanua dari ketiga fraksi (n-heksan, etil asetat dan air) dibuat dengan konsentrasi 30% yaitu 30 mg sampel dalam 10 mL etanol p.a. Diambil sampel masing-masing sebanyak 3 mL, kemudian ditambahkan larutan HCl kemudian diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Kemudian kadar alkaloid dihitung menggunakan persamaan regresi linier dan kurva kalibrasi kafein.

5. Pengumpulan Data dan Analisis Data

   Data primer yang diperoleh dari nilai absorbansi larutan pembanding di buat kurva kalibrasi hingga diperoleh persamaan regresi linier. Kadar total dari senyawa alkaloid dihitung dengan memasukkan nilai absorbansi dan

konsentrasi pada Microsoft excel yang dimana dari hasil itu akan di dapat nilai a,b dan r. Kadar total dari senyawa dapat dihitung dengan persamaan regresi linier yaitu: y=ax+b

Untuk menghitung kadar alkaloid total menggunakan rumus :

$$\text{KAT} = \frac{C\frac{1}{1000}\, x\, V\,(L) x\, 100\%}{\text{m (g)}}$$

Keterangan:

C : Konsentrasi alkaloid (mg/L)

V : Volume total ekstrak (L)

m : Berat sampel (g)

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Ekstraksi sampel

Tabel 4.1 Hasil ekstraksi daun sesewanua (*Clerodendron squamatum Vahl*)

Sampel	Berat simplisia kering (g)	Berat ekstrak kental (g)	Persen rendemen (%)
Daun sesewanua (*Clerodendron squamatum Vahl*)	900	104,20	11,58

2. Ekstrasi cair-cair

Tabel 4.2 Hasil pengujian parameter spesifik dan non spesifik (*Clerodendron squamatum Vahl*)

Sampel	Berat ekstrak kental (g)	Berat fraksi kental (g)	Persen rendemen (%)
Fraksi n-heksan		57,60	72
Fraksi etil asetat	80	10,20	12,75
Fraksi air		9	11,25

3. Parameter spesifik dan non spesifik

Tabel 4.3 Hasil partisi cair-cair daun sesewanua (*Clerodendron squamatum Vahl*)

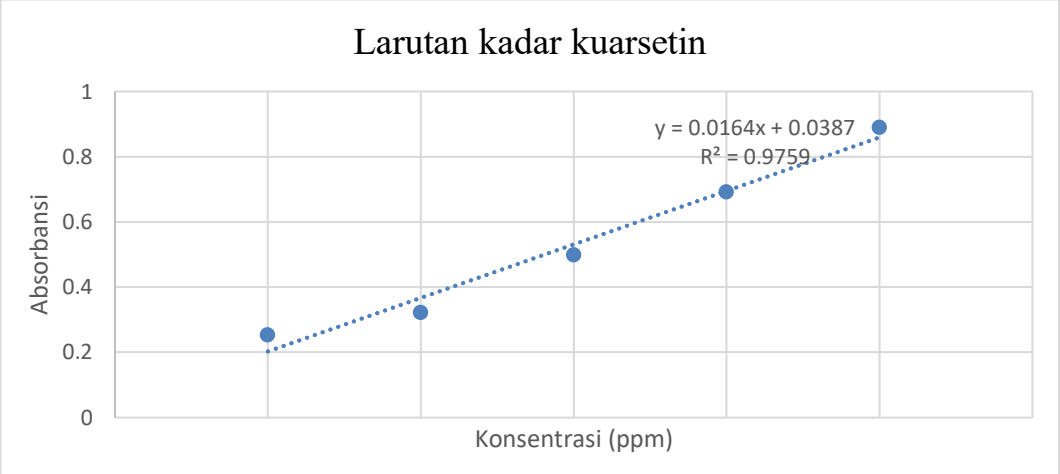
Parameter	Hasil	Standar
Organoleptik		
Warna	Hijau kehitaman	
Bau	Aromatis	
Rasa	Kelat, agak sedikit pahit	
Bentuk	Ekstrak kental	
Kadar Air		

Fraksi n-heksan	8,89%	≤10% (Kemenkes RI, 2022).
Fraksi etil asetat	10%	
Fraksi air	10%	
Kadar sisa etanol		≤1,046% (FDA) dan ≤1,046% (Kepmenkes RI, 1994).
Fraksi n-heksan	1,024	
Fraksi etil asetat	1,028	
Fraksi air	0,9988	
Kadar sari larut etanol		
Fraksi n-heksan	8%	≥ 8% (Dewi et al, 2023).
Fraksi etil asetat	14,5%	
Fraksi air	13%	

4. Identifikasi senyawa

Senyawa metabolit	Parameter	Perubahan yang terjadi		
		Fraksi n-heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi air
Flavonoid (Serbuk mg + Hcl)	Terbentuknya warna jingga, merah atau kuning (Alasa et al, 2017)	Warna hijau (-)	Warna kuning (+)	Warna jingga (+)
Alkaloid a. Reagen Mayer	Terbentuk endapan putih (Alasa et al, 2017)	Tidak ada endapan (-)	Terbentuk endapan putih (+)	Terbentuk endapan putih (+)
b. Reagen Dragendorff	Terbentuk endapan orange (Alasa et al, 2017)	Tidak ada endapan (-)	Tidak ada endapan (-)	Terbentuk endapan orange (+)

5. Pengukuran senyawa flavonoid total



gambar 4.1 Kurva baku larutan standar kuarsetin flavonoid

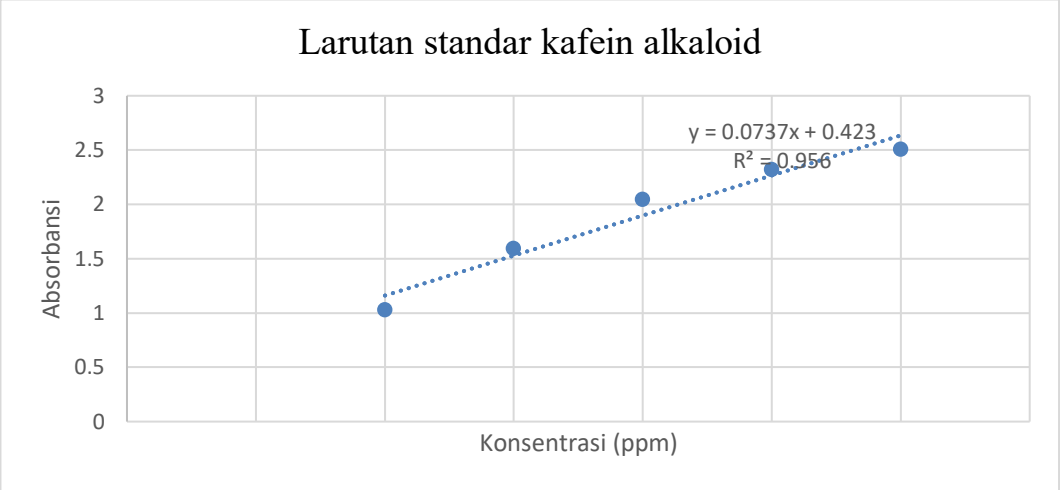
Tabel 4.4 Hasil pengukuran absorbansi larutan standar kuarsetin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
10	0.2539
20	0.322
30	0.4979
40	0.6919
50	0.8895

Tabel 4.5 Hasil perhitungan kadar flavonoid total fraksi daun sesewanua (*Clerodendron squamatum Vahl*)

Sampel	Absorbansi			Rata-rata	Kadar Flavonoid Total	
	I	II	III		mg QE/g	%
Refluks	2,6643	2,886	2,886	2,8121	173,83 mg QE/g	1,74%
N-heksan	1,8383	1.858	1,8652	1,8538	11,53 mg QE/g	1,15%
Etil asetat	2,5855	2,7101	2,8858	2,7271	16,863 mg QE/g	1,68%
Air	1,4065	1,4159	1,4212	1,4145	8,86 mg QE/g	0,88%

6. Pengukuran senyawa alkaloid total



gambar 4.2 Kurva baku larutan standar kafein alkaloid

Tabel 4.6 Hasil pengukuran absorbansi larutan standar kafein

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
10	1.0255
15	1.5947
20	2.0423
25	2.3187
30	2.5068

Tabel 4.7 Hasil perhitungan kadar alkaloid total fraksi daun sesewanua (*Clerodendron squamatum Vahl*)

Sampel	Absorbansi			Rata-rata	Kadar Alkaloid Total	
	I	II	III		mg CE/g	%
Refluks	6,033	6,1544	6,1183	6,1019	8,85 mg CE/g	0,86%
N-heksan	0,6825	0,681	0,679	0,6808	0,98 mg CE/g	0,09%
Etil asetat	6,0001	5,9703	6,0308	6,0004	8,71 mg CE/g	0,87%
Air	5,9042	632,04	6,1612	6,128	8,88 mg CE/g	0,88%

B. Pembahasan

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl). Proses pengambilan sampel dilakukan pada pagi hari dengan tujuan untuk mendapatkan senyawa aktif yang tinggi serta menghindari sampel mengalami fotosintesis pada siang hari sehingga senyawa aktif yang akan

ditarik kurang optimal. Daun ini di ambil di daerah Likupang Selatan Provinsi Sulawesi Utara.

Daun sesewanua yang telah diambil di lakukan proses sortasi basah, perajangan, pengeringan dan sortasi kering. Setelah itu dilakukan proses penghalusan dengan menggunakan blender hingga menghasilkan serbuk simplisia dan disimpan didalam wadah.

Serbuk simplisia daun sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl) kemudian di ekstraksi. Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode refluks, yang merupakan metode ekstraksi dengan bantuan pemanasan. Prinsip dari metode refluks yaitu pelarut volatil yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi, namun akan didinginkan dengan kondensor sehingga pelarut yang tadinya dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor dan turun lagi ke dalam wadah reaksi sehingga pelarut akan tetap ada selama reaksi berlangsung (Mutia et al, 2020). Metode ini dipilih selain waktu ekstraksi yang lebih singkat, sederhana, metode ini juga dipilih karena dengan adanya penambahan panas yang dapat meningkatkan proses ekstraksi, hal ini sesuai dengan penelitian dari Tapalina et al (2022) yang mendapatkan hasil rendemen metode refluks lebih besar dibandingkan metode soxhletasi. Pada ekstraksi kali ini menggunakan pelarut etanol 96%. Penggunaan pelarut ini dikarenakan etanol 96% memiliki kemampuan menyari dengan polaritas yang lebar mulai dari senyawa nonpolar sampai dengan polar (Mawarda, 2020). Dimana etanol 96% ini bersifat selektif, yang mampu mengekstrak Sebagian besar metabolit sekunder, tetapi tidak semua senyawa non-polar atau terlalu polar ikut terambil. Oleh karena itu, tidak menghasilkan rendemen

terlalu tinggi. Dalam sistem refluks, pelarut dipanaskan dan didaur ulang tanpa kehilangan, sehingga menjaga efisiensi ekstraksi. Kombinasi pelarut dan metode ini memungkinkan pelepasan senyawa aktif secara maksimal namun tetap selektif, sehingga menghasilkan nilai rendemen ekstrak sebesar 11,58%, yang dikategorikan sebagai rendemen sedang (Zhang et al, 2018). Rendemen adalah perbandingan berat kering produk yang dihasilkan dengan berat bahan baku. Semakin tinggi nilai rendemen ekstrak maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik ada pada suatu bahan baku (Senduk et al, 2020). Nilai ini menunjukkan efisiensi yang cukup baik, mengingat metode refluks dengan adanya penambahan panas yang dapat membantu meningkatkan proses ekstraksi dan mempercepat pelarutan senyawa aktif (Susanti, 2020). Hasil penelitian Huliselan et al (2015) rendemen daun sesewanua sebesar 6,6% dan pada penelitian Kadir et al (2021) nilai rendemen nya sebesar 13,58%.

Ekstrak kental yang didapatkan selanjutnya dilakukan proses partisi cair-cair, prinsip kerja dari partisi cair-cair ini adalah dengan pemanfaatan perbedaan polaritas senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak, sehingga senyawa-senyawa tersebut akan terdistribusi dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur (immiscible) berdasarkan kelarutannya masing-masing (Abubakar & Haque, 2020). Dalam penelitian ini menggunakan tiga jenis pelaurt secara berurutan yaitu: pelarut n-heksan (non-polar), etil asetat (semi-polar), dan air (polar). Proses ini dimulai dengan mencampurkan ekstrak kental dengan pelarut n-heksan, sedangkan sisanya tetap berada dalam fasa air. Proses ini diulang menggunakan etil asetat untuk mengekstrak senyawa semi-polar, dan fraksi terakhir yang tertinggal di fasa air mengandung senyawa polar. Hasil dari proses partisi menunjukkan bahwa fraksi

n-heksan memberikan rendemen tertinggi yaitu 72% dari total ekstrak, menunjukkan bahwa ekstrak kental mengandung senyawa bioaktif yang bersifat non-polar dalam jumlah dominan. Kandungan ini memungkinkan berupa senyawa lipofilik seperti triterpenoid, steroid atau flavonoid yang telah mengalami modifikasi structural seperti metilasi atau asilasi. Modifikasi tersebut menyebabkan senyawa menjadi lebih non-polar dan larut dalam n-heksa. Hal ini sejalan dengan teori yang menyatakan bahwa senyawa flavonoid termetilasi atau terasilasi cenderung bersifat lipofilik dan larut dalam pelarut non-polar (Pandey dan Tripathi, 2020). Selain itu, senyawa seperti klorofil, minyak atsiri, dan lipid juga dapat berkontribusi terhadap tingginya berat fraksi n-heksan. Hasil penelitian dari Peratiwi et al (2023) yang mendapatkan hasil rendemen fraksi n-heksan lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi etil asetat.

Fraksi etil asetat menunjukkan rendemen sedang sebesar 12,75%, yang mengindikasikan keberadaan senyawa semi-polar seperti flavonoid aglikon, alkaloid bebas (free base), dan fenolik sederhana. Pelarut etil asetat bersifat semi-polar, sehingga dapat mengekstraksi senyawa yang tidak larut pada fraksi n-heksan, namun juga tidak cukup polar untuk berada di fraksi air (Tzanova et al, 2020). Rendemen yang sedang pada fraksi ini mencerminkan kandungan senyawa semi-polar yang relatif lebih sedikit dibandingkan senyawa non-polar (Ri et al, 2019). Adapun pada fraksi air memberikan rendemen terendah sebesar 11,25%. Fraksi ini umumnya mengandung senyawa polar seperti flavonoid glikosida, tannin, saponin, serta alkaloid dalam bentuk garam. Rendemen yang relatif rendah menunjukkan bahwa senyawa polar dalam ekstrak tidak dominan atau sudah terekstraksi

Sebagian oleh etanol pada tahap ekstraksi awal. Hal ini juga bisa disebabkan oleh ikata hidrogen yang kuat antara senyawa polar dengan pelarut, yang membuatnya sulit dipisahkan sempurna ke fase air saat fraksinasi.

Ekstrak yang berkualitas, perlu menetapkan parameter standarisasi ekstrak. Standarisasi ekstrak dilakukan dengan dua parameter yaitu parameter spesifik dan non spesifik. Standarisasi parameter spesifik merupakan aspek yang berfokus pada senyawa atau golongan senyawa, ini meliputi organolepik dan kadar senyawa larut dalam etanol. Kelebihan parameter spesifik yaitu, identitas ekstrak lebih khusus, kandungan kimia yang terkandung dalam tanaman tersebut lebih khusus digunakan terhadap aktivitas farmakologis. Sedangkan standarisasi parameter non spesifik merupakan parameter yang tidak berhubungan langsung dengan aktivitas farmakologis tetapi tidak dapat mempengaruhi aspek keamanan dan stabilitas ekstrak serta sediaan yang dihasilkan. Parameter non spesifik ini merupakan parameter yang berfokus pada aspek kimia dan fisis yang meiliputi kadar air dan kadar sisa pelarut.

Pemeriksaan organoleptik bertujuan untuk mendeskripsikan hasil ekstrak. Hasil organoleptik pada ekstrak daun sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl) yaitu berbentuk ekstrak kental, berwarna hijau kehitaman, berbau aromatis dan rasa kelat sedikit pahit.

Penetapan kadar air dilakukan untuk mengukur kandungan air dalam suatu sampel dengan rentang atau batasan minimal (Azizah et al., 2020). Hasil penetapan kadar air menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dan fraksi air memiliki kadar air yang sama yaitu sebesar 10%. Pada fraksi n-heksan memiliki kadar air paling

rendah yaitu 8,89% karena sifat non-polar dari pelarut n-heksan yang tidak memiliki afinitas terhadap air, sehingga sangat sedikit air yang ikut larut atau tertahan dalam fraksi ini. Sebaliknya, pada fraksi etil asetat dan fraksi air memiliki kadar air yang sedikit lebih tinggi. Etil asetat bersifat semi-polar dan memiliki kelarutan terbatas dalam air, sehingga masih memungkinkan adanya sisa air yang tertahan selama proses pemisahan fase. Fraksi air secara alami bersifat polar dan cenderung mengandung air lebih tinggi karena pelarut air menjadi komponen utama dari partisi ini. Hasil ini sejalan dengan penelitian oleh Setyaningsih et al (2019) yang menyatakan bahwa fraksi n-heksan umumnya memiliki kadar air lebih rendah dibandingkan fraksi etil assetat dan fraksi air karena polaritas pelarut sangat memengaruhi kapasitas membawa air dalam fraksi. Selain itu, menurut Zulkarnaen et al (2020), pelarut yang bersifat polar dan semi-polar seperti air dan etil asetat cenderung meninggalkan residu air lebih tinggi karena dapat membentuk ikatan hidrogen dengan molekul air, sehingga meningkatkan retensi dalam fraksi. Oleh karena itu, kadar air fraksi dalam penelitian ini dinilai masig berada dalam batas yang aman dan mencerminkan karakteristik pelarut yang digunakan selama proses fraksinasi. Menurut Sambode (2022), ekstrak kental memiliki kadar air antara 5-30%. Berdasarkan nilai kadar air yang didapatkan dari masing-masing fraksi termasuk dalam standar yang terdapat dalam literatur Farmakope Herbal, di mana kadar air tidak boleh lebih dari 10% (Kemenkes RI, 2022).

Penetapan kadar sisa pelarut etanol bertujuan untuk mengetahui kadar sisa pelarut yang mungkin masih terdapat pada ekstrak. Pada penetapan sisa pelarut dilakukan dengan metode destilasi sederhana. Hasil penelitian ini menunjukkan

bahwa kadar sisa pelarut pada fraksi air sebesar 0,9988 atau 1% menurut tabel alkoholmetrik pada Farmakope Indonesia Edisi IV. Pada fraksi etil asetat sebesar1,028 dan fraksi n-heksan sebesar 1,024, yang menandakan bahwa persentase etanol yang dapat dilihat pada tabel alkoholmetrik b/b (25°C) adalah nol. Hasil ini sesuai dengan persyaratan yang telah ditetapkan. Berdasarkan Food and Drug Association (FDA) batas sisa pelarut etanol yang diperbolehkan yaitu sebesar 1,046%. Sedangkan menurut KEPMENKES RI (1994), kadar etanol yang ada dalam jamu tidak boleh lebih dari 1%.

Penetapan kadar sari larut etanol bertujuan untuk mengetahui kadar senyawa-senyawa aktif yang dapat larut dalam pelarut yang digunakan. Hasil analisis kadar sari larut etanol menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki kadar tertinggi sebesar 14,5%, diikuti oleh fraksi air 13% dan fraksi n- heksan 8%. Hal ini mengindikasi bahwa senyawa semi-polar (seperti flavonoid aglikon, alkaloid bebas, dan fenolik) lebih banyak diekstrak oleh etil asetat, sementara senyawa sangat polar berada di fraksi air dan senyawa non-polar di fraksi n- heksan. Proporsi ini konsisten dengan prinsip polaritas pelarut, di mana pelarut dengan polaritas sedang cenderung memiliki efisiensi paling tinggi dalam mengekstraksi berbagai sifat senyawa bioaktif. Studi oleh Ri et al. (2019) pada bunga *Aurea Helianthus* mendukung hal ini, di mana kandungan total fenolik dan flavonoid tertinggi ditemukan pada fraksi air atau heksan. Selain itu, Thavamoney et at. (2018) melaporkan bahwa nilai FRAP fraksi air, etanol, dan heksan, mempertegas kemampuan optimal pelarut semi-polar dalam mengekstraksi senyawa fitoaktif. Kombinasi hasil ini menunjukkan bahwa ekstraksi etanol awal telah mengekstraksi

senyawa polar dan semi-polar, tetapi saat difraksinasi, etil asetat masih mamu mengakumulasi senyawa-senyawa utama tersebut, menghasilkan kadar tertinggi. Sedangkan fraksi air, meskipun mampu melarutkan senyawa hidrofilik seperti glikosida dan tannin, kemungkinan kandungannya sudah menurun karena ikut terekstrak awal oleh etanol atau karena adanya senyawa pembawa seperti gula, menyebabkan hasil yang sedikit lebih rendah (13%). Fraksi n- heksan dengan hanya 8% menunjukkan bahwa senyawa non-polar seperti lipid, sterol, dan flavonoid modifikasi polar hanya mendominasi dalam jumlah terbatas. Dengan demikian, pola kadar sari larut etanol ini memperkuat pemahaman teori pelarut-polaritas dan konsisten dengan data literatur modern.

Umumnya flavonoid berikatan dengan gula yang membentuk glikosida yang dapat menyebabkan senyawa mudah larut dalam pelarut polar (air, methanol, etanol). Pelarut semi polar seperti etil asetat. Flavonoid yang kurang polar seperti isoflavonoid, flavanone, dan flavon serta flavonoid yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut non polar seperti eter dan kloroform (Islamiyati et al, 2024). Alkaloid memiliki sifat basa dari atom nitrogen penyusunnya. Umumnya alkaloid di dalam tumbuhan terikat dengan asam organic membentuk garam. Garam alkaloid ini yang kemudian diekstraksi dengan pelarut organik yang sesuai (Tjandra et al, 2020).

Pada pengujian identifikasi senyawa menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dan fraksi air memberikan hasil positif, sedangkan fraksi n-heksan menunjukkan hasil negatif. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa flavonoid lebih banyak terdistribusi dalam fraksi yang bersifat polar hingga semi-polar, yaitu air dan etil

asetat. Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang mengandung gugus hidroksil (-OH) pada struktur aromatiknya. Kehadiran gugus polar ini menjadikan flavonoid bersifat polar hingga semi-polar, tergantung pada bentuk strukturnya. Flavonoid dapat terbagi menjadi dua kelompok utama berdasarkan polaritasnya, yaitu flavonoid aglikon (tanpa gugus gula) yang bersifat semi-polar dan flavonoid glikosida (mengandung gugus gula) yang bersifat lebih polar (Harbone, 1987). Pada fraksi etil asetat merupakan pelarut semi-polar yang dapat mengekstrak flavonoid jenis aglikon, dimana mekanisme kelarutannya didasarkan pada kesesuaian polaritas antara senyawa dan pelarut serta adanya interaksi ikatan hydrogen antara gugus -OH flavonoid dengan pelarut etil asetat (Kumar, 2013). Pada fraksi air juga mendapatkan hasil positif, dimana air sebagai pelarut polar mampu melarutkan senyawa yang bersifat hidrofilik, termasuk flavonoid glikosida. Dimana mekanismenya, interaksi hidrogen kuat, dan pelarut air memfasilitasi kelarutan senyawa hidrofilik (Dai, 2010). Sedangkan pada n-heksan yang merupakan pelarut non polar, menunjukkan hasil negatif. Hal ini sesuai dengan teori bahwa flavonoid memiliki gugus polar yang tidak larut dalam pelarut non polar seperti n-heksan (Sarker et al, 2006). Hal ini sejalan dengan penelitian Fitriani et al, (2023) yang menyatakan bahwa flavonoid aglikon terdistribusi pada fraksi etil asetat, sedangkan flavonoid glikosida lebih dominan ditemukan pada fraksi air. Selain itu, Nurhayati et al (2022) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa fraksi n-heksan tidak mengandung flavonoid karena sifat non polar pelarut yang tidak sesuai dengan karakteristik senyawa flavonoid.

Pada pengujian alkaloid didapatkan hasil positif pada fraksi air, dimana fraksi air sebagai pelarut polar, sangat cocok mengekstrak senyawa alkaloid yang bersifat polar, khususnya membentuk garam amina saat diekstrak dalam medium asam atau air (Harbone, 1987). Hal ini terjadi karena, reagen mayer dan reagen dragendorff pada saat diuji akan membentuk kompleks dengan nitrogen alkaloid lalu menghasilkan endapan (Thakur et al, 2018). Pada fraksi n-heksan tidak menunjukkan reaksi positif baik pada pereaksi mayer maupun dragendorff. Hal ini dikarenakan pelarut n-heksan merupakan pelarut non polar yang tidak cocok untuk melarutkan alkaloid yang umumnya bersifat lebih polar (Sarker, 2006). Sedangkan pada fraksi etil asetat didapatkan hasil reaksi positif lemah, dikarenakan pada reagen mayer didapatkan hasil positif sedangkan dragendorff negatif. Dimana pada reagen mayer terjadi kompleksasi Hg^{2+} dengan nitrogen alkaloid lalu terbentuk endapan, sedangkan pada reagen dragendorff terjadi kompleksasi Bi^{3+} dengan alkaloid lalu terbentuk endapan. Hal ini terjadi karena senyawa dalam fraksi etil asetat mungkin adalah senyawa basa aromatik, dimana alkaloid dalam bentuk aglikon non-ionik, atau senyawa pseudoalkaloid, sehingga senyawa tersebut cukup basa untuk membentuk presipitat dengan Hg^{2+} (mayer), namun tidak membentuk kompleks kuat dengan Bi^{3+} (dragendorff). Hal ini sejalan dengan pernyataan dari Harbone (1987) dan Sudarsono et al (2002), bahwa mayer kadang memberi postif palsu terhadap senyawa basa non-alkaloid, sedangkan dragendorff lebih selektif.

Faktor yang mempengaruhi hasil tersebut ialah senyawa flavonoid bersifat polar dan alkaloid bersifat semi-polar yang menyebabkan senyawa lebih mudah larut dalam pelarut dengan kepolaran sedang hingga tinggi (Putri et al, 2023). Hal

ini diperkuat dengan data penelitian (Zulfiayu, 2024) dimana dalam pengujiannya didapatkan hasil positif mengandung flavonoid dan alkaloid pada sampel ekstrak dan fraksi daun sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl).

Pada penentuan kadar flavonoid total, kurva baku dibuat dengan seri konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm. Pada penentuan Panjang gelombang maksimum larutan baku kuarsetin yang dilakukan pada rentang Panjang 400-800 nm dan didapatkan Panjang gelombang maksimum pada kuarsetin di Panjang gelombang 424,1175 nm. Berdasarkan tabel diatas menunjukkan hasil pengukuran absorbansi pada larutan standar kuarsetin didapatkan persamaan regresi y = 0,0164x + 0,0387 dengan nilai R^2 = 0,9759. Nilai ini mendekati nilai 1 sehingga model regresi dikatakan semakin baik dan memenuhi kriteria linieritas (layak). Semakin besar nilai R^2 yang diperoleh maka semakin baik variabel bebas memprediksi variabel terikat. Besarnya nilai R^2 antara 0-1 atau setara dengan 10-100% (Rizikiyan, 2020).

Suatu senyawa akan larut pada pelarut yang mempunyai kepolaran yang asam. Senyawa flavonoid terbagi menjadi beberapa jenis, tiap jenis flavonoid mempunyai kepolaran yang berbeda-beda tergantung dari jumlah dan posisi gugus hidroksil tiap jenis flavonoid sehingga hal tersebut akan mempengaruhi kelarutan flavonoid pada pelarut (Verdiana et al, 2020). Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, ekstrak etanol menunjukkan kadar flavonoid tertinggi yakni sebesar 173,82 mg QE/g. Etanol lebih efektif dalam melarutkan senyawa flavonoid yang umumnya bersifat polar atau semi-polar. Pada fraksi etil asetat didapatkan nilai sebesar 16,863 mg QE/g. Etil asetat dipilih sebagai pelarut karena bersifat semi

polar, memungkinkannya untuk mengekstraksi senyawa baik yang bersifat polar maupun non-polar. Sebagai hasilnya, lebih banyak senyawa tertarik ke dalam fraksi etil asetat. Menurut penelitian Varah (2024) dimana kandungan flavonoid pada fraksi etil asetat sebesar 0,9775%. Pada hasil skrining fitokimia diatas menunjukkan bahwa fraksi n-heksan tidak menunjukkan reaksi positif pda uji flavonoid, sementara fraksi air menunjukkan reaksi positif. Namun, hasil kuantitatif justru menunjukkan bahwa fraksi n-heksan memiliki kandungan flavonoid total lebih tinggi sebesar 11,53 mg QE/g dibandingkan fraksi air sebesar 8,86 mg QE/g. Hal ini terjadi karena flavonoid dalam fraksi n-heksan kemungkinan merupakan flavonoid termetilasi atau terasilasi, yaitu flavonoid yang mengalami modifikasi struktur melalui penambahan gugus metil ($-CH_3$) atau asil (-CO-R). modifikasi ini menyebabkan flavonoid menjadi lebih non-polar dan lipofilik, sehingga dapat larut dalam pelarut non-polar seperti n-heksan (Chaurasiya et al, 2020). Menurut Harbone (1987), flavonoid yang mengalami metilasi atau asilasi cenderung larut dalam pelarut semi-polar atau non-polar seperti etil asetat dan n-heksan, dan sering tidak memberikan reaksi warna khas dalam uji kualitatif. Meskipun n-heksan termasuk pelarut dengan sifat non-polar, pada beberapa jenis flavonoid memiliki kemampuan larut dalam pelarut non-polar seperti aglikon polimetoksi atau isoflavon, terutama setelah gugus gula atau bentuk glikosida dilepaskan (Satriaet al, 2022).

Pada penentuan kadar alkaloid total, kurva baku dibuat dengan seri konsentrasi 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, dan 30 ppm. Pada penentuan Panjang gelombang maksimum larutan baku kafein yang dilakukan pada rentang Panjang

200-400 nm dan didapatkan Panjang gelombang maksimum pada kafein di panjang gelombang 219,00 nm. Berdasarkan tabel diatas menunjukkan hasil pengukuran absorbansi pada larutan standar kuarsetin didapatkan persamaan regresi y = 0,0737x + 0,423 dengan nilai R^2 = 0,956, Nilai ini juga mendekati nilai 1 sehingga model regresi dikatakan semakin baik dan memenuhi kriteria linieritas (Rizikiyan, 2020).

Berdasarkan hasil penelitian diatas, kadar alkaloid tertinggi diperoleh pada fraksi air yakni sebesar 8,88 mg AE/g. Senyawa alkaloid umumnya bersifat polar atau semi-polar, terutama dalam bentuk garam alkaloid yang larut dalam air. Oleh karena itu, fraksi air sebagai pelarut paling polar mampu menarik alkaloid dalam jumlah yang lebih besar, sesuai dengan teori kepolaran senyawa dan pelarut (Putri tl al, 2023). Selanjutnya pada ekstrak etanol sebesar 8,86 mg AE/g. dan diikuti oleh fraksi etil asetat sebesar 8,71 mg AE/g. Hal ini juga diperkuat oleh penelitian dari Kiani et al (2023) dimana kandungan alkaloid terbesar diperoleh pada fraksi air sebesar 47,34 mg AE/g, lalu diikuti oleh fraksi etil asetat sebesar 31,23 mg AE/g. kadar alkaloid total terendah diperoleh pada fraksi n-heksan. Hal ini dikarenakan senyawa alkaloid umumnya tidak larut dalam pelarut non-polar seperti n-heksan.

BAB V

KESIMPULAN

A. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Pada pengujian parameter spesifik daun sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl) dengan pengamatan organoleptik ekstrak kental, berwarna hijau kehitaman, bau aromatis dan memiliki rasa kelat agak sedikit pahit. Pengujian kadar sari larut etanol didapatkan hasil pada fraksi n-heksan sebesar 8%, fraksi etil asetat 14,5% dan fraksi air 13%. Sedangkan pada pengujian parameter non spesifik didapatkan hasil kadar air pada fraksi n-heksan sebesar 8,89%, fraksi etil asetat 10% dan fraksi air 10%. Pengujian kadar sisa etanol didapatkan hasil pada fraksi n-heksan sebesar 1,024 ≈ 0%, fraksi etil asetat 1,028 ≈ 1% dan fraksi air 1,024 ≈ 1% dan memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan.
2. Hasil uji kadar flavonoid total pada ekstrak etanol sebesar 1,74%, fraksi n-heksan diperoleh sebesar 1,15%, fraksi etil asetat sebesar 1,68% dan pada fraksi air sebesar 0,88%. Hasil pengujian kadar alkaloid total pada ekstrak etanol sebesar 0,86%, fraksi n-heksan diperoleh sebesar 0,09%, pada fraksi etil asetat 0,87% dan fraksi air sebesar 0,88%.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menetapkan kadara flavonoid dalam daun sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl) dengan metode yang berbeda.

2. Penelitian selanjutnya disarankan untuk memanfaatkan daun sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl) sebagai bahan aktif dalam pengobatan.

DAFTAR PUSTAKA

Afandi, R., & Purwanto, A. (2018). Spektrofotometer Cahaya Tampak…(Riski Afandi)161 Spketofrmeter Cahaya Tampak Sederhana Untuk Menentukan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Larutan Fe(SCN) 3 DAN CuSO 4 Simple Visible Light Spectroscopy to Determine The Maximum Absorbance Wavelength of. *Journal Spektrofotometer Cahaya Tampak*, *2*(4), 161–166.

Agusman, I., Diharmi, A., & Sari, N. I. (2022). Identification of bioactive compounds in extract fraction red seaweed (Eucheuma cottonii). *Acta Aquatica: Aquatic Sciences Journal*, *9*(2), 60. https://doi.org/10.29103/aa.v9i2.6164

Alasa, A. N., Anam, S., & Jamaluddin. (2017). *ANALISIS KADAR TOTAL METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK ETANOL DAUN TAMOENJU (Hibiscus surattensis L.)*. *3*(3), 258–268.

Amiliza Miarti, & Leni Legasari. (2022). Ketidakpastian Pengukuran Analisa Kadar Biuret, Kadar Nitrogen, Dan Kadar Oil Pada Pupuk Urea Di Laboratorium Kontrol Produksi Pt Pupuk Sriwidjaja Palembang. *Jurnal Cakrawala Ilmiah*, *2*(3), 861–874. https://doi.org/10.53625/jcijurnalcakrawalailmiah.v2i3.4023

Angraini, N., & Yanti, F. (2021). Penggunaan Spektrofotometer Uv-Vis Untuk Analisis Nutrien Fosfat Pada Sedimen Dalam Rangka Pengembangan Modul Praktikum Oseanografi Kimia. *Jurnal Penelitian Sains*, *23*(2), 78. https://doi.org/10.56064/jps.v23i2.620

Aprilyanie, I., Handayani, V., & Syarif, R. A. (2023). Uji Toksisitas Ekstrak Kulit Buah Tanaman Jeruk Purut (Citrus hystrix DC .) Dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Makassar Natural Product Journal, 1*(1), 1–9.

Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, *6*(1), 21–29. https://doi.org/10.31629/zarah.v6i1.313

Auliah, N., Asri, M. S., & Wahyuningsih, S. (2015). *FORMULASI DAN UJI STABILITAS FISIKA DAN KIMIA SEDIAAN SHAMPO ANTIKETOMBE EKSTRAK KULIT BUAH JERUK PURUT (Citrus hystrix Dc)*. *8153*, 221–227.

Azhari, A., Mutia, N., & Ishak, I. (2020). PROSES EKSTRAKSI MINYAK DARI BIJI PEPAYA (CARICA PAPAYA) DENGAN MENGGUNAKAN PELARUT n-HEKSANA. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, *9*(1), 77. https://doi.org/10.29103/jtku.v9i1.3073

Azizah, Z., Elvis, F., Zulharmita, Misfadhila, S., Chandra, B., & Desni Yetti, R. (2020). Penetapan Kadar Flavonoid Rutin pada Daun Ubi Kayu (Manihot Esculenta Crantz) Secara Spektrofotometri Sinar Tampak. *Jurnal Farmasi Higea*, *12*(1), 90–98.

Charisma, A. M., & Ningsih, A. W. (2023). *BOTANI FARMASI*. Qiara Media.

Fikayuniar, L. (2023). *MEMBEDAH KANDUNGAN KIMIA BAIK DALAM PICISAN* (T. J. Pustaka (ed.)). Jejak Pustaka.

Firdaus, S., Nurhuda, Sri Wahyuningsih, & Andi Ulfiana Utari. (2024). Analisis Kandungan Ibuprofen pada Sediaan Jamu yang Beredar di Kecamatan Manggala Kota Makassar dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis dan Spektrofotomentri UV-Vis. *Inhealth : Indonesian Health Journal*, *3*(2), 163–171. https://doi.org/10.56314/inhealth.v3i2.242

Fitriana, M., Riyanta, A. B., Amananti, W., Hariyanto, Y. A., Kusnadi, & Supriati, H. S. (2022). *FISIKA FARMASI : Sains dan Terapan* (W. Amananti (ed.)). Kaizen Media Publishing.

GBIF, S. (2023). *Clerodendron squamatum Vahl - Taxonomy*. https://doi.org/https://doi.org/10.15468/39omei

Handoyo Sahumena, M., Ruslin, R., Asriyanti, A., & Nurrohwinta Djuwarno, E. (2020). Identifikasi Jamu Yang Beredar Di Kota Kendari Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, *2*(2), 65–72. https://doi.org/10.37311/jsscr.v2i2.6977

HOBIR, . (2020). Pengaruh Ukuran Dan Perlakuan Bibit Terhadap Pertumbuhan Dan Produksi Iles-Iles. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*, *8*(2), 61. https://doi.org/10.21082/jlittri.v8n2.2002.61-66

Hohakay, J. J., Pontoh, J., & Yudistira, A. (2019). PENGARUH METODE PENGERINGAN TERHADAP KADAR FLAVONOID DAUN SESEWANUA (Clerodendron squamatum Vahl.). *Pharmacon*, *8*(3), 748. https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29401

Hujjatusnaini, N., Ardiansyah, Indh, B., Afitri, E., & Widyastuti, R. (2021). *EKSTRAKSI* (N. Lestariningsih (ed.)).

Huselan, Y. M., Runtuwene, M. R. J., & Wewengkang, D. S. (2015). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan dari daun sesewanua (Clerodendron squamatum Vahl.). *Pharmacon*, *4*(3), 155–163.

Husna, P. A. U., Kairupan, C. F., & Lintong, P. M. (2022). Tinjauan Mengenai Manfaat Flavonoid pada Tumbuhan Obat Sebagai Antioksidan dan Antiinflamasi. *EBiomedik*, *10*(1), 76–83.

Irawan, A. (2019). Kalibrasi Spektrofotometer Sebagai Penjaminan Mutu Hasil Pengukuran dalam Kegiatan Penelitian dan Pengujian. *Indonesian Journal of Laboratory*, *1*(2), 1. https://doi.org/10.22146/ijl.v1i2.44750

Irawati, D., & Arini, D. (2015). Di Hutan Pantai Cagar Alam Tangkoko Diversity of Medicinal Plants on Coastal Forest in Tangkoko Natural Reserve. *Jurnal*

Wasian, *2*(1), 1–8.

Irsyad, L. P., Yudianingsih, & Lestari, S. (2016). irsyad 4Jurnal-SRI-L-InFact-V1N2NOV2016. *Jurnal InFact*, *1*(2), 1–8.

Issusilaningtyas, E., Yulianto, A. N., Rochmah, N. N., Pertiwi, Y., Faoziyah, A. R., Sari, W. Y., & Balfas, R. F. (2024). *TEKNOLOGIFARMASI BAHAN ALAM*. CV. Tohar Media.

Kemenkes RI. (2022). Suplemen I Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. In *Jakarta: Departement Kesehatan Republik Indonesia*.

Kuntorini, E. . (2011). Kajian Taksonomi dan Pemanfaatan Tanaman Obat Keluarga Verbenaceae di Indonesia. *Jurnal Biologi Indonesia*, *7*(3).

Lestari, E. D. I. T. S. (2021). Perbandingan Efektivitas Ekstrak Daun Pepaya (Carica papaya L. sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Salmonella typhi secara In Vitro. *Parapemikir : Jurnal Ilmiah Farmasi*, *2*(x), 109–114.

Lindawati, N. Y., & Ni'ma, A. (2022). Analysis of Total Flavanoid Levels of Fennel Leaves (Foeniculum Vulgare) Ethanol Extract By Spectrophotometry Visibel. *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis*, *8*(1), 1–12. https://doi.org/10.31603/pharmacy.v8i1.4972

Lutfiah, L. (2022). Aplikasi Kamus Simplisia Dan Resep Obat Tradisional (Sidota) Berbasis Android. *Jurnal Sains Dan Informatika*, *8*(1), 61–69. https://doi.org/10.34128/jsi.v8i1.369

Maria Ulfa, A. S., Emelda, E., Munir, M. A., & Sulistyani, N. (2023). PENGARUH METODE EKSTRAKSI MASERASI DAN SOKLETASI TERHADAP STANDARDISASI PARAMETER SPESIFIK DAN NON SPESIFIK EKSTRAK ETANOL BIJI PEPAYA (Carica papaya L.). *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, *6*(1), 1–12. https://doi.org/10.36387/jifi.v6i1.1387

Maslahah, N. (2024). *Standar simplisia tanaman obat sebagai bahan sediaan herbal*. *2*(2), 1–4.

Melo, R. M. T., E.V., C., WUISANG, M.URBHABMGT, & MASTUTIE, F. (2015). *PUSAT EDUKASI BIOTANIKAL DI SULAWESI UTARA IMPLEMENTASI EKO-ARSITEKTUR DALAM DESAIN*. 6.

Mun'im, A., & Ahmad, I. (2023). *APLIKASI TEKNIK EKSTRAKSI HIJAU PADA PENGEMBANGAN OBAT HERBAL*. Deepublish Digital.

Nuraini, S. (2020). Potensi dan Manfaat Daun Sesewanua sebagai Tanaman Obat Tradisional. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, *12*(2).

Putri, A. O., Hati, M. C., Ishanti, N. P., & Ilham, H. S. (2024). Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Beberapa Jenis Tanaman dengan Kromatografi Lapis Tipis:

Literature Review. *PHARMADEMICA : Jurnal Kefarmasian Dan Gizi*, *3*(2), 45–54. https://doi.org/10.54445/pharmademica.v3i2.40

Putri, F. E., Diharmi, A., & Karnila, R. (2023). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Rumput Laut Coklat (Sargassum plagyophyllum) Dengan Metode Fraksinasi. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia*, *15*(1), 40–46. https://doi.org/10.17969/jtipi.v15i1.23318

Saputri, R. K., & Pitaloka, R. I. K. (2023). *Farmakogmosi*. Jakad Media Publishing.

Setyantoro, M. E., Haslina, H., & Wahjuningsih, S. B. (2019). PENGARUH WAKTU EKSTRAKSI DENGAN METODE ULTRASONIK TERHADAP KANDUNGAN VITAMIN C,PROTEIN, DAN FITOKIMIA EKSTRAK RAMBUT JAGUNG (Zea mays L.). *Jurnal Teknologi Pangan Dan Hasil Pertanian*, *14*(2), 53. https://doi.org/10.26623/jtphp.v14i2.2445

Shiyan, S. (2024). *Senyawa Fitokimia: Karakteristik Senyawa Jalur Shikimat dan Mevalonat dalam Pengembangan Teknologi Fitofarmasetika*. Deepublish DIgital.

Sudarwati, T. P. L., & Fernanda, M. A. H. F. (2019). *APLIKASI PEMANFAATAN DAUN PEPAYA (Carica papaya)SEBAGAI BIOLARVASIDA TERHADAP LARVA Aedes aegypti* (N. R. Hariyati (ed.)). Graniti.

Suleman, A. W., Wahyuningsih, S., Puspitasari, Y., & Jangga. (2023). *FORMULASI SEDIAAN SERUM ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN SALAM (Syzygium polyanthum) MENGGUNAKAN METODE RADIKAL BEBAS DPPH*. *8*(2), 235–243.

Supaya, S. S. (2019). Refdes Kombinasi Alat Refluks dan Distilasi, Upaya Efisiensi Proses Refluks dan Distilasi untuk Praktikum Kimia Organik. *Indonesian Journal of Laboratory*, *1*(4), 41. https://doi.org/10.22146/ijl.v1i4.52716

Susanty, S., & Bachmid, F. (2016). PERBANDINGAN METODE EKSTRAKSI MASERASI DAN REFLUKS TERHADAP KADAR FENOLIK DARI EKSTRAK TONGKOL JAGUNG (Zea mays L.). *Jurnal Konversi*, *5*(2), 87. https://doi.org/10.24853/konversi.5.2.87-92

Ulfah, M., Kurniawan, R. C., & Erny, M. (2020). Standarisasi Parameter Spesifik dan Nonspesifik Ekstrak Etanol Daun Melinjo (Gnetum gnemon L.). *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik (JIFFK)*, *17*(2), 35–43. http://repository.stikesmukla.ac.id/id/eprint/1482

Wahyuni, Aliah, A. I., & Semboh, E. (2020). *FORMULASI GEL DAN UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN MENIRAN (Phyllanthus niruri L.) TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA SAYAT PADA KELINCI JANTAN (Oryctolagus cuniculus)*. *XVI*(1), 274–282.

Wahyuni, S., Yunita, I., Sundari, U. Y., Pagalla, D. B., Kalalinggi, S. Y., Alpian,

Nurmalasarim, E., Suryandani, H., Ramlah, & Nasrullah, M. (2024). *ESKTRAKSI BAHAN ALAM*. CV Gita Lentera.

Wibowo, F. B., Tutik, & Amalia, P. (2024). *STANDARISASI MUTU SIMPLISIA KULIT BAWANG MERAH (Allium cepa L.)*. *9*(2), 163–172.

Wicaksono, S., Santoso, J., & Prabandari, S. (2023). Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera L.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, *x*(x), 1–10.

Wijaya, H., Jubaidah, S., & Rukayyah, R. (2022). Perbandingan Metode Esktraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Batang Turi (Sesbania Grandiflora L.) Dengan Menggunakan Metode Maserasi Dan Sokhletasi. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, *5*(1), 1–11. https://doi.org/10.35473/ijpnp.v5i1.1469

Wijayanti, R. (2025). *Profil Metabolit Sekunder Daun Pandan Wangi dan Aktivitasnya sebagai Antihiperglikemia* (M. Nasrudin (ed.)). PT Nasya Expanding Management.

Yudistira, A. (2017). Uji Aktivitas Anti Kanker Payudara Ekstrak Daun Sesewanua (Clerodendron squmatum vahl.) terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*, *6*(2), 45–51.

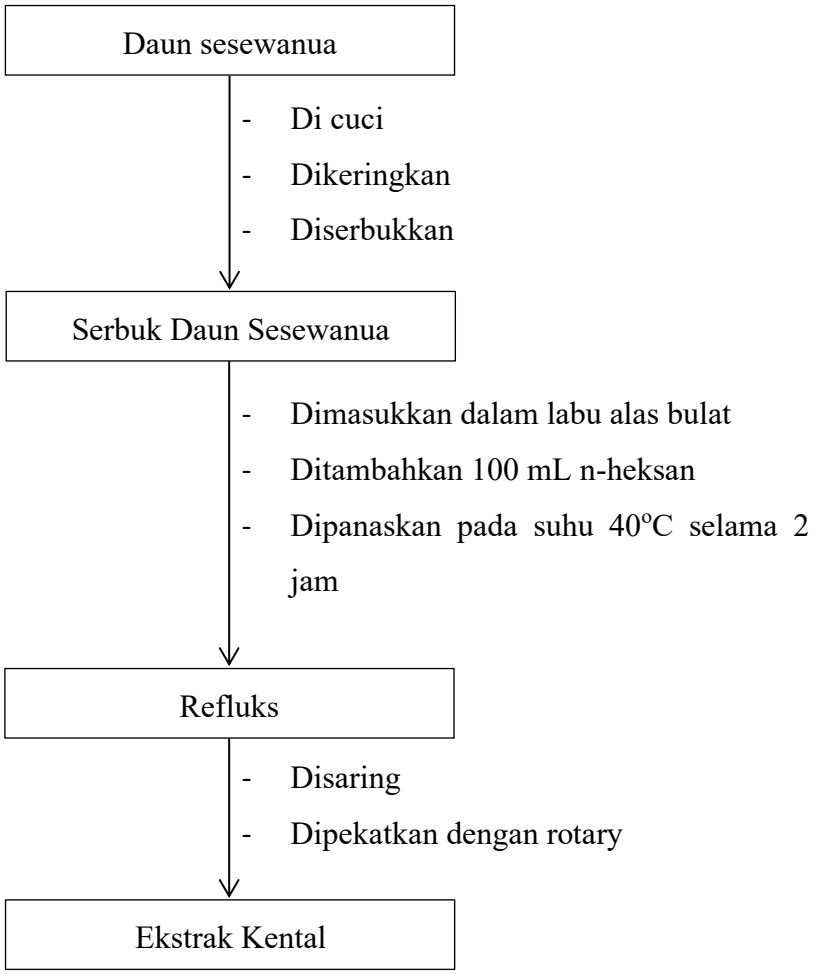
Yulianti, I., & Santoso, J. (2020). Identifikasi Tanin Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Benalu Mangga (Dendrophthoe Petandra) Menggunakan Metode Maserasi Dan Sokletasi. *Jurnal Parapemikir PHB*, *x*(x), 1–6.

Zaini, M., Hidriya, H., & Japeri, J. (2020). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Muntingia calabura dengan Variasi Laju Pengadukan Menggunakan Macerator-Magnetic Stirrer (M-MS). *Jurnal Pharmascience*, *7*(2), 27. https://doi.org/10.20527/jps.v7i2.9037

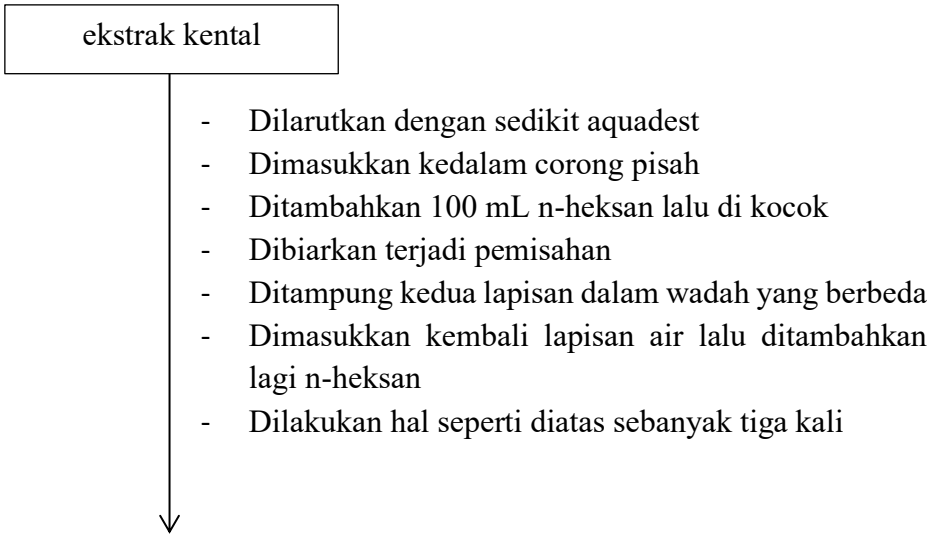
LAMPIRAN

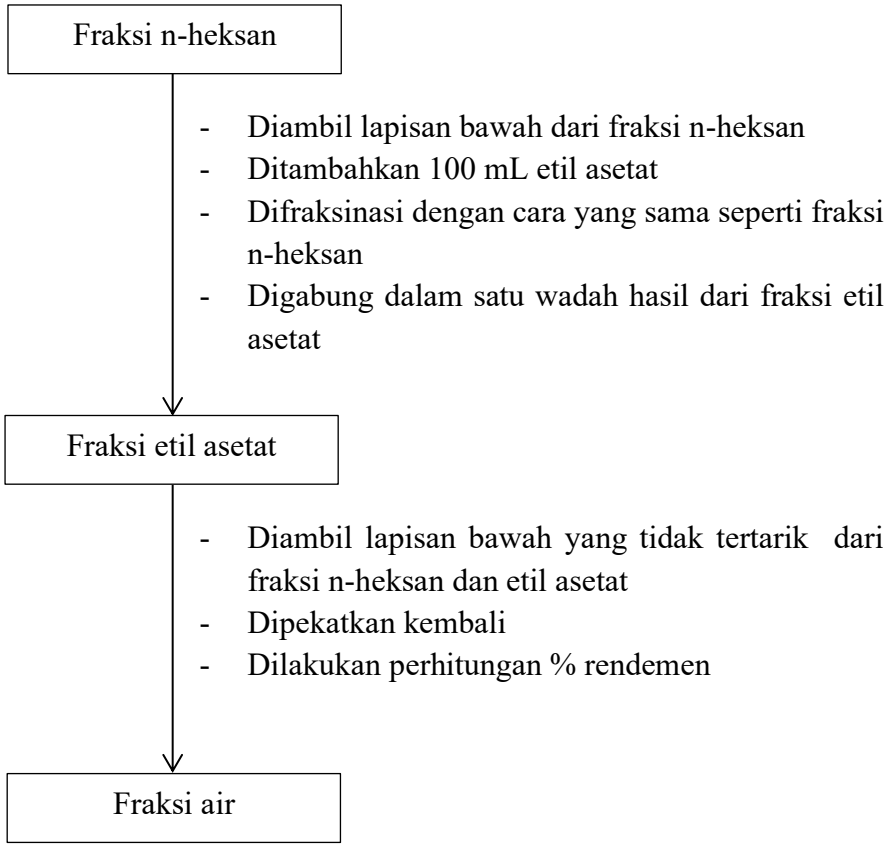
A. Skema Kerja

1. Ekstraksi Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatumVahl)*

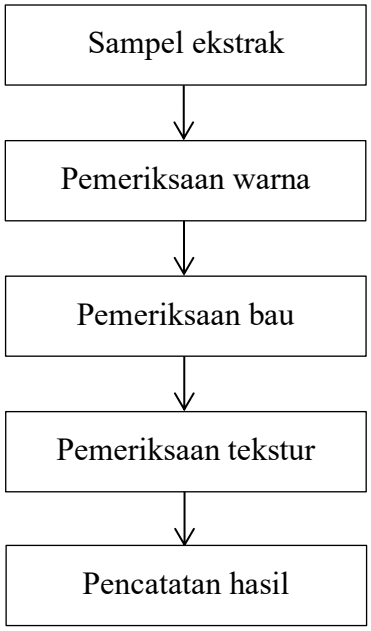


2. Partisi Cair-Cair (etil asetat, n-heksan, dan air)

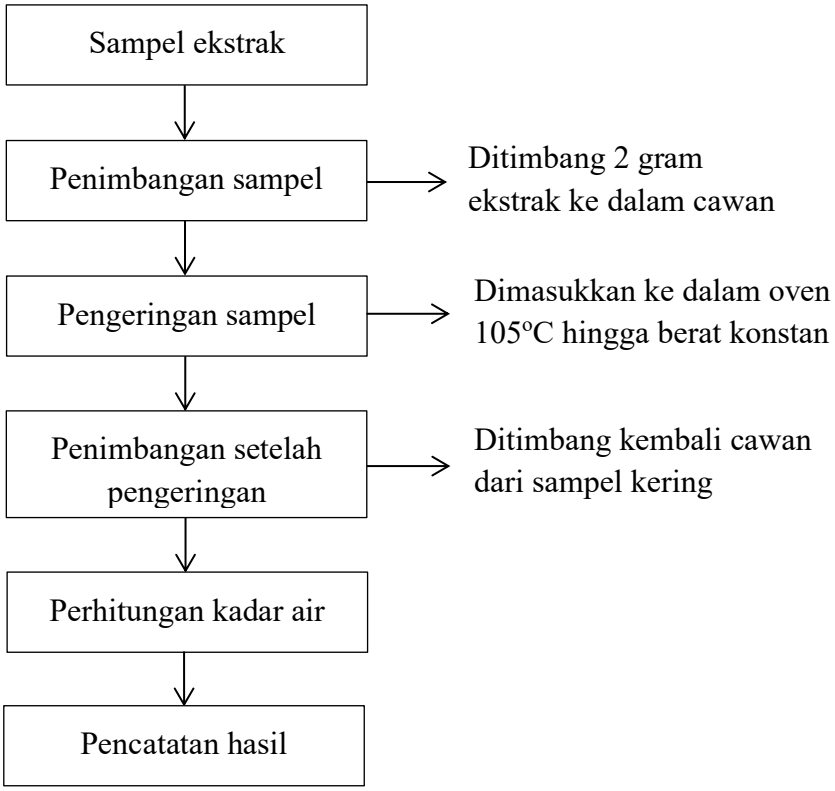




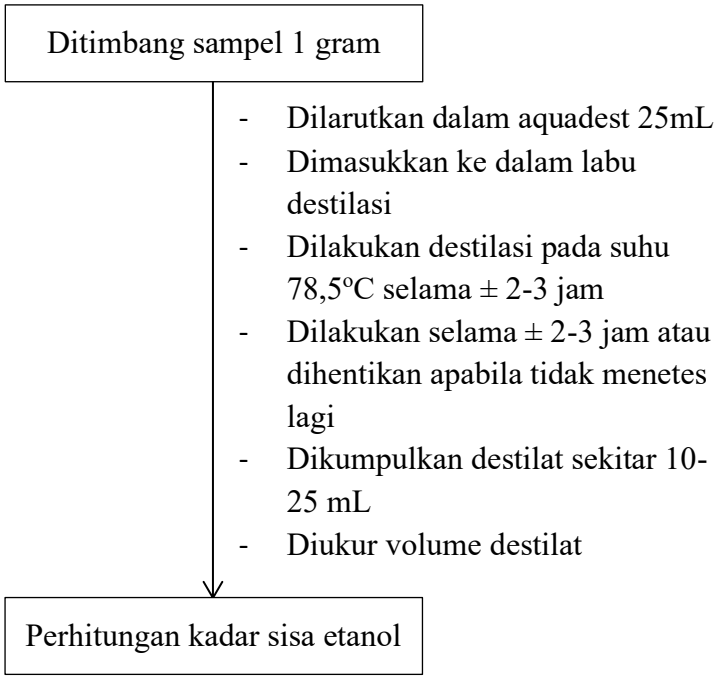
3. Uji Organoleptik



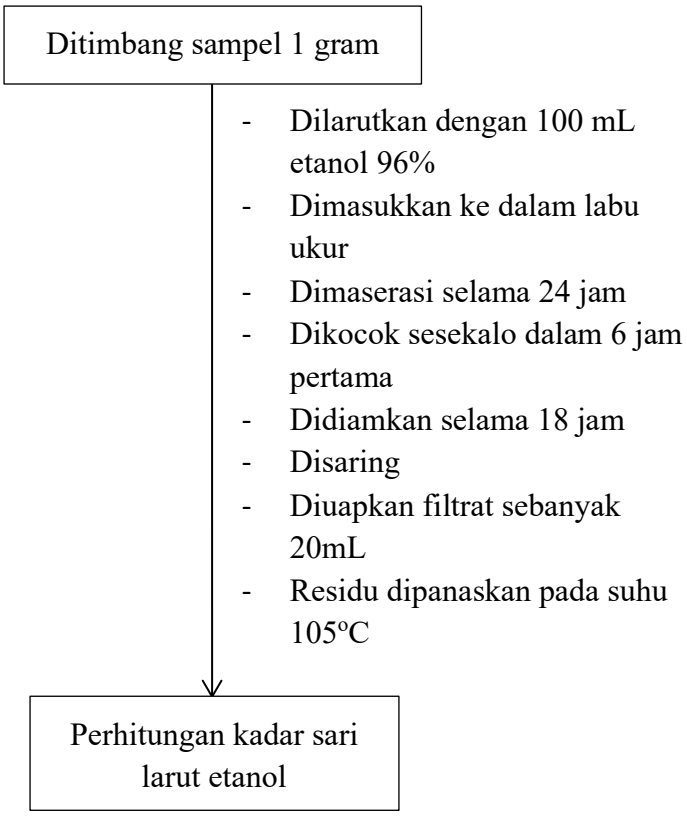
4. Uji Kadar Air



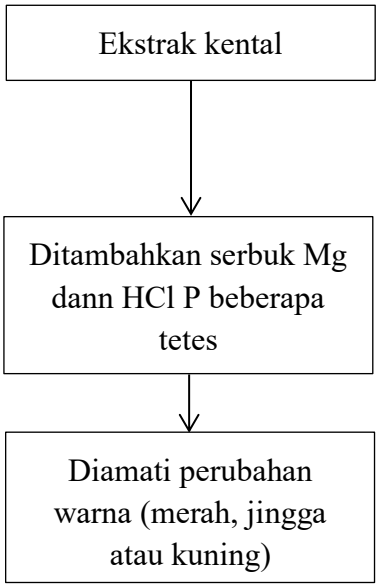
5. Uji Kadar Sisa Etanol



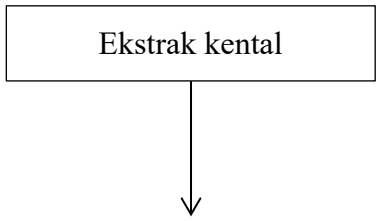
6. Uji Kadar Sari Larut Etanol



7. Uji Senyawa Flavonoid



8. Uji Senyawa Alkaloid



Ditambahkan reagen mayer dan dragendorff pada tabung yang berbeda

↓

Diamati perubahan , mayer (endapan putih/kuning/hitam), dragendorff (endapan jingga)

9. Pengujian Kadar Flavonoid Total

1) Penetapan Panjang Gelombang Maksimum Kuarsetin

10 mg kuarsetin

- Dilarutkan dengan etanol p.a sebanyak 100 mL
- Diukur serapannya pada panjang gelombang 400-500 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis

↓

Panjang gelombang maksiumum kuaarsetin

2) Penentuan Linearitas Kurva Kalibrasi Kuersetin

Larutan standar kuersetin

- Dibuat konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm
- Dipipet masing-masing 1 mL
- Ditambahkan 1 mL AlCl3
- Ditambahkan 1 mL natrim asetat
- Diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar
- Ditentukan absorbansi menggunakan

Larutan seri kafein

3) Penetapan Kadar Flavnonoid Total

30 mg sampel

- Dilarutkan dalam 10 mL etanol p.a
- Dipipet 1 mL dari larutan tersebut
- Ditambahkan 1 mL $AlCl_3$ 10%
- Ditambahkan 1 mL asam asetat
- Ditentukan absorbansi menggunakan spektrofotometri UV-Vis
- Direplikasi sebanyak 3 kali

Nilai rata-rata absorbansi

10. Pengujian Kadar Alkaloid Total

1) Penetapan Panjang Gelombang Maksimum Kafein

10 mg kafein

- Dilarutkan dengan aquades sebanyak 100 mL
- Diukur serapannya pada panjang gelombang 200-400 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Panjang gelombang maksimum kafein

2) Penentuan Linearitas Kurva Kalibrasi Kafein

Larutan standar kuersetin

- Dibuat konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm
- Dipipet masing-masing 1 mL
- Ditambahkan larutan HCl sebanyak 1 mL
- Diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar
- Ditentulan absorbansi menggunakan spektrofotometri UV-Vis

Nilai rata-rata absorbansi

3) Penetapan Kadar Alkaloid Total

30 mg sampel

- Dilarutkan dalam 10 mL aquadest
- Dipipet 1 mL dari larutan tersebut
- Ditambahkan 1 mL larutan HCl
- Ditentukan absorbansi menggunakan spektrofotometri UV-Vis
- Direplikasi sebanyak 3 kali

Nilai rata-rata absorbansi

B. Dokumentasi Penelitian

1. Perlakuan refluks dan partisi cair-cair

 simplisia daun sesewanua	 ekstraksi metode refluks	 ekstrak dipekatkan
 hasil ekstrak kental	 partisi cair-cair	 hasil fraksi kental

2. Pengujian parameter spesifik dan non spesifik

 **uji kadar air** pengovenan cawan kosong	 Proses pendinginan cawan	 cawan + sampel

 **uji kadar sisa etanol** persiapan sampel	 destilasi sederhana	 hasil destilat
 **uji kadar sari larut etanol**	 hasil filtrat diuapkan	 residu dipanaskan

3. Identifikasi senyawa

 **uji flavonoid** fraksi n-heksan	 **uji flavonoid** fraksi etil asetat	 **uji flavonoid** fraksi air

 **uji alkaloid** fraksi n-heksan + reagen mayer	 **uji alkaloid** fraksi etil asetat + reagen mayer	 **uji alkaloid** air + reagen mayer
 **uji alkaloid** fraksi n-heksan + reagen dreagendorff	 **uji alkaloid** fraksi etil asetat + reagen dragendorff	 **uji alkaloid** fraksi air + reagen dragendorff

4. Uji kadar flavonoid total dan alkaloid total

 Larutan baku dan larutan seri kuarsetin & kafein	 larutan sampel uji flavonoid total dan alkaloid total	 pengujian menggunakan spektrofotometri UV-Vis

C. Perhitungan

1. Rendemen ekstrak

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat simplisia yang digunakan}} \; x \; 100\%$$

$$= \frac{104{,}20 \text{gram}}{900 \text{ gram}} \; x \; 100\%$$

$$= 11{,}58\%$$

2. Rendemen fraksi

a. % rendemen fraksi n-heksan $= \frac{\text{Berat fraksi yang diperoleh}}{\text{Berat ekstrak yang digunakan}} \; x \; 100\%$

$$= \frac{57{,}60 \text{ gram}}{80 \text{ gram}} \; x \; 100\%$$

$$= 72\%$$

b. % rendemen fraksi etil asetat $= \frac{\text{Berat fraksi yang diperoleh}}{\text{Berat ekstrak yang digunakan}} \; x \; 100\%$

$$= \frac{10{,}20 \text{ gram}}{80 \text{ gram}} \; x \; 100\%$$

$$= 12{,}75\%$$

c. % rendemen fraksi air $= \frac{\text{Berat fraksi yang diperoleh}}{\text{Berat ekstrak yang digunakan}} \; x \; 100\%$

$$= \frac{9 \text{ gram}}{80 \text{ gram}} \; x \; 100\%$$

$$= 11{,}25\%$$

3. Kadar air

a. Fraksi n-heksan

$$= \frac{(b-c)}{(b-a)} \; X \; 100\%$$

$$= \frac{65{,}06-65{,}01}{65{,}05-64{,}60} \; X \; 100\%$$

$$= \frac{0{,}04}{0{,}45} \; X \; 100\%$$

= 8,89%

b. Fraksi etil asetat

$= \frac{(b-c)}{(b-a)} \ X \ 100\%$

$= \frac{43,20-43,16}{43,20-42,80} \ X \ 100\%$

$= \frac{0,04}{0,40} \ X \ 100\%$

= 10%

c. Fraksi air

$= \frac{(b-c)}{(b-a)} \ X \ 100\%$

$= \frac{43,20-43,16}{43,20-42,80} \ X \ 100\%$

$= \frac{0,04}{0,40} \ X \ 100\%$

= 10%

4. Kadar sisa etanol

a. Fraksi n-heksan

Kadar etanol dan bobot jenis $= \frac{W2-W0}{W1-W0}$

$= \frac{41,80\ g-16,20\ g}{41,20\ g-16,20\ g}$

$= \frac{25,60\ g}{25\ g}$

= 1,024

= 1,024 ≈ 0%

b. Fraksi etil asetat

Kadar etanol dan bobot jenis = $\frac{W2-W0}{W1-W0}$

$= \frac{48,30\ g-22,60\ g}{47,60\ g-22,60\ g}$

$= \frac{25,70\ g}{25,00\ g}$

$= 1,028 \approx 0\%$

c. Fraksi air

Kadar etanol dan bobot jenis = $\frac{W2-W0}{W1-W0}$

$= \frac{43,22\ g-18,25\ g}{43,25\ g-18,25\ g}$

$= \frac{24,97\ g}{25,00\ g}$

$= 0,9988$

$= 0,9988 \approx 1\ \%$

5. Kadar sari larut etanol

a. N-heksan

Diketahui :

W0 = 42,88

W1 =55,34

W2 = 55,14

Sari larut etanol = $\frac{W1-W2}{W1-W0} X \frac{100}{20} X\ 100\%$

$= \frac{55,34-55,14}{55,34-42,80} X \frac{100}{20} X\ 100\%$

$= \frac{0,2}{12,54} X\ 5\ X\ 100\%$

$= 0,016\ X\ 5\ X\ 100\%$

$= 0,08\ X\ 100\%$

= 8%

b. Etil asetat

Diketahui :

W0 = 44,69

W1 =59,11

W2 = 58,68

Sari larut etanol = $\frac{W1-W2}{W1-W0} X \frac{100}{20} X\ 100\%$

= $\frac{59,11-58,68}{59,11-44,69} X \frac{100}{20} X\ 100\%$

= $\frac{0,43}{14,42} X\ 5\ X\ 100\%$

= $0,029\ X\ 5\ X\ 100\%$

= $0,145\ X\ 100\%$

= 14,5%

c. Air

Diketahui :

W0 = 44,70

W1 = 54,82

W2 = 54,55

Sari larut etanol = $\frac{W1-W2}{W1-W0} X \frac{100}{20} X\ 100\%$

= $\frac{54,82-54,55}{56,67-44,70} X \frac{100}{20} X\ 100\%$

= $\frac{0,27}{10,12} X\ 5\ X\ 100\%$

= $0,026\ X\ 5\ X\ 100\%$

= $0,13\ X\ 100\%$

= 13%

3. Perhitungan kadar flavonoid total

   a. Konsentrasi ppm = $\frac{10\ mg}{100\ ml}\ x\ 10 = \frac{100\ mg}{1000\ ml}$ = 100 ppm

   b. Pembuatan kurva baku

      Pengenceran konsentrasi

      V_1 x N_1 = V_2 x N_2

      Keterangan :

      V1 = Volume Sebelum Pengenceran

      N1 = Konsentrasi Sebelum Pengenceran

      V2 = Volume Setelah Pengenceran

      N2 = Konsntrasi Setelah Pengenceran

      Perhitungan :

   1. 10 ppm

      V_1 x N_1 = V_2 x N_2

      V_1 x 100 ppm = 10 ml x 10 ppm

      $V_1 = \frac{100}{100}$ = 1 mL

   2. 20 ppm

      V_1 x N_1 = V_2 x N_2

      V_1 x 100 ppm = 10 ml x 20 ppm

      $V_1 = \frac{300}{100}$ = 2 mL

   3. 30 ppm

      V_1 x N_1 = V_2 x N_2

      V_1 x 100 ppm = 10 ml x 30 ppm

$V_1 = \frac{300}{100} = 3$ mL

4. 40 ppm

   $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$

   $V_1 \times 100$ ppm = 10 ml x 40 ppm

   $V_1 = \frac{400}{100} = 4$ mL

5. 50 ppm

   $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$

   $V_1 \times 100$ ppm = 10 ml x 50 ppm

   $V_1 = \frac{500}{100} = 5$ mL

6. 60 ppm

   $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$

   $V_1 \times 100$ ppm = 10 ml x 60 ppm

   $V_1 = \frac{600}{100} = 6$ mL

7. 70 ppm

   $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$

   $V_1 \times 100$ ppm = 10 ml x 70 ppm

   $V_1 = \frac{700}{100} = 7$ mL

c. Kadar Flavonoid Total

   1. Ekstrak etanol

      $y = ax + b$

      $y = 0{,}0164x + 0{,}0387$

      $2{,}8121 = 0{,}0164x + 0{,}0387$

0,0614x = 2,8121 + 0,0387

0,0164x = 2,8508

x = 2,8508 : 0,0614

x = 173,82 mg/L

$KFT = \frac{C \times V}{m}$ X 100%

$= \frac{173,82 \times 0,003}{0,03}$ X 100%

$= \frac{0,52146}{0,03}$ X 100%

$= 17,382$ mg QE/g X 100%

$= 0,01738$ g/g X 100%

= 1,74%

2. Fraksi n-heksan

y = ax + b

y = 0,0164x + 0,0387

1,8538 = 0,0164x + 0,0387

0,0614x = 1,8538 + 0,0387

0,0164x = 1,8925

x = 1,89245 : 0,0614

x = 115,39 mg/L

$KFT = \frac{C \times V}{m}$ X 100%

$= \frac{115,93 \times 0,003}{0,03}$ X 100%

$= \frac{0,3461}{0,03}$ X 100%

$= 11,53$ mg QE/g X 100%

$= 0{,}0115$ g/g X 100%

= 1,15%

3. Fraksi etil asetat

y = ax + b

y = 0,0164x + 0,0387

2,7271 = 0,0164x + 0,0387

0,0614x = 2,7271 + 0,0387

0,0164x = 2,7658

x = 2,7658 : 0,0614

x = 168,64 mg/L

$\text{KFT} = \frac{\text{C x V}}{\text{m}}$ X 100%

$= \frac{168{,}64 \text{ x } 0{,}003}{0{,}03}$ X 100%

$= \frac{0{,}5059}{0{,}03}$ X 100%

$= 16{,}863$ mg QE/g X 100%

$= 0{,}01686$ g/g X 100%

= 1,68%

4. Fraksi air

y = ax + b

y = 0,0164x + 0,0387

1,4145 = 0,0164x + 0,0387

0,0614x = 1,4145 + 0,0387

0,0164x = 1,4532

x = 1,4532 : 0,0614

x = 88,60 mg/L

$KFT = \frac{C \times V}{m}$ X 100%

$= \frac{88,60 \times 0,003}{0,03}$ X 100%

$= \frac{0,2658}{0,03}$ X 100%

$= 8,86$ mg QE/g X 100%

$= 0,00886$ g/g X 100%

= 0,89%

4. Perhitungan kadar alkaloid total

   a. Konsentrasi ppm = $\frac{10\ mg}{100\ ml}\ x\ 10 = \frac{100\ mg}{1000\ ml}$ = 100 ppm

   b. Pembuatan kurva baku

      Pengenceran konsentrasi

      $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$

      Keterangan :

      V1 = Volume Sebelum Pengenceran

      N1 = Konsentrasi Sebelum Pengenceran

      V2 = Volume Setelah Pengenceran

      N2 = Konsntrasi Setelah Pengenceran

      Perhitungan :

   1. 10 ppm

      $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$

      V_1 x 100 ppm = 10 ml x 10 ppm

$V_1 = \frac{100}{100} = 1$ mL

2. 15 ppm

   $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$

   $V_1 \times 100$ ppm = 10 ml x 15 ppm

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

3. 20 ppm

   $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$

   $V_1 \times 100$ ppm = 10 ml x 20 ppm

   $V_1 = \frac{200}{100} = 2$ mL

4. 25 ppm

   $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$

   $V_1 \times 100$ ppm = 10 ml x 25 ppm

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

5. 30 ppm

   $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$

   $V_1 \times 100$ ppm = 10 ml x 30 ppm

   $V_1 = \frac{300}{100} = 3$ mL

c. Kadar Alkaloid Total

   1. Ekstrak etanol

      $y = ax + b$

      $y = 0{,}0737x + 0{,}423$

      $6{,}1019 = 0{,}0737x + 0{,}423$

0,0737x = 6,1019 + 0,423

0,0737x = 6,5249

x = 6,5329 : 0,0737

x = 88,53 mg/L

$KFT = \frac{C \times V}{m}$ X 100%

$= \frac{88,53 \times 0,003}{0,03}$ X 100%

$= \frac{0,2656}{0,03}$ X 100%

$= 8,85$ mg QE/g X 100%

$= 0,00885$ g/g X 100%

= 0,86%

2. Fraksi n-heksan

y = ax + b

y = 0,0737x + 0,423

0,6808 = 0,0737x + 0,423

0,0737x = 0,6808 + 0,423

0,0737x = 1,1038

x = 1,1038 : 0,0737

x = 14,97 mg/L

$KFT = \frac{C \times V}{m}$ X 100%

$= \frac{14,97 \times 0,003}{0,03}$ X 100%

$= \frac{0,04491}{0,03}$ X 100%

$= 1,49$ mg QE/g X 100%

$= 0{,}0015$ g/g X 100%

= 0,15%

3. Fraksi etil asetat

y = ax + b

y = 0,0737x + 0,423

6,0004 = 0,0737x + 0,423

0,0737x = 6,0004 + 0,423

0,0737x = 6,4234

x = 6,4234 : 0,0737

x = 87,15 mg/L

$\text{KFT} = \frac{\text{C x V}}{\text{m}}$ X 100%

$= \frac{87{,}15 \text{ x } 0{,}003}{0{,}03}$ X 100%

$= \frac{0{,}26145}{0{,}03}$ X 100%

$= 8{,}71$ mg QE/g X 100%

$= 0{,}00871$ g/g X 100%

= 0,87%

4. Fraksi air

y = ax + b

y = 0,0737x + 0,423

6,128 = 0,0737x + 0,423

0,0737x = 6,128+ 0,423

0,0737x = 6,551

x = 6,551 : 0,0737

x = 88,88 mg/L

$$KFT = \frac{C \times V}{m} \text{ X } 100\%$$

$$= \frac{88{,}88 \times 0{,}003}{0{,}03} \text{ X } 100\%$$

$$= \frac{0{,}2666}{0{,}03} \text{ X } 100\%$$

$$= 8{,}88 \text{ mg QE/g X } 100\%$$

$$= 0{,}0088 \text{ g/g X } 100\%$$

= 0,88%