

**PENETAPAN BEBERAPA PARAMETER SPESIFIK DAN NON SPESIFIK  
EKSTRAK ETANOL DAUN ASAM JAWA  
(*Tamarindus indica* L.)**

**RAHMADIAH  
030405060Y**



**UNIVERSITAS INDONESIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
DEPARTEMEN FARMASI  
DEPOK  
2009**

SKRIPSI : PENETAPAN BEBERAPA PARAMETER SPESIFIK DAN  
NON SPESIFIK EKSTRAK ETANOL DAUN ASAM  
JAWA (*Tamarindus indica* L.)

NAMA : RAHMADIAH

NPM : 030405060Y

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, 7 JULI 2009

PROF. DR. ENDANG HANANI, MS  
PEMBIMBING I

DR. ABDUL MUN'IM, MS  
PEMBIMBING II

Tanggal lulus Ujian Sidang Sarjana : .....

Penguji I : Dr. Hasan Rachmat, M. ....

Penguji II : Prof. Dr. Atiek Soemiati, MS .....

Penguji III : Dr. Harmita .....

*...”Seandainya lautan menjadi tinta untuk (menulis) kalimat-kalimat Tuhanku, maka pasti habislah lautan itu sebelum selesai (penulisan) kalimat-kalimat Tuhanku, meskipun Kami datangkan tambahan sebanyak itu (pula).”*

(TQS Al Kahfi 109)



*Dipersembahkan kepada orang tuaku tersayang Aswandi & Lelis*

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji hanya bagi Allah SWT, atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini, untuk memenuhi persyaratan guna mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini sangat sulit untuk diselesaikan tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang tulus kepada:

1. Prof. Dr. Endang Hanani, MS, selaku pembimbing I sekaligus ketua PSOBA yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk melakukan penelitian ini, serta atas semua diskusi dan bimbingan selama penelitian berlangsung hingga skripsi ini tersusun.
2. Dr. Abdul Mun'im, MS, selaku pembimbing II yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan penulis sehingga skripsi ini dapat disempurnakan.
3. Dr. Hasan Rachmat M. ; Prof. Dr. Atiek Soemiati, MS ; dan Dr. Harmita selaku tim dosen penguji atas saran dan perbaikan pada skripsi ini.
4. Prof. Dr. Effionora Anwar, MSi, selaku pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan, dukungan, dan perhatian selama perkuliahan.

5. Dr. Yahdiana Harahap, MS selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memfasilitasi penelitian dan perkuliahan.
6. Bapak dan Ibu staf pengajar Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan bekal ilmu selama mengikuti pendidikan.
7. Seluruh keluarga tercinta, terutama Mama, Papa, Wina, dan Uni Rahmi yang telah memberikan dukungan materi maupun moril serta doa yang tulus.
8. Laboratorium Afiliasi Kimia, Departemen Kimia FMIPA UI terutama saudara Ray yang telah banyak membantu dalam pengerjaan uji sisa pelarut dan cemaran logam berat.
9. Rekan-rekan seperjuangan di Laboratorium Penelitian Fitokimia terutama Ratih Safitri yang telah berbagi ilmu dan pengalaman. Mufidah dan Yanita atas kesediaannya mengajari pemakaian alat spektrofotometer dan TLC scanner.
10. Mbak Dini, Reni, Ulfa dan Mas Agus, atas bantuannya dalam penyediaan bahan dan mempersiapkan alat-alat yang dibutuhkan selama masa penelitian.

Semoga Allah yang Maha Rahman-Rahim memberi balasan atas kebaikan yang telah diberikan kepada penulis. Amiin.

Penulis

2009

## ABSTRAK

Asam jawa (*Tamarindus indica* L.) merupakan salah satu tanaman obat yang daunnya memiliki khasiat sebagai kholagogik dan laksatif. Ekstrak daunnya digunakan untuk mengobati batuk, demam, reumatik, *icteric jaundice*, infeksi cacing, ulkus, dan insomnia. Daun yang masih muda dan bunganya digunakan untuk mengobati konstipasi, dispepsia, flatulensi, dan infeksi saluran urin. Daun asam jawa juga memiliki aktifitas antibakteri spektrum luas dan dapat digunakan pada terapi diabetes tipe-2. Dalam upaya mengembangkan obat tradisional, pada penelitian ini dilakukan penetapan beberapa parameter spesifik dan non spesifik ekstrak etanol daun asam jawa, sehingga diperoleh parameter yang konstan. Daun asam jawa dikumpulkan dari daerah Depok, Tawangmangu, dan Bekasi sebagai bahan penelitian. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan etanol 50%. Dari penelitian ini diperoleh ekstrak kental berwarna coklat-kehitaman, berbau khas dan rasanya asam. Rendemen ekstrak berkisar antara 25,27-39,12%, kadar senyawa terlarut dalam air berkisar antara 58,68-69,55%, dan kadar senyawa terlarut dalam etanol berkisar antara 51,20-52,92%. Susut pengeringan berkisar antara 16,00-25,80% dan kadar air berkisar antara 10,15-18,03%. Kadar abu total berkisar antara 4,40-4,84%, sedangkan kadar abu yang tidak larut asam berkisar antara 1,52-2,18%, dan sisa pelarut etanol tidak lebih dari 1%. Cemaran logam berat Pb dan Cd tidak lebih dari 0,01%, sedangkan cemaran logam berat Hg tidak lebih dari 0,001%. Identifikasi kimia menunjukkan bahwa ekstrak mengandung flavonoid, tanin, glikosida,

dan saponin. Pola kromatogram ekstrak etanol secara kromatografi lapis tipis dan kromatografi lapis tipis densitometer dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) memperlihatkan 4 bercak biru tua setelah disemprot dengan besi (III) klorida 10% dalam air. Kadar fenol total dalam ekstrak ditetapkan secara spektrofotometri menggunakan reagen Folin Ciocalteu pada panjang gelombang 642 nm berkisar antara 0,35-8,24% dihitung sebagai asam galat.

Kata kunci : asam galat, fenol, Folin Ciocalteu, pola kromatogram lapis tipis, standarisasi, *Tamarindus indica* L.

xi + 110 hlm.; gbr.; tab.; lamp.

Bibliografi : 36 (1959-2007)

## ABSTRACT

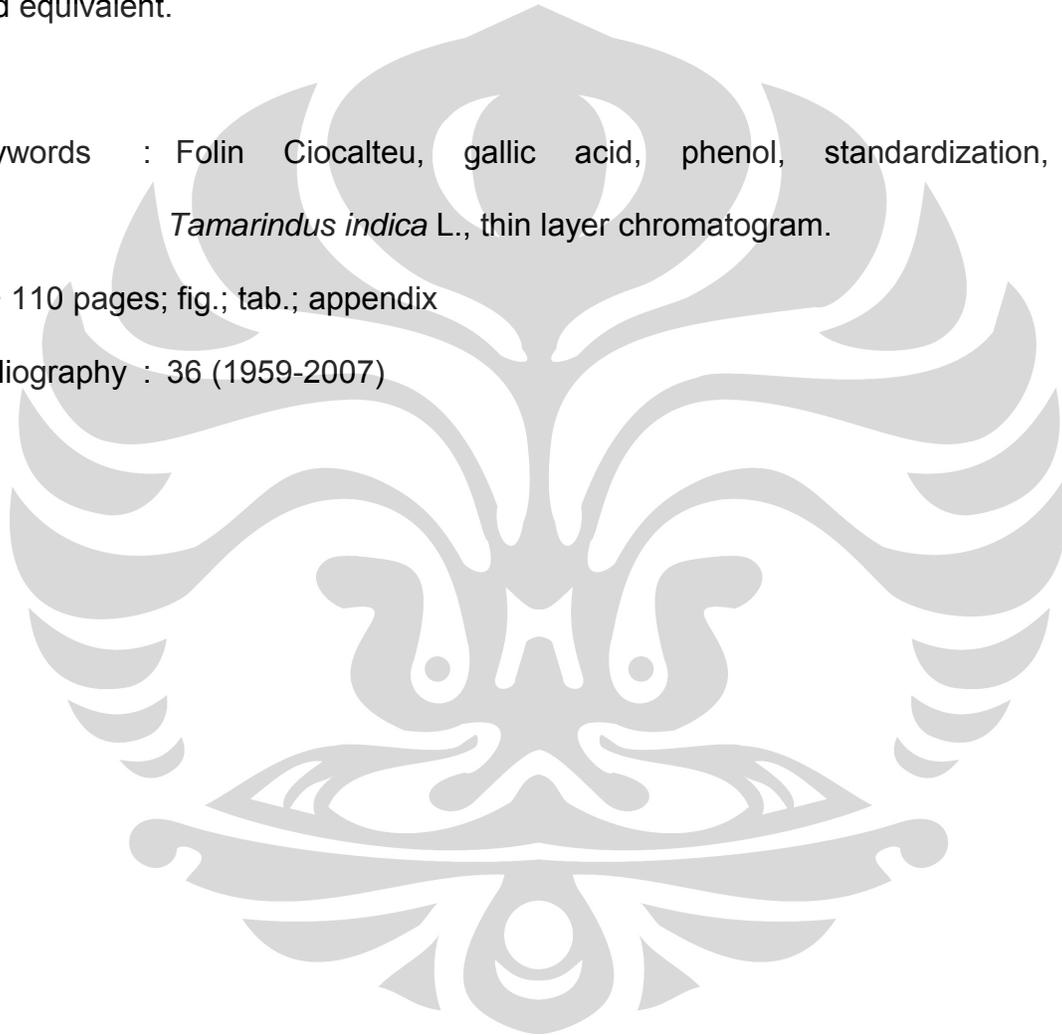
Tamarind (*Tamarindus indica* L.) is one of medicinal plants which the leaves were known having advantages as cholagogic agent and laxative. Leaves of tamarind are used to cure cough, pyretic, rheumatism, icteric jaundice, worm infection, ulcer, and insomnia. Leaves and flowers are used to cure constipation, dyspepsia, flatulence, and urinary tract infection. They also have broad spectrum antibacterial activity and able to be used in diabetes type-2 therapy. In order to develop traditional medicine and guarantee the quality and safety, determination of some specific and non specific parameters has been done to gain constant parameters. The sample materials were collected from Depok, Tawangmangu, and Bekasi. The samples were macerated by using ethanol 50%. The result of research was a thick brown to blackish extract, with specific smell and sour taste. The yield of extract was 25.27-39.12%, the water soluble extractive substances were 58.68-69.55%, while ethanol soluble extractive substances were 51.20-52.92%. Loss on drying was 16.00-25.80% and the water content was 10.15-18.03%. The total ash content was 4.40-4.84%, the acid-insoluble ash content was 1.52-2.18%, and the solvent residue was not more than 1%. Heavy metals contamination of Pb and Cd were less than 0.01% while heavy metal contamination of Hg was less than 0.001%. The chemistry identification showed that the extract contains flavonoid, tannin, glycosides, and saponin. The chromatograms profile used thin layer chromatography and densitometer

thin layer chromatography in chloroform-methanol-water (80:12:2) mobile phase, gave 4 dark blue spots after sprayed with iron (III) chloride 10% in water. Total phenol content was between 0.35-8.24% determined by spectrophotometry using Folin Ciocalteu reagent at 642 nm, counted as gallic acid equivalent.

Keywords : Folin Ciocalteu, gallic acid, phenol, standardization, *Tamarindus indica* L., thin layer chromatogram.

xi + 110 pages; fig.; tab.; appendix

Bibliography : 36 (1959-2007)



## DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	i
ABSTRAK.....	iii
ABSTRACT.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar belakang.....	1
B. Tujuan penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. <i>Tamarindus indica</i> L.....	5
B. Standardisasi.....	10
C. Ekstrak.....	15
D. Golongan senyawa metabolit sekunder.....	16
E. Kromatografi lapis tipis.....	17
F. Spektrofotometri.....	19
BAB III BAHAN, ALAT DAN CARA KERJA.....	21
A. Bahan.....	21
B. Alat.....	22
C. Cara kerja.....	23
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	39
A. Hasil.....	39
B. Pembahasan.....	44
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	67
A. Kesimpulan.....	67
B. Saran.....	68



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Rumus struktur asam galat.....	8
2. Reaksi identifikasi flavonoid dengan cara reduksi Zn-HCl.....	54
3. Reaksi identifikasi flavonoid dengan cara reduksi Mg-HCl.....	55
4. Reaksi identifikasi flavonoid dengan cara fluoresensi.....	56
5. Kopolimer tanin dengan protein.....	56
6. Reaksi pembentukan senyawa meisenheimer oleh pereaksi Kedde.....	58
7. Reaksi identifikasi glikosida antrakuinon.....	59
8. Tumbuhan asam jawa ( <i>Tamarindus indica</i> L.).....	75
9. Simplisia daun asam jawa.....	76
10. Kromatogram etanol 1%.....	77
11 Kromatografi lapis tipis dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) pada sinar tampak.....	78
12 Kromatografi lapis tipis dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) pada sinar UV 254 nm.....	79
13 Kromatografi lapis tipis dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) pada sinar UV 366 nm.....	80
14 Kromatografi lapis tipis dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) pada sinar tampak setelah disemprot penampak bercak FeCl <sub>3</sub> 10% dalam air.....	81
15 Perbandingan kurva densitas ekstrak etanol daun asam jawa dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) sebelum disemprot FeCl <sub>3</sub> 10% dalam air pada panjang gelombang 254 nm.....	82
16 Perbandingan kurva densitas ekstrak etanol daun asam jawa dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) sebelum disemprot FeCl <sub>3</sub> 10% dalam air pada panjang gelombang 366 nm.....	83
17 Spektrum serapan asam galat standar konsentrasi 17,2 ppm.....	84

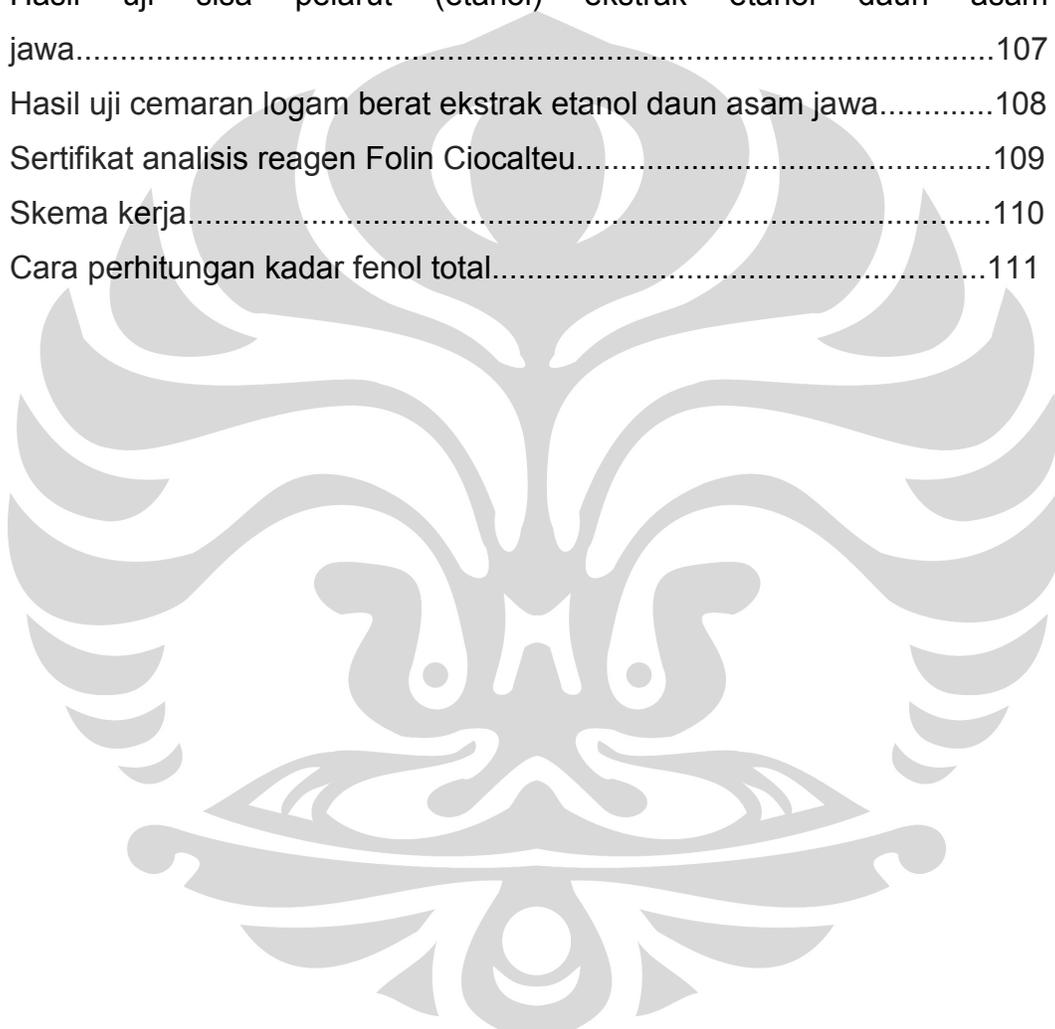


## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Uji pendahuluan.....	87
2. Rendemen ekstrak etanol daun asam jawa.....	88
3. Pemeriksaan organoleptik ekstrak etanol daun asam jawa.....	88
4. Kadar senyawa terlarut dalam air ekstrak etanol daun asam jawa.....	89
5. Kadar senyawa terlarut dalam etanol ekstrak etanol daun asam jawa.	90
6. Susut pengeringan ekstrak etanol daun asam jawa.....	91
7. Kadar air ekstrak etanol daun asam jawa.....	92
8. Kadar abu total ekstrak etanol daun asam jawa.....	93
9. Kadar abu tidak larut asam ekstrak etanol daun asam jawa.....	94
10. Sisa pelarut (etanol) ekstrak etanol daun asam jawa.....	95
11. Kandungan logam berat Pb, Cd, dan Hg ekstrak etanol daun asam jawa.....	95
12. Serapan SSA pada uji cemaran logam berat Pb, Cd, dan Hg ekstrak etanol daun asam jawa.....	96
13. Identifikasi kimia ekstrak etanol daun asam jawa.....	97
14. Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak etanol daun asam jawa dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) pada sinar tampak, sinar ultraviolet 254 nm, dan 366 nm.....	98
15. Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak etanol daun asam jawa dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) dan penampak bercak FeCl <sub>3</sub> 10% diamati pada sinar tampak.....	99
16. Data serapan asam galat terhadap waktu pada konsentrasi 5 ppm....	99
17. Data serapan asam galat konsentrasi 17,2 ppm berbagai waktu inkubasi.....	100
18. Data kurva kalibrasi asam galat pada panjang gelombang maksimum 642 nm.....	101
19. Kadar fenol total ekstrak etanol daun asam jawa.....	101

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Cara pembuatan bahan baku yang digunakan.....	103
2. Hasil determinasi daun asam jawa.....	106
3. Hasil uji sisa pelarut (etanol) ekstrak etanol daun asam jawa.....	107
4. Hasil uji cemaran logam berat ekstrak etanol daun asam jawa.....	108
5. Sertifikat analisis reagen Folin Ciocalteu.....	109
6. Skema kerja.....	110
7. Cara perhitungan kadar fenol total.....	111



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. Latar belakang

Potensi tumbuhan sebagai tanaman yang berkhasiat sebagai obat telah lama dikenal manusia. Secara kimiawi, tumbuhan dianggap sebagai penghasil senyawa organik yang jenis dan jumlahnya hampir tidak terhingga. Meski memiliki manfaat sebagai obat, penelitian untuk mengungkapkan manfaat tanaman sebagai obat bukanlah perkara yang mudah. Sejak dari penemuan bahan tumbuh-tumbuhan hingga menjadi sebuah produk obat dengan nama dagang yang siap dipasarkan, melalui berbagai tahapan yang rumit dan panjang.

Adanya efek samping dari obat-obat sintetis dan semakin besarnya akses publik tentang informasi kesehatan mendukung banyak negara berkembang untuk menggunakan obat bahan alam. Selain itu, adanya isu *back to nature* serta krisis berkepanjangan mengakibatkan turunnya daya beli masyarakat. Hal ini mendukung obat tradisional dan tanaman obat banyak digunakan masyarakat menengah ke bawah terutama dalam upaya preventif, promotif, dan rehabilitatif (1).

Saat ini, pengembangan teknologi dan bentuk pemanfaatan tanaman obat di Indonesia telah mengenal dan menggunakan ekstrak untuk pelayanan

kesehatan. Ekstrak tanaman obat yang berasal dari simplisia dapat digunakan dalam bentuk ekstrak kering, kental, dan cair disesuaikan dengan bahan aktif yang terkandung di dalamnya serta maksud penggunaannya (1).

Sesuai ketentuan perundang-undangan yang berlaku, obat tradisional yang beredar di Indonesia harus memenuhi persyaratan mutu, keamanan, dan kemanfaatan. Ekstrak tumbuhan obat merupakan salah satu penyusun obat tradisional. Oleh karena itu, perlu disusun standar mutu, keamanan, dan kemanfaatan ekstrak tumbuhan obat, dimana untuk itu perlu ditetapkan terlebih dahulu parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat, agar dapat dipakai dalam pelayanan kesehatan formal (2).

Salah satu tumbuhan obat yang dapat dimanfaatkan untuk pengobatan adalah asam jawa (*Tamarindus indica* L.). Tumbuhan berupa pohon ini belum pernah dijumpai ditanam dalam skala perkebunan di Indonesia, namun banyak ditanam di pekarangan dan tepi jalan sebagai pohon peneduh (3). Panen pertama baru bisa dilakukan setelah tanaman ini berumur 5 atau 6 tahun (4). Getah daunnya digunakan sebagai diuretik (5). Daunnya memiliki sifat kholagogik, laksatif, dan bersama buahnya sering digunakan untuk mengobati kongesti pada hati, konstipasi, dan hemoroid (5). Studi *in vitro* pada beberapa tanaman tradisional menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan  $\alpha$ -amilase oleh ekstrak daun asam jawa mencapai 90% sehingga dapat digunakan dalam pengobatan diabetes tipe-2 (6).

Daun asam jawa mengandung lemak, protein, air, dan karbohidrat. Selain itu, mengandung bermacam-macam mineral, seperti kalsium, tembaga, besi, fosfor, magnesium, natrium, kalium, sulfur, serta vitamin A, B1, B2, B3, dan C (7). Komponen yang terkandung di dalamnya adalah tanin, flavonoid, saponin, asam tartrat, asam malat, asam oksalat, pigmen, dan minyak atsiri (5,8).

Keputusan Menteri Kesehatan RI No : 55/Menkes/SK/1/2000 menyatakan bahwa obat tradisional yang beredar di Indonesia harus memenuhi persyaratan mutu, keamanan, dan kemanfaatannya (2). Standardisasi terhadap ekstrak etanol daun asam jawa diperlukan untuk memelihara keseragaman mutu, keamanan, dan khasiat. Dengan demikian, ekstrak yang digunakan sebagai bahan obat memiliki parameter spesifik dan non spesifik yang konstan dan diharapkan memenuhi persyaratan mutu sebagai fitofarmaka.

## B. Tujuan penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan beberapa parameter spesifik dan non spesifik dari ekstrak etanol daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) yang akan digunakan sebagai bahan obat sehingga menjamin ekstrak tersebut mempunyai nilai parameter yang dapat digunakan sebagai standar mutu.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. *Tamarindus indica* L.

##### 1. Klasifikasi

Tanaman asam jawa memiliki klasifikasi sebagai berikut (9):

Dunia ( <i>Kingdom</i> )	: Plantae
Sub dunia ( <i>Sub kingdom</i> )	: Tracheobionta
Divisi ( <i>Divisio</i> )	: Spermatophyta
Sub divisi ( <i>Sub divisio</i> )	: Magnoliophyta
Kelas ( <i>Classis</i> )	: Magnoliopsida (Dicotyledonae)
Sub kelas ( <i>Sub classis</i> )	: Rosidae
Bangsa ( <i>Ordo</i> )	: Fabales
Suku ( <i>Familia</i> )	: Fabaceae (alt. Leguminosae)
Sub suku ( <i>Sub familia</i> )	: Caesalpinaceae
Marga ( <i>Genus</i> )	: <i>Tamarindus</i>
Jenis ( <i>Species</i> )	: <i>Tamarindus indica</i> L.
Sinonim	: <i>Tamarindus occidentalis</i> Gaertn <i>Tamarindus officinalis</i> Hook (3,10)

##### 2. Nama simplisia

*Tamarindi folium*; daun asam jawa (10).

### 3. Nama daerah dan nama asing

Beberapa nama lain tanaman asam jawa di beberapa daerah oleh penduduk setempat, yaitu: bak me, acamlagi, asam jawa, kayu asam, celaki, cumalagi (Sumatera), tangkal asem, wit asam, acem (Jawa) (11).

Di luar Indonesia, asam jawa dikenal dengan nama: sampalog (Filipina), ma-kham (Thailand), asam (Malaysia), tamarinier (Prancis), tamarind (Inggris), ambli (India), ardheib, tamarhindi (Arab), tamarinde (Belanda), tsamiya (Nigeria), dan hamar (Somalia) (5).

### 4. Morfologi

Asam jawa merupakan tanaman tahunan, dengan tinggi berkisar  $\pm$  25 m. Batang asam jawa berkayu, penampang bulat dengan permukaan banyak lenti sel, memiliki percabangan simpodial, dan warna coklat muda seperti yang ditunjukkan pada Gambar. 8. Daun asam jawa merupakan daun majemuk, berbentuk lonjong, berhadap-hadapan, dengan panjang 1-2,5 cm, dan lebar 0,5-1 cm. Tepi daun rata dengan ujung tumpul dan pangkal membulat seperti tampak pada Gambar.9. Pertulangan menyirip, halus, dan berwarna hijau. Tangkai daun panjang  $\pm$  0,2 cm dan berwarna hijau (11).

Bunga dari tanaman asam jawa berupa bunga majemuk, bentuk tandan, berada di ketiak daun. Panjang tangkai  $\pm$  0,6 cm, berwarna kuning. Kelopak berbentuk tabung, berwarna hijau kecoklatan. Benang sari berjumlah

banyak, berwarna putih, dengan putik putih, dan mahkota kecil berwarna kuning (11).

Buah asam jawa berupa buah polong, dengan panjang  $\pm$  10 cm, lebar  $\pm$  2 cm, berwarna hijau kecoklatan. Biji asam jawa berbentuk kotak, pipih, dan berwarna coklat. Tanaman asam jawa memiliki akar tunggang berwarna coklat kotor (11).

## **5. Ekologi dan penyebaran**

Asam jawa termasuk tumbuhan tropis. Pohonnya dapat tumbuh baik pada ketinggian 1.000-1.500 m dpl, pada tanah berpasir atau tanah liat, khususnya di wilayah yang musim keringnya cukup panjang (3). Penelitian mengenai keanekaragaman genetik *Tamarindus* menunjukkan bahwa tanaman ini berasal dari wilayah Afrika (12). Tanaman ini tersebar di dataran rendah biasanya sebagai tanaman pinggir jalan. Di Indonesia banyak terdapat di propinsi Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur termasuk Madura, Sumatera Utara, Kalimantan Barat, Bali, dan Sulawesi Selatan (13, 14).

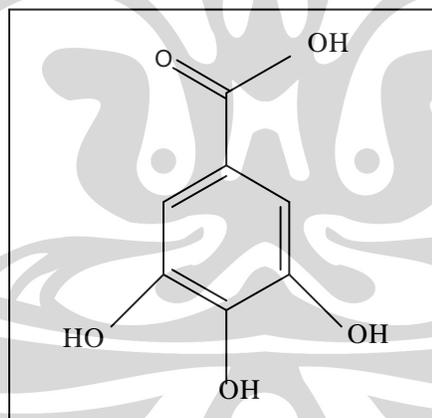
## **6. Budidaya**

Tanaman asam jawa diperbanyak dengan benih, pencangkakan, penyambungan, dan penempelan (11). Di Indonesia umumnya ditanam di pekarangan rumah sebagai pohon peneduh atau ditanam di tepi jalan besar sebagai peneduh jalan. Belum pernah dijumpai pohon asam ditanam dalam

skala untuk perkebunan di Indonesia (3). Panen pertama baru bisa dilakukan setelah tanaman ini berumur 5 atau 6 tahun (4).

## 7. Kandungan kimia

Daun asam jawa memiliki kandungan kimia berupa asam galat, asam tartrat, asam malat, asam vanilat, p-kumarin, p-hidroksi benzoat, asam oksalat, tanin terkondensasi, terpenoid, triterpenoid, saponin, flavon terdiri dari: apigenin, acacetin, luteolin, glikoflavon terdiri dari: vitexin, isovitexin (saponaretin), orientin, dan iso-orientin (homo-orientin), pigmen yaitu: leucocyanidin atau anthocyanin, dan minyak esensial terutama limonene dan benzil benzoat, vitamin B1, B2, B3, dan peroksida (5, 7, 8, 14, 15).



Gambar 1. Rumus struktur asam galat

## 8. Penggunaan

Ekstrak yang dibuat dari daun digunakan untuk mengobati batuk, demam, reumatik, *icteric jaundice*, infeksi cacing, ulkus, dan insomnia (14).

Daun yang masih muda dan bunganya bersifat kholagogik dan pendingin digunakan untuk mengobati konstipasi, dispepsia, flatulensi, dan infeksi saluran urin. Daun bersama dengan buahnya memiliki sifat kholagogik dan laksatif untuk mengobati kongesti pada hati, konstipasi, dan hemoroid (5). Infus daun digunakan sebagai obat kumur pada radang tenggorokan dan sebagai pembersih pada ulkus (15).

### **9. Aktifitas farmakologis**

Batang dan daun asam jawa memiliki aktifitas antibakteri spektrum luas dan sumber potensial untuk jenis antibiotik baru yang bermanfaat pada pengobatan penyakit infeksi (16).

Studi *in vitro* untuk meneliti kemampuan beberapa tanaman tradisional dalam menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan  $\alpha$ -amilase oleh ekstrak daun asam jawa mencapai 90% sehingga dapat digunakan dalam pengobatan diabetes tipe-2 (6). Sumber lain menyebutkan ekstrak daun asam jawa memiliki aktifitas antibakteri, antifungi, antihepatotoksik, penghambat pembentukan lipid peroksida, penghambat pertumbuhan tanaman, penghambat protopektinase, penahan efek radikal bebas, spasmolitik, dan vasodilator (7).

## B. Standardisasi

Standardisasi dapat didefinisikan sebagai kualitas suatu sediaan farmasi yang memiliki nilai yang tetap dan reproduibel, serta menentukan jumlah minimum dari satu atau beberapa komponen yang terkandung di dalamnya. Beberapa alasan perlunya dilakukan standardisasi obat tradisional, antara lain dapat menyediakan produk yang terstandar, reproduibel, dan memiliki kualitas tinggi, serta memberikan rasa aman dan meningkatkan kepercayaan masyarakat terhadap obat tradisional (17).

Standardisasi dalam kefarmasian adalah serangkaian parameter, prosedur, dan cara pengukuran yang hasilnya merupakan unsur-unsur terkait paradigma mutu kefarmasian. Mutu dalam artian memenuhi syarat standar (kimia, biologi, farmasi), termasuk jaminan stabilitas sebagai produk kefarmasian umumnya. Selain itu, standardisasi juga berarti proses yang menjamin bahwa produk akhir (obat, ekstrak, atau produk ekstrak) mempunyai nilai parameter tertentu yang konstan dan ditetapkan terlebih dahulu (2).

Standardisasi simplisia mempunyai pengertian bahwa simplisia yang akan digunakan sebagai bahan baku obat harus memenuhi persyaratan yang tercantum dalam monografi terbitan resmi Departemen Kesehatan (Materia Medika Indonesia), sedangkan sebagai produk yang langsung dikonsumsi

harus memenuhi persyaratan produk kefarmasian sesuai dengan peraturan yang berlaku (2).

Ekstrak yang digunakan sebagai bahan baku maupun produk kefarmasian, selain harus memenuhi persyaratan monografi bahan baku (simplisia), juga diperlukan persyaratan parameter standar ekstrak. Persyaratan mutu ekstrak terdiri dari berbagai parameter standar umum (non spesifik) dan parameter standar spesifik. Parameter non spesifik meliputi susut pengeringan, kadar abu, kadar air, sisa pelarut, dan cemaran logam berat, sedangkan parameter spesifik meliputi identitas ekstrak, organoleptik ekstrak, dan kadar senyawa terlarut dalam pelarut tertentu (2).

Parameter spesifik terdiri dari:

1. Identitas ekstrak, merupakan deskripsi tata nama ekstrak, nama latin tumbuhan, bagian tumbuhan yang digunakan serta senyawa identitas yang menjadi petunjuk spesifik dengan metode tertentu. Parameter ini bertujuan memberikan identitas objektif dari nama dan spesifik dari senyawa identitas.
2. Organoleptik ekstrak, dilakukan dengan menggunakan panca indera untuk mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa. Parameter ini bertujuan sebagai pengenalan awal yang sederhana seobjektif mungkin.
3. Senyawa terlarut dalam pelarut tertentu, dilakukan dengan cara melarutkan ekstrak dengan pelarut (alkohol atau air) untuk ditentukan

jumlah solut yang identik dengan jumlah senyawa kandungan secara gravimetri. Parameter ini bertujuan untuk memberikan gambaran awal jumlah senyawa kandungan.

Parameter non spesifik terdiri dari:

1. Susut pengeringan, merupakan pengukuran sisa zat setelah pengeringan pada temperatur  $105^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit atau sampai berat konstan, yang dinyatakan dengan nilai prosen. Dalam hal khusus (jika bahan tidak mengandung minyak menguap/atsiri dan sisa pelarut organik menguap) identik dengan kadar air, yaitu kandungan air karena berada di atmosfer/lingkungan udara terbuka. Parameter ini bertujuan untuk memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan.
2. Bobot jenis, adalah masa per satuan volume pada suhu kamar tertentu ( $25^{\circ}\text{C}$ ) yang ditentukan dengan alat khusus piknometer atau alat lainnya. Parameter ini bertujuan untuk memberikan batasan tentang besarnya masa per satuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai ekstrak pekat (kental) yang masih dapat dituang.
3. Kadar air, merupakan pengukuran kandungan air yang berada dalam bahan, dilakukan dengan cara yang tepat diantara cara titrasi, destilasi atau gravimetri. Parameter ini bertujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air di dalam bahan.

4. Kadar abu, yaitu bahan dipanaskan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap, sehingga tinggal unsur mineral dan anorganik. Parameter ini bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak.
5. Sisa pelarut, dilakukan dengan menentukan kandungan sisa pelarut tertentu yang memang ditambahkan yang secara umum dengan kromatografi gas. Parameter ini bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa selama proses tidak meninggalkan sisa pelarut yang memang seharusnya tidak boleh ada. Sedangkan untuk ekstrak cair menunjukkan jumlah pelarut (alkohol) sesuai dengan yang ditetapkan.
6. Residu pestisida, dilakukan dengan menentukan kandungan sisa pestisida yang mungkin saja pernah ditambahkan atau mengkontaminasi pada bahan simplisia pembuatan ekstrak. Parameter ini bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak mengandung pestisida melebihi nilai yang ditetapkan karena berbahaya (toksik) bagi kesehatan.
7. Cemaran logam berat, dilakukan dengan menentukan kandungan logam berat secara spektroskopi serapan atom atau lainnya yang lebih valid. Parameter ini bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak mengandung logam berat tertentu (Hg, Pb, Cd, dll.) melebihi nilai yang ditetapkan karena berbahaya (toksik) bagi kesehatan.
8. Cemaran mikroba, dilakukan dengan menentukan (identifikasi) adanya mikroba yang patogen secara analisis mikrobiologis. Parameter ini

bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak boleh mengandung mikroba patogen dan tidak mengandung mikroba non patogen melebihi batas yang ditetapkan karena berpengaruh pada stabilitas ekstrak dan berbahaya (toksik) bagi kesehatan.

Uji kandungan kimia ekstrak meliputi:

1. Pola kromatogram, dimana ekstrak ditimbang, diekstraksi dengan pelarut dan cara tertentu, kemudian dilakukan analisis kromatografi sehingga memberikan pola kromatogram yang khas. Uji ini bertujuan untuk memberikan gambaran awal komposisi kandungan kimia berdasarkan pola kromatogram.
2. Kadar total golongan kandungan kimia, dilakukan dengan penerapan pola spektrofotometri, titrimetri, volumetri, gravimetri atau lainnya. Uji ini bertujuan untuk memberikan informasi kadar golongan kandungan kimia sebagai parameter mutu ekstrak dalam kaitannya dengan efek farmakologis.
3. Kadar kandungan kimia tertentu, dimana uji ini bertujuan untuk memberikan data kadar kandungan kimia tertentu sebagai senyawa identitas atau senyawa yang diduga bertanggung jawab pada efek farmakologi.

Untuk uji kandungan kimia ekstrak, meskipun termasuk ke dalam lingkup parameter spesifik, namun kelompok ini dibahas tersendiri karena menyangkut senyawa kimia yang ada dalam ekstrak.

### C. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (18).

Berdasarkan konsistensinya, ekstrak dibedakan menjadi 3 yaitu: ekstrak cair (*extracta fluida*), ekstrak kental (*extracta spissa*), dan ekstrak kering (*extracta sicca*). Ekstrak cair merupakan cairan dimana setiap bagian massa atau volume sebanding dengan satu bagian massa simplisia kering. Ekstrak kental adalah sediaan dengan konsistensi antara ekstrak cair dan ekstrak kering yang diperoleh dengan menguapkan sebagian atau seluruh pelarut yang digunakan. Ekstrak kering merupakan sediaan padat yang dibuat dengan cara menguapkan pelarut yang digunakan, biasanya memiliki nilai susut pengeringan atau kadar air tidak lebih dari 5% b/b (4, 18, 19).

## **D. Golongan senyawa metabolit sekunder**

### **1. Flavonoid**

Flavonoid adalah salah satu dari senyawa fenol dengan kerangka karbon terdiri atas dua gugus C<sub>6</sub> (cincin benzen tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon. Flavonoid sering terdapat sebagai glikosida. Beberapa peranan flavonoid dalam tumbuhan adalah: pada warna bunga sebagai pengarah serangga, pengatur zat tumbuh, pengatur fotosintesis, antimikroba, dan antivirus, bekerja menarik serangga, dan sebagainya (20).

### **2. Tanin**

Tanin adalah senyawa yang dapat bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air. Sifat khas dari tanin adalah memiliki rasa yang sepat. Tanin merupakan campuran polifenol yang terdapat dalam tumbuhan dalam bentuk glikosida yang jika terhidrolisis akan menghasilkan glikon dan aglikon (21).

### **3. Glikosida**

Glikosida adalah senyawa gula/karbohidrat yang terdapat dalam tumbuhan dalam bentuk terikat pada aglikon (21). Glikosida jantung adalah senyawa yang memiliki inti steroid yang terikat dengan cincin lakton terikat pada C-17 dan gula terikat pada C-3. Glikosida ini mempunyai efek

kardiotonik khas dan tempat kerja molekulnya ialah ATP-ase yang terikat pada membran yang mengatur angkutan kation (20).

#### **4. Saponin**

Saponin berasal dari bahasa Latin *sapo* yang berarti sabun. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menimbulkan hemolisis sel darah merah (20).

#### **5. Alkaloid**

Alkaloid adalah senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan, sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid seringkali beracun bagi manusia dan banyak mempunyai aktifitas fisiologis yang menonjol, jadi digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Alkaloid biasanya tanpa warna, seringkali bersifat optis aktif, umumnya berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan pada suhu kamar (21).

#### **E. Kromatografi lapis tipis**

Kromatografi didefinisikan sebagai prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase atau lebih, salah satu diantaranya bergerak secara

berkesinambungan dalam arah tertentu dan di dalamnya zat-zat itu menunjukkan perbedaan mobilitas disebabkan adanya perbedaan dalam adsorpsi, partisi, kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul atau kerapatan muatan ion (17).

Kromatografi lapis tipis merupakan salah satu metode pemisahan fitokimia yang sederhana dimana pemisahannya berdasarkan pada pembagian senyawa atau zat aktif dalam fase diam dan fase gerak. Fase diam merupakan bidang datar yang telah diberi suatu zat penyerap (22).

Kromatografi lapis tipis dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif diperoleh dengan pengamatan bercak dan harga  $R_f$ , dimana:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa terlarut}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

Untuk memberikan hasil yang ideal, senyawa yang akan ditentukan harus memiliki nilai  $R_f$  antara 0,2-0,8. Analisis kualitatif dilakukan dengan membandingkan spektrum serapan bercak yang mempunyai  $R_f$  yang sama. Hal ini dapat dilakukan dengan menggunakan alat kromatografi lapis tipis densitometer. Prinsip dasar densitometer adalah berkas sinar yang dijatuhkan pada lapis tipis sebagian diabsorpsi oleh bercak senyawa dan sebagian lagi dihamburkan oleh medium penghambur yang terdapat dalam lapis tipis, kemudian sisanya dipantulkan ke detektor (22).

## F. Spektrofotometri

Spektrofotometri merupakan pengukuran interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan molekul atau atom dari suatu zat kimia (17). Spektrofotometer adalah suatu sistem optik dengan kemampuan menghasilkan cahaya monokromatik dalam jangkauan 200 nm hingga 800 nm, yang digunakan untuk pengukuran serapan di daerah spektrum ultraviolet (190 nm-380 nm) dan cahaya tampak (380 nm-780 nm) (17).

Pada metode analisa kuantitatif pengukuran spektrum di daerah cahaya tampak yang ditentukan adalah serapan cahaya oleh larutan yang berwarna. Warna tersebut terbentuk sebagai hasil reaksi antara pereaksi pembentuk warna dengan zat tertentu, atau sampel yang dianalisis sendiri yang memiliki warna, yang oleh ahli kimia disebut sebagai analisa kolorimetri (23).

Kolorimetri dikaitkan dengan penetapan kadar suatu zat yang konsentrasinya rendah dengan mengukur absorpsi relatif cahaya sehubungan dengan konsentrasi tertentu zat itu (23). Kolorimetri merupakan cabang dari spektrofotometri dimana pengukuran absorpsi menggunakan spektrum pada sinar tampak (24).

Pengukuran suatu zat dilakukan dengan membandingkan warna yang terbentuk dari sampel yang direaksikan dengan sejumlah reagen terhadap warna yang terbentuk dari standar yang juga direaksikan dengan reagen

yang sama dalam jumlah yang sama pula. Pembacaan warna dapat dilakukan dengan mata atau sel fotoelektrik, namun untuk pembacaan serta pengukuran yang lebih kuantitatif digunakan sel fotoelektrik. Alat yang berfungsi untuk mengukur intensitas warna dan berperan sebagai sel fotoelektrik adalah spektrofotometer (25). Pembacaan dan pengukuran warna dilakukan dengan menggunakan sinar tampak dengan panjang gelombang yang berkisar antara 380 hingga 780 m $\mu$  (24).

Ada 2 faktor yang mempengaruhi sensitivitas pengukuran. Pertama, sensitivitas intrinsik yang berkaitan dengan warna yang terbentuk pada larutan. Kedua, kemampuan pengamat secara langsung maupun tidak langsung untuk mendeteksi perbedaan kecil pada transmisi cahaya dari larutan. Sensitivitas dapat diperbaiki dengan menggunakan panjang gelombang pada absorpsi maksimum dari larutan (26).

## BAB III

### BAHAN, ALAT DAN CARA KERJA

Penelitian ini dilakukan di Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Indonesia, Depok.

#### A. Bahan

##### 1. Bahan sampel

Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) yang telah dikeringkan berasal dari tiga daerah yaitu Depok, Tawangmangu, dan Bekasi. Simplisia telah dideterminasi terlebih dahulu di Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong.

##### 2. Bahan kimia

Bahan kimia yang digunakan antara lain: alumunium (III) klorida, asam asetat P, asam galat, asam klorida P, asam nitrat P, asam sulfat P, aseton P, benzen P, besi (III) klorida P, etanol absolut, eter P, isopropanol P, kadmium (II) nitrat, kloroform P, Mg P, lempeng silica gel GF<sub>254</sub>, merkuri (II) nitrat 1000, metanol P, natrium karbonat, natrium sulfat anhidrat P, timbal (II) nitrat, Zn P yang mempunyai kualitas untuk analisis dari E. Merck. Bahan lain yang digunakan yaitu: aquades, aquabides, etanol teknis destilasi, Folin Ciocalteu (F 9252 Sigma), kertas saring bebas abu (Whatman No. 41), dan kertas saring (Milipore®).

### 3. Bahan baku yang dibuat

Bahan baku yang dibuat antara lain: air kloroform P, asam klorida 2 N, asam nitrat 6 M, asam sulfat 9 M, asam sulfat encer P, Baljet LP, Bouchardat LP, Dragendorff LP, etanol beberapa konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, dan 95%, kalium hidroksida 1 N, kalium permanganat LP, kalium persulfat LP, Kedde LP, Lieberman Bouchard LP, Mayer LP, Molish LP, natrium klorida-gelatin LP, solutio iodii LP, timbal (II) asetat LP. Cara pembuatan bahan-bahan di atas dapat dilihat pada Lampiran 1.

#### **B. Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: alat-alat gelas, bejana kromatografi (Camag), blender, botol timbang bertutup, cawan penguap, desikator, kromatografi gas (Shimadzu GC 9A), krus silikat, kuvet kuarsa (Merck), mesin pengocok, oven (Jumo), pembentuk uap merkuri (Shimadzu MVU-1A), penangas air (LAB LINE), pendingin tegak (Gerhardt), pengaduk ultrasonik (Elmasonic S60H), penghomogen (H-VM-300), penguap vakum putar (IKA-dest), pipet mikro (Socorex), timbangan analitik (ACCULAB), tanur (Termolyne), TLC Scanner 3 (Camag), spektrofotometer UV-Vis (Jasco V-530 SSE-343), spektrofotometer serapan atom (Shimadzu AA-6300, spektrofotometer serapan atom (Perkin Elmer 3110).

## **C. Cara Kerja**

### **1. Penyiapan simplisia**

Bagian tanaman yang digunakan adalah daun asam jawa yang telah dikeringkan berasal dari tiga daerah yang berbeda dan telah dideterminasi di Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Simplisia yang telah kering dibersihkan dari pengotor yang ikut tercampur pada saat panen kemudian dibuat menjadi serbuk dengan menggunakan blender dan ukuran serbuk 100 mesh.

### **2. Uji pendahuluan (pemilihan pelarut yang tepat)**

Pembuatan ekstrak diawali dengan mencari pelarut yang tepat melalui maserasi serbuk daun asam jawa dengan menggunakan aquades, etanol 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 95%.

### **3. Pembuatan ekstrak daun asam jawa**

Simplisia dari masing-masing daerah ditimbang sebanyak 200 g kemudian diekstraksi dengan cara maserasi dengan menggunakan 2 L pelarut yang sesuai dari hasil uji pendahuluan. Maserasi dilakukan selama 24 jam dengan beberapa kali pengocokan selama 6 jam pertama kemudian didiamkan selama 18 jam. Setelah itu hasil maserasi disaring. Residu dimaserasi kembali dengan cara yang sama sebanyak empat kali. Filtrat dikumpulkan dan dipisahkan dengan menggunakan penguap vakum putar pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental yang masih dapat dituang.

Pemekatan dilanjutkan di atas penangas air pada suhu tidak lebih dari 50°C hingga diperoleh ekstrak kental.

#### **4. Pengujian terhadap ekstrak daun asam jawa**

##### **a. Rendemen (kadar ekstrak total)**

Ekstrak dari masing-masing daerah dipekatkan dengan penguap vakum putar lalu dituang ke dalam cawan penguap yang telah ditara. Kemudian dipekatkan di atas penangas air pada suhu tidak lebih dari 50°C hingga diperoleh ekstrak kental, lalu ditimbang. Rendemen ekstrak dihitung terhadap jumlah serbuk simplisia yang digunakan.

##### **b. Parameter spesifik**

###### **1) Identitas**

Identitas ekstrak dinyatakan dengan mendeskripsikan tata nama, meliputi nama ekstrak, nama latin tumbuhan (sistematika botani), bagian tumbuhan yang digunakan, dan nama Indonesia dari tumbuhan. Selain itu, ditentukan senyawa identitas ekstrak, artinya senyawa tertentu yang dapat menjadi petunjuk spesifik pada ekstrak tersebut (2).

###### **2) Organoleptik**

Organoleptik ekstrak dinyatakan melalui pengamatan dengan panca indera, mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa dari ekstrak (2).

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

#### **a) Kadar senyawa yang larut dalam air**

Sejumlah 5,0 gram ekstrak dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml air-kloroform LP menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan dibiarkan selama 18 jam kemudian disaring. Filtrat dipipet sebanyak 20 ml lalu diuapkan hingga kering dalam cawan penguap yang telah ditara. Residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Selanjutnya, kadar dalam persen senyawa yang larut dalam air dihitung terhadap berat ekstrak awal (2).

#### **b) Kadar senyawa yang larut dalam etanol**

Sejumlah 5,0 gram ekstrak dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml etanol 96% menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam lalu disaring cepat untuk menghindarkan penguapan etanol. Filtrat dipipet sebanyak 20 ml lalu diuapkan hingga kering dalam cawan penguap yang telah ditara. Residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Selanjutnya, kadar dalam persen senyawa yang larut dalam etanol 96% dihitung terhadap berat ekstrak awal (2).

### **c. Parameter non spesifik**

#### **1) Susut pengeringan**

Ekstrak ditimbang seksama sebanyak 1-2 g dan dimasukkan ke dalam botol timbang dangkal tertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu

105°C selama 30 menit dan telah ditara. Sebelum ditimbang, ekstrak diratakan dalam botol timbang dengan menggoyangkan botol hingga merupakan lapisan setebal lebih kurang 5 mm sampai 10 mm. Jika ekstrak yang diuji berupa ekstrak kental, ratakan dengan bantuan pengaduk kemudian dimasukkan ke dalam ruang pengering, tutup dibuka, dan dikeringkan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Sebelum setiap pengeringan, botol dibiarkan dalam keadaan tertutup mendingin dalam eksikator hingga suhu kamar (2,10).

## **2) Kadar air**

Lebih kurang 10 g ekstrak ditimbang seksama dalam wadah yang telah ditara lalu dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang. Pengeringan dilanjutkan dan ditimbang pada jarak 1 jam sampai perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (2).

## **3) Kadar abu**

### **a) Penetapan kadar abu total**

Lebih kurang 2-3 g ekstrak ditimbang seksama, dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara lalu diratakan. Ekstrak dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, didinginkan, dan ditimbang. Jika arang tidak dapat dihilangkan, maka ditambahkan air panas kemudian disaring melalui kertas saring bebas abu. Sisa pemijaran dan kertas saring dipijarkan dalam krus silikat yang sama. Filtrat dimasukkan ke dalam krus silikat,

diuapkan, dan dipijar hingga bobot tetap kemudian ditimbang. Kadar abu dihitung terhadap bobot ekstrak awal (2,10).

b) Penetapan kadar abu yang tidak larut asam

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu, dididihkan dengan 25 ml asam sulfat encer P selama 5 menit. Bagian yang tidak larut dalam asam dikumpulkan, disaring melalui kertas saring bebas abu lalu dicuci dengan air panas dan dipijar hingga bobot tetap kemudian ditimbang. Kadar abu yang tidak larut dalam asam dihitung terhadap bobot ekstrak awal (2,10).

**4) Sisa pelarut**

a) Pembuatan larutan etanol 1%

Larutan baku etanol dibuat dengan melarutkan etanol absolut dalam air hingga didapat konsentrasi 1%. Larutan ini disuntikkan pada alat kromatografi gas dengan volume dan kondisi yang sama dengan sampel.

b) Pengukuran sampel

Sampel yang berupa ekstrak kental diekstraksi dengan air sebanyak 20 ml. Hasil ekstraksi disaring kemudian disuntikkan sebanyak 1  $\mu$ l pada alat kromatografi gas dengan kondisi pengukuran sebagai berikut (27):

Kolom	: PEG
Diameter kolom	: 0,3 cm
Panjang kolom	: 3 m
Suhu kolom	: 100°C-110°C

Suhu injektor	: 120°C
Suhu detektor	: 120°C
Gas pembawa	: nitrogen
Detektor	: FID ( <i>Flame Ionization Detector</i> )
Kecepatan alir gas pembawa	: 5 ml/menit

## 5) Cemaran logam berat

### a) Pembuatan kurva kalibrasi

Larutan induk  $Pb^{2+}$  dan  $Cd^{2+}$  konsentrasi 1000 ppm dibuat dari masing-masing larutan baku timbal (II) nitrat dan kadmium (II) nitrat. Larutan induk ini diencerkan menjadi larutan dengan konsentrasi 100 ppm. Lalu diencerkan lagi menjadi konsentrasi 10 ppm. Pengenceran selanjutnya dilakukan hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi masing-masing 0,5 ppm; 1,0 ppm; 3,0 ppm; dan 5,0 ppm. Larutan induk  $Hg^{2+}$  konsentrasi 1000 ppm dibuat dari larutan baku merkuri (II) nitrat. Larutan induk ini diencerkan menjadi larutan dengan konsentrasi 100 ppm. Lalu diencerkan lagi menjadi konsentrasi 10 ppm. Pengenceran selanjutnya dilakukan hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi masing-masing 0,1 ppm; 0,2 ppm; 0,3 ppm; dan 0,5 ppm. Larutan baku dimasukkan ke dalam vial dan ditempatkan pada alat spektrofotometer serapan atom (SSA).

### b) Pengukuran sampel

Untuk pengukuran kadar timbal dan kadmium, sebanyak 3,5 g ekstrak ditambahkan asam sulfat pekat kemudian dipijar hingga arangnya habis.

Sisanya dilarutkan dalam asam nitrat pekat, kemudian disaring, lalu ditambahkan aquabides, hingga 10 ml. Larutan uji dimasukkan ke dalam vial dan ditempatkan pada alat SSA (27).

Untuk pengukuran kadar merkuri, sebanyak 3,5 gram ekstrak ditambahkan campuran asam nitrat pekat dan asam sulfat pekat (3:5). Didinginkan kemudian ditambahkan 15 ml kalium permanganat P. Setelah dingin ditambahkan 8 ml kalium persulfat P dan dibiarkan bereaksi selama 1 jam. Kemudian ditaruh di atas penangas air dengan suhu 70°C selama 2 jam. Setelah itu didinginkan hingga temperatur kamar dan ditambahkan asam sulfat 9 M dan asam nitrat 6 M. Lalu ditambahkan timah klorida. Larutan uji dimasukkan ke dalam vial dan ditempatkan ke dalam SSA (27).

#### **d. Uji kimia**

##### **1) Identifikasi kimia**

##### **a) Identifikasi flavonoid**

Sebanyak 1 g ekstrak diuapkan hingga kering, sisanya dilarutkan dalam 1 ml sampai 2 ml etanol 95% P kemudian ditambahkan 0,5 g serbuk seng P dan 2 ml asam klorida 2 N, didiamkan selama 1 menit lalu ditambahkan 10 tetes asam klorida pekat. Jika dalam waktu 2 sampai 5 menit terjadi warna merah intensif, menunjukkan adanya flavonoid (glikosida-3-flavonol) (10).

Sebanyak 1 g ekstrak diuapkan hingga kering, sisanya dilarutkan dalam 1 ml etanol 95% lalu ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium P dan 10 tetes asam klorida pekat P. Jika terjadi warna merah jingga sampai merah ungu, menunjukkan adanya flavonoid. Jika terjadi warna kuning jingga, menunjukkan adanya flavon, kalkon, dan auron (10).

Sebanyak 1 g ekstrak diuapkan hingga kering, sisanya dibasahkan dengan aseton P, ditambahkan sedikit serbuk halus asam borat P dan asam oksalat P. Secara hati-hati dipanaskan di atas penangas air dan hindari pemanasan yang berlebihan. Sisa yang diperoleh dicampur dengan 10 ml eter P. Perubahan warna diamati dengan sinar UV 366 nm. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan fluoresensi kuning intensif (10).

#### **b) Identifikasi tanin**

Sebanyak 2 g ekstrak diuapkan di atas penangas air dan sisanya diencerkan dengan air suling panas lalu dikocok hingga homogen. Larutan ditambahkan dengan 5 tetes natrium klorida 10% dan disaring. Filtrat digunakan sebagai larutan percobaan.

- (1) Larutan percobaan ditambahkan larutan gelatin 10%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih.
- (2) Larutan percobaan ditambahkan larutan natrium klorida-gelatin. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih.

(3) Larutan percobaan ditambahkan 3 tetes larutan besi (III) klorida P. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya larutan biru kehitaman atau hijau kecoklatan.

(4) Larutan percobaan ditambahkan timbal (II) asetat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih (28).

### **c) Identifikasi glikosida**

(1) Larutan percobaan

Sari 3 gram ekstrak dengan 30 ml campuran 7 bagian volume etanol (95%) P dan 3 bagian volume air dalam alat pendingin alir balik selama 10 menit, didinginkan kemudian disaring. Pada 20 ml filtrat ditambahkan 25 ml air dan 25 ml timbal (II) asetat 0,4 M, dikocok kemudian didiamkan selama 5 menit, lalu disaring. Filtrat disari 3 kali, tiap kali dengan 20 ml campuran 3 bagian volume kloroform P dan 2 bagian volume isopropanol P. Pada kumpulan sari ditambahkan natrium sulfat anhidrat P, disaring, dan diuapkan pada suhu tidak lebih dari 50°C. Sisanya dilarutkan dengan 2 ml metanol P (29).

(2) Percobaan umum terhadap glikosida

Sebanyak 0,1 ml larutan percobaan diuapkan di atas penangas air. Sisa dilarutkan dalam 5 ml asam asetat anhidrat kemudian ditambahkan 10 tetes asam sulfat P. Jika terjadi warna biru atau hijau, maka menunjukkan adanya terpen atau sterol (reaksi Lieberman-Bourchard) (10, 29).

Sebanyak 0,1 ml larutan percobaan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, diuapkan di atas penangas air. Sisa ditambahkan 2 ml air dan 5 tetes Molish LP, lalu ditambahkan secara hati-hati 2 ml asam sulfat P. Jika terbentuk cincin berwarna ungu pada batas cairan, menunjukkan adanya ikatan gula (Reaksi Molish) (10, 29).

### (3) Percobaan terhadap glikosida jantung

Pada 0,1 ml larutan percobaan diencerkan dengan 2,9 ml metanol P kemudian ditambahkan Baljet LP. Jika terjadi warna jingga setelah beberapa menit, menunjukkan adanya glikosida dan aglikon kardenolid (10).

Pada 0,1 ml larutan percobaan ditambahkan 2 ml Kedde LP dan 2 ml kalium hidroksida 1 N. Bila terjadi warna merah ungu sampai biru ungu dalam beberapa menit, menunjukkan adanya glikosida dan aglikon kardenolida (10).

Pada 0,2 ml larutan percobaan diuapkan di atas penangas air. Sisa dilarutkan dengan 3 ml asam asetat P dengan sedikit pemanasan, didinginkan kemudian ditetaskan larutan besi (III) klorida 0,3 M. Kemudian ditambahkan dengan hati-hati 3 tetes asam sulfat P dan 1 tetes besi (III) klorida 0,3 M. Bila terbentuk cincin berwarna merah coklat pada batas cairan, setelah beberapa menit di atas cincin berwarna biru hijau, menunjukkan adanya glikosida dan glikon 2-desoksigula (Reaksi Keller Kiliani). Dari ketiga percobaan di atas, serbuk mengandung glikosida jantung

jika paling kurang reaksi menunjukkan adanya aglikon kardenolida dan glikon 2-desoksigula (10,29).

(4) Percobaan umum terhadap glikosida antrakinon

Sebanyak 1 ml larutan percobaan diuapkan di atas penangas air. Residu ditambahkan 10 ml benzen P, dikocok, dan didiamkan. Lapisan benzen dipisahkan dan disaring. Filtrat yang berwarna kuning menunjukkan adanya antrakinon. Lapisan benzen dikocok dengan 1 ml sampai 2 ml natrium hidroksida 2 N kemudian didiamkan. Lapisan air yang berwarna merah intensif dan lapisan benzen tidak berwarna menunjukkan adanya antrakinon (10).

**d) Identifikasi saponin**

Sebanyak 3 g ekstrak ditambahkan 10 ml air suling panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm, dan pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N, buih tidak hilang (10).

**e) Identifikasi alkaloid**

Tiga gram ekstrak dipekatkan di atas penangas air kemudian ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N. Filtrat dibagi menjadi lima bagian pada kaca arloji dan ditambahkan pereaksi Mayer LP, Bouchardat LP, Dragendorff LP, dan solutio iodii LP (10).

Pada penambahan Mayer LP, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan menggumpal berwarna putih atau kuning yang larut dalam metanol P, sedangkan dengan Bouchardat LP terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam (10).

Penambahan Dragendorff LP memberikan hasil positif jika terbentuk endapan merah bata, sedangkan dengan solutio iodii LP, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan coklat (10).

## **2) Pola kromatogram**

Pola kromatogram dari ekstrak etanol daun asam jawa dapat diperoleh melalui kromatografi lapis tipis menggunakan berbagai jenis fase gerak yang sesuai dengan kandungan kimia yang akan dianalisis.

### **a) Pembuatan larutan uji**

Sebanyak 0,1 gram ekstrak dihidrolisis dalam suasana asam dilakukan dengan asam klorida 2 N sebanyak 10 ml selama setengah jam. Larutan yang diperoleh didinginkan dan disaring sebelum diekstraksi. Filtrat diekstraksi dua kali masing-masing dengan 5 ml eter. Fase eter digabung kemudian diuapkan di penangas air sampai kering. Sisa penguapan dilarutkan dalam metanol P (21).

### **b) Mencari fase gerak yang baik**

Sebanyak 20  $\mu$ l larutan uji ditotolkan pada lempeng kromatografi lapis tipis silika gel GF<sub>254</sub> kemudian dielusi dengan berbagai fase gerak hingga

diperoleh pemisahan yang baik. Fase gerak yang digunakan antara lain n-butanol-asam asetat glasial-air (4:1:5), kloroform-etil asetat (1:1), kloroform-metanol (1:5), kloroform-metanol-air (80:12:2). Hasil elusi diamati di bawah sinar ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Kemudian lempeng kromatografi disemprot dengan penampak bercak besi (III) klorida 10% dalam aquadest. Hasil penyemprotan diamati di bawah sinar ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Fase gerak yang memberikan pemisahan yang paling baik digunakan untuk percobaan selanjutnya.

c) Pembuatan pola kromatogram

Sebanyak 20 µl larutan uji ditotolkan pada lempeng kromatografi lapis tipis silika gel GF<sub>254</sub> kemudian dielusi dengan fase gerak terpilih. Hasil elusi diamati dengan sinar ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Pola kromatogram diperoleh dengan kromatografi lapis tipis densitometer pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

### 3) Penetapan kadar fenol total

Metode penetapan fenol total secara spektrofotometri menggunakan reagen Folin Ciocalteu metode oleh Singleton-Rossi *et al.*, (30) dengan modifikasi panjang gelombang maksimum seperti diuraikan oleh Sukma (31).

a) Penetapan waktu optimum dan serapan maksimum asam galat

Dibuat larutan induk asam galat dengan konsentrasi 172 ppm. Sebanyak 1,0 ml larutan asam galat 172 ppm dipipet ke dalam labu takar

10,0 ml dan ditambahkan 500  $\mu$ l pereaksi Folin Ciocalteu, dikocok selama 1 menit. Sebelum menit ke-8 ditambahkan 4,0 ml natrium karbonat 7,5%, lalu dikocok selama 1 menit, kemudian ditambahkan aquadest hingga batas ukur dan dihomogenkan. Serapan dibaca dengan spektrofotometer sinar tampak dari panjang gelombang 800 nm hingga 400 nm pada menit ke-60, 90, 120, dan 150.

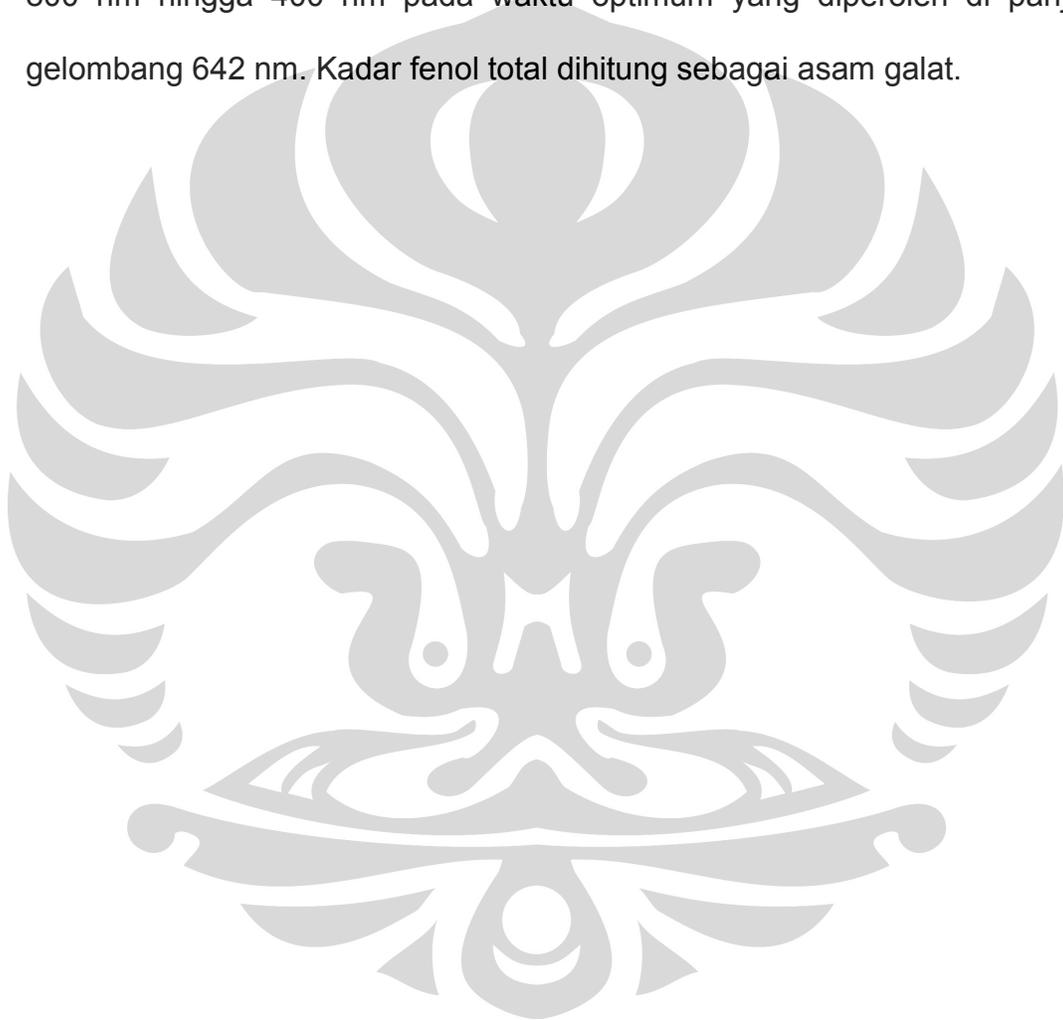
b) Pembuatan kurva kalibrasi

Dibuat larutan asam galat dalam air suling konsentrasi 172 ppm. Sebanyak 1,0 ml; 2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml; 5,0 ml; larutan asam galat 172 ppm dipipet ke dalam 5 labu ukur 10,0 ml. Selanjutnya ditambahkan 500  $\mu$ l pereaksi Folin Ciocalteu, dikocok selama 1 menit. Sebelum menit ke-8 ditambahkan 4,0 ml natrium karbonat 10%, lalu dikocok selama 1 menit, kemudian ditambahkan aquadest hingga batas ukur dan dihomogenkan. Serapan dibaca dengan spektrofotometer sinar tampak dari panjang gelombang 800 nm hingga 400 nm pada waktu optimum yang diperoleh di panjang gelombang 642 nm.

c) Penetapan kadar fenol total sampel

Ekstrak etanol daun asam jawa ditimbang seksama sejumlah 200 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml. Ekstrak dilarutkan dengan aquadest menggunakan ultrasonik selama 30 menit. Didinginkan kemudian larutan ekstrak disaring dengan kertas Millipore<sup>®</sup>. Larutan supernatan dipipet sebanyak 5,0 ml dan dipindahkan ke labu ukur 10 ml. Selanjutnya

ditambahkan 500  $\mu$ l reagen Folin-Ciocalteu, dikocok selama 1 menit. Sebelum menit ke-8 ditambahkan 4,0 ml natrium karbonat 10%, lalu dikocok selama 1 menit kemudian ditambahkan aquades hingga batas ukur. Serapan dibaca dengan spektrofotometer sinar tampak dari panjang gelombang 800 nm hingga 400 nm pada waktu optimum yang diperoleh di panjang gelombang 642 nm. Kadar fenol total dihitung sebagai asam galat.





## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil**

##### **1. Penyiapan simplisia**

Daun asam jawa yang digunakan berasal dari tiga daerah yaitu Depok (kode DAJD), Tawangmangu (kode DAJT), dan Bekasi (DAJB). Gambar tumbuhan asam jawa dan simplisia daun asam jawa dapat dilihat pada Gambar 2 dan 3. Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 2. Bahan yang digunakan untuk masing-masing daerah sebesar 300 g dengan ukuran serbuk 100 mesh.

##### **2. Uji pendahuluan (pemilihan pelarut yang tepat)**

Uji pendahuluan yang dilakukan dengan mengekstraksi serbuk daun asam jawa menggunakan pelarut air, etanol 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, dan 96%, memberikan nilai rendemen seperti yang tertera pada Tabel 1. Pelarut yang dipilih untuk pembuatan ekstrak yaitu etanol 50%.

##### **3. Pengujian terhadap ekstrak daun asam**

###### **a. Rendemen**

Pada proses ekstraksi secara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 50%, rendemen yang diperoleh untuk daerah Depok sebesar 30,07%, Tawangmangu 39,12 %, dan Bekasi 25,27%. Rendemen berkisar antara 25,27-39,12%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2.

**b. Parameter spesifik****1) Identitas ekstrak**

Identitas dari ekstrak etanol daun asam jawa meliputi:

Nama Latin tumbuhan : *Tamarindus indica* L.

Nama Indonesia tumbuhan : Asam jawa

Bagian yang digunakan : Daun asam jawa/*Tamarindus indica* folium

Nama ekstrak : Extractum Tamarindi folium spissum

**2) Organoleptik**

Hasil uji organoleptik terhadap ekstrak etanol daun asam jawa yaitu:

Bentuk ekstrak : ekstrak kental

Warna ekstrak : coklat hingga coklat-kehitaman

Bau ekstrak : khas/spesifik

Rasa ekstrak : asam

Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 3.

**3) Senyawa terlarut dalam pelarut tertentu****a) Kadar senyawa terlarut dalam air**

Pada uji senyawa terlarut dalam air yang dilakukan terhadap ekstrak etanol daun asam jawa, diperoleh kadar sebesar 58,68-69,55%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.

b) Kadar senyawa terlarut dalam etanol

Pada uji senyawa terlarut dalam etanol yang dilakukan terhadap ekstrak etanol daun asam jawa, diperoleh kadar sebesar 51,20-52,92%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 5.

**c. Parameter non spesifik**

**1) Susut pengeringan**

Susut pengeringan ekstrak etanol daun asam jawa berkisar antara 16,00-25,80%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 6.

**2) Kadar air**

Kadar air ekstrak etanol daun asam jawa berkisar antara 10,15-18,03%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 7.

**3) Kadar abu**

a) Kadar abu total

Kadar abu total ekstrak etanol daun asam jawa berkisar antara 4,40-4,84%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 8.

b) Kadar abu yang tidak larut asam

Kadar abu yang tidak larut asam ekstrak etanol daun asam jawa berkisar antara 1,52-2,18%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 9.

#### **4) Sisa pelarut**

Uji sisa pelarut etanol pada ekstrak dari ketiga ekstrak yang berasal dari daerah berbeda memberikan hasil kurang dari 1%. Kromatogram kromatografi gas etanol 1% dapat dilihat pada Gambar 10. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 10. Sertifikat hasil uji sisa pelarut (etanol) ekstrak etanol daun asam jawa dapat dilihat pada Lampiran 3.

#### **5) Logam berat**

Hasil uji cemaran logam berat terhadap Pb dan Cd dari ketiga ekstrak yang berasal dari daerah berbeda memberikan nilai kurang dari 0,01  $\mu\text{g/g}$ . Sedangkan cemaran logam berat Hg memberikan nilai kurang dari 0,001  $\mu\text{g/g}$ . Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 11. Serapan SSA pada uji Pb, Cd, dan Hg dari ekstrak daun asam jawa dapat dilihat pada Tabel 12. Sertifikat hasil uji cemaran logam berat ekstrak etanol daun asam jawa dapat dilihat pada Lampiran 4.

#### **d. Uji kimia**

##### **1) Identifikasi kimia**

Dari beberapa identifikasi kimia yang dilakukan, diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol daun asam jawa mengandung flavonoida, tanin, saponin, dan glikosida. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 13.

## 2) Pola kromatogram

Setelah dilakukan percobaan dengan beberapa fase gerak, dipilih fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) karena memberikan pemisahan yang baik. Pengamatan diamati sebelum lempeng disemprot dengan penampak bercak pada sinar tampak, sinar UV 254 nm, dan 366 nm. Pengamatan juga dilakukan pada sinar tampak setelah lempeng disemprot dengan penampak bercak  $\text{FeCl}_3$  10% dalam air disertai pemanasan.

Hasil yang diperoleh, sebelum lempeng disemprot dengan penampak bercak  $\text{FeCl}_3$  10% terdapat 2 bercak pada sinar tampak (Gambar 11). Pada sinar UV 254 nm dan 366 nm masing-masing terdapat 5 bercak dan 9 bercak (Gambar 12 dan 13). Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 14.

Setelah lempeng disemprot dengan penampak bercak  $\text{FeCl}_3$  10% dan dipanaskan  $105^\circ\text{C}$  selama 30 detik terdapat 4 bercak pada sinar tampak (Gambar 14). Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 15.

Pola kromatogram juga diperoleh dengan melihat spektrum serapan dengan densitometer pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Hasil pengamatan dengan densitometer menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun asam jawa dari daerah yang berbeda (Depok, Tawangmangu, Bekasi) memiliki pola spektrum serapan yang hampir sama dengan intensitas yang berbeda-beda (Gambar 15 dan 16).

### 3) Penetapan kadar fenol total

Pada penetapan kadar fenol total dengan metode spektrofotometri menggunakan reagen Folin Ciocalteu, diperoleh hasil yang menunjukkan bahwa kandungan fenol total pada ekstrak etanol daun asam jawa asal Depok 0,35%; Tawangmangu 8,24%, dan Bekasi 0,42%. Optimasi waktu inkubasi dan penentuan panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada Tabel 16 dan 17. Serapan asam galat pada beberapa konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 18. Hasil kadar fenol total ekstrak daun asam jawa selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 19. Cara perhitungan kadar fenol total dapat dilihat di Lampiran 7.

## **B. Pembahasan**

### **1. Penyiapan bahan uji**

Pada penelitian ini, bahan uji yang digunakan adalah daun asam jawa yang dikumpulkan dari tiga daerah yang berbeda. Hal ini bertujuan untuk melihat seberapa jauh perbedaan yang ditimbulkan oleh ketinggian tempat, kelembaban, dan suhu udara suatu daerah dalam beberapa pengujian sehingga dapat diberikan batasan-batasan tertentu terhadap kandungan ekstrak yang dihasilkan. Ketiga lokasi yang dipilih yaitu Depok, Tawangmangu, dan Bekasi diharapkan dapat mewakili keberagaman daerah di Indonesia.

Setelah dideterminasi di Pusat Penelitian Biologi LIPI, penelitian dimulai dengan penyiapan simplisia daun asam jawa. Daun yang berasal dari Depok dan Bekasi diperoleh dalam bentuk basah. Oleh karena itu dilakukan pengeringan dengan cara diangin-anginkan dalam ruangan yang tidak terkena sinar matahari langsung. Hal ini bertujuan untuk menjaga senyawa-senyawa kimia yang terdapat di dalam simplisia tidak rusak. Daun yang berasal dari Tawangmangu diperoleh telah dalam bentuk kering sehingga langsung dapat dipisahkan dari pengotornya. Simplisia dikatakan kering apabila daun telah cukup rapuh ketika diremas.

Pengeringan sangat penting dilakukan untuk mendapatkan simplisia yang awet, tidak mudah rusak, dan dapat digunakan atau disimpan dalam jangka waktu lama. Melalui pengeringan simplisia, kandungan air yang terdapat di dalamnya akan berkurang sehingga terjadinya pertumbuhan jamur dan reaksi enzimatik yang dapat menurunkan mutu simplisia dapat dicegah.

Ekstraksi daun asam jawa yang dilakukan secara maserasi dengan pengocokan yang berkesinambungan pada suhu kamar. Pengocokan diperlukan untuk meratakan konsentrasi larutan yang berada di luar serbuk simplisia, sehingga adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel tetap terjaga dengan adanya pengocokan tersebut. Metode ini dipilih karena selain pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana, cara ini juga mencegah agar senyawa-senyawa yang terdapat

dalam simplisia tidak rusak seperti akibat pemanasan bila digunakan metode lain yang disertai dengan pemanasan (2).

Berdasarkan hasil uji pendahuluan pemilihan pelarut yang dilakukan, peneliti memutuskan untuk menggunakan pelarut etanol 50%. Serbuk simplisia daun asam jawa (300 g) diesktraksi pada suhu kamar dengan pelarut etanol 50% dengan perbandingan simplisia-pelarut 1:10. Pelarut ini dipilih karena menyari ekstrak dalam jumlah banyak. Jika melihat persentase rendemen dari beberapa konsentrasi pelarut etanol, maka etanol 50% menduduki urutan ke-4 terbesar pelarut yang efektif menarik ekstrak. Urutan yang menunjukkan penarikan ekstrak dari jumlah yang terbanyak yaitu: etanol 96%, etanol 20%, etanol 10%, dan etanol 50%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Pelarut etanol 96% digunakan tanpa campuran sebagai pelarut hanya apabila dibutuhkan, karena harganya lebih mahal dari pada campuran etanol-air. Di samping itu, klorofil banyak ditarik oleh etanol dengan kadar tinggi yang dapat mengganggu dalam identifikasi kimia.

Air sebagai pelarut utama tidak digunakan karena banyak kekurangannya dan jarang digunakan. Pada umumnya zat aktif tumbuh-tumbuhan merupakan senyawa kimia organik yang kompleks dan kurang larut dalam air dari pada dalam alkohol. Selain itu, ekstraksi menggunakan pelarut air yang lebih dominan menyebabkan tingginya kandungan

karbohidrat dan protein. Hal ini dikhawatirkan menjadi media pertumbuhan yang baik bagi jamur dan bakteri yang menyebabkan ekstrak rusak karena terjadinya reaksi enzimatik. Secara keseluruhan dapat disimpulkan bahwa zat aktif maupun zat tidak aktif lebih banyak terlarut dalam air dengan campuran etanol lebih sedikit (lebih polar).

Pelarut etanol 50% dipilih dengan pertimbangan lebih efisien dalam proses penguapan pelarut di samping merupakan pelarut yang memberikan rendemen ke-4 terbesar. Dari hasil pengujian diketahui bahwa rendemen terbesar diperoleh simplisia yang berasal dari daerah Tawangmangu yang mencapai 39,12%. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Rendemen yang dihasilkan erat kaitannya dengan lamanya waktu ekstraksi dan derajat kehalusan serbuk simplisia yang dihasilkan. Semakin lama waktu ekstraksi, semakin tinggi rendemen yang dihasilkan karena kesempatan bersentuhan antara bahan dengan pelarut semakin lama. Demikian halnya dengan kehalusan bahan, semakin halus bahan yang digunakan, semakin tinggi rendemen yang dihasilkan. Hal ini mungkin karena permukaan bahan semakin luas sehingga memperbesar terjadinya kontak antara partikel serbuk dengan pelarut (32).

Akan tetapi, serbuk yang terlalu halus menimbulkan kesulitan dalam proses penyaringan karena partikel serbuk menutupi pori-pori kertas saring. Oleh sebab itu, peneliti melakukan maserasi selama 24 jam dengan

beberapa kali pengocokan selama 6 jam yang dilakukan sebanyak 5 kali dan derajat kehalusan yang sama untuk semua bahan yaitu 100 mesh. Diharapkan ekstrak telah tersari sempurna. Ekstrak etanol dipisahkan dengan penguap vakum putar, kemudian penguapan dilanjutkan di atas penangas air, sehingga diperoleh ekstrak etanol daun asam jawa yang kental (75-120 g).

Pada penelitian ini, ekstrak etanol daun asam jawa hanya diuji untuk beberapa parameter spesifik dan non spesifik saja. Karena keterbatasan waktu, peneliti tidak menguji residu pestisida dan uji cemaran mikroba. Namun, penentuan parameter-parameter tersebut mutlak harus dilakukan dalam upaya mendapatkan ekstrak yang terstandar, memiliki kualitas yang baik, dan memberikan rasa aman pada masyarakat.

## **2. Parameter spesifik**

### **a. Organoleptik**

Pada hasil uji organoleptik yaitu pengamatan melalui panca indra yang dilakukan terhadap ekstrak yang berasal dari ketiga daerah, terdapat sedikit perbedaan pada bentuk dari ekstrak tersebut. Hal ini diperlihatkan oleh ekstrak etanol daun asam jawa asal Tawangmangu yang lebih kental dari pada ekstrak yang berasal dari dua daerah lainnya sehingga lebih lengket dan sulit untuk diambil dari wadah penyimpanannya. Hal ini berbeda dengan ekstrak yang berasal dari Depok dan Bekasi yang berbentuk bongkahan-bongkahan dan tidak terlalu lengket. Ketiga ekstrak yang berasal dari daerah

yang berbeda tersebut memiliki warna yang sama yaitu coklat hingga coklat kehitaman, berbau khas, dan mempunyai rasa yang asam.

b. Senyawa terlarut dalam pelarut tertentu

Pengujian senyawa yang terlarut dalam air dan etanol bertujuan untuk mengetahui jumlah senyawa yang terlarut dalam air dan etanol. Dari percobaan yang dilakukan ternyata senyawa yang terlarut dalam air lebih besar dari pada senyawa yang terlarut dalam etanol. Hal ini juga ditunjukkan pada uji pendahuluan dimana ekstraksi menggunakan pelarut yang lebih banyak kandungan airnya menghasilkan rendemen yang lebih besar. Oleh karena kandungan daun asam jawa mayoritas adalah senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran yang tinggi seperti asam-asam organik, glikosida, dan tanin (5,7,15) sehingga jumlah yang terlarut dalam air lebih banyak dibandingkan senyawa yang terlarut dalam etanol.

### **3. Parameter non spesifik**

a. Susut pengeringan

Berdasarkan hasil yang diperoleh, ternyata nilai susut pengeringan ekstrak etanol daun asam jawa tidak identik dengan kadar air. Hal ini karena adanya kandungan minyak atsiri atau senyawa mudah menguap lainnya dalam ekstrak yaitu limonene dan benzil benzoat (5,7,8). Makin tinggi nilai susut pengeringan maka makin sulit memperoleh ekstrak dalam bentuk kering. Kisaran susut pengeringan ekstrak etanol daun asam jawa

16,00-25,80% (Tabel 6). Diperoleh hasil nilai susut pengeringan yang berbeda jauh antara ekstrak etanol daun asam asal Tawangmangu dengan yang berasal dari Depok dan Bekasi karena adanya perbedaan jumlah kandungan senyawa yang mudah menguap pada masing-masing ekstrak.

b. Kadar air

Hasil menunjukkan bahwa kadar air ekstrak etanol daun asam jawa dari ketiga daerah berbeda-beda. Hal ini mungkin disebabkan perbedaan keadaan geografis di ketiga daerah asal simplisia. Tawangmangu berada di daerah ketinggian yang memiliki kelembaban lebih tinggi dari pada Depok dan Bekasi yang suhu udaranya cenderung lebih panas. Akibatnya, kandungan air ekstrak etanol daun asam jawa asal Tawangmangu lebih tinggi dibanding ekstrak asal Depok dan Bekasi. Nilai kadar air berkisar antara 10,15-18,03% (Tabel 7).

Selain dipengaruhi faktor keadaan geografis daerah asal simplisia, air dapat juga berasal dari proses ekstraksi atau penyerapan uap air dari udara, baik pada saat penyimpanan simplisia maupun ekstrak. Pada saat setelah pengeringan di oven yang bersuhu  $105^{\circ}\text{C}$ , ekstrak mengembang hingga melebihi mulut wadah. Hal ini menyebabkan wadah tidak dapat ditutup. Jika diamati terlihat adanya lubang-lubang kecil pada sisa pengeringan akibat adanya uap air yang terperangkap dalam ekstrak pada saat pemanasan.

### c. Kadar abu

Penetapan kadar abu dengan cara ekstrak kental dipanaskan pada temperatur  $800 \pm 25^\circ\text{C}$  dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap, sehingga yang tertinggal hanya unsur mineral dan anorganik. Berdasarkan hasil yang diperoleh, diketahui bahwa kadar abu total dan kadar abu yang tidak larut asam yang diperoleh dari masing-masing daerah tidak jauh berbeda. Kisaran kadar abu total adalah 4,40-4,84% (Tabel 8), sedangkan kisaran kadar abu yang tidak larut dalam asam adalah 1,52-2,18% (Tabel 9). Hal ini berarti kemungkinan terjadinya kontaminasi saat pembuatan ekstrak sangat kecil. Semakin rendah kadar abu maka semakin tinggi kemurnian suatu bahan baku yang berarti semakin baik kualitasnya.

Hasil kadar abu total terbesar diperoleh pada ekstrak etanol daun asam jawa asal Bekasi sedangkan kadar abu yang tidak larut asam terbesar diperoleh pada ekstrak etanol daun asam jawa asal Bekasi. Hal ini menunjukkan perbedaan kandungan mineral dan anorganik ekstrak etanol daun asam jawa dari tiap daerah.

### d. Sisa pelarut

Mengacu pada peraturan yang dikeluarkan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan bahwa sisa pelarut yang diperbolehkan dalam ekstrak tidak lebih besar dari 1% (33). Penetapan sisa pelarut etanol

dilakukan di Laboratorium Afiliasi Kimia Departemen Kimia FMIPA UI dengan menggunakan alat kromatografi gas. Kadar sisa pelarut etanol dalam ekstrak etanol daun asam jawa asal Depok 32,33 ppm, Tawangmangu 19,25 ppm, dan Bekasi 24,65 ppm. Dari hasil yang diperoleh tersebut maka ekstrak kental telah memenuhi persyaratan untuk digunakan sebagai bahan obat tradisional. Hal ini menunjukkan penguapan ekstrak yang dilakukan cukup baik dan ekstrak tidak terkontaminasi selama proses pembuatan.

e. Uji logam berat

Uji logam berat terhadap logam timbal (Pb), kadmium (Cd), dan merkuri (Hg) dilakukan secara spektrofotometri serapan atom di Laboratorium Afiliasi Kimia Departemen Kimia FMIPA UI. Metode analisis ini dipilih karena bersifat cepat, selektif, sensitif, dan mempunyai akurasi yang tinggi.

Sampel pertama-tama harus dilarutkan yang bertujuan untuk membuat unsur logam menjadi ion logam yang bebas. Logam timbal, kadmium maupun merkuri larut dalam suasana asam, sehingga dalam hal ini sampel ditambahkan asam sulfat pekat. Proses pelarutan ini dikenal dengan istilah destruksi. Hasil destruksi kemudian dilarutkan. Larutan sampel dimasukkan ke dalam nyala dalam bentuk aerosol yang selanjutnya akan membentuk atom-atomnya. Khusus untuk logam merkuri karena merupakan logam yang mudah menguap maka menggunakan metode SSA uap dingin dengan menggunakan alat pembentuk uap merkuri.

Hasil yang diperoleh menunjukkan ekstrak memenuhi persyaratan sebagai bahan obat tradisional karena logam berat yang terkandung di dalam ekstrak lebih kecil dari 0,01 ppm untuk timbal dan kadmium, dan lebih kecil dari 0,001 ppm untuk merkuri. Hal ini menandakan ekstrak aman untuk digunakan.

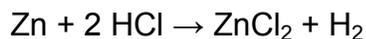
#### 4. Uji kimia

##### a. Identifikasi kimia

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa ekstrak etanol daun asam jawa mengandung flavonoida, tanin, glikosida, dan saponin. Uji kandungan secara kimia memperlihatkan hasil yang negatif terhadap alkaloid, glikosida jantung, dan glikosida antrakinon.

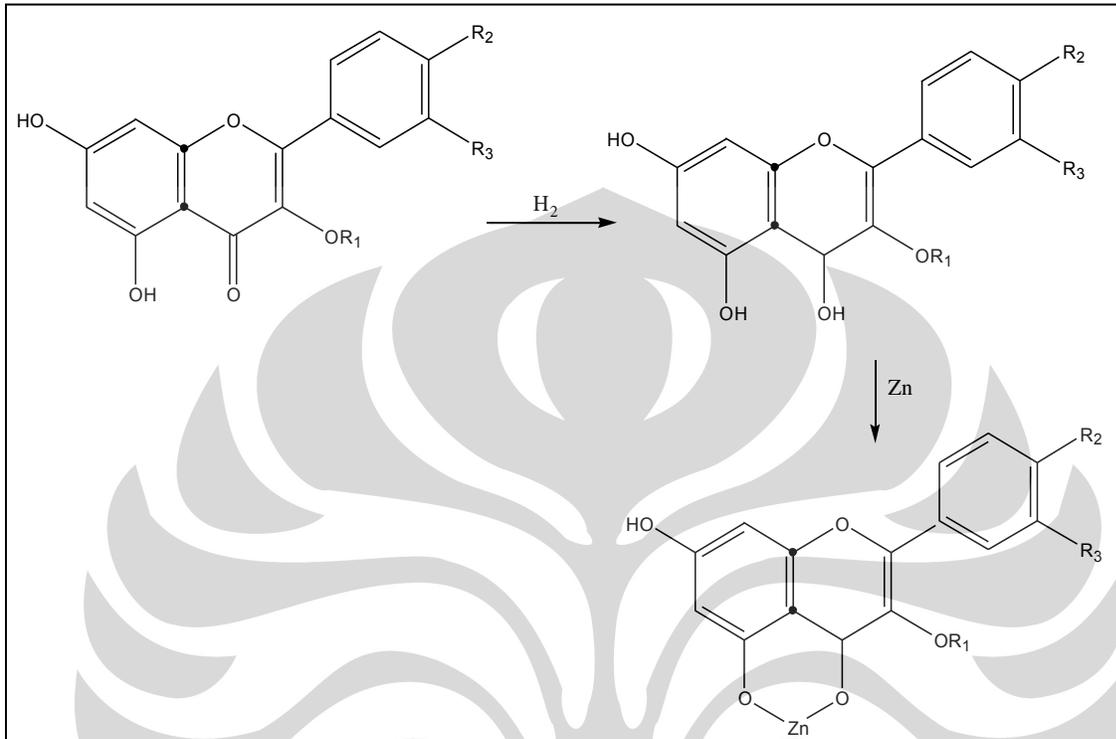
Pengujian flavonoid dibuktikan melalui reaksi reduksi dengan reduktor serbuk Zn ditambah asam klorida encer (2N) dan asam klorida pekat yang menghasilkan warna merah intensif. Pada reaksi reduksi dengan reduktor serbuk Mg dan asam klorida pekat menghasilkan warna merah jingga. Pada penambahan asam borat dan asam oksalat terjadi fluoresensi kuning kehijauan di bawah sinar UV 366 nm. Ketiga hal ini menunjukkan adanya flavonoid dalam ekstrak etanol daun asam jawa.

- Reaksi reduksi dengan reduktor Zn-HCl



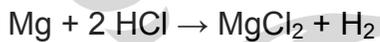
Gas hidrogen yang dihasilkan terlihat dari timbulnya gelembung-gelembung gas. Reduksi dengan logam Zn dan asam klorida menyebabkan terjadinya

perubahan warna menjadi merah intensif. Kelebihan Zn akan menyebabkan terbentuknya garam fenolat (34).

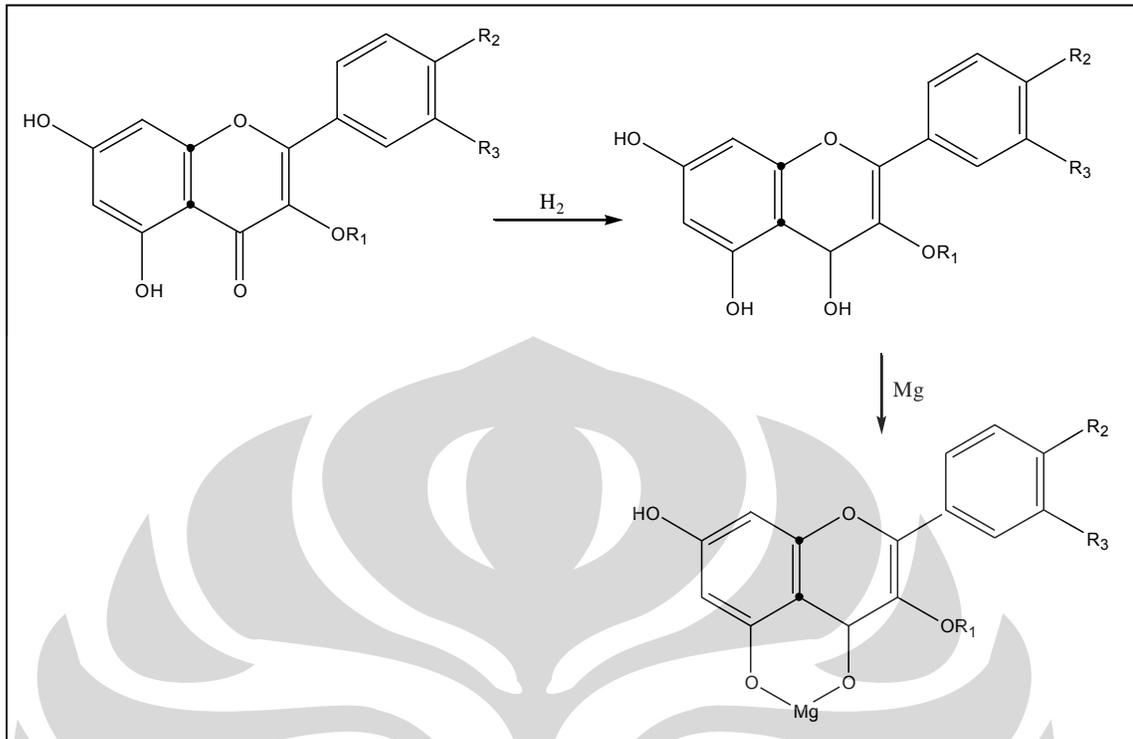


Gambar 2. Reaksi identifikasi flavonoid dengan cara reduksi Zn-HCl (34)

- Reaksi reduksi dengan reduktor Mg-HCl



Reaksi reduksi dengan reduktor Mg hanya membutuhkan asam klorida pekat. Hal ini disebabkan karena Mg merupakan reduktor yang lebih kuat dari pada Zn sehingga Zn lebih mudah direduksi dari pada Mg. Reaksi reduksi dengan Mg lebih cepat dan lebih sensitif dibandingkan reaksi reduksi dengan Zn.



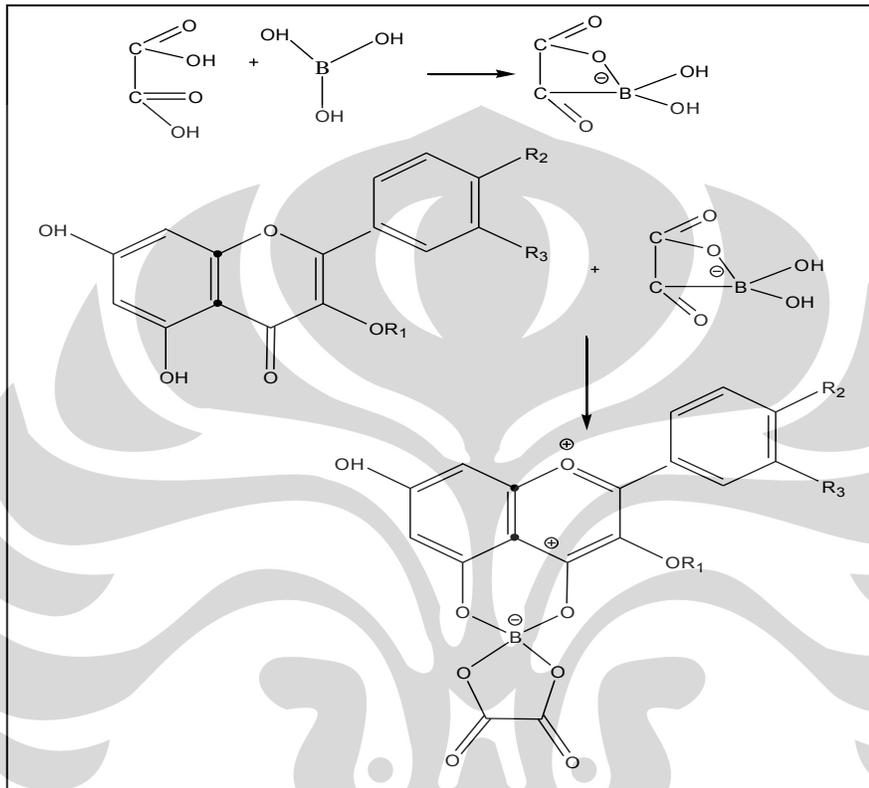
Gambar 3. Reaksi identifikasi flavonoid dengan cara reduksi Mg-HCl (34)

- Kompleks oksaloborat

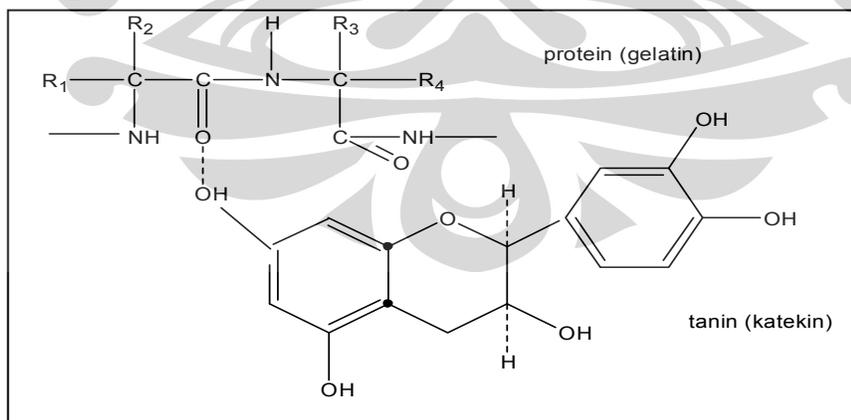
Ekstrak yang ditambahkan aseton kemudian membentuk senyawa kompleks dengan adanya penambahan asam borat dan asam oksalat. Kompleks ini memberikan serapan pada daerah UV yaitu berfluoresensi kuning kehijauan di bawah sinar UV 366 nm. Reaksi kimia diperlihatkan pada Gambar. 4.

Untuk pengujian adanya tanin dibuktikan dengan penambahan larutan gelatin 10% pada larutan uji yang menunjukkan terbentuknya endapan putih. Hasil yang sama juga ditunjukkan pada penambahan larutan natrium klorida-gelatin. Dalam hal ini, antara tanin dan gelatin terjadi reaksi yang membentuk kopolimer mantap (endapan) yang tidak larut air. Kopolimer yang terbentuk diperlihatkan pada Gambar 5. Penambahan larutan dengan natrium klorida

menyebabkan larutan menjadi jenuh sehingga gelatin menjadi lebih mudah mengendap. Dengan kata lain selain terjadi pengendapan oleh protein juga terjadi proses *salting out* oleh natrium klorida.



Gambar 4. Reaksi identifikasi flavonoid dengan cara fluoresensi (34)



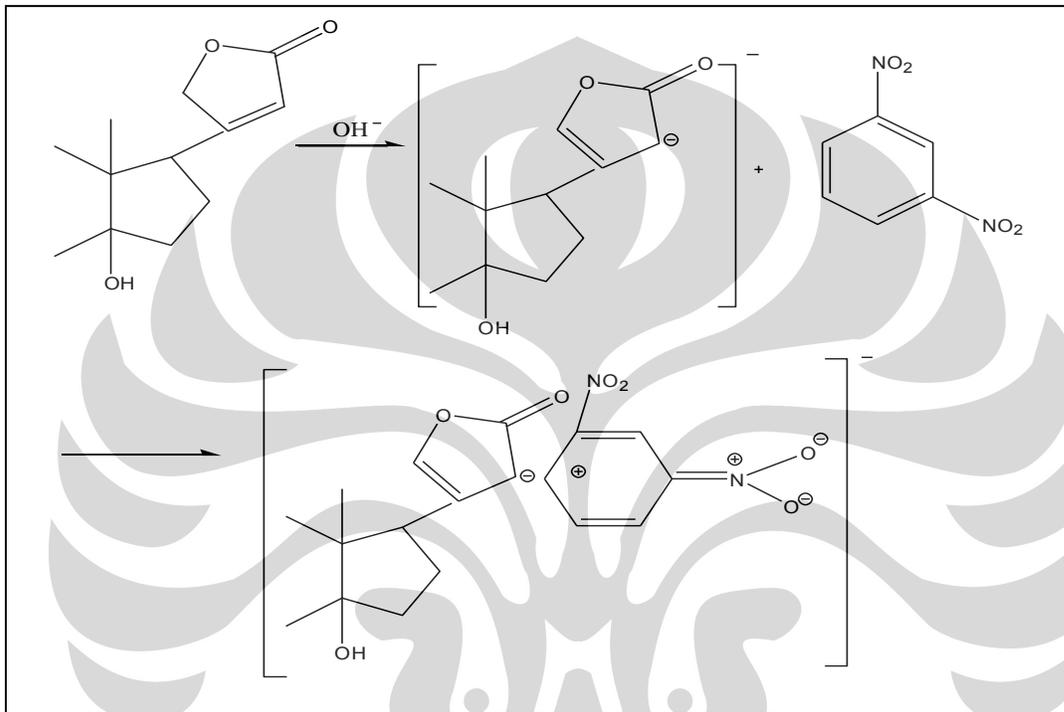
Gambar 5. Kopolimer tanin dengan protein (35)

Uji lainnya yaitu dengan larutan besi (III) klorida LP yang merupakan reagen untuk identifikasi senyawa fenol. Tanin merupakan senyawa fenol sehingga akan bereaksi dengan besi (III) klorida membentuk kompleks yang berwarna. Warna yang diberikan tanin dapat dibedakan menjadi 2 macam, yaitu: tanin terkondensasi memberikan warna hijau atau hijau kecoklatan dan tanin terhidrolisis memberikan warna biru tua sampai biru kehitaman (28). Uji ekstrak etanol daun asam jawa memberikan hasil positif dengan terbentuknya kompleks larutan biru kehitaman. Hal ini menunjukkan adanya tanin golongan tanin terhidrolisis. Demikian pula pada pengujian dengan penambahan timbal (II) asetat LP yang memberikan hasil positif dengan terbentuknya endapan putih.

Dari uji glikosida yang dilakukan, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin ungu pada batas cairan dengan menggunakan pereaksi Molisch LP dan asam sulfat pekat. Hal ini menunjukkan adanya senyawa glikosida pada ekstrak etanol daun asam jawa. Dalam hal ini, disakarida, trisakarida, dan polisakarida akan dihidrolisis menjadi monosakarida. Selanjutnya, monosakarida akan mengalami dehidrasi. Akibatnya pentosa akan diubah menjadi furfural dan heksosa diubah menjadi hidroksi metil furfural. Dengan penambahan  $\alpha$ -naftol, zat tersebut memberikan warna pink sampai violet yang menunjukkan adanya karbohidrat.

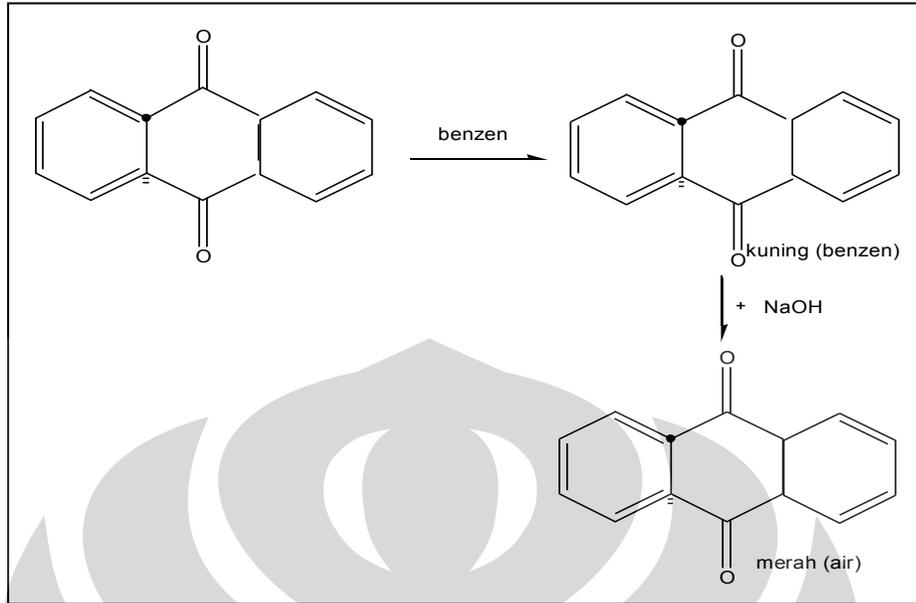
Identifikasi glikosida jantung dilakukan dengan menggunakan pereaksi Baljet, Kedde, dan Keller Kiliani. Pereaksi Baljet dan Kedde digunakan untuk mengidentifikasi adanya glikosida jantung dengan cara menguji adanya

cincin lakton pada glikosidanya. Jika positif, dengan pereaksi Baljet akan terbentuk warna jingga setelah beberapa menit karena terbentuk senyawa meisenheimer. Begitu juga dengan pereaksi Kedde, jika positif akan terbentuk senyawa meisenheimer berwarna merah sampai biru.



Gambar 6. Reaksi pembentukan senyawa meisenheimer oleh pereaksi Kedde (34)

Uji glikosida antrakuinon dilakukan dengan menarik antrakuinon yang telah terlepas dari glikonnya menggunakan benzen, karena antrakuinon hanya larut dalam pelarut non polar. Hasil ekstraksi yang berwarna kuning menunjukkan bahwa antrakuinon telah tertarik ke lapisan benzen. Kemudian hasil penarikan direaksikan dengan natrium hidroksida. Hasil positif ditandai jika terbentuk warna merah pada fase air yang disebabkan karena tertariknya antrakuinon pada fase air (36).



Gambar 7. Reaksi identifikasi glikosida antrakuinon (36)

Dari uji saponin yang dilakukan, pengocokan dengan air panas selama 10 detik membentuk buih yang cukup tinggi  $\pm 2,5$  cm selama 10 menit. Saponin dalam air membentuk larutan koloidal dan bila dikocok berbusa. Pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N, buih yang terbentuk tidak hilang. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun asam jawa mengandung saponin.

#### b. Pola kromatogram

Pembuatan pola kromatogram dilakukan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis. Hal ini dikarenakan metode ini lebih murah, mudah, dan praktis karena menggunakan alat yang sederhana dan untuk pemisahan yang spesifik memerlukan pelarut yang paling sedikit. Karena pengembangan yang cepat dan mudah dari fase gerak, kromatografi lapis tipis merupakan metode kromatografi yang paling mudah untuk senyawa yang spesifik (22).

Pola kromatogram ekstrak dibandingkan dengan pola kromatogram zat pembanding yang ada di dalam ekstrak.

Fase diam yang digunakan adalah fase diam silika gel GF<sub>254</sub> (Merck). Fase diam ini banyak digunakan dan disukai karena merupakan fase diam yang paling aktif dan kemampuan pemisahannya cukup baik. Sebelum digunakan, lempeng diaktifkan dengan pemanasan pada suhu 100°C selama setengah jam.

Berdasarkan tinjauan pustaka yang diperoleh, daun asam jawa mengandung senyawa fenol yang merupakan senyawa metabolit sekunder utama dalam daun asam jawa. Secara *in vitro*, senyawa polifenol dalam ekstrak daun asam jawa menunjukkan aktivitas penghambatan  $\alpha$ -amilase mencapai 90% sehingga dapat digunakan pada terapi diabetes tipe-2 (6). Salah satu senyawa fenol yang terdapat dalam daun asam jawa adalah asam galat. Maka peneliti menggunakan asam galat sebagai pembanding dalam pembuatan pola kromatogram ekstrak.

Peneliti menyiapkan larutan uji yang akan ditotolkan yaitu sebanyak 0,1 gram ekstrak dihidrolisis dalam suasana asam dengan HCl 2 N selama setengah jam. Hidrolisis ini bertujuan membebaskan sejumlah asam fenolat. Larutan yang diperoleh didinginkan dan disaring sebelum diekstraksi. Filtrat diekstraksi dua kali masing-masing dengan 5 ml eter karena senyawa fenolat larut dalam eter. Fase eter digabung kemudian diuapkan di penangas air sampai kering. Sisa penguapan dilarutkan dalam metanol P (21).

Pengembang yang digunakan adalah yang diketahui dari literatur cocok digunakan untuk memisahkan senyawa fenol dari campuran sehingga dapat memisahkan setiap senyawa yang diinginkan. Untuk mencari pemisahan yang baik, maka digunakan beberapa kombinasi fase gerak antara lain: kloroform-metanol (1:5), kloroform-metanol-air (80:12:2), dan beberapa fase gerak lain didasarkan pada adanya senyawa fenol yang terkandung di dalam ekstrak. Akhirnya peneliti memilih fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2). Dipilihnya fase gerak ini karena memberikan pemisahan komponen larutan uji (ekstrak) dengan baik, baik sebelum lempeng disemprot maupun sesudah disemprot dengan penampak bercak.

Sebelum lempeng disemprot, pada pengamatan dengan sinar UV 254 nm terdapat 5 bercak gelap, salah satunya pada Rf 0,17 dan pembanding asam galat Rf 0,19. Setelah disemprot dengan besi (III) klorida 10% dalam air, diperoleh bercak yang berwarna biru tua pada Rf 0,17 dan standar berwarna biru tua pada Rf 0,19. Pereaksi penampak bercak diharapkan cukup spesifik terhadap fenol yang diperiksa sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun asam jawa dari ketiga daerah mengandung asam fenolat dengan membandingkan warna bercak dan Rf yang tidak jauh berbeda dengan pembanding asam galat.

Pengamatan pola kromatogram ekstrak pada sinar UV 254 nm dan 366 nm sebelum lempeng disemprot dengan penampak bercak besi (III) klorida 10% dalam air terlihat 5 bercak gelap hitam yang memiliki nilai Rf

yang sama pada pengamatan di bawah sinar UV 254 nm dengan intensitas yang hampir sama (Gambar 12). Sedangkan di bawah sinar UV 366 nm terlihat 9 bercak (7 diantaranya berfluoresensi) yang memiliki nilai Rf yang sama dengan intensitas yang berbeda-beda. Perbedaan intensitas ini disebabkan oleh kadar komponen kimia yang berbeda-beda karena faktor lingkungan tempat pohon asam tersebut tumbuh. Diantara ketiga ekstrak, ekstrak asal Tawangmangu memiliki intensitas yang paling lemah sedangkan ekstrak asal Bekasi memiliki intensitas yang paling kuat di bawah sinar UV 366 nm (Gambar 13).

Pola kromatogram juga diperoleh dengan melihat spektrum serapan dengan densitometer pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Hasil pengukuran dengan densitometer menunjukkan bahwa ekstrak dari ketiga daerah memiliki pola spektrum serapan yang sama dengan intensitas yang berbeda-beda. Perbedaan ini dikarenakan faktor budi daya tanaman, seperti lingkungan tempat tumbuh, perlakuan selama tumbuh, dan proses pemanenan (2).

Setelah lempeng disemprot dengan penampak bercak besi (III) klorida 10% dalam air dan dipanaskan di oven selama 30 detik terlihat 4 bercak pada pengamatan sinar tampak. Di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm bercak tidak dapat diamati karena penampak bercak memadamkan fluoresensi lempeng yang digunakan. Bercak yang dihasilkan dari ekstrak ketiga daerah terlihat pada sinar tampak berwarna biru lemah dengan Rf 0,17, sedangkan

bercak pembanding asam galat berwarna biru tua dengan Rf 0,19 (Gambar 14).

### c. Penetapan kadar fenol total

Untuk mengetahui kadar fenol total dalam ekstrak etanol daun asam jawa yang dihitung sebagai asam galat, maka dilakukan penetapan kadar secara spektrokolorimetri. Berbagai macam metode dapat digunakan dalam penentuan kadar fenol secara kuantitatif, antara lain pengujian secara kolorimetri, gravimetri, dan titrasi. Metode spektrofotometri sinar tampak dipilih karena selain mudah dan sederhana, pengerjaannya pun tidak memerlukan waktu lama. Kolorimetri biasa digunakan untuk penetapan kadar sediaan dengan konsentrasi rendah.

Metode kolorimetri digunakan untuk menentukan fenol total dalam ekstrak daun asam jawa berdasarkan prinsip oksidasi reduksi. Asam fosfomolibdat-tungstat (kandungan utama dalam reagen Folin Ciocalteu) akan mengoksidasi senyawa fenol dari ekstrak, sedangkan senyawa fenol dari ekstrak akan mereduksi asam fosfomolibdat-tungstat. Reaksi oksidasi reduksi terjadi dalam suasana basa (pH 10) menghasilkan senyawa berwarna biru yang dapat diukur serapannya menggunakan spektrofotometer sinar tampak.

Pengujian dan penetapan kadar secara spektrofotometri memerlukan bahan baku pembanding. Hal ini untuk memastikan bahwa pengukuran serapan dilakukan pada kondisi yang sama untuk zat uji dan zat pembanding,

hingga diperoleh hasil yang teliti dan tepat. Dalam hal ini digunakan standar asam galat karena dengan kadar rendah asam galat memberikan serapan yang tinggi dibanding asam tanat (31). Kelebihan lain asam galat sebagai baku pembanding adalah lebih mudah diperoleh, lebih mudah larut dalam air, dalam bentuk larutan dalam air lebih stabil, dan harga lebih murah.

Uji pendahuluan untuk menentukan waktu inkubasi optimum perlu dilakukan karena terjadi persaingan reaksi yang sangat kompleks antara Folin Ciocalteu, asam galat, dan natrium karbonat. Waktu optimum yang diperoleh dijadikan sebagai lamanya waktu inkubasi agar reaksi terjadi sempurna. Penentuan waktu optimum didasarkan pada waktu yang memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang maksimum yaitu 642 nm. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 17.

Penetapan kadar ini dilakukan dengan cara sejumlah ekstrak (200 mg) dilarutkan dalam 100 ml aquadest. Pelarut ini digunakan karena sifat fenol yang larut dalam air (kecuali beberapa yang memiliki BM tinggi). Kemudian larutan ekstrak disaring dengan kertas saring (Millipore®). Karena penyaring ini tidak mengabsorpsi fenol sehingga tidak mempengaruhi penetapan kadar yang akan dilakukan. Larutan sampel dipipet 5,0 ml ke dalam labu ukur 10 ml. Lalu ditambahkan 500 µl reagen Folin Ciocalteu. Waktu yang optimal untuk bereaksinya sampel dengan reagen adalah 3-8 menit setelah penambahan reagen Folin Ciocalteu (30). Setelah direaksikan, kemudian ditambahkan natrium karbonat 7,5% sebanyak 4,0 ml. Waktu pada

penambahan natrium karbonat ini dihitung sebagai waktu awal. Volume larutan uji dicukupkan dengan aquadest, lalu diinkubasi selama 90 menit. Penetapan kadar dihitung berdasarkan kurva kalibrasi dari lima konsentrasi berbeda yang diukur pada panjang gelombang maksimum.

Pembuatan kurva kalibrasi standar asam galat menghasilkan persamaan regresi linier  $y = 0,175 + 0,005522x$  dengan  $r = 0,907$ . Hasil yang diperoleh yaitu kadar fenol total dalam ekstrak berkisar 0,35-8,24% dihitung sebagai asam galat terhadap berat ekstrak. Dengan kadar fenol tertinggi berada pada ekstrak daun asam asal Tawangmangu mencapai 8,24% sedangkan ekstrak yang berasal dari dua daerah lainnya memiliki kadar fenol yang rendah 0,35% dan 0,42%. Hal ini mungkin disebabkan oleh faktor perbedaan tempat tumbuh dimana daerah Depok dan Bekasi merupakan daerah yang relatif lebih panas dan berada di dataran rendah. Perbedaan ini menyebabkan perbedaan kandungan dan komposisi senyawa fenol yang terdapat di dalam daun asam jawa sehingga perbedaan kadar fenol pada ekstrak daun asam jawa sangat mencolok.

Kadar fenol total yang ditetapkan menurut metode Folin Ciocalteu bukan kadar absolut, tapi prinsipnya berdasarkan kapasitas reduksi dari bahan yang diuji terhadap suatu reduksi ekuivalen dari asam galat. Menurut Singleton dan Rossi beberapa senyawa fenol mempunyai respon yang berbeda dalam pengukuran ini. Respon molar metode ini sebanding dengan jumlah gugus hidroksi fenol dalam substrat dan kapasitas reduksi meningkat jika gugus-gugus hidroksi berada pada posisi para dan orto.



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. Kesimpulan

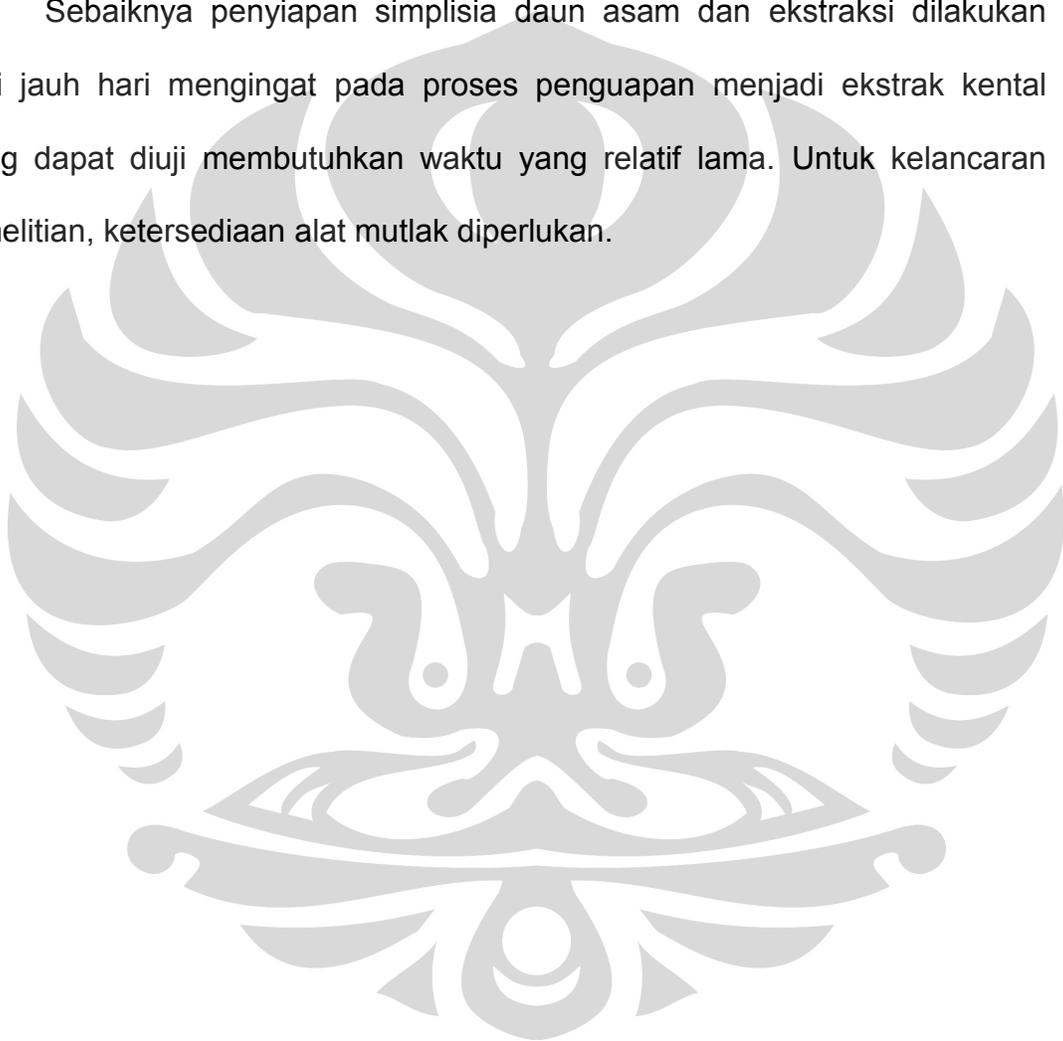
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap ekstrak etanol daun asam jawa, maka dapat disimpulkan :

1. Proses ekstraksi daun asam jawa dengan pelarut terpilih etanol 50% cukup efektif dengan rendemen ekstrak berkisar antara 25,27-39,12%.
2. Parameter spesifik, ekstrak yang dihasilkan merupakan ekstrak kental, berwarna coklat-kehitaman, berbau khas, dan rasa asam; kadar senyawa terlarut dalam air berkisar antara 58,68-69,55%; dan kadar senyawa terlarut dalam etanol berkisar antara 51,20-52,92%.
3. Parameter non spesifik, ekstrak yang dihasilkan memiliki susut pengeringan tidak lebih dari 25,80%; kadar air tidak kurang dari 10,15%; kadar abu total berkisar antara 4,40-4,84% sedangkan kadar abu tidak larut asam berkisar antara 1,52-2,18%; kadar sisa pelarut etanol kurang dari 0,1%; dan cemaran logam berat Pb dan Cd kurang dari 0,01% sedangkan cemaran Hg kurang dari 0,001%.
4. Ekstrak etanol daun asam jawa dari Depok, Tawangmangu, dan Bekasi mengandung flavonoid, tanin, glikosida, dan saponin. Pola kromatogram diperoleh dengan menggunakan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) dan penampak bercak besi (III) klorida 10% dalam air,

terlihat 4 bercak berwarna biru pada sinar tampak. Kadar fenol total berkisar antara 0,35-8,24% dihitung sebagai asam galat.

## **B. Saran**

Sebaiknya penyiapan simplisia daun asam dan ekstraksi dilakukan dari jauh hari mengingat pada proses penguapan menjadi ekstrak kental yang dapat diuji membutuhkan waktu yang relatif lama. Untuk kelancaran penelitian, ketersediaan alat mutlak diperlukan.



## DAFTAR ACUAN

1. Katno dan Pramono, S. 2000. Tingkat manfaat dan keamanan tanaman obat dan obat tradisional.  
<http://www.litbang.depkes.go.id/bpot/keamananTO.pdf>, 28 Juli 2008, pk. 20.12.
2. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. 2000. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta: 2, 4-5, 13-33, 35-36.
3. Verheij, E.W.M. 1991. *PROSEA Plant Resources of South East Asia no.2: Edible fruits and nuts*. Dalam: Coronel, R.E (ed.).1991. PROSEA Foundation. Wageningen: 298-301.
4. Anonim. 1993. *Standard of ASEAN herbal medicine volume I*. ASEAN Countries. Jakarta: 290, 410-419.
5. Williams, J.T. 2006. *Fruits for the future 1 revised edition: Tamarind (Tamarindus indica L.)*. Dalam: Williams, J.T., R.W. Smith, N. Haq & Z. Dunsiger (eds.). 2006. International Center for Underutilised Crops University of Southampton, Southampton: 2-4, 9, 15, 20, 22-23, 31-32.
6. Funke, I. & M.F. Melzig. 2006. Traditionally used plants in diabetes therapy - phytotherapeutics as inhibitors of  $\alpha$ -amylase activity. *Braz. J. Pharmacogn.* **16**(1): 1-5.
7. Ross, I.A. 1999. *Medicinal plants of the world: Chemical constituents, traditional and modern medicinal uses*. Humana Press Inc.. Totowa, New Jersey: 291-296.
8. Pino, J.A., J.C. Escalona, I. Licea, R. Perez & J. Agüero. 2002. Leaf oil of *Tamarindus indica* L. *J. Essent. Oil Res.* **14**(3): 187-188.

9. United States Department of Agriculture. 1986. PLANTS profile for *Tamarindus indica* L. (tamarind). USDA PLANTS. <http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=TAIN2>, 21 Juli 2008, pk. 21.28.
10. Anonim. 1989. *Materia Medika Indonesia jilid V*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta: 470, 472, 549-553.
11. Hutapea, J.R. 1994. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (III)*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta: 287.
12. Diallo, B.O., M.H. Chevallier & M.H. McKey. 2007. Genetic diversity of *Tamarindus indica* populations: Any clues on the origin from its current distribution? *Afr. J. Biotech.* **6(7)**: 853-860.
13. Heyne, K. 1987. *Tumbuhan berguna Indonesia jilid II*. Terj. dari *De nuttige planten van indonesie*, oleh Badan Litbang Kehutanan. Yayasan Sarana Wanajaya. Jakarta: 903-904.
14. Soemardj, A.A. 2007. *Tamarindus indica* L. or "Asam Jawa" : The sour but sweet and useful. Toyama: 1-20.
15. Daniel, M. 2006. *Medicinal plants: Chemistry and properties*. Science Publisher. USA: 210.
16. Doughari, J.H. 2006. Antimicrobial Activity of *Tamarindus indica* Linn. *Trop. J. Pharm. Res.* **5(2)** : 597-603.
17. Heinrich, M. 2004. *Fundamental of Pharmacognosy & Phytotherapy*. Churcill Lingstone. London: 151, 153.

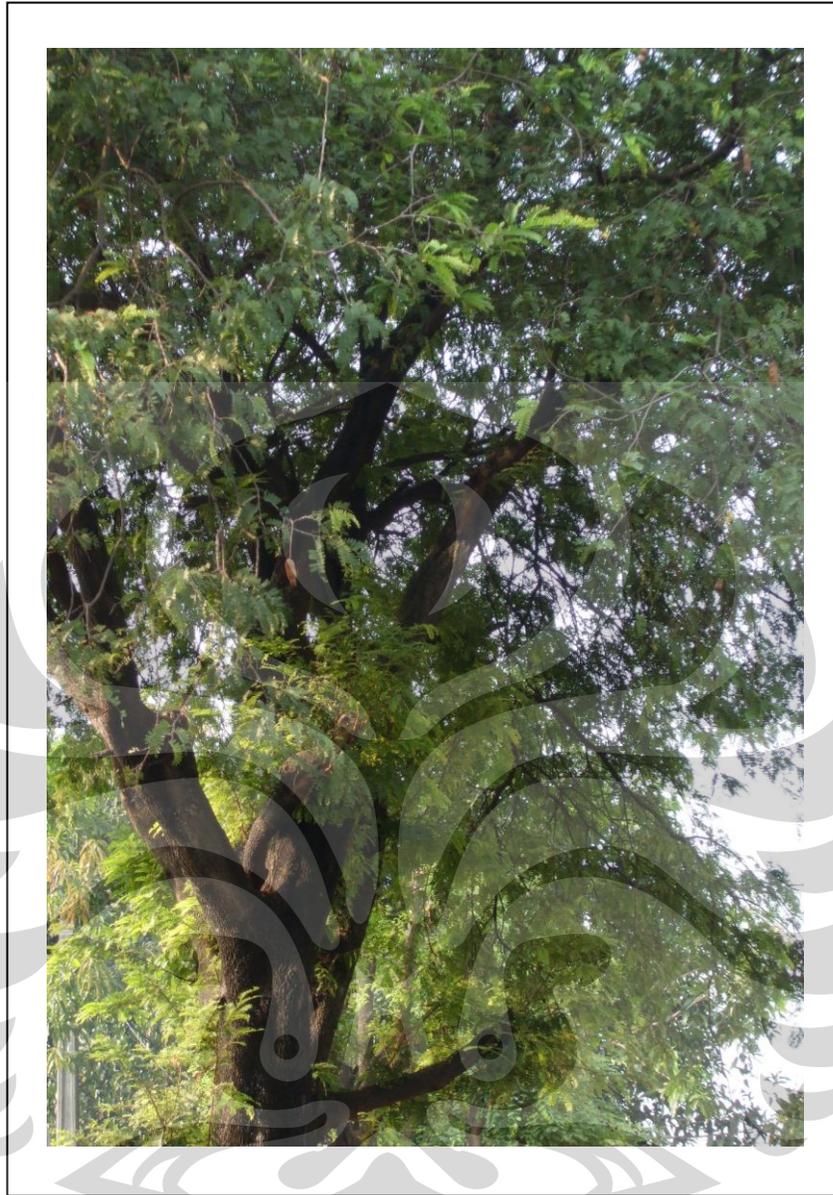
18. Anonim. 1995. *Farmakope Indonesia edisi IV*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta: 7, 1002,1061-1063.
19. Gaedcke, F., S. Barbara & B. Helga. 2003. *Herbal medicinal products*. Medpharm Scientific Publisher. Stuttgart: 4-5.
20. Robinson, T. 1994. *Kandungan organik tumbuhan tinggi edisi keenam*. Terj. dari: *The organic constituent of higher plants*, 6<sup>th</sup> edition. Penerbit ITB. Bandung: 157-159, 191.
21. Harborne, J.B. 1996. *Metode fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan terbitan kedua*. Terj. dari: *Phytochemical methods*. Penerbit ITB. Bandung: 51, 71, 102-103, 234, 271.
22. Touchston, J. C. 1983. *Practice of thin layer chromatography second edition*. John Willey & Sons, Inc. USA: 107.
23. Basset J., R.C. Denny, G.H. Jeffrey & J. Mendham 1994. *Buku ajar VOGEL kimia analisis kuantitatif anorganik edisi 4*. Terj. dari *Vogel's textbook of quantitative inorganic analysis including elementary instrumental analysis*. oleh Pudjaatmaka, H., Setiono, L. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta: 809-816.
24. Jenkins G.L., A.M. Knevel & F.E. Digargi. 1967. *Quantitative pharmaceutical chemistry 6<sup>th</sup> edition*. McGraw-Hill Book Company. New York: 320-329.
25. Snell F.D. & C.T. Snell. 1961. *Colorimetric methods of analysis including some turbidimetric and nephelometric methods vol I*. P. Van Company, Inc. New York: 1-11.
26. Sandell E.B. 1959. *Colorimetric determination of traces of metals*. Interscience Publisher, Inc. New York: 80-83.

27. Anonim. 1980. *Official Methods of Analysis*. The Association of Official Analytical Chemists. Washington: 31-37, 591.
28. Evans, W.C. 2002. *Trease and Evans Pharmacognosy fifteenth edition*. W. B. Saunders. London: 223-224.
29. Anonim. 1995. *Materia Medika Indonesia jilid VI*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta: 334-335.
30. Singleton, V.L. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enol. Vitic.* **16**: 144-158.
31. Wardhani, S. 1998. Penetapan indeks polifenol sediaan minuman teh menggunakan metode spektrokolorimetri dengan pereaksi Folin Ciocalteu. Departemen Farmasi Universitas Indonesia. Depok: 24-26.
32. Sembiring, B.B., Ma'mun & E.I. Ginting. 2006. Pengaruh kehalusan bahan dan lama ekstraksi terhadap mutu ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb). *Bul. Littro* **17**(2): 53-58.
33. Anonim. 2005. *Kriteria dan tata laksana pendaftaran obat tradisional, obat herbal terstandar, dan fitofarmaka*. Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. Jakarta: 2,13.
34. Wichtl, Max. 1971. *Die Pharmakognostisch-Chemische Analyse*. Band 12. Akademische Verlagsgesellschaft. Frankfurt: 136-138, 154-156.
35. Lemmens, R.H.M.J. 1992. *PROSEA Plant Resources of South East Asia No. 3.: Dye and Tannin Producing Plants*. Badan LITBANG Kehutanan. Bogor: 25.

36. Bioshop, C., B.M. Bishop, K.W. Whitten. 1992. *Experiment in General Chemistry second ed.* Saunders College Publishing. New York: 369.



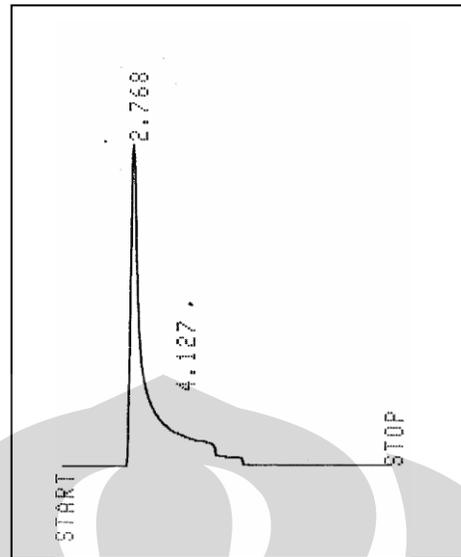




Gambar 8. Tumbuhan asam jawa (*Tamarindus indica* L.)



Gambar 9. Simplisia daun asam jawa



Gambar 10. Kromatogram etanol 1%

CHROMATOPAC C-R3A  
 SAMPLE NO 0  
 REPORT NO 73

FILE 0  
 METHOD 41

PKNO	TIME	AREA	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2.768	67296			96.4662	
2	4.127	2465	V		3.5338	
	TOTAL	69762			100	

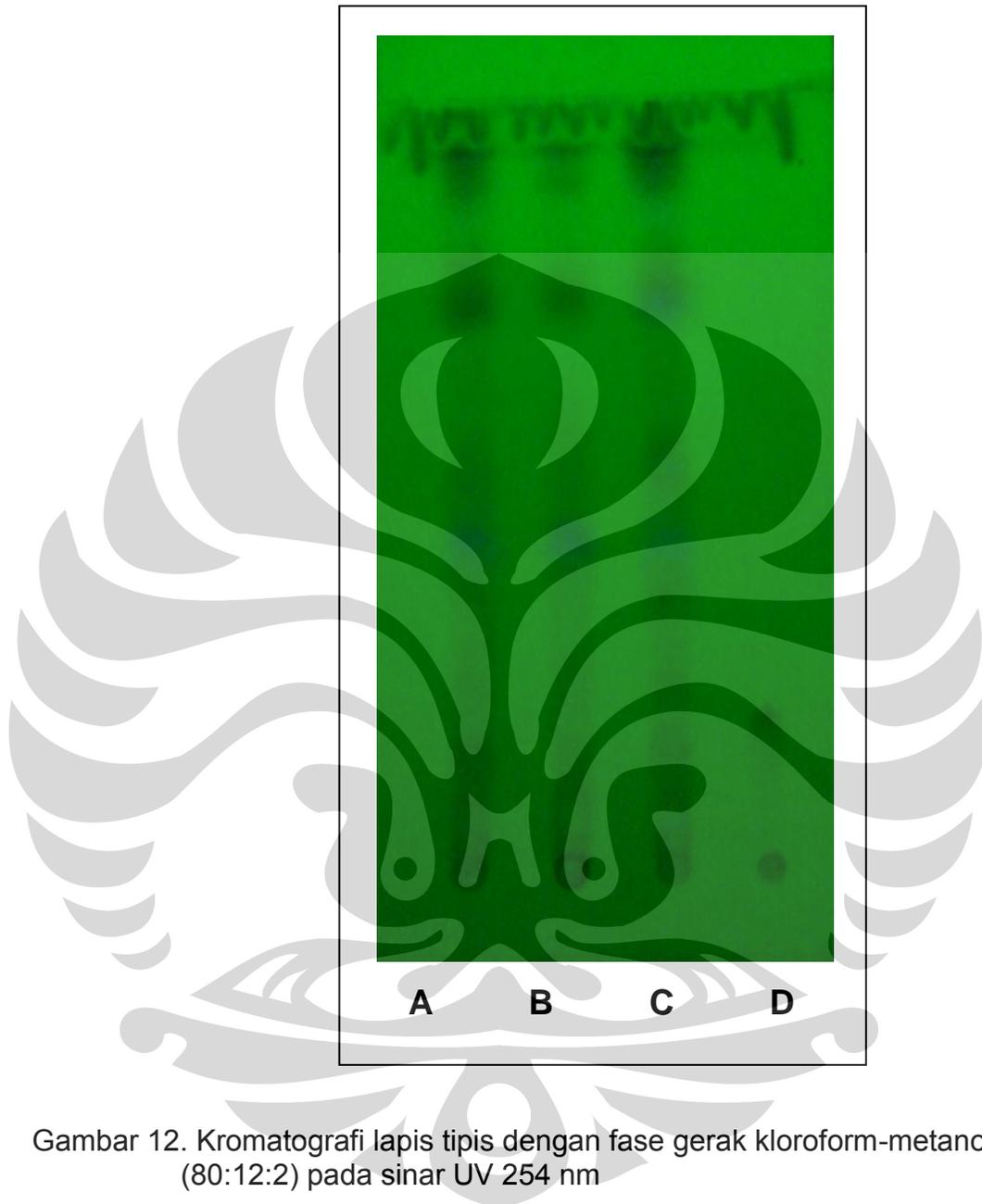
#### Kondisi Analisis

Kromatografi gas : Shimadzu GC-9A  
 Kolom : PEG  
 Diameter kolom : 0,3 cm  
 Panjang kolom : 3 m  
 Suhu kolom : 100°C-110°C  
 Suhu injektor : 120°C  
 Suhu detektor : 120°C  
 Gas pembawa : nitrogen  
 Detektor : FID (*Flame Ionization Detector*)  
 Kecepatan alir gas pembawa : 5 ml/menit



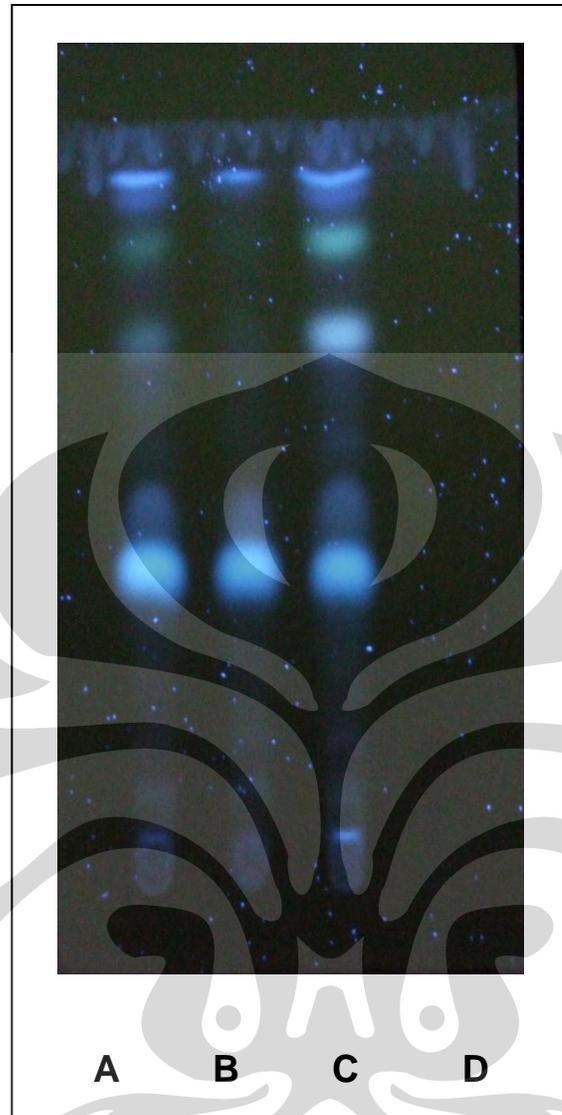
Gambar 11. Kromatografi lapis tipis dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) pada sinar tampak

Keterangan: A. DAJD = ekstrak etanol daun asam jawa asal Depok  
B. DAJT = ekstrak etanol daun asam jawa asal Tawangmangu  
C. DAJB = esktrak etanol daun asam jawa asal Bekasi  
D. Pembanding (asam galat)



Gambar 12. Kromatografi lapis tipis dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) pada sinar UV 254 nm

Keterangan: A. DAJD = ekstrak etanol daun asam jawa asal Depok  
B. DAJT = ekstrak etanol daun asam jawa asal Tawangmangu  
C. DAJB = ekstrak etanol daun asam jawa asal Bekasi  
D. Pembanding (asam galat)



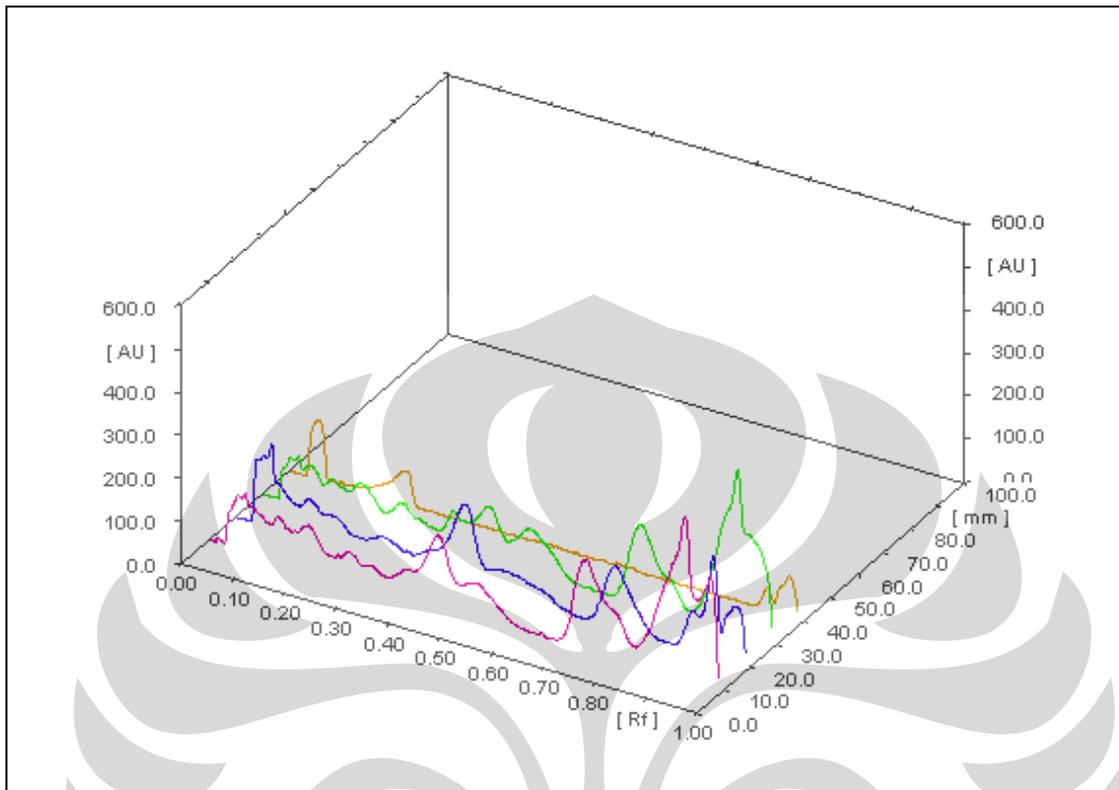
Gambar 13. Kromatografi lapis tipis dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) pada sinar UV 366 nm

Keterangan: A. DAJD = ekstrak etanol daun asam jawa asal Depok  
B. DAJT = ekstrak etanol daun asam jawa asal Tawangmangu  
C. DAJB = esktrak etanol daun asam jawa asal Bekasi  
D. Pembanding (asam galat)



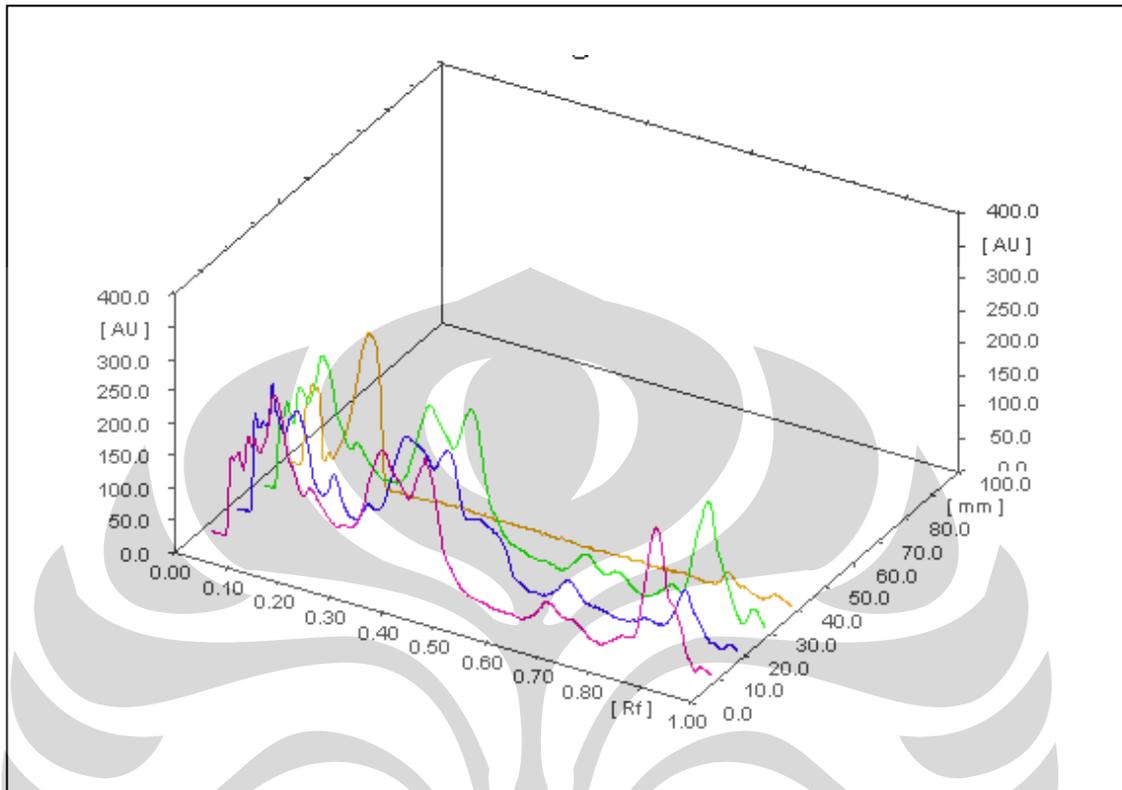
Gambar 14. Kromatografi lapis tipis dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) pada sinar tampak setelah disemprot  $\text{FeCl}_3$  10% dalam air

Keterangan: A. DAJD = ekstrak etanol daun asam jawa asal Depok  
B. DAJT = ekstrak etanol daun asam jawa asal Tawangmangu  
C. DAJB = ekstrak etanol daun asam jawa asal Bekasi  
D. Pembanding (asam galat)



Gambar 15. Perbandingan kurva densitas ekstrak etanol daun asam jawa dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) sebelum disemprot dengan  $\text{FeCl}_3$  10% dalam air pada panjang gelombang 254 nm

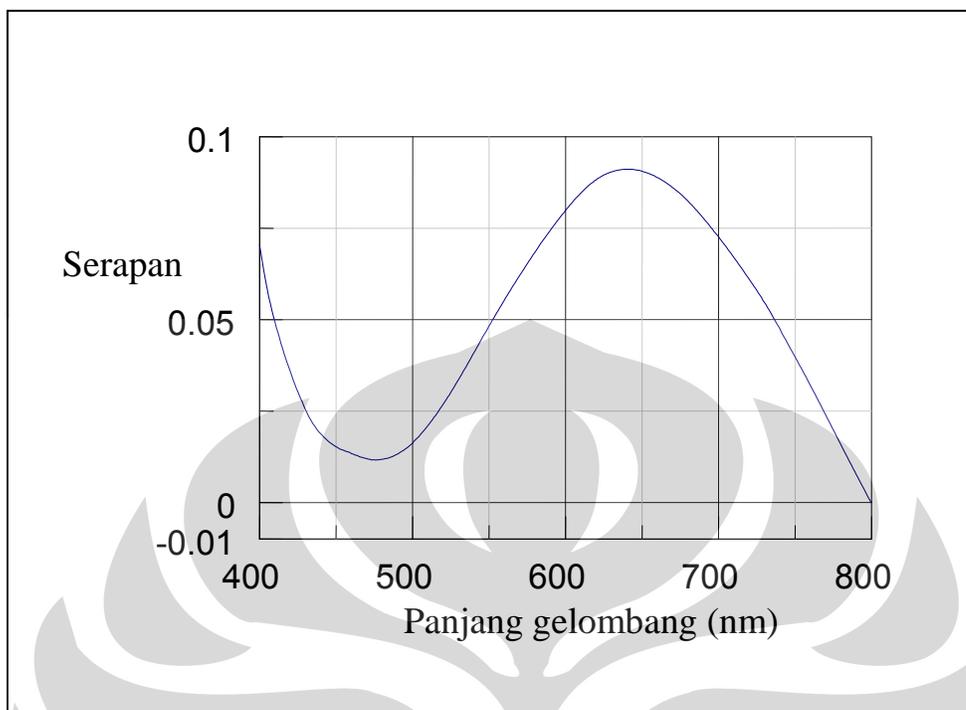
Keterangan :  
 ————— = ekstrak daun asam jawa asal Depok  
 ————— = ekstrak daun asam jawa asal Tawangmangu  
 ————— = ekstrak daun asam jawa asal Bekasi  
 ————— = perbandingan (asam galat)



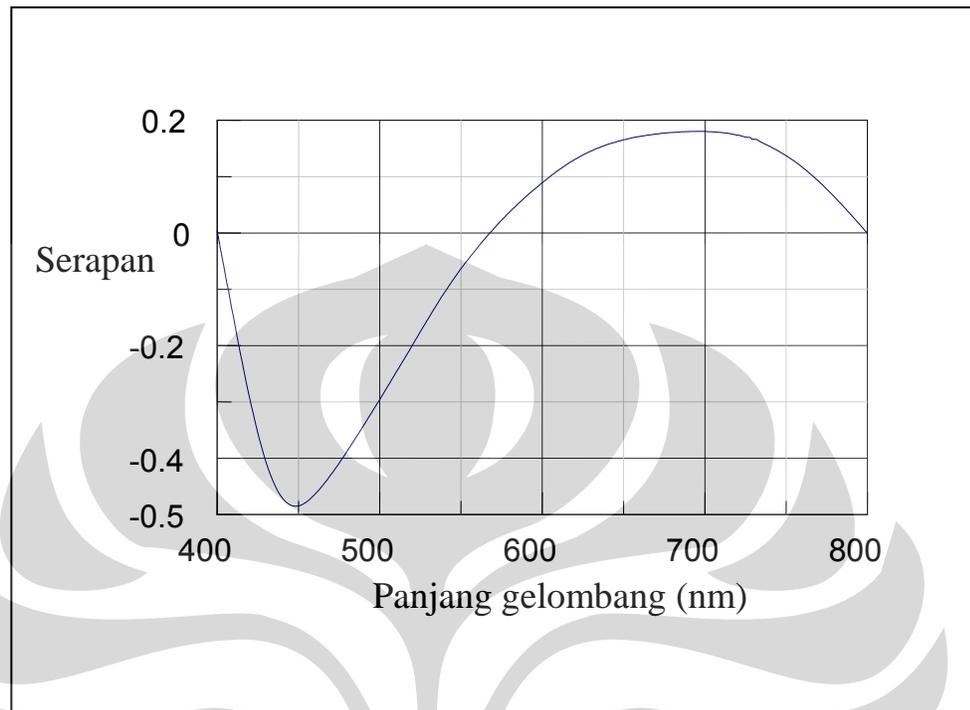
Gambar 16. Perbandingan kurva densitas ekstrak etanol daun asam jawa dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) sebelum disemprot dengan  $\text{FeCl}_3$  10% dalam air pada panjang gelombang 366 nm

Keterangan :

- = ekstrak daun asam jawa asal Depok
- = ekstrak daun asam jawa asal Tawangmangu
- = ekstrak daun asam jawa asal Bekasi
- = perbandingan (asam galat)



Gambar 17. Spektrum serapan asam galat standar 17,2 ppm dengan pereaksi Folin Ciocalteu, natrium karbonat 7,5%, dan aquadest dengan waktu inkubasi 90 menit



Gambar 18. Spektrum serapan sampel daun asam jawa 2000 ppm dengan pereaksi Folin Ciocalteu, natrium karbonat 7,5%, dan aquadest dengan waktu inkubasi 90 menit



Tabel 1  
Uji pendahuluan pemilihan pelarut yang tepat untuk ekstraksi  
daun asam jawa

No	Pelarut yang digunakan	Berat Simplisia (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)
1	Aquadest	3,0010	0,6709	22,36
2	Etanol 10%	3,0012	0,9020	30,06
3	Etanol 20%	3,0013	0,9042	30,13
4	Etanol 30%	3,0006	0,8556	28,51
5	Etanol 40%	3,0004	0,8502	28,34
6	Etanol 50%	3,0004	0,8756	29,18
7	Etanol 60%	3,0014	0,7777	25,91
8	Etanol 70%	3,0008	0,7964	26,54
9	Etanol 80%	3,0011	0,7312	24,37
10	Etanol 90%	3,0009	0,7321	24,40
11	Etanol 95%	3,0011	0,9786	32,61

Tabel 2  
Rendemen ekstrak etanol daun asam jawa

Kode	Simplisia (g)	Ekstrak (g)	Rendemen	
			Hasil Uji (%)	Rata-rata (%)
DAJD-01	301,5	92,1	30,55	30,07
DAJD-02	302,4	90,9	30,06	
DAJD-03	303,0	89,7	29,60	
DAJT-01	300,8	114,4	38,03	39,12
DAJT-02	300,8	118,2	39,30	
DAJT-03	301,1	120,5	40,02	
DAJB-01	300,5	77,3	25,72	25,27
DAJB-02	300,5	75,2	25,02	
DAJB-03	300,2	75,3	25,08	

Keterangan : DAJD = ekstrak etanol daun asam jawa asal Depok  
 DAJT = ekstrak etanol daun asam jawa asal Tawangmangu  
 DAJB = esktrak etanol daun asam jawa asal Bekasi

Tabel 3  
Pemeriksaan organoleptik ekstrak etanol daun asam jawa

	DAJD	DAJT	DAJB
Bentuk	Ekstrak kental	Ekstrak kental	Ekstrak kental
Warna	Coklat-kehitaman	Coklat-kehitaman	Coklat-kehitaman
Bau	Khas	Khas	Khas
Rasa	Asam	Asam	Asam

Keterangan : DAJD = ekstrak etanol daun asam jawa asal Depok  
 DAJT = ekstrak etanol daun asam jawa asal Tawangmangu  
 DAJB = esktrak etanol daun asam jawa asal Bekasi

Tabel 4  
Kadar senyawa terlarut dalam air ekstrak etanol daun asam jawa

Kode	Ekstrak (g)	Senyawa terlarut (g)	Kadar senyawa terlarut	
			Hasil uji (%)	Rata-rata (%)
DAJD-01	5,0225	2,921	58,16	58,68
DAJD-02	5,0048	2,982	59,58	
DAJD-03	5,0033	2,917	58,30	
DAJT-01	5,0282	3,5155	69,92	69,55
DAJT-02	5,0017	3,4875	69,73	
DAJT-03	5,0707	3,4985	68,99	
DAJB-01	5,0150	3,4755	69,30	68,19
DAJB-02	5,0056	3,3725	67,37	
DAJB-03	5,0101	3,4015	67,89	

Keterangan : DAJD = ekstrak etanol daun asam jawa asal Depok  
 DAJT = ekstrak etanol daun asam jawa asal Tawangmangu  
 DAJB = ekstrak etanol daun asam jawa asal Bekasi

Tabel 5  
Senyawa terlarut dalam etanol ekstrak etanol daun asam jawa

Kode	Ekstrak (g)	Senyawa terlarut (g)	Kadar senyawa terlarut (%)	
			Hasil uji (%)	Rata-rata (%)
DAJD-01	5,0058	2,66	53,14	52,92
DAJD-02	5,0228	2,65	52,76	
DAJD-03	5,0399	2,665	52,88	
DAJT-01	5,0333	2,6175	52,00	51,40
DAJT-02	5,0018	2,7475	54,93	
DAJT-03	5,0470	2,385	47,26	
DAJB-01	5,0556	2,5025	49,50	51,20
DAJB-02	5,0654	2,7215	53,72	
DAJB-03	5,0841	2,561	50,37	

Keterangan : DAJD = ekstrak etanol daun asam jawa asal Depok  
 DAJT = ekstrak etanol daun asam jawa asal Tawangmangu  
 DAJB = ekstrak etanol daun asam jawa asal Bekasi

Tabel 6  
Susut pengeringan ekstrak etanol daun asam jawa

Kode	Ekstrak (g)	Susut kering (g)	Susut kering	
			Hasil uji (%)	Rata-rata (%)
DAJD-01	1,4979	0,2470	16,50	
DAJD-02	1,4736	0,2430	16,50	16,60
DAJD-03	1,5364	0,2597	16,90	
DAJT-01	1,5612	0,4159	26,64	
DAJT-02	1,4502	0,3518	24,26	25,80
DAJT-03	1,6940	0,4485	26,48	
DAJB-01	1,5586	0,2551	16,37	
DAJB-02	1,6141	0,2521	15,62	16,00
DAJB-03	1,5466	0,2467	15,95	

Keterangan : DAJD = ekstrak etanol daun asam jawa asal Depok  
 DAJT = ekstrak etanol daun asam jawa asal Tawangmangu  
 DAJB = ekstrak etanol daun asam jawa asal Bekasi

Tabel 7  
Kadar air ekstrak etanol daun asam jawa

Kode	Ekstrak (g)	Bobot air (g)	Kadar air	
			Hasil uji (%)	Rata-rata (%)
DAJD-01	10,0035	1,6328	16,32	16,20
DAJD-02	10,0041	1,6146	16,14	
DAJD-03	10,0134	1,6139	16,12	
DAJT-01	10,0631	1,8913	18,79	18,03
DAJT-02	10,0881	1,7539	17,38	
DAJT-03	10,0904	1,8069	17,91	
DAJB-01	10,0293	1,0392	10,36	10,15
DAJB-02	10,0900	1,0165	10,07	
DAJB-03	10,0812	1,0093	10,01	

Keterangan : DAJD = ekstrak etanol daun asam jawa asal Depok  
 DAJT = ekstrak etanol daun asam jawa asal Tawangmangu  
 DAJB = ekstrak etanol daun asam jawa asal Bekasi

Tabel 8  
Kadar abu total ekstrak etanol daun asam jawa

Kode	Ekstrak (g)	Abu total (g)	Kadar abu total	
			Hasil uji (%)	Rata-rata (%)
DAJD-01	2,0868	0,0943	4,52	4,79
DAJD-02	2,0285	0,0986	4,86	
DAJD-03	2,0079	0,1003	5,00	
DAJT-01	2,2510	0,1006	4,47	4,40
DAJT-02	2,3902	0,0982	4,11	
DAJT-03	2,5732	0,1185	4,61	
DAJB-01	2,4241	0,1284	5,30	4,84
DAJB-02	2,0294	0,0797	3,93	
DAJB-03	2,2069	0,1167	5,29	

Keterangan : DAJD = ekstrak etanol daun asam jawa asal Depok  
 DAJT = ekstrak etanol daun asam jawa asal Tawangmangu  
 DAJB = ekstrak etanol daun asam jawa asal Bekasi

Tabel 9  
Kadar abu tidak larut dalam asam ekstrak etanol daun asam jawa

Kode	Ekstrak (g)	Abu tidak larut asam (g)	Kadar abu tidak larut asam	
			Hasil uji (%)	Rata-rata (%)
DAJD-01	2,0868	0,0385	1,85	2,18
DAJD-02	2,0285	0,0442	2,18	
DAJD-03	2,0079	0,0502	2,50	
DAJT-01	2,2510	0,0453	2,01	1,96
DAJT-02	2,3902	0,0404	1,69	
DAJT-03	2,5732	0,0563	2,19	
DAJB-01	2,4241	0,0409	1,69	1,52
DAJB-02	2,0294	0,0234	1,15	
DAJB-03	2,2069	0,0377	1,71	

Keterangan : DAJD = ekstrak etanol daun asam jawa asal Depok  
 DAJT = ekstrak etanol daun asam jawa asal Tawangmangu  
 DAJB = ekstrak etanol daun asam jawa asal Bekasi

Tabel 10  
Sisa pelarut (etanol) ekstrak etanol daun asam jawa

Kode	Sisa pelarut etanol	
	(ppm)	(%)
DAJD	32,33	< 1
DAJT	19,25	< 1
DAJB	24,65	< 1

Keterangan : DAJD = ekstrak etanol daun asam jawa asal Depok  
 DAJT = ekstrak etanol daun asam jawa asal Tawangmangu  
 DAJB = ekstrak etanol daun asam jawa asal Bekasi

Tabel 11  
Kandungan logam berat Pb, Cd, dan Hg ekstrak etanol daun asam jawa

Kode	Kandungan		
	Pb (ppm)	Cd (ppm)	Hg (ppm)
DAJD	< 0,01	< 0,01	< 0,001
DAJT	< 0,01	< 0,01	< 0,001
DAJB	< 0,01	< 0,01	< 0,001

Keterangan : DAJD = ekstrak etanol daun asam jawa asal Depok  
 DAJT = ekstrak etanol daun asam jawa asal Tawangmangu  
 DAJB = ekstrak etanol daun asam jawa asal Bekasi

Tabel 12  
Serapan SSA pada uji cemaran logam berat Pb, Cd, dan Hg  
ekstrak etanol daun asam jawa

	Blanko	DAJD	DAJT	DAJB
<b>Uji Pb</b>	Pers. Regresi Linier : $y = 0,008x - 0,000$ $r = 0,999$			
Abs Awal	0.001	0	0	0
Abs Akhir		-0.001	-0.001	-0.001
C Awal		-0.09524	-0.09524	-0.09524
Dil (ml)		7	7	7
Ws (g)		0.9	1.2015	1.506
Cs (ppb)		-0.74074	-0.55468	0.44267
<b>Uji Cd</b>	Pers. Regresi Linier : $y = 0,086x + 0,011$ $r = 0,996$			
Abs Awal	0.003	0.003	0.002	0.003
Abs Akhir		-0.002	-0.003	-0.002
C Awal		-0.15349	-0.16512	-0.15349
Dil (ml)		7	7	7
Ws (g)		0.9	1.2015	1.506
Cs (ppb)		-1.1938	-0.96198	0,71343
<b>Uji Hg</b>	Pers. Regresi Linier : $y = 0,011x + 0,146$ $r = 0,996$			
Abs Awal	0.136	0.023	0.012	0.002
Abs Akhir		-0.113	-0.124	-0.134
C Awal		-23.2054	-24.1875	-25.0804
Dil (ml)		7	7	7
Ws (g)		0.9	1.2015	1.506
Cs (ppb)		-180.486	-140.918	-116.975

Keterangan : DAJD = ekstrak etanol daun asam jawa asal Depok  
DAJT = ekstrak etanol daun asam jawa asal Tawangmangu  
DAJB = ekstrak etanol daun asam jawa asal Bekasi  
Dil =  
Ws = bobot sampel  
Cs = konsentrasi sampel

Tabel 13  
Identifikasi kimia ekstrak etanol daun asam jawa

No	Identifikasi	Hasil uji								
		DAJD			DAJT			DAJB		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	Flavonoid									
	Reduksi Zn-HCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Reduksi Mg-HCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Fluor. as. borat-as. oksalat	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	Tanin									
	Larutan gelatin 10%	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Larutan NaCl-gelatin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	FeCl <sub>3</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Pb(II)asetat	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	Glikosida									
	Liebermann-Burchard	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Molish LP	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Baljet LP	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Kedde LP	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Keller-Killiani	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	Saponin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	Alkaloid									
	Mayer LP	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bouchardat LP	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Dragendorff LP	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Solutio iodii LP	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : DAJD = ekstrak etanol daun asam jawa asal Depok  
 DAJT = ekstrak etanol daun asam jawa asal Tawangmangu  
 DAJB = ekstrak etanol daun asam jawa asal Bekasi  
 + = hasil uji positif  
 - = hasil uji negatif

Tabel 14  
 Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak etanol daun asam jawa dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) diamati pada sinar tampak, sinar ultraviolet 254 nm, dan 366 nm

Pengamatan	Berca k	Fluoresensi	Nilai Rf			Standar
			DAJD	DAJT	DAJB	
Sinar tampak	1	-	0,48	0,48	0,48	0,19
	2	-	0,91	0,91	0,91	
Sinar UV 254 nm	1	-	0,17	0,17	0,17	0,19
	2	-	0,43	0,43	0,43	
	3	-	0,48	0,48	0,48	
	4	-	0,75	0,75	0,75	
	5	-	0,93	0,93	0,93	
Sinar UV 366 nm	1	Biru ungu	0,05	0,05	0,05	0,19
	2	-	0,08	0,08	0,08	
	3	-	0,17	0,17	0,17	
	4	Biru terang	0,43	0,43	0,43	
	5	Ungu lemah	0,48	0,48	0,48	
	6	Putih kekuningan	0,72	0,72	0,72	
	7	Kuning	0,85	0,85	0,85	
	8	Ungu	0,91	0,91	0,91	
	9	Ungu lemah	0,93	0,93	0,93	

Keterangan : DAJD = ekstrak etanol daun asam jawa asal Depok  
 DAJT = ekstrak etanol daun asam jawa asal Tawangmangu  
 DAJB = ekstrak etanol daun asam jawa asal Bekasi  
 - = tidak berfluoresensi

Tabel 15  
 Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak etanol daun asam jawa dengan fase gerak kloroform-metanol-air (80:12:2) dan penampak bercak  $\text{FeCl}_3$  10% diamati pada sinar tampak

Bercak	Warna	Nilai Rf			Standar
		DAJD	DAJT	DAJB	
1	Biru lemah	0,17	0,17	0,17	0,19
2	Biru tua	0,43	0,43	0,43	
3	Biru tua	0,48	0,48	0,48	
4	Biru lemah	0,91	0,91	0,91	

Keterangan : DAJD = ekstrak etanol daun asam jawa asal Depok  
 DAJT = ekstrak etanol daun asam jawa asal Tawangmangu  
 DAJB = ekstrak etanol daun asam jawa asal Bekasi

Tabel 16  
 Data serapan asam galat terhadap waktu pada konsentrasi 5 ppm

Serapan (A)	Waktu (menit)
0,07396	60
0,08376	90
0,06462	120
0,07671	180

Tabel 17  
Data serapan asam galat konsentrasi 17,2 ppm berbagai waktu inkubasi

Waktu inkubasi (menit)	Panjang gelombang (nm)	Serapan (A)
60	640	0,09111
	641	0,09113
	<b>642</b>	<b>0,09113</b>
	643	0,09113
	644	0,09109
90	640	0,08976
	641	0,08976
	<b>642</b>	<b>0,08979</b>
	643	0,08976
	644	0,08973
120	640	0,08797
	641	0,08797
	<b>642</b>	<b>0,08799</b>
	643	0,08794
	644	0,08791
150	640	0,08645
	641	0,08643
	<b>642</b>	<b>0,08645</b>
	643	0,08641
	644	0,08639

Tabel 18  
Data kurva kalibrasi gelombang asam galat  
pada panjang gelombang maksimum 642 nm

Konsentrasi (ppm)	Serapan (A)
17,2	0,18308
34,4	0,46265
51,6	0,49172
68,8	0,54706
86,0	0,61584

Tabel 19  
Kadar fenol total ekstrak etanol daun asam jawa

Kode	Ekstrak (mg)	Serapan (A)	Kadar fenol	
			Kadar (%)	Rata-rata (%)
DAJD-01	202,2	0,19852	0,42	0,35
DAJD-02	202,8	0,19508	0,36	
DAJD-03	201,0	0,19031	0,28	
DAJT-01	215,2	0,75317	9,73	8,24
DAJT-02	215,4	0,60836	7,29	
DAJT-03	214,3	0,63105	7,71	
DAJB-01	210,8	0,2018	0,46	0,42
DAJB-02	213,9	0,20132	0,45	
DAJB-03	213,2	0,19655	0,36	

Keterangan : DAJD = ekstrak etanol daun asam jawa asal Depok  
DAJT = ekstrak etanol daun asam jawa asal Tawangmangu  
DAJB = ekstrak etanol daun asam jawa asal Bekasi



## Lampiran 1

## Cara pembuatan bahan baku yang digunakan

**Air kloroform P** : campur 2,5 ml kloroform P dengan air secukupnya hingga 1000 ml, kocok hingga larut.

**Asam klorida 2 N** : larutan asam klorida P 7,293%.

**Asam sulfat encer P** : larutan  $H_2SO_4$  murni pereaksi, mengandung tidak kurang dari 9,5% dan tidak lebih dari 10,5%  $H_2SO_4$ .

**Baljet LP** : campuran yang terdiri dari 95 ml larutan asam nitrat P 1% b/v dan 5 ml larutan natrium hidroksida P 10% b/v.

**Bouchardat LP** : larutkan 2 g iodium P dan 4 g kalium iodida P dalam air secukupnya hingga 100 ml.

**Dragendorff LP** : campur 20 ml larutan bismut nitrat P 40% b/v dalam asam nitrat P dengan 50 ml larutan kalium iodida P 54,4% b/v, diamkan sampai memisah sempurna. Ambil larutan jernih dan encerkan dengan air secukupnya hingga 100 ml.

**Etanol 10% P** : encerkan 105 ml etanol (95%) P dengan air secukupnya hingga 1000,0 ml.

**Etanol 20% P** : encerkan 210 ml etanol (95%) P dengan air secukupnya hingga 1000,0 ml.

**Etanol 30% P** : encerkan 316 ml etanol (95%) P dengan air secukupnya hingga 1000,0 ml

**Etanol 40% P** : encerkan 421 ml etanol (95%) P dengan air secukupnya hingga 1000,0 ml.

**Etanol 50% P** : encerkan 526 ml etanol (95%) P dengan air secukupnya hingga 1000,0 ml.

**Etanol 60% P** : encerkan 632 ml etanol (95%) P dengan air secukupnya hingga 1000,0 ml.

**Etanol 70% P** : encerkan 737 ml etanol (95%) P dengan air secukupnya hingga 1000,0 ml.

**Etanol 80% P** : encerkan 842 ml etanol (95%) P dengan air secukupnya hingga 1000,0 ml.

**Etanol 90% P** : encerkan 947 ml etanol (95%) P dengan air secukupnya hingga 1000,0 ml.

**Etanol 95% P** : etanol teknis (95%) hasil destilasi.

**Kalium hidroksida 1 N** : larutkan 68 g kalium hidroksida P dalam 40 ml air, tambahkan etanol (95%) secukupnya hingga 1000 ml biarkan dalam botol tertutup rapat selama 24 jam. Enap tuangkan beningan ke dalam wadah tertutup rapat.

**Kalium permanganat P** : larutkan 50 g kalium permanganat dalam air hingga volume 1 L.

**Kalium persulfat P** : larutkan 50 g kalium persulfat dalam air hingga volume 1 L.

**Kedde LP** : larutkan 3 g asam dinitrobenzoat P dalam 100 ml etanol (95%) P, kemudian campur dengan 100 ml kalium hidroksida 2 N dalam etanol (95%) P.

**Lieberman Bouchard LP** : campurkan 5 bagian volume asam sulfat P dengan 50 bagian volume etanol 95% P. Tambahkan hati-hati 5 bagian volume asetat anhidrida ke dalam campuran tersebut, dinginkan.

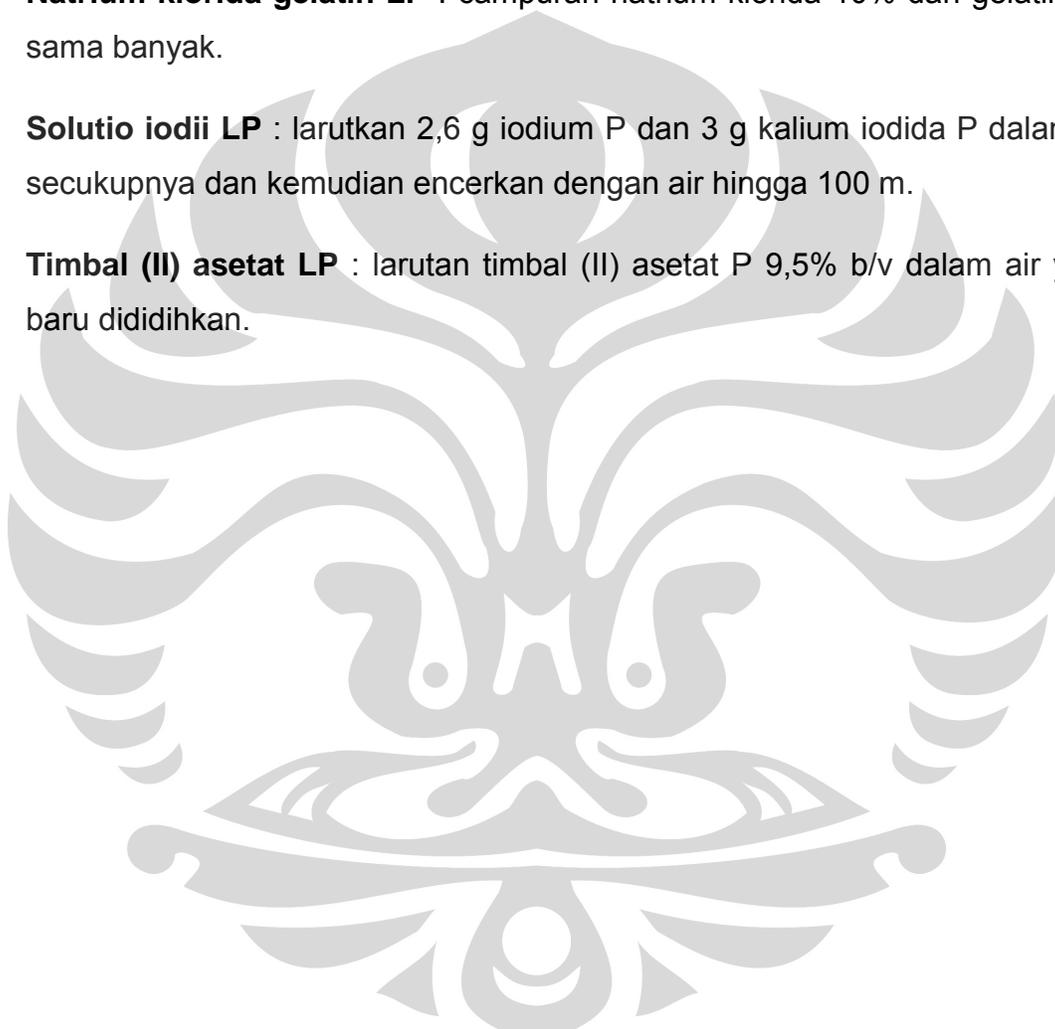
**Mayer LP** : campurkan 60 ml larutan raksa (II) klorida P 2,266% b/v dan 10 ml larutan kalium iodide P 50% b/v, tambahkan air secukupnya hingga 100 ml.

**Molish LP** : larutan  $\alpha$ -naftol P 3% b/v dalam asam nitrat 0,5 N.

**Natrium klorida-gelatin LP** : campuran natrium klorida 10% dan gelatin 1% sama banyak.

**Solutio iodii LP** : larutkan 2,6 g iodium P dan 3 g kalium iodida P dalam air secukupnya dan kemudian encerkan dengan air hingga 100 m.

**Timbal (II) asetat LP** : larutan timbal (II) asetat P 9,5% b/v dalam air yang baru dididihkan.



## Lampiran 2

## Hasil determinasi daun asam jawa



**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA**  
**( Indonesian Institute of Sciences )**  
**PUSAT PENELITIAN BIOLOGI**  
**( Research Center for Biology )**

Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong  
 Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612

Cibinong, 11 Maret 2008

Nomor : 158 /IPH.1.02/If.8/2008  
 Lampiran : -  
 Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.  
 Bpk./Ibu/Sdr(i). Rahmadiyah  
 Mhs. Univ. Indonesia  
 Depok

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Asam Jawa	<i>Tamarindus indica</i> L.	Fabaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani  
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

*Eko Baroto Walujo*  
 Dr. Eko Baroto Walujo, APU  
 NIP. 320001330

## Lampiran 3

## Sertifikat hasil uji sisa pelarut (etanol) ekstrak etanol daun asam jawa



**Lab. Afiliasi**  
& Keselamatan Kimia

LABORATORY TEST RESULTS				
Job. Number : 112 / V / 008			Date : 16 - 06 - 2008	
Customer : Rahmadiyah			Attention :	
Parameters : Alcohol (Ethanol)				
Date Received : 08 - 05 - 2008				
Sample Matrix : Solid				
No	Sample Code	Result	Units	Method
1.	Daun Asam (Tawangmangu)	19.25	ppm	GC-FID
2.	Daun Asam (Depok)	32.33	ppm	
3.	Daun Asam (Bekasi)	24.65	ppm	



**Drs. Sunardi M.Si**  
Direktur

Laboratorium Afiliasi UI  
Departemen Kimia, FMIPA UI, Kampus UI Depok 16424  
Telp. 021-7872720, Faks 021-7863432

## Lampiran 4

## Sertifikat hasil uji cemaran logam berat ekstrak etanol daun asam jawa



**Lab. Afiliasi**  
& Keselamatan Kimia

LABORATORY TEST RESULTS						
Job. Number : 112 / V / 008			Date : 16 - 06 - 2008			
Customer : Rahmadiah			Attention :			
Parameters : Metal Analysis						
Date Received : 08 - 05 - 2008						
Sample Matrix : Solid						
No	Sample Code	Result			Units	Method
		Pb	Cd	Hg		
1.	Daun Asam (Tawangmangu)	< 0.01	< 0.01	< 0.001	ppm	AAS
2.	Daun Asam (Depok)	< 0.01	< 0.01	< 0.001	ppm	
3.	Daun Asam (Bekasi)	< 0.01	< 0.01	< 0.001	ppm	

## Keterangan :

- Limit of detection (LOD) dari alat kami untuk logam timbal (Pb) dan cadmium (Cd) adalah 0.01 ppm
- Limit of detection (LOD) dari alat kami untuk logam merkuri (Hg) adalah 0.001 ppm

Mengetahui,  
  
**Drs. Sunardi M.Si**  
 Direktur

Laboratorium Afiliasi UI  
 Departemen Kimia, FMIPA UI, Kampus UI Depok 16424  
 Telp. 021-7872720, Faks 021-7863432

## Lampiran 5

## Sertifikat analisis reagen Folin Ciocalteu

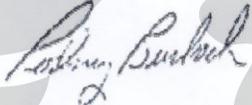


  
**SIGMA-ALDRICH**

**Certificate of Analysis**

<b>Product Name</b>	Folin & Ciocalteu's phenol reagent, suitable for determination of total protein by Lowry method, 2 N
<b>Product Number</b>	F9252
<b>Product Brand</b>	Sigma-Aldrich

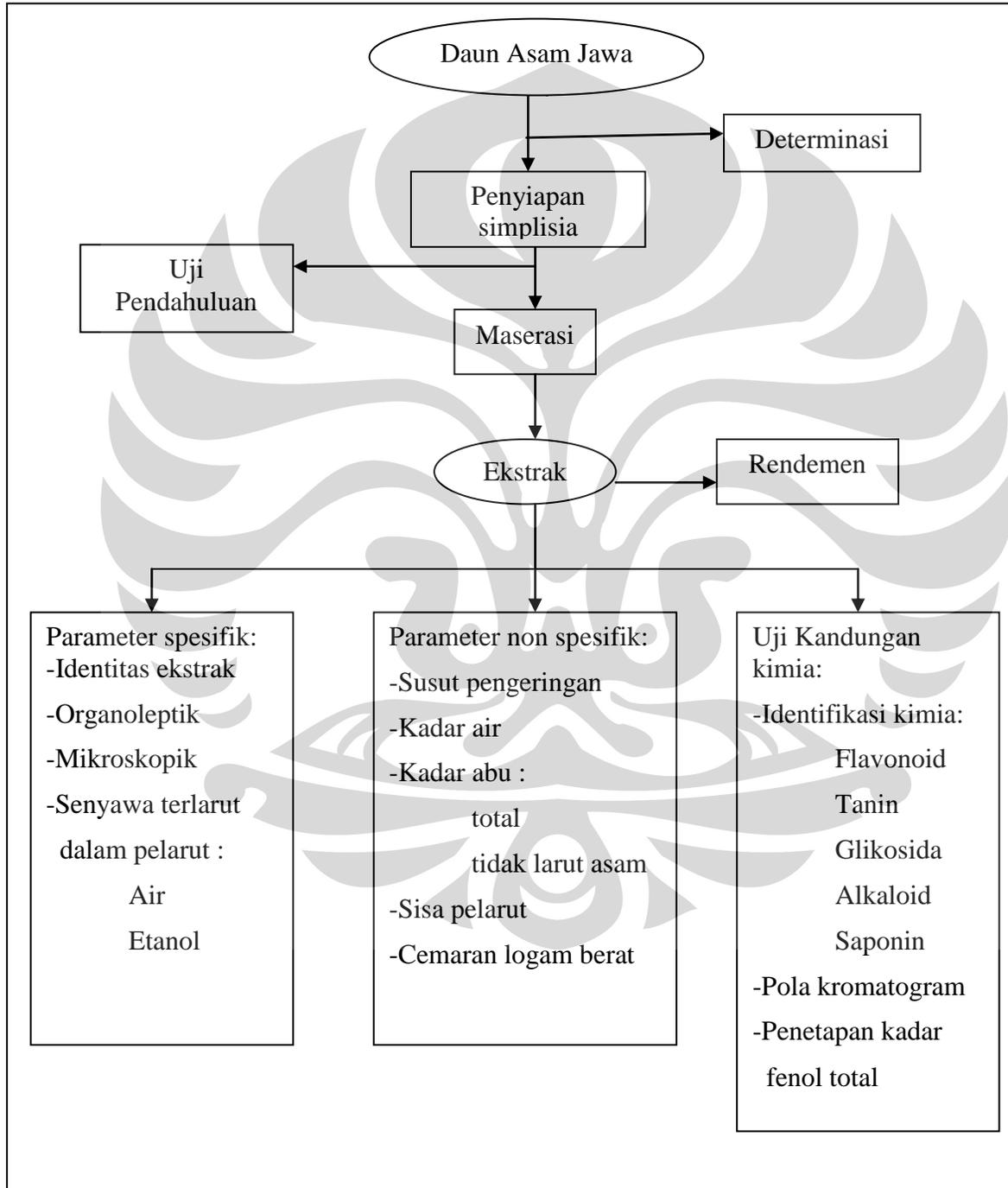
<b>TEST</b>	<b>SPECIFICATION</b>	<b>LOT 107K0002 RESULTS</b>
<b>APPEARANCE</b>	CLEAR YELLOW SOLUTION	CONFORMS
<b>CONCENTRATION</b>	1.9 TO 2.1 N	2.0 N
<b>SUITABILITY</b>	SUITABLE FOR USE IN LOWRY PROTEIN DETERMINATION	SUITABLE
<b>RECOMMENDED RETEST</b>	4 YEARS	OCTOBER 2011
<b>QC RELEASE DATE</b>		OCTOBER 2007



Rodney Burbach, Supervisor  
Analytical Services  
St. Louis, Missouri USA

## Lampiran 6

## Skema kerja



## Lampiran 7

## Cara perhitungan kadar fenol total

Data kurva kalibrasi pada panjang gelombang 642 nm

Konsentrasi (ppm)	Serapan (A)
17,2	0,18308
34,4	0,46265
51,6	0,49172
68,8	0,54706
86,0	0,61584

$$y = a + bx$$

$$y = 0,175 + 0,005522x$$

$$r = 0,907$$

Cara perhitungan:

DAJT-01 (A = 0,75317, berat ekstrak 215,2 mg)

$$y = 0,175 + 0,005522 x$$

$$0,75137 = 0,175 + 0,005522 x$$

$$x = 104,377 \text{ ppm}$$

Faktor pengenceran:

$$104,377 \mu\text{g/ml} \times 10,0 \text{ ml} \times \frac{100,0}{5,0} = 20875,4 \mu\text{g}$$

Kadar fenol total dalam ekstrak:

$$\frac{20875,4}{215200} \times 100\% = 9,7 \%$$

