

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL, FENOL
TOTAL DAN KAROTENOID TOTAL DARI TIGA
TANAMAN ARTEMISIA**

LAPORAN TUGAS AKHIR

THEODORIK ERIK NARA

13151040



**SEKOLAH TINGGI FARMASI BANDUNG
PROGRAM PENDIDIKAN STRATA I FARMASI
BANDUNG
2017**

LEMBAR PENGESAHAN

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL, FENOL
TOTAL DAN KAROTENOID TOTAL DARI TIGA
TANAMAN ARTEMISIA**

LAPORAN TUGAS AKHIR

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan
Program Strata Satu

**THEODORIK ERIK NARA
13151040**

Bandung, Agustus 2017

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Pembimbing Serta

Wempi Budiana, M.Si., Apt.

Asep Roni, M.Si., Apt

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang tidak dipublikasikan terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Sekolah Tinggi Farmasi Bandung dan terbuka untuk umum.

Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menertibkan sebagian atau seluruh skripsi haruslah seizin Ketua Program Studi di lingkungan Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.

ABSTRAK
**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL, FENOL
TOTAL DAN KAROTENOID TOTAL DARI TIGA
TANAMAN ARTEMISIA**

Oleh :
Theodorik Erik Nara
13151040

Latar Belakang: Tumbuhan adalah salah satu penghasil bahan berkhasiat obat salah satunya sebagai antioksidan. Senyawa pada tumbuhan yang bisa berfungsi sebagai antioksidan adalah flavonoid, fenol, dan karotenoid. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan kadar flavonoid, fenol dan karotenoid total pada ekstrak daun *Artemisia vulgaris* L., *Artemisia annua* L. dan *Artemisia dracuncululus* L. **Metode:** Ekstraksi terhadap masing-masing bahan dilakukan secara bertingkat menggunakan alat refluks, pemantauan kandungan senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), penetapan kadar flavonoid total menggunakan metode Ordon, penetapan kadar fenol total menggunakan reagen Folin-Ciocalteu dan penetapan kadar karotenoid total menggunakan pelarut *n*-heksana. **Hasil:** *Artemisia annua* L. memiliki kadar flavonoid total tertinggi pada ekstrak *n*-heksana sebesar 7,18 mg QE/100 mg ekstrak, kadar fenol total terbanyak pada ekstrak etanol sebesar 23,88 mg GAE/100 mg ekstrak dan kadar karotenoid total terbanyak pada ekstrak etil asetat sebesar 2,76 mg BE/100 mg ekstrak. *Artemisia vulgaris* L. memiliki kadar flavonoid, fenol dan karotenoid 12,83 mg QE/100 mg ekstrak, 68,72 mg GAE/100 mg ekstrak dan 10,01 mg BE/100 mg ekstrak. *Artemisia dracuncululus* L. memiliki kadar flavonoid dan fenol total tertinggi pada ekstrak etanol sebesar 9,59 mg QE/100 mg ekstrak dan 21,11mg GAE/100 mg ekstrak, sedangkan kadar karotenoid total tertinggi pada ekstrak *n*-heksana sebesar 4,34 mg BE/100 mg. **Kesimpulan:** *Artemisia vulgaris* L. memiliki kadar flavonoid total, fenol total dan karotenoid total terbanyak dibandingkan tanaman *Artemisia* lainnya.

Kata Kunci: *Artemisia sp.*, flavonoid total, fenol total, karotenoid total

ABSTRACT
**DETERMINATION OF TOTAL FLAVONOID , TOTAL
PHENOLIC AND TOTAL CAROTENOID CONTENT OF
THREE ARTEMISIAN PLANTS**

Oleh :
Theodorik Erik Nara
NPM: 13151040

Background: Plant is the natural product medicine such as antioxidant. Natural compounds as antioxidants are flavonoids, phenols, and carotenoids. **Objective:** This research was conducted to determine the levels of total flavonoids, phenols and carotenoids content in *Artemisia vulgaris* L., *Artemisia annua* L. and *Artemisia dracunculus* L. extract. **Methods:** Each sample was extracted gradual reflux method, monitoring of extracts compounds with Thin Layer Chromatography (TLC), tdetermination of total flavonoids content with Ordon method, total phenol content with Folin-Ciocalteu reagent and total carotenoids using *n*-hexane. **Results:** *Artemisia annua* L. showed the highest total flavonoid content in *n*-hexane extract at 7.18 mg QE / 100 mg extract, the highest total phenol content in the ethanol extract at 23.88 mg GAE / 100 mg extract, and the highest total carotenoids on ethyl acetate extract at 2.76 mg BE / 100 mg extract. *Artemisia vulgaris* L. showed the highest flavonoid, phenolic and carotenoid content on the ethyl acetate extract at 12.83 mg QE / 100 mg extract, 68.72 mg GAE / 100 mg extract and 10.01 mg BE / 100 mg extract. *Artemisia dracunculus* L. showed the highest total flavonoid and phenolic content on ethanol extract at 9.59 mg QE / 100 mg extract and 21.11 mg GAE / 100 mg extract, and total carotenoid content in *n*-hexane extract at 4.34 mg BE / 100 mg. **Conclusion:** *Artemisia vulgaris* L. showed the highest flavonoids, phenolic and carotenoids content than others.

Keywords: *Artemisia sp*, total flavonoid, total phenolic, total carotenoid

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, karena atas rahmat-Nya lah penulis dapat menyelesaikan penyusunan Proposal yang berjudul “Penetapan Kadar Flavonoid Total, Fenol Total dan Karotenoid Total dari Tiga Tanaman Artemisia” selesai tepat pada waktu yang telah ditentukan.

Adapun penyusunan Tugas Akhir ini dibuat dalam rangka memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan Sarjana Farmasi (S1) pada Program Studi Strata Satu Farmasi di Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.

Akhirnya dengan segala kerendahan hati, perkenankanlah penulis mengucapkan terima kasih yang tidak terhingga atas segala bantuan dan bimbingan, kepada yang terhormat:

1. Bapak Entris Sutrisno, S.Farm., MH.Kes., Apt selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Bandung yang telah mengizinkan penulis menimba ilmu di kampus ini.
2. Bapak Wempi Budiana, M.Si, Apt selaku dosen pembimbing I dan Bapak Asep Roni, M.Si., Apt selaku dosen pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktunya untuk membimbing dan mengarahkan penulis dari persiapan hingga selesainya Tugas Akhir ini.
3. Kedua orang tua dan adik saya tercinta, yang tak henti-hentinya selalu memberi dukungan moril maupun materil, dan segala doanya selama ini.
4. Seluruh dosen dan staf yang telah memberikan ilmu dan bimbingan selama perkuliahan di Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.

5. Rekan-rekan seperjuangan ekstensi reguler angkatan 2015 yang telah memberikan semangat tersendiri untuk menyelesaikan Tugas Akhir serta kebersamaannya selama ini, semoga menjadi kenangan yang tidak terlupakan.
6. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu per satu yang telah memberikan bantuan atas tersusunnya Tugas Akhir ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa tugas akhir ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun penulis terima demi perbaikan dan penyempurnaan di masa mendatang.

Akhir kata semoga karya yang sederhana ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan dapat memberikan informasi bagi pembaca.

Bandung, Agustus 2017

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN SAMPUL SKRIPSI	
LEMBAR PENGESAHAN	
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	
ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
Bab I Pendahuluan.....	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Perumusan Masalah	2
I.3 Tujuan Penelitian	3
I.4 Manfaat Penelitian	3
I.5 Waktu Penelitian	3
Bab II Tinjauan Pustaka	4
II.1 Klasifikasi Tanaman Artemisia.....	4
II.2 Refluks.....	11
II.3 Senyawa fenol.....	12
II.4 Senyawa Flavonoid.....	15
II.5 Senyawa karotenoid.....	17
II.6 Spektrofotometri UV-Visibel.....	19
Bab III Metode Penelitian	21
Bab IV Alat dan Bahan.....	22

Bab V Prosedur Penelitian.....	23
V.1 Determinasi tumbuhan.....	23
V.2 Pembuatan simplisia.....	23
V.3 Pemeriksaan karakteristik.....	24
V.4 Skrining Fitokimia.....	28
V.5 Ekstraksi Daun tanaman Artemisia	30
V.6 Pemantauan senyawa menggunakan KLT	30
V.7 Penetapan kadar flavonoid, fenol dan karotenoid total	31
Bab VI Hasil dan Pembahasan	33
VI.1 Penyiapan Bahan	33
VI.2 Pengumpulan bahan	33
VI.3 Determinasi tanaman.....	33
VI.4 Pembuatan simplisia.....	33
VI.5 Karakterisasi simplisia	34
VI.6 Skrining fitokimia simplisia	37
VI.7 Ekstraksi.....	39
VI.8 Skrining ekstrak	40
VI.9 Pemantauan senyawa menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT).....	43
VI.10 Penetapan kadar flavonoid total	47
VI.11 Penetapan kadar fenol total	50
VI.12 Penetapan kadar flavonoid total	54
Bab VI Kesimpulan dan Saran	58
DAFTAR PUSTAKA.....	59
LAMPIRAN	62

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel VI.1 Hasil karateriksasi simplisia.....	35
Tabel VI.2 Skrining Fitokimia simplisia dari ketiga tanaman <i>Artemisia</i>	37
Tabel VI.3 Hasil ekstrak kental dan rendeman berdasarkan pelarut dari ketiga simplisia.....	40
Tabel VI.4 Hasil skrining fitokimia dari simplisia <i>Artemisia annua</i> L.	41
Tabel VI.5 Hasil skrining fitokimia dari simplisia <i>Artemisia vulgaris</i> L.....	41
Tabel VI.6 Hasil skrining fitokimia dari simplisia <i>Artemisia dracunculus</i> L.....	41
Tabel VI.7 Hasil Penetapan kadar flavonoid total	49
Tabel VI.8 Hasil Penetapan kadar fenol total	53
Tabel VI.9 Hasil Penetapan kadar flavonoid total	56

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar II.1 Tanaman <i>Artemisia vulgaris</i> L.....	4
Gambar II.2 Tanaman <i>Artemisia annua</i> L.....	8
Gambar II.3 Tanaman <i>Artemisia dracunculus</i> L.....	10
Gambar VI.1 Pemantauan senyawa pada pengembang nonpolar <i>n</i> -heksana-etil asetat (7-3)	44
Gambar VI.2 Pemantauan senyawa pada pengembang semi- polar kloroform-metanol (8-2).....	44
Gambar VI.3 Pemantauan senyawa pada pengembang polar Asamformat-air-etil asetat (0,5-0,5-9).....	45
Gambar VI.4 Kurva kalibrasi kuersetin.....	48
Gambar VI.5 Kurva kalibrasi asam galat	51
Gambar VI.6 Kurva kalibrasi β -karoten.....	54

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran I Alur kerja penelitian	62
Lampiran II Perhitungan kadar fenol total.....	63
Lampiran III Perhitungan kadar flavonoid total	66
Lampiran IV Perhitungan kadar karotenoid total	69
Lampiran V Hasil determinasi tanaman	72

Bab I Pendahuluan

I.1 Latar Belakang

Meskipun pada waktu sekarang banyak obat-obatan yang dibuat secara sintetik, tetapi tidak boleh diabaikan arti tumbuhan sebagai penghasil bahan yang berkhasiat obat, seperti dari banyaknya antibiotika yang diperkenalkan dalam dunia pengobatan. Kalau meninjau dari banyaknya tumbuhan yang bahannya dipakai dalam obat tradisional oleh mereka yang tidak mengenal ilmu modern, maka tinggal dilakukan suatu penyelidikan ilmiah saja untuk memperoleh kepastian bahwa penduduk yang menggunakan macam-macam bahan tumbuhan itu beralasan, meskipun pemakaian dari bahan-bahan tersebut tidak memakai dasar-dasar ilmiah yang dapat dipertanggungjawabkan (Tjitroesoepomo, 2005).

Salah satu tanaman yang dapat diteliti dengan penelitian ilmiah adalah tanaman *Artemisia*. Tanaman ini sudah dipakai dalam penyembuhan China dan dapat membunuh 98% beberapa sel kanker payudara hanya dalam kurun waktu kurang dari 16 jam dan sel kanker akan mengalami apoptosis (hancur dengan sendirinya) (Singh dan Lai, 2004).

Yang dapat berfungsi untuk mencegah reaktivitas radikal bebas sebagai pemicu kanker adalah antioksidan. Tumbuhan obat sebagai salah satu sumber antioksidan alami sangat potensial memicu peningkatan antioksidan endogen sehingga dapat mengurangi resiko

penyakit tertentu, yaitu : kanker, penyakit hati, penyakit neurodegeneratif, stroke, inflamasi dan aterosklerosis.

Berdasarkan literatur tanaman *Artemisia annua* L. memiliki kandungan senyawa seskuiterpen lakton, flavonoid dan minyak atsiri. Pada tanaman *Artemisia vulgaris* L. memiliki kandungan saponin, flavonoid, polifenol dan minyak atsiri, sedangkan pada tanaman *Artemisia dracunculus* L. mengandung minyak atsiri, kumarin dan flavonoid (Herry, M dan Emmyzer, 1992).

Senyawa fenolik merupakan senyawa bahan alam yang cukup luas penggunaannya saat ini. Kemampuannya sebagai senyawa biologik aktif memberikan suatu peran besar terhadap kepentingan manusia. Salah satunya sebagai antioksidan untuk pencegahan dan pengobatan penyakit degeneratif, kanker, penuaan dini dan sistem imun tubuh (Apsari dan Susanti, 2011). Sejumlah tanaman obat yang mengandung flavonoid telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi dan antikanker (Miller, 1996). β -karoten karena sifatnya sebagai antioksidan, maka sering dipercaya dapat mengurangi resiko kanker (Hock-eng *et al*, 2011).

Karena hal di atas inilah, maka peneliti ingin melakukan uji penetapan kadar total flavonoid, fenol dan karotenoid pada tiga genus tanaman *Artemisia* (ekstrak herba *Artemisia vulgaris* L., *Artemisia annua* L. dan *Artemisia dracunculus* L.) yang dibudidayakan di Indonesia (khususnya di Kota Bandung).

I.2 Perumusan Masalah

Berapakah kadar total flavonoid, fenol dan karotenoid pada ekstrak daun tiga tanaman Artemisia (*Artemisia vulgaris* L., *Artemisia annua* L., dan *Artemisia dracunculus* L.)

I.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui kadar total flavonoid, fenol dan karotenoid pada ekstrak daun tiga tanaman Artemisia (*Artemisia vulgaris* L., *Artemisia annua* L., dan *Artemisia dracunculus* L.)

I.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai senyawa biologik aktif pada tiga tanaman Artemisia (*Artemisia vulgaris* L., *Artemisia annua* L., dan *Artemisia dracunculus* L.)
2. Sebagai salah satu referensi/perbandingan dalam penelitian lebih lanjut.

I.5 Waktu Penelitian

Waktu penelitian berlangsung dari bulan April sampai Juni 2017 yang bertempat di laboratorium biofarmasi Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.

Bab II Tinjauan Pustaka

II.1 Klasifikasi Tanaman Artemisia

Tanaman Artemisia merupakan tanaman yang berasal dari daerah subtropis sehingga apabila ditanam di daerah tropis perlu ditanam di daerah dataran tinggi. Tanaman Artemisia tumbuh dengan baik pada ketinggian 1000 – 1500 mdpl sehingga budidaya Artemisia masih terbatas di dataran tinggi (Herry dan Emmyzer, 1992).

II.1.1 Klasifikasi tanaman *Artemisia vulgaris* L.



Gambar II.1 Tanaman *Artemisia vulgaris* L. (Dalimartha, 2006)

Tanaman *Artemisia vulgaris* L. secara taksonomi memiliki klasifikasi ilmiah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Class	: Dicotyledonae
Bangsa	: Aslerales
Family	: <i>Asteraceae</i>
Genus	: <i>Artemisia</i> L.
Jenis	: <i>Artemisia vulgaris</i> L. (Dalimartha, 2006).

a. Nama Daerah

Baru Cina, Sudamala (Sumatera); Beunghar kucicing, jukut lokot mala (Sunda); Suket gajahan (Jawa); Brobos kebo (Surabaya); Daun manis, Cam cao (Jakarta); Kolo (Maluku); Goro-goro (Ternate) (Dalimartha, 2006).

b. Nama asing

Hia, ai ye (China); Nga curu, nha ngai (Thailand); Mungwort, Felon herb, Moxa, Wormwood, St. Jhon's plant (Inggris) (Dalimartha, 2006).

c. Uraian tumbuhan

Tumbuhan asal China ini berambut halus dan berbau tajam, menyenangi tanah yang cukup lembab dan kaya humus. Dapat ditemukan tumbuh liar di hutan dan di ladang sampai \pm 3000 m dpl.

Artemisia argyi Levl, et Vant, adalah jenis tumbuhan baru cina yang ditanam di pekarangan sebagai tumbuhan obat (Dalimartha, 2006).

Semak, menahun, setengah berkayu, percabangan banyak, beralur dan berambut, tumbuh tegak, tinggi mencapai 1 meter. Daun tunggal berbentuk bulat telur dengan tepi berbagi menjari, ujung meruncing, kedua permukaan berambut halus, warna permukaan atas hijau, bawahnya hijau keputihan, duduk berseling, panjang 8-12 cm, lebar 6-8 cm. Bunga majemuk dalam bonggol, kecil-kecil, warnanya kuning muda, tersusun dalam rangkaian berbentuk malai yang tumbuh merunduk, keluar dari ketiak daun dan ujung tangkai. Buah kotak bentuk jarum, kecil, cokelat. Biji kecil, cokelat (Dalimartha, 2006).

Baru cina merupakan salah satu tumbuhan obat yang berkhasiat untuk pengobatan penyakit pada perempuan. Sering dimasak dengan daging berlemak sebagai sayuran. Seperti juga Adas, Baru cina merupakan satu dari sembilan tumbuhan obat sakral di Anglo saxon. Perbanyakkan dengan stek atau biji (Dalimartha, 2006).

d. Sifat

Daun rasanya pahit, pedas, hangat, berbau aromatik.

e. Kandungan Kimia

Daun baru cina mengandung minyak atsiri (felandren, kadinen, dan α -thujone), α -amirin, fernenol, dihidromatrikaria ester, cineole, 1- α terpineol, β -kariofilen, 1-quebrachitol, dan tanin. Akar dan batangnya

mengandung inulin (yang mengandung artemose). Sedangkan cabang kecil mengandung oksitosin, yomogi alkohol, dan ridentin (Dalimartha, 2006).

f. Efek Farmakologi

Berkhasiat menghangatkan meridian, menghilangkan rasa dingin, penghilang nyeri (analgesik), penghenti perdarahan (hemostatis), peluruh kencing (diuretik), peluruh kentut, peluruh keringat, meningkatkan nafsu makan (stomakik), astringen, tonik, stimulan, melancarkan peredaran darah dan menghilangkan pembekuan, mencegah keguguran dan menormalkan haid (Dalimartha, 2006).

II.1.2 Klasifikasi tanaman *Artemisia annua* L.



Gambar II.2 Tanaman *Artemisia annua* L. (WHO, 2006)

Artemisia annua L secara taksonomi memiliki klasifikasi ilmiah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Asterales
Family	: Asteraceae
Genus	: Artemisia L.
Spesies	: <i>Artemisia annua</i> L. (WHO, 2006).

a. Deskripsi

Tanaman *Artemisia annua* L. mempunyai sistem perakaran serabut dan berwarna putih kekuningan. Batang tanaman *Artemisia* berdiri tegak dan berwarna hijau kecoklatan. Bentuk batang ini yaitu bulat persegi. Tanaman *Artemisia* mempunyai daun yang berjenis daun majemuk. Bentuk daun tanaman *Artemisia* ini yaitu bulat oval dan lonjong. Daun *Artemisia* ini tidak memiliki tangkai, jadi daun

langsung duduk pada batang, serta susunannya berselang-seling. Tanaman *Artemisia* mempunyai bunga yang termasuk jenis bunga majemuk dan tersusun pada rangkaian berupa malai. Bunga *Artemisia* ini tumbuh merunduk dibagian ketiak daun dan ujung tangkai daun. Panjangnya bisa mencapai 30 cm. kelopak bunganya berwarna hijau dan berbentuk seperti bintang dengan 5 lekukan (WHO, 2006).

b. Kandungan Kimia

Kandungan kimia pada tanaman *Artemisia annua* L. adalah flavonoid, minyak atsiri dan seskuiterpen lakton. Flavonoid pada tanaman *Artemisia annua* L. adalah artemetin, krisoplenetin, eupatorin dan kastisin. Tanaman *Artemisia annua* L. mengandung minyak atsiri sebesar 3 % pada daun (WHO, 2006).

f. Efek Farmakologi

Artemisia annua L. dengan bahan aktif artemisinin, terbukti secara ampuh mengobati malaria, terutama yang mengalami resisten oleh kina. Ditambah lagi efek samping dari kina dan klorokuin yang terbilang berat, sehingga artemisia kini adalah obat yang direkomendasikan oleh WHO untuk mengatasi malaria. *Artemisia annua* L. merupakan satu-satunya jenis yang mengandung artemisinin dengan kadar di alam bervariasi antara 0,1 – 1,8%. Meskipun artemisia berasal dari daerah sub tropis, tetapi dapat dikembangkan di daerah tropis, melalui seleksi adaptasi dan hibridisasi dan beberapa negara telah membudidayakan artemisia (Gusmaini dan Nurhayati, 2008).

II.1.3 Klasifikasi tanaman *Artemisia dracunculus* L.



Gambar II.3 Tanaman *Artemisia dracunculus* L. (USDA)

Artemisia dracunculus L. secara taksonomi memiliki klasifikasi ilmiah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Asteridae
Order	: Asterales
Family	: Asteraceae
Genus	: <i>Artemisia</i> L.
Species	: <i>Artemisia dracunculus</i> L. (USDA)

a. Deskripsi

Tanaman *Artemisia dracunculus* L. adalah tanaman semak yang biasanya tumbuh dengan tinggi 45-60 cm dan memiliki percabangan. Daunnya memiliki panjang 2-8 cm dan luasnya 2–10 mm. Berwarna hijau mengkilap. Bunganya kecil dengan diameter 2-4 mm.

b. Kandungan kimia

Tanaman *Artemisia dracunculus* L. mengandung minyak atsiri, kumarin, flavonoid (USDA).

II.2 Refluks

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Tujuan ekstraksi bahan alam yaitu untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antarmuka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Depkes RI, 2000).

Salah satu cara ekstraksi yang sering digunakan adalah metode refluks. Metode refluks merupakan metode ekstraksi cara panas (membutuhkan pemanasan pada prosesnya), secara umum pengertian refluks sendiri adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI, 2000).

Proses yang terjadi secara umum adalah pelarut akan mengekstraksi dengan panas, terus akan menguap sebagai senyawa murni dan kemudian terdinginkan dalam kondensor, turun lagi ke wadah, pengekstraksi lagi. Demikian seterusnya berlangsung secara berkesinambungan sampai penyaringan sempurna. Penggantian pelarut dilakukan sebanyak 3 kali setiap 3-4 jam. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan (Depkes RI, 2000).

Keuntungan dan kerugian metode refluks :

- a. Keuntungan dari metode refluks adalah: digunakan untuk mengekstraksi sampel-sampel yang mempunyai tekstur kasar, dan tahan pemanasan langsung.
- b. Kerugian dari metode refluks adalah: membutuhkan volume total pelarut yang besar (Depkes RI, 2000).

II.3 Senyawa Fenol

Senyawa fenol meliputi aneka ragam senyawa yang berasal dari tumbuhan yang memiliki ciri yang sama, yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau lebih gugus hidroksil. Senyawa fenolat cenderung mudah larut dalam air karena umumnya berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya dalam vakuola sel. Flavonoid merupakan golongan terbesar, tetapi fenol monosiklik sederhana, fenil propanoid dan kuinon fenolik juga terdapat dalam jumlah besar. Beberapa golongan penting dalam tumbuhan, seperti lignin, melanin dan tanin adalah senyawa polifenol dan kadang-kadang satuan fenolik dijumpai dalam protein, alkaloid dan di antaranya terpenoid (Harborne, 1987).

Jika murni, fenol sederhana berupa zat padat berwarna, tetapi biasanya teroksidasi dan berwarna gelap jika terkena udara. Kelarutan dalam air bertambah jika gugus hidroksil makin banyak, tetapi kelarutan dalam pelarut organik yang polar umumnya tinggi. Fenol yang kelarutan dalam airnya kecil, mudah larut dalam natrium hidroksida encer dalam air. Akan tetapi dalam suasana basa, laju oksidasinya sangat meningkat, sehingga pada setiap perlakuan harus dihindari penggunaan basa kuat (Robindson, 1995).

II.3.1 Aktivitas senyawa fenol

Di dalam tubuh, flavonoid dan senyawa fenol lainnya memiliki berbagai manfaat biologis, termasuk antioksidan, antiinflamasi, menghambat pertumbuhan mikroba dan mencegah timbulnya tumor (Prior, 2003).

II.3.2 Penetapan Kadar Fenol total

Cara klasik untuk mendeteksi senyawa fenol adalah dengan menambahkan larutan besi (III) klorida 1% dalam air atau etanol kepada larutan cuplikan yang menimbulkan warna hijau, ungu, merah, biru, atau hitam yang kuat. Cara ini yang dimodifikasi dengan menggunakan campuran segar larutan besi (III) klorida 1% dalam air dan kalium heksasianoferat (III) 1% masih tetap digunakan sebagai cara umum untuk mendeteksi senyawa fenol pada kromatogram kertas. Tetapi kebanyakan senyawa fenol (terutama flavonoid) dapat dideteksi pada kromatogram berdasarkan warnanya atau fluoresensinya di bawah sinar UV, warnanya diperkuat atau berubah bila diuapi amonia. Pigmen fenolik berwarna dan warnanya ini dapat terlihat, jadi mudah dipantau selama proses isolasi dan pemurnian. Semua senyawa fenol berupa senyawa aromatik sehingga semuanya menunjukkan serapan yang kuat di daerah spektrum UV. Selain itu secara khas senyawa fenol menunjukkan batokrom pada spektrum bila ditambahkan basa. Oleh karena itu, cara spektrofotometri sangat penting terutama untuk identifikasi dan analisis kuantitatif senyawa fenol (Harborne, 1987).

Pada penelitian ini, analisis fenol dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Uji kualitatif pada ekstrak dilakukan dengan pemantauan pada kromatografi lapis tipis dengan pengembang yang sesuai dan menggunakan penampak bercak besi (III) klorida 10% dalam metanol. Sedangkan uji kuantitatif dilakukan dengan cara penetapan kadar fenol pada ekstrak yang dianalisis dengan menggunakan reagen *Folin-Ciocalteu*. Prinsip metode *Folin-Ciocalteu* adalah reaksi oksidasi dan reaksi kolorimetrik untuk mengukur semua senyawa fenolik dalam sampel uji. Pereaksi *Folin-Ciocalteu* merupakan larutan kompleks ion polimerik yang dibentuk dari asam fosfomolibdat dan asam heteropolifosfotungstat. Pereaksi ini dibuat dari air, natrium tungstat, natrium molibdat, asam fosfat, asam klorida, litium sulfat, dan bromin (Folin, 1944). Pereaksi ini mengoksidasi fenolat (garam alkali), mereduksi asam heteropoli menjadi suatu kompleks molibdenum-tungsten (Mo-W). Selama reaksi berlangsung, gugus fenolik-hidroksil bereaksi dengan pereaksi membentuk kompleks fosfotungstat-fosfomolibdat berwarna biru dengan struktur yang belum diketahui dan dapat dideteksi dengan spektrofotometer. Warna biru yang terbentuk akan semakin pekat setara dengan konsentrasi ion fenolat yang terbentuk, artinya semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolat yang akan mereduksi asam heteropoli sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat (Singleton dan Rossi, 1965).

II.4 Senyawa Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa organik bahan alam dan merupakan senyawa polifenol (senyawa fenolik yang memiliki lebih dari satu gugus hidroksi). Flavonoid memiliki kerangka dasar karbon terdiri

dari 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi $C_6C_3C_6$ yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga atom karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Agar mudah, cincin diberi tanda A, B dan C serta atom karbon dinomori menurut sistem penomoran yang menggunakan angka biasa untuk cincin A dan C, serta angka “beraksen” untuk cincin B (Markham, 1988).

Flavonoid merupakan kandungan khas tumbuhan hijau, kecuali alga dan *hornwort* (lumut tanduk). Flavonoid sebenarnya terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar, bunga, buah, dan biji. Hanya sedikit saja catatan yang melaporkan adanya flavonoid pada hewan, misalnya dalam kalenjar bau berang-berang, sekresi lebah, dan di dalam sayap kupu-kupu. Itupun dengan anggapan bahwa flavonoid tersebut berasal dari tumbuhan yang menjadi makanan hewan tersebut dan tidak dibiosintesis dalam tubuh. Segi penting dari penyebaran flavonoid dalam tumbuhan adalah adanya kecenderungan kuat bahwa tumbuh-tumbuhan yang secara taksonomi berkaitan akan menghasilkan flavonoid yang jenisnya serupa (Markham, 1988).

Flavonoid merupakan senyawa polar, maka umumnya flavonoid larut dalam pelarut polar, seperti : etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida dan air. Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air dan dengan demikian campuran pelarut di atas dengan air merupakan pelarut yang baik untuk glikosida. Sebaliknya, aglikon yang kurang polar, seperti : isoflavon, flavanon, flavon dan

flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform. Flavonoid mempunyai sifat kimia senyawa fenol, karena itu warnanya berubah bila ditambah basa atau ammonia, jadi mudah terdeteksi pada kromatogram atau dalam larutan (Markham, 1988).

II.4.1 Aktivitas senyawa flavonoid

Sejumlah tanaman obat yang mengandung flavonoid telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi dan antikanker (Miller, 1996).

II.4.2 Penetapan kadar flavonoid total

Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air yang dapat diekstraksi dengan etanol 70% dan tetap ada dalam pelarut tersebut setelah difraksinasi dengan pelarut nonpolar. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang dapat berubah warna bila ditambah basa atau ammonia sehingga mudah dideteksi pada kromatogram atau dalam larutan. Flavonoid mengandung gugus aromatis terkonjugasi yang menunjukkan serapan yang kuat pada spektrofotometri (Harborne, 1996).

Pada penelitian ini, analisis flavonoid dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Uji kualitatif pada ekstrak dilakukan dengan pemantauan pada kromatografi lapis tipis dengan pengembang yang sesuai dan menggunakan penampak bercak $AlCl_3$ 5% dalam metanol. Sedangkan uji kuantitatif dilakukan dengan menggunakan metode Ordon, yaitu suatu metode menggunakan Aluminium klorida sebagai

pembentuk kompleks, yang akan membentuk warna dengan flavonoid. Intensitas warna diukur secara spektrofotometri, absorbansi yang terukur menunjukkan flavonoid. Kadar flavonoid dihitung dengan kuersetin sebagai pembanding (Prinsip kolorimetri menggunakan Aluminium klorida adalah bahwa aluminium klorida membentuk kompleks stabil asam dengan C-4, C-3, atau C-5. Selain itu, Aluminium klorida membentuk kompleks labil asam dengan kelompok ortodihidroksil dalam cincin A- atau cincin B-flavonoid (Ordon *et al*, 1977).

II.5 Senyawa Karotenoid

Karotenoid merupakan tetraterpenoid (C_{40}), merupakan golongan pigmen yang larut lemak dan tersebar luas, terdapat hampir di semua jenis tumbuhan, mulai dari bakteri sederhana sampai *compositae* yang berbunga kuning. Pada tumbuhan, karotenoid mempunyai dua fungsi, yaitu sebagai pigmen pembantu dalam fotosintesis dan sebagai pewarna pada bunga dan buah (buah palsu mawar, tomat dan cabe capsium). Saat ini terdapat lebih dari 300 karotenoid yang telah diketahui. Pada tumbuhan tinggi hanya sedikit, yang paling umum dengan kemungkinan terbesar adalah β -karoten (Harborne, 1996).

β -karoten memiliki aktivitas tertinggi dibandingkan α -karoten. Hal ini karena terdapat perpanjangan rantai konjugasi sehingga mempunyai struktur polar yang lebih panjang (Prawirokusumo, 1991). Semakin banyak ikatan ganda terkonjugasi, maka makin pekat warna pada karotenoid tersebut yang mengarah ke warna merah. β -karoten merupakan salah satu bentuk sederhana dari karotenoid yang

memiliki rumus molekul $C_{40}H_{56}$. β -karoten memiliki 11 ikatan rangkap, dimana merupakan pigmen warna orange yang dapat ditemukan dalam buah dan sayuran. β -karoten bisa berikatan pada klorofil dan xanthofil pada buah dan sayuran yang akan menyerap cahaya dalam spektrum cahaya orange dan merah dan akan menimbulkan warna hijau, ungu, atau biru (Hock-eng *et al*, 2011).

β -karoten sangat tidak stabil pada udara karena dapat teroksidasi dan juga tidak stabil terhadap cahaya dan panas sebab dapat mengalami isomerisasi menjadi bentuk *cis* β -karoten yang lebih tidak stabil (Hock-eng *et al*, 2011).

II.5.1 Aktivitas senyawa Karotenoid

β -karoten karena sifatnya sebagai antioksidan, maka sering dipercaya dapat mengurangi resiko kanker (Hock-eng *et al*, 2011).

II.5.2 Penetapan Karotenoid total

Kadar β -karoten dapat ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis karena β -karoten memiliki pigmen warna dan dapat mengabsorpsi cahaya elektromagnetik dari spektrofotometer UV-Vis (Hock-eng *et al*, 2011).

II.6 Spektrofotometer UV-visibel

Spektrofotometer serap adalah pengukuran interaksi antara radiasi elektromagnetik panjang gelombang tertentu yang sempit dan mendekati monokromatik, dengan molekul atau atom suatu zat kimia. Hal ini didasarkan pada kenyataan bahwa molekul selalu mengabsorpsi cahaya elektromagnetik jika frekuensi cahaya tersebut sama dengan frekuensi getaran dari molekul tersebut. Elektron yang terikat dan elektron tidak terikat akan tereksitasi pada suatu daerah frekuensi yang sesuai dengan cahaya ultraviolet dan sinar tampak (Day dan Underwood, 1986).

Spektrofotometer UV-Vis adalah pengukuran serapan cahaya di daerah ultraviolet (200-400 nm) dan sinar tampak (400-800 nm) oleh suatu senyawa. Absorpsi spektrofotometer UV-Vis adalah istilah yang digunakan ketika radiasi ultraviolet dan cahaya tampak diabsorpsi oleh molekul yang diukur. Alatnya disebut UV-Vis spektrofotometer. Spektrofotometer UV-Vis (Ultra Violet-Visible) adalah salah satu dari sekian banyak instrumen yang biasa digunakan dalam menganalisa suatu senyawa kimia (Day dan Underwood, 1986).

Spektrofotometer umum digunakan karena kemampuannya dalam menganalisa begitu banyak senyawa kimia serta kepraktisannya dalam hal preparasi sampel apabila dibandingkan dengan beberapa metode analisa.

Spektrofotometer UV-Vis pada umumnya digunakan untuk:

- a. Menentukan jenis kromofor, ikatan rangkap yang terkonyugasi dan ausokrom dari suatu senyawa organik.
 - b. Menjelaskan informasi dari struktur berdasarkan panjang gelombang maksimum suatu senyawa.
 - c. Mampu menganalisis senyawa organik secara kuantitatif.
- Identifikasi kualitatif senyawa organik dalam daerah ini jauh lebih terbatas daripada dalam daerah inframerah. Ini karena pita serapan terlalu lebar dan kurang terinci. Tetapi, gugus-gugus fungsional tertentu seperti karbonil, nitro dan sistem tergabung, benar-benar menunjukkan puncak yang karakteristik, dan sering dapat diperoleh informasi yang berguna mengenai ada tidaknya gugus semacam itu dalam molekul tersebut. (Day dan Underwood, 1986).

Bab III Metodologi Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental laboratorium untuk memperoleh data hasil. Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahap yaitu pengumpulan bahan, determinasi tanaman, pengolahan bahan, skrining fitokimia dan ekstraksi refluks, pemantauan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), dan penetapan kadar flavonoid total menggunakan metode Ordon, penetapan kadar fenol total menggunakan reagen *Folin-Ciocalteu*, dan penetapan kadar karotenoid total menggunakan pelarut *n*-heksana.