

**STANDARDISASI EKSTRAK ETIL ASETAT ANTING-ANTING  
(*Acalypha indica* Linn.) SEBAGAI HERBA ANTIMALARIA**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
HILMATUL ROSYIDAH  
NIM. 12630032**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
2016**

**STANDARDISASI EKSTRAK ETIL ASETAT ANTING-ANTING  
(*Acalypha indica* Linn.) SEBAGAI HERBA ANTIMALARIA**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
HILMATUL ROSYIDAH  
NIM. 12630032**

**Diajukan Kepada:  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
2016**

**STANDARDISASI EKSTRAK ETIL ASETAT ANTING-ANTING  
(*Acalypha indica* Linn.) SEBAGAI HERBA ANTIMALARIA**

**SKRIPSI**

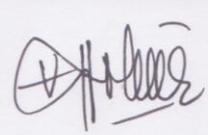
**Oleh:  
HILMATUL ROSYIDAH  
NIM. 12630032**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji  
Tanggal: 29 Desember 2016**

**Pembimbing I**

  
**Elok Kamilah Hayati, M.Si**  
**NIP. 19790620 200604 2 002**

**Pembimbing II**

  
**Nur Aini, M.Si**  
**NIDT. 198406082016080120070**

**Mengetahui,  
Ketua Jurusan Kimia**

  
**Elok Kamilah Hayati, M.Si**  
**NIP. 19790620 200604 2 002**

**STANDARDISASI EKSTRAK ETIL ASETAT ANTING-ANTING  
(*Acalypha indica* Linn.) SEBAGAI HERBA ANTIMALARIA**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
HILMATUL ROSYIDAH  
NIM. 12630032**

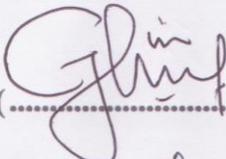
**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal: 29 Desember 2016**

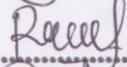
**Penguji Utama : A. Ghanaim Fasya, M.Si  
NIP. 19820616 200604 1 002**

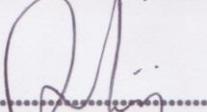
**Ketua Penguji : Roihatul Muti'ah, M.Kes, Apt  
NIP. 19800203 200912 2 003**

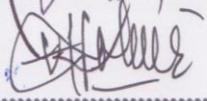
**Sekretaris Penguji : Elok Kamilah Hayati, M.Si  
NIP. 19790620 200604 2 002**

**Anggota Penguji : Nur Aini, M.Si  
NIDT. 198406082016080120070**

  
(.....)

  
(.....)

  
(.....)

  
(.....)

**Mengesahkan,  
Ketua Jurusan Kimia**

  
**Elok Kamilah Hayati, M.Si  
NIP. 19790620 200604 2 002**

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Hilmatul Rosyidah

NIM : 12630032

Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Kimia

Judul Penelitian : “Standardisasi Ekstrak Etil Asetat Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) sebagai Herba Antimalaria”

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber kutipan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini jiplakan, maka saya berbersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 29 Desember 2016

Yang Membuat Pernyataan,



Hilmatul Rosyidah

NIM. 12630032

## MOTTO

فَقَالُوا رَبَّنَا آتِنَا مِنْ لَدُنْكَ رَحْمَةً وَهَيِّئْ لَنَا مِنْ أَمْرِنَا رَشَدًا - ١٠

"Wahai Tuhan kami, berikanlah rahmat kepada kami dari sisi-Mu dan sempurnakanlah bagi kami petunjuk yang lurus dalam urusan kami."

(-Qs. *Al-Kahfi* (18):10-)

"Ilmu tanpa akal ibarat memiliki sepatu tanpa kaki, dan akal tanpa ilmu ibarat memiliki kaki tapi tak memiliki sepatu"

"Angin tidak berhembus untuk menggoyangkan pepohonan, melainkan menguji kekuatan akarnya"

(*Sayyidina Ali Karroma Allahu wajhah*)

**Be Honest and Modest!!!**

---PERSEMBAHAN---

이 에세이를 내가 사랑하는 모든  
사람들에게 바칩니다.

우 리소중한 가족 에게 정말 감사합니다.

## KATA PENGANTAR



Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya atas terselesaikan skripsi dengan judul : **“STANDARDISASI EKSTRAK ETIL ASETAT ANTING-ANTING (*Acalypha indica* Linn.) SEBAGAI HERBA ANTIMALARIA”** ini dengan baik. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita, Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita ke jalan yang benar, yaitu jalan yang diridhai Allah SWT. Skripsi ini merupakan salah satu syarat menyelesaikan program S1 (Strata-1) di Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

Seiring dengan terselesaikannya penyusunan skripsi ini, dengan penuh rasa hormat, kesungguhan, dan kerendahan hati, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Abi Ahmad Rusydi dan Ummi Khosyi'ah yang senantiasa penulis hormati dan cintai, karena kelimpahan kasih sayang dan doanya, penulis dapat menuntut ilmu dan dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar.
2. Bapak Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si. selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. drh. Bayyinatul Muchtarromah, M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Elok Kamila Hayati, M.Si, selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si, selaku dosen pembimbing I, Bapak TrIbu Nur Aini, M.Si selaku dosen pembimbing II dan Ibu Roihatul Muti'ah, M.kes., Apt. selaku dosen konsultan yang dengan sabar membimbing hingga terselesainya skripsi ini.
6. Ibu Eny Yulianti, M.Si., selaku dosen wali
7. Mbak Nur Hidayah, Mbak Musyaro'ah, Mbak Qoyyimah, Mbak Mas'udah, Mas Ismail dan keluarga tercinta yang telah memberi semangat dan motivasi.

8. Para Dosen Pengajar di Jurusan Kimia yang telah memberikan bimbingan dan membagi ilmunya kepada penulis selama berada di UIN Maliki Malang.
9. Teman-teman Kimia angkatan 2012 khususnya Kimia A yang banyak membantu selama kuliah dari awal sampai akhir perjuangan, Sahabat-sahabat tercinta, serta Kakak-kakak Tingkat yang telah memberikan motivasi, semangat, kerjasama, dukungan dan bantuannya untuk menyelesaikan skripsi ini.
10. Semua pihak yang telah membantu penulis baik secara langsung maupun tidak langsung sehingga terselesainya skripsi ini.

Penyusun menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, saran dan kritik yang membangun dari semua pihak sangat kami harapkan. Akhirnya penyusun berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi rekan-rekan sesama mahasiswa khususnya untuk jurusan kimia.

Malang, 29 Desember 2016

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xii</b>
<b>HALAMAN ABSTRAK</b> .....	<b>xiii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	6
1.3 Tujuan.....	6
1.4 Batasan Masalah.....	6
1.5 Manfaat.....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Pemanfaatan Tumbuhan sebagai Obat .....	8
2.2 Pemanfaatan Anting-anting sebagai Obat Herbal .....	11
2.2.1 Klasifikasi Tumbuhan Anting-anting .....	11
2.2.2 Kandungan Senyawa dan Khasiat Anting-anting.....	12
2.3 Pemanfaatan Anting-anting sebagai Antimalaria.....	14
2.4 Metode Ekstraksi Anting-anting secara Maserasi .....	16
2.5 Standardisasi Anting-anting sebagai Herba Antimalaria .....	19
2.6 Parameter-parameter dalam Standardisasi .....	20
2.6.1 Parameter Spesifik.....	20
2.6.2 Parameter Non-Spesifik .....	25
2.7 Instrumentasi Penelitian .....	29
2.7.1 AAS untuk Penentuan Kadar Pb .....	29
2.7.2 UPLC-MS untuk Penentuan Senyawa Marker.....	31
<b>BAB III METODOLOGI</b>	
3.1 Pelaksanaan Penelitian .....	34
3.2 Alat dan Bahan .....	34
3.2.1 Alat .....	34
3.2.2 Bahan.....	34
3.3 Rancangan Penelitian .....	35
3.4 Tahapan Penelitian .....	36
3.5 Cara Kerja.....	36
3.5.1 Pengambilan Sampel Bahan Tumbuhan.....	36
3.5.2 Preparasi Sampel .....	37
3.5.3 Pembuatan Ekstrak etil Asetat Anting-anting .....	37

3.5.4 Pengujian Parameter Spesifik.....	38
3.5.4.1 Uji Kadar Senyawa Larut Air dan Etanol .....	38
3.5.4.2 Uji Kandungan Alkaloid dengan Reagen .....	39
3.5.4.3 Uji Kadar Alkaloid Total secara Gravimetri .....	39
3.5.4.4 Penetapan Senyawa Marker dengan UPLC-MS .....	40
3.5.5 Pengujian Parameter Non-Spesifik .....	41
3.5.5.1 Penetapan Kadar Air .....	41
3.5.5.2 Penetapan Kadar Abu.....	42
3.5.5.3 Penetapan Kadar Sisa Pelarut.....	42
3.5.5.4 Penetapan Kadar Cemar Logam Pb.....	43
3.6 Analisis Data .....	44

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

4.1 Pengambilan Sampel Bahan Tumbuhan.....	45
4.2 Preparasi Sampel .....	45
4.3 Pembuatan ekstrak Etil Asetat Anting-anting .....	46
4.4 Pengujian Parameter Spesifik.....	46
4.4.1 Penetapan Kadar Senyawa Terlarut dalam Air dan Etanol .....	47
4.4.2 Pengujian Kandungan Alkaloid dengan Reagen .....	48
4.4.3 Penetapan Alkaloid Total secara Gravimetri.....	50
4.4.4 Penetapan Senyawa marker Berberin dengan UPLC-MS .....	51
4.5 Pengujian Parameter Non-Spesifik.....	60
4.5.1 Penetapan Kadar Air.....	61
4.5.2 Penetapan Kadar Abu .....	62
4.5.3 Penetapan Kadar Sisa pelarut .....	63
4.5.2 Penetapan Kadar Cemar Logam Pb.....	64
4.9 Pemanfaatan Anting-anting sebagai Herbal dalam Prospektif Islam.....	64

#### **BAB V PENUTUP**

5.1 Kesimpulan.....	69
5.2 Saran .....	69

<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>70</b>
<b>LAMPIRAN - LAMPIRAN</b>	

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Persyaratan Parameter Non-Spesifik .....	28
Tabel 4.1 Hasil Pengujian Parameter Spesifik.....	47
Tabel 4.2 Dugaan Senyawa Hasil LC Ekstrak Etil Asetat Ating-anting .....	52
Tabel 4.3 Hasil Pengujian Parameter Non-Spesifik .....	61

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tumbuhan Anting-Anting ( <i>Acalypha Indica</i> Linn.) .....	12
Gambar 2.2 Struktur Berberin.....	24
Gambar 2.3 Spektra MS Isolat Berberin <i>Acalypha Indica</i> L. ....	33
Gambar 4.1 Hasil Uji Alkaloid Dengan Reagen .....	49
Gambar 4.2 Reaksi Garam Alkaloid Dengan Amonia.....	50
Gambar 4.3 Kromatogram UPLC-MS Ektrak Etil Asetat Anting-Anting.....	51
Gambar 4.4 Spektra Massa Pada Tr 15,76 Menit .....	53
Gambar 4.5 Pola Fragmentasi Senyawa Berberin .....	54
Gambar 4.6 Perbandingan Luas Area Hasil LCMS Anting-Anting .....	54
Gambar 4.7 Spektra Massa Pada tR 8,45 Menit .....	55
Gambar 4.8 Struktur Senyawa Emodin .....	56
Gambar 4.9 Spektra Massa pada tR 9,035 Menit .....	56
Gambar 4.10 Struktur Senyawa Rhein.....	57
Gambar 4.11 Spektra Massa pada tR 13,94 Menit .....	57
Gambar 4.12 Struktur Senyawa Baicallin.....	58
Gambar 4.13 Spektra Massa pada tR 14,81 Menit .....	58
Gambar 4.14 Struktur Senyawa Dimetilen Berberin .....	59
Gambar 4.15 Spektra Massa pada tR 19,02 Menit .....	59
Gambar 4.16 Struktur Senyawa Palmatin .....	60

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian .....	76
Lampiran 2. Diagram Alir Penelitian.....	77
Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Larutan.....	84
Lampiran 4. Perhitungan Hasil Penelitian .....	87
Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian .....	94

## ABSTRAK

Rosyidah, Hilmatul. 2016. **Standardisasi Ekstrak Etil Asetat Tumbuhan Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) sebagai Herba Antimalaria.** Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Elok Kamilah Hayati, M. Si; Pembimbing II: Nur Aini, M.Si; Konsultan: Roihatul Muti'ah, M.Kes, Apt.

**Kata Kunci** : Standardisasi, Ekstrak, Anting-anting *Acalypha indica* Linn., Herba Antimalaria, UPLC-MS

Tumbuh-tumbuhan adalah gambaran segala sesuatu yang baik dan bermanfaat bagi manusia sebagaimana firman Allah SWT dalam Qs. Asy Syu'ara (26):7. Ekstrak etil asetat Anting-anting diuji secara *in vivo* menghasilkan efisiensi 90,74%. Hasil pengujian secara HPLCMS menunjukkan ekstrak etil asetat Anting-anting positif mengandung senyawa berberin sebagai senyawa aktif antimalaria. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan nilai parameter spesifik dan non-spesifik ekstrak etil asetat tumbuhan Anting-anting. Penentuan parameter standar ekstrak dilakukan sesuai peraturan dari BPOM RI tentang Parameter Standar Umum Tanaman Obat.

Ekstraksi tumbuhan Anting-anting dilakukan secara maserasi menggunakan pelarut etil asetat, kemudian dilakukan pengujian terhadap parameter spesifik dan non spesifik. Penentuan parameter spesifik kandungan senyawa larut air dan etanol dilakukan melalui metode gravimetri. Pengujian kandungan senyawa alkaloid menggunakan reagen Meyer dan Dragendorff. Penentuan alkaloid total dilakukan secara gravimetri. Penentuan senyawa marker berberin melalui LC-MS. Pengujian parameter non-spesifik kadar air dan abu secara gravimetri. Pengujian sisa pelarut secara destilasi. Pengujian kadar cemaran logam Pb dilakukan secara AAS.

Hasil pengujian parameter spesifik standardisasi ekstrak etil asetat Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) menunjukkan bahwa kandungan senyawa larut air sebanyak  $9,548\% \pm 0,527$ , ekstrak larut etanol  $79,62167\% \pm 1,902$ . Kandungan alkaloid dengan reagen Dragendorff dan Meyer menunjukkan hasil positif. Kadar alkaloid total dalam ekstrak diperoleh sebanyak  $68,2577\% \pm 3,648$ . Senyawa marker berberin positif teridentifikasi pada tR 15,76 menit dengan kadar sebanyak 30,17%. Hasil pengujian parameter non-spesifik ekstrak etil asetat Anting-anting menunjukkan kadar air sebanyak  $17,9497\% \pm 0,6656$ , kadar abu sebanyak  $1,978\% \pm 0,3153$ , kadar sisa pelarut (etil asetat)  $0,9989 \pm 0,00782$  dan kadar cemaran logam Pb sebesar  $4,46 \mu\text{g/Kg}$ .

## ABSTRACT

Rosyidah, Hilmatul. 2016. **Standardization of Ethyl Acetate Extracts of Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) as Antimalarial Herba.** Thesis. Chemistry Department, Science and Technology Faculty, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Elok Kamilah Hayati, M.Si; Supervisor II: Nur Aini, M.Si; Consultant: Roihatul Muti'ah, M.Kes, Apt.

**Keywords:** Standardization, Extract, Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.), Antimalarial herba, UPLC-MS

Plants are describing of everything that is good and beneficial to humans life, as Allah SWT says in Qs. Asy Syu'ara (26): 7. The ethyl acetate extract of Anting-anting has 90,74% of effeciency by in vivo test. The HPLC-MS test results show the ethyl acetate extract of Anting-anting containing the berberine compound as the antimalarial active compound. This study was conducted to determine the value of the specific parameter and non-specific parameter of ethyl acetate extracts of Anting-anting. Determination of the standard parameter extracts have made according to the rules of BPOM RI on Parameters General Standards of Medicinal Plants.

Extraction of Anting-anting plant was done by maceration method using ethyl acetate solvent, and then testing of specific and non-specific parameter. Determining the specific parameters of water and ethanol-soluble compounds were done through gravimetric method. Detrmination of alkaloid compound was done by using Meyer and Dragendorff reagent. Determination of the total alkaloid was done gravimetrically. Determination of berberine as the marker compounds was done by UPLC-MS. Non-specific parameter testing water and ash content were done gravimetrically. Testing of residual solvent by distillation. Testing levels of lead metal contamination (Pb) was done by Athomic Absorbtion Spechtrphotometry (AAS).

The results from the specific parameters test of the ethyl acetate extract of Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) showed that the content of water soluble compounds as much as  $9.548\% \pm 0.527$ , ethanol-soluble extract  $79.62167\% \pm 1.902$ . Alkaloid content with reagents Dragendorff and Meyer showed positive results. Levels of total alkaloids in the extract obtained by  $68.2577\% \pm 3.648$ . Compound berberine marker positively identified at tR 15.76 minutes by levels of as much as 30.17%. The test results of non-specific parameter ethyl acetate extract Anting-anting showed the water content of as much as  $17,9497 \pm 0.6656\%$ , ash content as much as  $1.978\% \pm 0.3153$ , the levels of residual solvents (ethyl acetate) and  $0.9989 \pm 0.00782$  Pb metal contamination levels of  $4.46 \mu\text{g}/\text{Kg}$ .

## الملاخص

الرشيدة، حلمة، ٢٠١٦. التقييس في مستخلص أسيتات الإيثيل عن أكاليفا إندিকা (Acalypha Indica) كان مضادا لملاريا. أطروحة. شعبة الكيمياء، كلية العلوم و التكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الاولى: إيلوك كاملة حياتي الماجستير، المشرفة الثانية: نور عيني الماجستير، المستشارة: رائحة المطيعة الماجستير.

**الكلمة الأساسية:** تقييس، مستخلص، أكاليفا إندিকা (Acalypha Indica)، عشب مضاد لملاريا، التحليل الطيفي اللوني الشميل (LC-MS).

النباتات فيها كل حسنة و نافعة للناس كما قال الله تعالى في القرآن سورة الشعراء آية ٧. كان مستخلص أسيتات الإيثيل عن أكاليفا إندিকা اختبر بالطريقة *in vivo* و يبلغ الفعالية %٧٤,٩٠ فمعلوم باليقين أن هناك مستحضر بربرين الذي له عملية مضادة لملاريا. وهذا البحث يعمل لتحديد قيمة الضابط المعين و غيره من مستخلص أسيتات الإيثيل عن أكاليفا إندিকা. وتحديدها كحكم BPOM RI في الضابط العام من النباتات الدوائية.

الاستخلاص عن أكاليفا إندিকা يعمل بطريقة النقع الذي يستعمل أسيتات الإيثيل مذيبا، ثم اختبر لتحديد قيمة الضابط المعين و غيره. وتحديد قيمة الضابط المعين عن المستحضر الذي يحل في الماء والإيثانول يعمل بالطريقة *gravimetri*. والإختبار شبه قلوبى يعمل بالطريقة Meyer و Dragendroff, و مجموعا بالطريقة *gravimetri*. وتحديد بربارين يعمل بLC-MS. وتحديد قيمة الضابط غير المعين اي محتوى الماء والرماد يعمل بالطريقة *gravimetri*. والإختبار بقية المذيب يعمل بطريقة التقطير. والإختبار قدر تلوث معدن الرصاص (Pb) يعمل بAAS.

أما نتيجة اختبار الضابط المعين اي التقييس في مستخلص أسيتات الإيثيل عن أكاليفا إندিকা تدل على أن مضمون المستحضر المحلول في الماء يبلغ ٩,٥٤٨ حوالى ٠,٥٢٧، مستخلص محلول إيثانول ١,٩٠٢ حوالى %٧٩,٦٢١٦٧، وكان مضمون مركب شبه قلوبى بكاشف دراجن دورف و ميير يدل على نتيجة متأكدة. ويحصل قدر الكحول الكامل في المستخلص حتى %٢٨,٢٥٧ حوالى ٣,٦٤٨. يتعرف مستحضر ماركير بربرين المؤكد في الوقت الإختبار ١٥,٧٦ دقيقة بقدر %٣٠,١٧. وأما نتيجة المعامل غير معين في مستخلص أسيتات الإيثيل على نبات أكاليفا إندিকা تدل على أن قدر الماء يبلغ %١٧,٩٤٩٧ حوالى %٠,٦٦٥٦، قدر الرماد %١,٩٧٨ حوالى ٠,٣١٥٣، قدر بقية المسيل (أسيتات الإيثيل) ٠,٩٩٨ حوالى ٠,٠٠٧٨ و قدر وساخة الرصاص المعدني  $\mu\text{g}$  ٤,٤٦ في كيلو غرام.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tumbuh-tumbuhan dapat dimanfaatkan dengan baik dalam kehidupan manusia, sebagaimana firman Allah SWT dalam Al Qur'an:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝٧

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik.” (Q.S. Asy Syu'ara (26) : 7)

Tafsir Al Mishbah menjelaskan bahwa kata (إلى) di awal ayat *أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ* di atas mengandung makna batas akhir, memperluas arah pandangan hingga batas akhir. Pandangan manusia diarahkan hingga mencakup seantero bumi dengan keanekaragaman tanah maupun tumbuhannya serta berbagai keajaiban yang terdapat pada tumbuh-tumbuhannya (Shihab, 2002). Tumbuhan merupakan gambaran dari segala sesuatu yang baik dan bermanfaat bagi makhluk hidup, terutama manusia. Salah satu manfaat penting tumbuhan adalah sebagai bahan obat berbagai macam penyakit.

Umumnya, suatu tumbuhan dapat dimanfaatkan sebagai obat karena memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, steroid, tanin, saponin, dan lain-lain. Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat herbal telah banyak dilakukan oleh masyarakat Indonesia secara turun-temurun dari generasi ke generasi berdasarkan pengalaman dan keterampilan nenek moyang zaman dahulu (Dewoto, 2007). Pemilihan penggunaan obat herbal ini dikarenakan efek samping serta toksisitas terhadap tubuh lebih kecil dan lebih mudah diterima

oleh tubuh, serta lebih mudah dibuat karena ketersediaan bahan bakunya lebih banyak dan harganya lebih murah (Wasito, 2011). Hal ini mendorong pengembangan obat herbal secara lebih luas agar dapat dikonsumsi oleh masyarakat secara lebih luas dan resmi.

Penggunaan obat herbal secara resmi dapat dilakukan melalui proses standarisasi baik simplisia atau ekstraknya berdasarkan standar dari Departemen Kesehatan RI (2000) tentang Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Tujuan dari standarisasi adalah untuk meningkatkan status produk serta menjamin efek farmakologis herbal sehingga lebih layak dan aman untuk dikonsumsi secara luas di masyarakat sebagai obat herbal terstandar (Saifudin dkk., 2011). Standarisasi dalam bidang fitomedis hanya dilakukan pada ekstrak tumbuhan saja dengan tujuan untuk menjaga mutu produk agar bahan yang tidak diinginkan dalam ekstrak tidak melebihi batasan yang telah ditentukan, sedangkan kadar zat aktif di dalamnya lebih banyak dibandingkan kadar standar minimumnya (Heinrich dkk., 2005). Salah satu jenis tumbuhan yang berpotensi sebagai obat herbal adalah Anting-anting (*Acalypha indica* L.) yang telah banyak digunakan sebagai obat tradisional sejak zaman dahulu.

Keberadaan tumbuhan Anting-anting cukup melimpah dan belum dimanfaatkan secara maksimal. Berberapa penelitian telah menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat Anting-anting positif mengandung tanin, alkaloid dan steroid (Hayati dkk., 2012). Ekstrak etanolnya diketahui mengandung polifenol, flavonoid, monoterpen, seskuioterpen, steroid, triterpenoid dan kuinon (Febriyanti dkk., 2014), juga flavonoid, tanin, saponin, dan glikosida dalam ekstrak etanol Anting-anting serta alkaloid dalam ekstrak petroleum eter, aseton dan metanol

(Vijayarekha dkk., 2015). Kandungan senyawa-senyawa metabolit penting menyebabkan Anting-anting memiliki aktivitas sebagai obat untuk beberapa jenis penyakit.

Radji (2008) menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% Anting-anting memiliki nilai  $LC_{50}$  sebesar 1,279  $\mu\text{g/mL}$ . Ekstrak kasar Anting-anting dari pelarut n-heksan, etanol dan kloroform memiliki potensi bioaktif terhadap larva udang dengan nilai  $LC_{50}$  secara berturut-turut sebesar 57,0993 ppm, 73,4575 ppm, dan 149,374 ppm (Hayati dan Halimah, 2010). Ekstrak etil asetat Anting-anting secara *in vivo* pada dosis 1 mg/g berat badan mencit menghasilkan efisiensi 90,74% sebagai antimalaria (Hayati dkk., 2012). Hal ini kemudian menjadikan Anting-anting banyak dijadikan sebagai agen antimalaria.

Penelitian Nadia (2012) menunjukkan aktivitas antimalaria secara *in vivo* ekstrak diklorometan Anting-anting memiliki nilai  $ED_{50}$  sebesar 0,119 mg/Kg BB, dan positif menunjukkan kandungan senyawa triterpenoid. Husna (2011) menunjukkan ekstrak etil asetat Anting-anting memiliki aktivitas antimalaria melalui pengujian secara *in vivo* dengan parasit *Plasmodium berghei* sebesar 87,7% dengan dosis 1 mg/g bb mencit jantan dan nilai  $ED_{50}$  sebesar  $3,083 \times 10^{-26}$  mg/Kg BB. Hasil identifikasi senyawa aktif dengan metode HPLC/DAD/ESI/ToF menunjukkan dugaan adanya lima senyawa (berdasarkan waktu retensi dari HPLC dan juga nilai m/z dari pengujian MS) yaitu alkaloid *berberine* dan *menisperine*, tanin terhidrolisis *tergallic-O-glucoside*, *ellagic acid-diglucoside*, dan *dehydrated tergallic-C-glucoside*. Senyawa yang diasumsikan berperan sebagai antimalaria adalah alkaloid (*berberine* dan *menisperine*) yang telah diketahui mempunyai aktivitas sebagai antimalaria. Identifikasi ekstrak kasar etil asetat Anting-anting

melalui FTIR yang menunjukkan adanya gugus OH, CH, <sup>+</sup>NH<sub>2</sub>, C=C, C-O alkohol primer, =CH siklik, CH dan serapan khas aromatik (Kusumarini, 2013). Hal ini memperkuat dugaan senyawa alkaloid kuartener jenis berberin dan menisperin.

Senyawa berberin memiliki aktivitas antiplasmodium dan telah banyak digunakan secara empirik sebagai obat tradisional antimalaria. Klorida berberin dengan konsentrasi 50  $\mu$ M dapat mencegah sintesis protein pada *Plasmodium falciparum* (Simanjutak, 1995). Pengujian aktivitas antimalaria dari senyawa berberin konsentrasi 10 mg/Kg terhadap hati tikus yang terinfeksi 1000 *Plasmodium chabaudi* menunjukkan hasil positif dapat menurunkan persen parasitemia sekitar 40% (Dkhila dkk., 2015). Hal ini memperkuat dugaan bahwa kandungan senyawa berberin dalam tumbuhan *Acalypha indica* L. memiliki potensi besar sebagai obat antimalaria.

Berdasarkan uraian di atas, Anting-anting dapat dikembangkan sebagai obat herbal terstandar secara resmi sehingga dapat dikonsumsi secara luas oleh masyarakat, khususnya sebagai obat antimalaria (Mustofa, 2009). Penelitian tentang obat antimalaria masih terus dilakukan dikarenakan tersedianya obat di pasaran yang mengandung senyawa klorokuin, primakuin, dan sulfatodoksinpirimetanin telah mengalami resistensi. Hal ini kemudian menjadikan penelitian ini penting dilakukan untuk menjamin mutu ekstrak Anting-anting sebagai obat herbal antimalaria terstandar. Proses standardisasi dilakukan melalui pengujian terhadap parameter-parameter standar obat herbal (parameter spesifik dan non spesifik) sesuai dengan ketentuan Menteri Kesehatan RI (2000) tentang Parameter Standar Umum Ekstrak.

Proses standardisasi dilakukan dengan menggunakan ekstrak etil asetat tumbuhan Anting-anting untuk pengujian parameter spesifik dan non-spesifik. Senyawa alkaloid berberine yang merupakan senyawa target dalam Anting-anting tidak dapat terekstrak dengan baik dalam etanol ataupun air akan tetapi dapat terekstrak dengan etil asetat sehingga digunakan pelarut etil asetat dalam penelitian ini. Pelarut yang diperbolehkan dalam proses standardisasi adalah air dan etanol karena toksisitasnya yang rendah (Saifudin dkk., 2011), akan tetapi pada kondisi tertentu agar diperoleh hasil yang lebih optimal (terutama untuk penarikan senyawa target) dapat digunakan pelarut lain (MenKes, 2009), dan dalam penelitian ini standardisasi ekstrak Anting-anting dilakukan dengan menggunakan pelarut etil asetat.

Pengujian parameter spesifik bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa atau komponen yang berfungsi secara spesifik terhadap aktivitas farmakologis tertentu (anti malaria), sedangkan pengujian parameter non spesifik bertujuan untuk mengetahui aspek fisik, kimia dan mikrobiologi yang dapat mempengaruhi kestabilan ekstrak serta keamanan konsumen (Syarifudin dkk., 2011). Pengujian parameter spesifik ekstrak Anting-anting yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi penentuan senyawa larut air dan etanol, penentuan kandungan senyawa kimia dalam ekstrak meliputi pengujian kandungan alkaloid serta penentuan senyawa marker berberin dalam ekstrak. Pengujian parameter non spesifik yang dilakukan di antaranya; penentuan kadar air, kadar abu, kadar sisa pelarut, serta kadar cemaran logam berat Pb dalam ekstrak. Penelitian ini diharapkan mampu menunjukkan kualitas dan kelayakan ekstrak Anting-anting untuk dijadikan sebagai obat herbal terstandar berdasarkan ketentuan Kementerian

kesehatan RI yang kemudian mampu untuk dikembangkan secara lebih lanjut sebagai obat herbal yang dapat dikonsumsi secara luas, khususnya oleh masyarakat Indonesia.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimanakah hasil pengujian parameter spesifik ekstrak Anting-anting (*Acalypha indica* L.) ?
2. Bagaimanakah hasil pengujian parameter non spesifik ekstrak Anting-anting (*Acalypha indica* L.) ?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui hasil pengujian parameter spesifik dalam ekstrak Anting-anting (*Acalypha indica* L.)
2. Mengetahui hasil pengujian parameter non spesifik dalam ekstrak Anting-anting (*Acalypha indica* L.)

## **1.4 Batasan masalah**

Batasan dalam penelitian ini adalah:

1. Sampel yang digunakan adalah tumbuhan Anting-anting segar yang diperoleh dari daerah Dinoyo Malang.
2. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi sampel adalah etil asetat.

3. Parameter spesifik yang diuji meliputi pengujian kandungan alkaloid dengan reagen, penetapan kadar alkaloid total, penentuan senyawa marker berberin, kadar ekstrak larut air dan kadar ekstrak larut etanol.
4. Parameter non spesifik meliputi penetapan kadar air dan abu, penetapan kadar sisa pelarut, serta penetapan cemaran logam berat timbal (Pb).

### **1.5 Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan gambaran tentang karakteristik dan standardisasi ekstrak herba anting-anting (*Acalypha indica* L.) yang kemudian dapat digunakan sebagai obat herbal terstandar secara resmi dan dapat dimanfaatkan secara luas oleh masyarakat Indonesia.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Pemanfaatan Tumbuhan sebagai Obat

Allah SWT telah menegaskan di dalam Al Qur'an-Nya bahwa tumbuhan-tumbuhan merupakan anugerah bagi manusia. Tumbuhan merupakan sumber makanan dan juga obat-obatan. Allah SWT menjelaskan bahwa tumbuhan-tumbuhan diciptakan setelah diciptakannya bumi disertai munculnya air dari dalam bumi. Tumbuhan dan air sering kali dibahas secara bersamaan di dalam ayat-ayat Al Qur'an. Hal ini menunjukkan bahwa antara tumbuhan dan air saling berkaitan satu sama lain. Tumbuhan hanya ditemukan di bumi yang mengandung cadangan air yang kemudian menjadi materi pokok bagi kehidupan makhluk hidup di bumi, baik manusia maupun hewan.

إِنَّمَا مَثَلُ الْحَيَاةِ الدُّنْيَا كَمَاءٍ أَنْزَلْنَاهُ مِنَ السَّمَاءِ فَاخْتَلَطَ بِهِ نَبَاتُ الْأَرْضِ مِمَّا يَأْكُلُ النَّاسُ وَالْأَنْعَامُ حَتَّى إِذَا أَخَذَتِ الْأَرْضُ زُخْرُفَهَا وَازَّيَّنَتْ وَظَنَّ أَهْلُهَا أَنَّهُمْ قَادِرُونَ عَلَيْهَا أَتَاهَا أَمْرُنَا لَيْلًا أَوْ نَهَارًا فَجَعَلْنَاهَا حَصِيدًا كَأَن لَّمْ تَغْنَبِ بِالْأَمْسِ كَذَلِكَ نُفَصِّلُ الْآيَاتِ لِقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ٢٤

Artinya: “*Sesungguhnya perumpamaan kehidupan duniawi itu, adalah seperti air (hujan) yang Kami turunkan dari langit, lalu tumbuhlah dengan subur karena air itu tanam-tanaman bumi, di antaranya ada yang dimakan manusia dan binatang ternak. Hingga apabila bumi itu telah sempurna keindahannya, dan memakai (pula) perhiasannya, dan pemilik-permiliknya mengira bahwa mereka pasti menguasainya, tiba-tiba datanglah kepadanya azab Kami di waktu malam atau siang, lalu Kami jadikan (tanam-tanamannya) laksana tanam-tanaman yang sudah disabit, seakan-akan belum pernah tumbuh kemarin. Demikianlah Kami menjelaskan tanda-tanda kekuasaan (Kami) kepada orang-orang berfikir.*” (Qs. Yunus (10): 24).

Qs. Yunus ayat 24 telah menjelaskan bahwa di antara hasil bumi yang beraneka ragam adalah bagi kebutuhan manusia dan juga hewan ternak, juga sebagai hiasan bagi bumi agar bumi menjadi semakin indah. Kata ( مَثَل ) dalam ayat ini diartikan sebagai kata untuk mempersamakan kehidupan dunia dengan keindahan di mana

air hujan tidak hanya dijelaskan bagaimana proses turunnya dari langit, melainkan juga digambarkan dengan lebih luas tentang apa yang dihasilkan oleh hujan itu. Air hujan turun dari langit membasahi tanah, selanjutnya tanah tersebut menjadi subur dan dapat ditumbuhi oleh berbagai tumbuh-tumbuhan yang indah dan bermanfaat bagi kehidupan di bumi, sejak tumbuh, berbunga hingga berbuah (Shihab, 2002). Tumbuh-tumbuhan yang hidup secara liar yang dapat tumbuh dengan subur hanya dari air hujan umumnya hanya dijadikan sebagai bahan pakan ternak dan tidak dimanfaatkan dengan baik untuk kehidupan manusia. Penggunaan tumbuhan hijau selain sebagai bahan pakan ternak juga dapat dijadikan obat herbal untuk berbagai macam penyakit.

Obat herbal adalah tumbuhan atau bagian dari tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat karena kandungannya atau kualitasnya yang baik. Produk herbal yang digunakan sebagai obat dapat diperoleh dari beberapa bagian tumbuhan (akar, batang, umbi, daun, biji atau bunga) yang mana mengandung senyawa penting. Senyawa penting yang berperan sebagai obat disebut dengan senyawa aktif dengan kadar tertentu yang tergantung pada spesies tumbuhan, waktu panen, kandungan pengotor, serta metode preparasi (Kunie dkk., 2012).

Obat herbal telah digunakan secara resmi di negara-negara maju didorong oleh beberapa faktor di antaranya; harapan untuk hidup lebih panjang, kegagalan penyembuhan dengan obat sintetik (terutama untuk penyakit kronis), serta semakin luasnya akses informasi yang menyebabkan masyarakat lebih mudah memahami kelebihan penggunaan obat herbal dibandingkan dengan obat sintetik. Organisasi kesehatan dunia WHO telah merekomendasikan pengobatan dengan obat herbal yang dikenal dengan *back to nature*. Hal ini kemudian menjadi pertimbangan

untuk terus melakukan penelitian demi pengembangan pengobatan herbal (Wasito, 2011). Berdasarkan keputusan Menteri Kesehatan RI tahun 1994, obat herbal (obat tradisional) harus memenuhi beberapa syarat tertentu demi melindungi kesehatan masyarakat dari hal-hal yang dapat mengganggu atau merugikan kesehatan masyarakat. Persyaratan tersebut meliputi; kadar air, keseragaman bobot, wadah dan penyimpanan, bahan tambahan, angka lempeng total, cemaran mikroba patogen, kapang dan khamir, serta aflatoksin (Kemenkes RI, 1994).

Obat herbal juga digolongkan dalam tiga jenis yang masing-masing memiliki pengertian dan persyaratan tertentu yaitu jamu, obat herbal terstandar, dan fitofarmaka. Jamu adalah obat tradisional dari bahan alam yang penggunaannya didasarkan pada pengalaman empirik dalam waktu yang panjang dan belum dibuktikan mutu, keamanan serta khasiatnya secara ilmiah. Obat herbal terstandar adalah sediaan obat bahan alam yang khasiat dan keamanannya telah terbukti secara ilmiah melalui uji praklinis serta bahan bakunya telah melalui proses standardisasi. Fitofarmaka adalah obat bahan alam yang telah terbukti keamanan dan khasiatnya secara ilmiah melalui uji praklinis dengan hewan uji, telah melalui proses standardisasi dan melalui uji klinis pada manusia, serta telah diproduksi dalam bentuk sediaan (Wasito, 2011). Tumbuhan Ating-ating yang telah banyak dijadikan sebagai jamu tradisional dapat dikembangkan sebagai obat herbal terstandar melalui proses standardisasi.

## 2.2 Pemanfaatan Tumbuhan Anting-anting (*Acalypha indica* L.) sebagai Obat Herbal

Allah telah berfirman dala Qs. Thaha ayat 53 sebagai berikut:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا  
مِّن نَّبَاتٍ شَتَّى ۝۳

Artinya: “Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan Yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam.” (Qs. Thaha (20): 53).

Menurut tafsir Al Mishbah, Qs. Thaha ayat 53 menjelaskan bahwa Allah menurunkan air hujan dari langit, mata air, sungai dan lautan, kemudian Allah menumbuhkan bermacam-macam jenis tumbuhan dan Allah menunjukkan manusia untuk dapat mengambil manfaat dari tumbuhan-tumbuhan itu sebagai tanda tentang petunjuk Ketuhanan dan Pemeliharaan Allah SWT. Allah memerintahkan langit untuk menurunkan hujan untuk dapat menumbuhkan bermacam-macam tumbuhan agar tumbuh dan berkembang. Kata أزواج menjelaskan aneka tumbuhan dalam arti jenis-jenis tumbuhan (Shihab, 2002). Salah satu jenis tumbuhan yang dapat dimanfaatkan baik oleh manusia maupun sebagai pakan bagi hewan ternak adalah Anting-anting (*Acalypha indica* L.) yang termasuk jenis tumbuhan rumput-rumputan.

### 2.2.1 Klasifikasi Tumbuhan Anting-anting (Hutapea, 1993; BPOM RI, 2010)

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Bangsa	: <i>Euphorbiales</i>
Suku	: <i>Euphorbiaceae</i>
Marga	: <i>Acalypha</i>

Jenis : *Acalypha indica* Linn.  
 Nama dagang : Kucing-kucingan  
 Sinonim : *A. spicata* L., *A. ciliata* L., *A. canescana* L., *A. australis* L., *A. canescens* Wall.



Gambar 2.1 Tumbuhan Anting-anting (*Acalypha indica* L.)

### 2.2.2 Kandungan Senyawa dan Khasiat Tumbuhan Anting-anting

Berdasarkan hasil penelitian secara kualitatif dan kuantitatif terhadap tumbuhan *A. indica* Linn, ditemukan bahwa ekstrak tumbuhan tersebut mengandung steroid / triterpenoid, alkaloid, saponin dan senyawa fenolik (Tukira dkk., 2010), selain itu juga mengandung tanin (Hayati dkk., 2012), dan minyak atsiri (Hutapea, 1993; Yuniarti, 2008). Penelitian Balakhrisan (2009) juga menunjukkan tumbuhan *A. indica* Linn. mengandung *achalpmide*, *aurantiamide*, *succinimide*, *calypholacetate*, *2-methyl anthraquinone*, *tri-o-methylellagic acid*,  $\beta$ -*sitosterol- $\beta$ -D-glucoside*, *cyanogenetic glycoside*, *viz Acalyphine*, *triacetoamine*, *n-octasanol*,  $\beta$ -*sitosterolacetate*, *kaempferol*, *quebrachitol*, *resin*, *hydrocyanic acid*, tanin, serta minyak essensial.

Vijayarekha dkk. (2015) melakukan uji fitokimia ekstrak Anting-anting menggunakan 5 pelarut yang berbeda dan menunjukkan kandungan senyawa yang berbeda pula, yaitu; pada ekstrak petroleum eter positif mengandung

alkaloid, flavonoid, tanin, fenol dan glikosida; pada ekstrak kloroform mengandung flavonoid dan tani; pada ekstrak aseton dan metanol mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, glikosida; pada ekstrak etanol mengandung flavonoid, tanin, saponin dan glikosida.

Daun tumbuhan *Acalypha indica* L. berkhasiat sebagai obat pencahar dan obat sakit mata (Hutapea, 1993). Ekstran n-heksan, kloroform, etilasetat dan metanol dari daun Anting-anting aktif sebagai antibakteri (BPOM RI, 2010). Tumbuhan Anting-anting diyakini memiliki khasiat sebagai anti radang, antibiotik, peluruh kemih, obat untuk menghentikan pendarahan, air kemih berdarah, eksim, rematik sendi, asam urat, disentri, diare, buang air berdarah, radang kulit, dan koreng (Wijayakusuma, 2008). Ekstrak etanol tumbuhan ini memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 dengan nilai  $IC_{50}$  225 $\mu$ g/mL (Febriyanti dkk., 2014).

Vijayarekha dkk. (2015) menunjukkan ekstrak petroleum eter dengan dosis 150 mg/mL tumbuhan ini aktif sebagai anti bakteri dengan pengujian menggunakan bakteri *E. coli* (zona hambat 28,57 mm), *Pseudomonas* (zona hambat 20,31 mm), dan *K. pneumoniae* (zona hambat 21,54 mm), serta pada ekstrak etanolnya aktif pada bakteri *K. pneumoniae* (zona hambat 28,57 mm), dan *E. coli* (zona hambat 20,39 mm). Penelitian Jagatheeswari (2013) menunjukkan ekstrak metanol tumbuhan Anting-anting memiliki aktivitas sebagai anti inflamasi pada dosis 250 mg/kg berat badan, ekstrak etanolnya mampu menghambat pertumbuhan bakteri (*Bacillus careus*, *Bacillus subtilsi*, *E.colli*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholera* dan *Pseudomonas aeruginosa*, ekstrak etanol dan air mampu

menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus fumigatus*, *Microsporium canis* (*molds*) dan *Candida albican* (*yeast*).

Penelitian Hayati dan Halimah (2010) menunjukkan tumbuhan Anting-anting memiliki potensi bioaktivitas terhadap larva udang dengan nilai LC<sub>50</sub> 57,0933 ppm (ekstrak heksana), 73,4575 ppm (ekstrak etanol) dan 149,374 ppm (ekstrak kloroform), pada tahun 2012 Hayati dkk. juga membuktikan aktivitas tertinggi anti malaria melalui pengujian secara *in vivo* pada dosis 1 mg/g berat badan yaitu kemampuan penghambatan pertumbuhan *Plasmodium berghei* sebesar 90,74%. Rahmah (2014) menunjukkan isolat alkaloid hasil KLT (menggunakan eluen kloroform : metanol (9,5:0,5)) dari ekstrak metanol Anting-anting mampu menghambat 11,9 – 21,2% pertumbuhan *Plasmodium berghei*.

### 2.3 Pemanfaatan Anting-anting sebagai Herba Antimalaria

Malaria merupakan penyakit yang disebabkan oleh suatu parasit jenis *protozoa* (golongan *sporozoa*) yaitu *Plasmodium* melalui suatu gigitan nyamuk *Anopheles* betina (Snow dkk., 2005 dalam Mustofa, 2009). Allah telah menyebutkan nyamuk dalam Firman-Nya:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا فَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ

رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا وَمَا

يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ ٢٦

Artinya: “Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka, tetapi mereka yang kafir mengatakan: "Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan?." Dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah,, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik.” (Qs. Al Baqarah (2): 26).

Qs. Al Baqarah ayat 26 menyebutkan nyamuk sebagai perumpamaan bagi orang mukmin sebagai salah satu bukti kebenaran dan kebijaksanaan Allah. Manusia juga harus mengetahui manfaat maupun bahaya binatang-binatang kecil seperti nyamuk dibalik penciptaanya oleh Allah. Nyamuk adalah hewan yang banyak dikenal sebagai penyebar penyakit, di antaranya nyamuk *anopheks* sebagai penyebar malaria atau *aides aegypti* penyebar penyakit demam berdarah. Secara umum nyamuk diketahui sebagai makhluk penghisap darah, akan tetapi perkembangan ilmu pengetahuan membuktikan bahwa tidak semua nyamuk menghisap darah. Hanya nyamuk betina yang membutuhkan darah untuk proses perkembang biakannya. Nyamuk betina memerlukan protein dari darah untuk proses akhir pembentukan telur (Kementrian Agama RI, 2011). Gigitan nyamuk dapat mengakibatkan penyakit tertentu bagi manusia, salah satunya seperti malaria.

Penyakit malaria dapat disembuhkan dengan menggunakan obat tertentu. Obat antimalaria yang baik harus memenuhi beberapa syarat, di antaranya: 1) aktif terhadap semua jenis *Plasmodium* sehingga dapat melawan infeksi keempat spesies *Plasmodium*, 2) aktif terhadap semua stadium perkembangan parasit malaria dalam tubuh, 3) mempunyai waktu paro panjang sehingga bisa digunakan untuk melawan infeksi parasit akut ataupun laten, 4) mempunyai efek samping ringan dengan toksisitas rendah sehingga tidak merugikan konsumen, 5) cara penggunaannya mudah sehingga mudah diterima oleh semua golongan penderita, dan (6) banyak tersedia dengan harga terjangkau (Mustofa, 2009). Alternatif yang dapat dilakukan untuk mengatasinya yaitu dengan cara eksplorasi bahan alam terutama tumbuhan yang telah banyak dimanfaatkan secara empirik sebagai

antimalaria, modifikasi senyawa yang telah diketahui memiliki aktivitas antimalaria, atau dengan mengkaji metabolisme spesifik parasit dalam rangka mencari antimetabolit (Mustofa, 2009). Adapun yang paling banyak dilakukan dengan efektivitas yang cukup tinggi dan efek samping yang relatif ringan adalah penggunaan obat bahan alam (herbal).

#### **2.4 Metode Ekstraksi Tumbuhan Anting-Anting secara Maserasi**

Ekstraksi adalah suatu proses penarikan zat aktif dari dalam sel bahan alam (baik tanaman, hewan atau biota) dengan menggunakan metode dan pelarut tertentu yang sesuai. Tujuan dari proses ekstraksi adalah untuk mengekstrak komponen kimia dalam bahan alam berdasarkan prinsip perpindahan komponen kimia yang terdapat dalam sel bahan ke dalam pelarut yang dimualai pada lapisan antar muka yang kemudian berdifusi ke dalam pelarut (Harborne, 1987). Pemilihan metode ekstraksi dan juga jenis pelarut adalah poin penting dalam ekstraksi. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus memiliki sifat kepolaran sesuai dengan senyawa yang akan diekstrak. Hal ini didasarkan pada prinsip *like dissolve like* di mana senyawa polar akan terekstrak pada pelarut polar, sedangkan senyawa nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar (Heinrich, 2005). Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Maserasi merupakan proses ekstraksi suatu simplisia menggunakan pelarut tertentu dengan beberapa kali pengadukan pada suhu kamar (Depkes RI, 2000).

Maserasi didasarkan pada proses larutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan, ekstraksi (difusi) bahan kandungan dari sel yang masih utuh. Proses maserasi dihentikan ketika keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan yang

masuk kedalam cairan, telah tercapai maka proses difusi segera berakhir. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengekstraksi, akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Voigt, 1994 dalam Istiqomah, 2013). Pemilihan pelarut organik yang digunakan dalam ekstraksi komponen aktif juga merupakan faktor penting dan menentukan untuk mencapai tujuan dan sasaran ekstraksi komponen. Semakin tinggi nilai konstanta dielektrik, titik didih dan kelarutan dalam air, maka pelarut akan bersifat makin polar (Sudarmadji dkk., 2003). Hal ini kemudian menjadi pertimbangan penting untuk menentukan jenis pelarut yang digunakan untuk maserasi.

Ketentuan umum pelarut untuk ekstraksi berdasarkan aturan BPOM adalah air dan etanol, akan tetapi apabila senyawa target tidak mampu terekstrak dengan maksimal dalam air maupun etanol maka dapat digunakan pelarut lain yang sesuai. Apabila senyawa hanya sedikit sekali terekstrak dalam pelarut air ataupun etanol maka akan sulit untuk dideteksi. Proses partisi juga sangat tidak disarankan dalam standardisasi ekstrak karena akan mengakibatkan penentuan kadar senyawa dalam ekstrak menjadi kurang valid karena selama proses partisi, akan banyak komponen ekstrak yang hilang. Hal ini kemudian menjadi sangat penting untuk memilih pelarut yang benar-benar sesuai dengan senyawa target dalam proses ekstraksi sehingga diperoleh hasil yang lebih maksimal. Jika senyawa target bersifat semi polar sebaiknya digunakan pelarut yang juga bersifat semi polar seperti aseton atau etil asetat yang juga cukup mudah untuk diuapkan (Saifudin dkk., 2011). Senyawa yang menjadi target dalam penelitian ini adalah senyawa alkaloid berberin yang bersifat semi polar sehingga digunakan pelarut etil asetat

dalam proses maserasi dengan tujuan senyawa berberin dapat terkestrak dalam tumbuhan Anting-anting secara maksimal.

Tahap setelah maserasi adalah pemekatan dengan tujuan untuk menghilangkan pelarut. Proses ini dilakukan melalui penguapan dengan *rotary evaporator vakum* yang dilakukan pada tekanan rendah atau dengan kenaikan temperatur dan kecepatan terbesar pada titik didih larutan. Cairan organik yang memiliki titik didih rendah, tekanan permukaan akan rendah. Labu evaporator dipanaskan pada temperatur tertentu di atas *waterbath* dan diputar selama evaporasi, sehingga terjadi pencampuran yang sempurna, mencegah bumping, dan juga akan memiliki permukaan yang relatif lebih kuat. Pelarut menguap dari campuran kemudian terkondensasi dan jatuh pada labu penampung (Vogel, 1978). Proses evaporasi dihentikan sampai tidak ada lagi pelarut yang menetes pada labu penampung.

Hasil dari proses maserasi disebut dengan ekstrak. Ekstrak adalah suatu komponen hasil proses ekstraksi. Ekstrak pada umumnya merupakan bahan dasar pembuatan produk fitofarmaka yang kemudian menjadi produk obat herbal asli Indonesia (Hernani dkk., 2007). Ekstrak digolongkan sebagai ekstrak kasar dan ekstrak murni. Ekstrak kasar adalah ekstrak yang mengandung semua komponen terlarut dalam pelarut pengestrak yang umumnya menggunakan pelarut organik. Ekstrak murni merupakan hasil pemurnian dari ekstrak kasar melalui proses penghilangan lemak, penyaringan menggunakan adsorben atau resin untuk menghilangkan senyawa-senyawa inert yang tercampur dalam ekstrak kasar (Wijesekera, 1991). Ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak kasar.

Faktor yang mempengaruhi ekstrak yaitu faktor biologi dan faktor kimia. Faktor biologi meliputi; spesies tumbuhan, lokasi tumbuh, waktu pemanenan, penyimpanan bahan tumbuhan, umur tumbuhan dan bagian yang digunakan. Sedangkan faktor kimia yaitu; faktor internal (jenis senyawa aktif dalam bahan, komposisi kualitatif senyawa aktif, komposisi kuantitatif senyawa aktif, kadar total rata-rata senyawa aktif) dan faktor eksternal (metode ekstraksi, perbandingan ukuran alat ekstraksi, ukuran, kekerasan dan kekeringan bahan, pelarut yang digunakan dalam ekstraksi, kandungan logam berat, kandungan pestisida) (Depkes RI, 2000).

Penelitian Febriyanti dkk. (2014) menunjukkan hasil ekstraksi secara maserasi tumbuhan *A. indica* dengan pelarut etanol 96% pada suhu 40 – 50 °C selama 3 kali 24 jam menghasilkan rendemen sebesar 11,54% (346,24 g dari 3 kg sampel kering). Ekstraksi maserasi *A. indica* dengan pelarut etilasetat menghasilkan rendemen sebanyak 14,9%. Ekstraksi dilakukan dengan perendaman sampel kering (sebanyak 30 g) menggunakan pelarut sebanyak 150 mL (perbandingan sampel-pelarut 1:5) selama 3 kali 24 jam dengan 2 kali ulangan menghasilkan ekstrak pekat 4,47 g (Hayati dkk., 2012).

## **2.5 Standardisasi Tumbuhan Anting-anting sebagai Herba Antimalaria**

Proses standardisasi obat herbal dilakukan untuk menjamin sediaan obat herbal tersebut memenuhi standar mutu dan keamanan meliputi kandungan zat aktif dengan dosis efektif, komposisi setiap proses produksi agar tetap konstan dan terhindar dari pemalsuan (Isnawati, A, dkk., 2006). Suatu obat herbal dapat di terima dalam pelayanan kesehatan secara resmi harus memiliki data empirik yang didukung dengan bukti ilmiah tentang kandungan dan khasiat senyawa di

dalamnya. Bukti ilmiah dapat diperoleh melalui penelitian secara sistematis dengan tahapan di antaranya; (1) seleksi, (2) uji preklinik meliputi uji toksisitas dan uji farmakodinamik, (3) standarisasi sederhana, penentuan identitas dan pembuatan sediaan obat yang terstandar, serta (4) uji klinik (Dewoto, 2007).

Standardisasi obat herbal meliputi standarisasi simplisia dan standarisasi ekstrak. Simplisia yang digunakan dalam pembuatan sediaan obat herbal harus memenuhi standar yang kemudian dapat dijadikan sebagai ekstrak melalui proses ekstraksi. Ekstrak dari simplisia juga distandarisasi secara spesifik dan umum (non spesifik) (Isnawati, 2006). Standardisasi obat herbal meliputi dua aspek (Saifudin dkk., 2011):

1. Aspek parameter spesifik : berfokus pada senyawa atau golongan senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas farmakologis. Analisis kimia yang dilibatkan ditujukan untuk analisa kualitatif dan kuantitatif terhadap senyawa aktif.
2. Aspek parameter non spesifik : berfokus pada aspek kimia, mikrobiologi dan fisis yang akan mempengaruhi keamanan konsumen dan stabilitas, misal kadar logam berat, aflatoksin, kadar air dan lain-lain.

## **2.6 Parameter-parameter dalam Standardisasi**

### **2.6.1 Parameter Spesifik**

#### **2.6.1.1 Parameter Senyawa Terlarut dalam Air dan Etanol**

Parameter senyawa terlarut yaitu melarutkan ekstrak dengan pelarut (alkohol atau air) untuk ditentukan jumlah *solute* yang identik dengan jumlah senyawa kandungan secara gravimetri. Tujuannya yaitu memberikan gambaran awal jumlah senyawa kandungan (Depkes RI, 2000). Penetapan kadar ekstrak larut air dan etanol bukanlah hal utama terkait efek farmakologis tetapi

merupakan perkiraan kasar senyawa-senyawa yang bersifat polar (larut air) dan senyawa aktif yang bersifat semi polar (larut etanol). Problem yang sering terjadi adalah penjumlahan ekstrak larut air dan ekstrak larut etanol lebih dari 100%. Ini terjadi karena polarisasi pelarut air yang memungkinkan beberapa senyawa semi polar menjadi lebih polar sehingga bisa tertarik ke dalam air, begitu pula sebaliknya jika kadar ekstrak larut etanol lebih tinggi (Saifudin dkk., 2011).

Hasil penelitian Khoirani (2013) menunjukkan bahwa standarisasi ekstrak etanol herba Kemangi (*Ocimum americanum*) memiliki kadar senyawa larut air sebesar  $11,3\% \pm 2,92\%$  sedangkan senyawa yang larut etanol adalah  $69\% \pm 0,7\%$ . Ini berarti ekstrak lebih banyak larut dalam etanol. Penentuan kadar senyawa larut air dan etanol ini dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam pelarut tertentu kemudian diuapkan. Penentuan ekstrak larut air dilakukan dengan menggunakan pelarut air-kloroform, sedangkan untuk senyawa larut etanol digunakan pelarut etanol 96% (Saifudin dkk., 2011). Penelitian lain oleh Yulianti (2013) untuk menstandarisasi ekstrak etanol daun Angsana yang diperoleh dari tiga daerah yang berbeda menghasilkan data senyawa larut air dengan metode yang sama yaitu;  $22,882\% \pm 0,411$  (Tangerang),  $23,536\% \pm 3,851$  (Bogor), dan  $24,437\% \pm 3,982$  (Yogyakarta), sedangkan untuk senyawa larut dalam etanol diperoleh data;  $14,416\% \pm 0,709$  (Tangerang),  $15,374\% \pm 0,715$  (Bogor), dan  $13,624\% \pm 1,206$  (Yogyakarta).

#### **2.6.1.2 Uji Pendahuluan senyawa Alkaloid dengan Reagen Meyer dan Dragendorff**

Penentuan kandungan alkaloid biasanya dilakukan dengan menggunakan reagen uji Dragendorff atau reagen Meyer yang akan menghasilkan endapan

berwarna ketika positif. Hasil positif dengan reagen Dragendorf akan menunjukkan endapan jingga sedangkan dengan reagen meyer menghasilkan endapan kekuning-kuningan (Hayati dan Halimah, 2010). Uji pendahuluan ini umumnya dilakukan di awal proses sebelum dilakukan uji lanjut dengan KLT atau kromatografi lainnya.

### **2.6.1.3 Penetapan Kadar Alkaloid Total secara Gravimetri**

Penetapan kadar alkaloid total dapat dilakukan dengan metode gravimetri didahului dengan proses pengendapan. Uji pendahuluan sebelum penentuan alkaloid total yaitu dengan penambahan reagen Meyer atau Dragendorff pada ekstrak etanol Anting-anting dalam suatu tabung reaksi. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan. Menurut BPOM (2000) tentang Parameter Mutu Ekstrak, alkaloid total ditentukan dengan cara spektrofotometri dan menggunakan senyawa standar, akan tetapi jenis alkaloid sangat beragam sehingga sulit untuk penentuan standarnya. Hal ini kemudian direvisi BPOM (2006) tentang Monografi Ekstrak bahwa penetapan alkaloid total paling tepat adalah secara gravimetri, yaitu dengan pengendapan semua alkaloid kemudian disaring dan ditimbang. Metode ini juga memiliki kelemahan yaitu senyawa non-alkaloid (senyawa-senyawa nitrogen yang bukan anggota cincin) dapat ikut terendapkan (Syarifuddin dkk., 2011).

Nopika (2012) melakukan penetapan alkaloid total dari ekstrak etanol umbi lapis Bakung (*Hymenocallis littoralis* Salisb.) melalui metode gravimetri. Sampel diekstrak dengan pelarut etanol 95% secara maserasi kemudian ekstrak hasil maserasi ditambah dengan asam asetat 10% (dalam etanol), ditambahkan  $\text{NH}_4\text{OH}$  hingga terbentuk endapan, disaring, dikeringkan pada suhu  $60\text{ }^\circ\text{C}$  selama

30 menit, lalu ditimbang. Hasil dari penentuan ini diperoleh total alkaloid sebesar 10,93%. Penelitian lain dilakukan oleh Osuagwu dan Eme (2013) dengan sampel daun *Dialium guineense*, daun *Vitex doniana*, dan daun *Dennettia tripetala* yang dimaserasi dengan etanol. Penetapan alkaloid total dilakukan dengan melarutkan 5 g ekstrak dalam 20 mL 10% asam asetat (dalam etanol) dan dihomogenkan selama 4 jam pada suhu ruang, lalu disaring dan diuapkan hingga volume berkurang menjadi satu per empat dari volume awal, selanjutnya ditetesi NH<sub>4</sub>OH hingga terbentuk endapan, disaring sambil dicuci dengan NH<sub>4</sub>OH 9% lalu dikeringkan pada suhu 60 °C selama 30 menit, lalu ditimbang. Kadar alkaloid total ditentukan dengan persamaan:

$$\% \text{ alkaloid} = \frac{W2 - W1}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

Dengan:

W1 = berat kertas saring

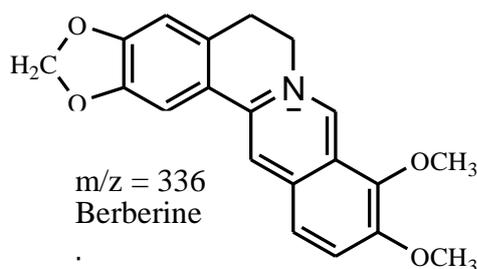
W2 = berat kertas saring + endapan

Hasil penentuan alkaloid total pada ketiga sampel adalah; *D. guineense* 1,12% ± 0,01, *V. doriانا* 1,41% ± 0,01, dan *D. tripetala* 2,42% ± 0,05.

#### **2.6.1.4 Penetapan Senyawa Marker Berberin dengan LCMS**

Tujuan dari penentuan senyawa marker adalah untuk mengetahui kadar senyawa aktif yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antimalaria dalam ekstrak. Parameter dari pengujian senyawa marker adalah terbacanya senyawa target pada kadar tertentu (Syaifuddin dkk., 2011). Senyawa marker yang

ditentukan dalam ekstrak tumbuhan *Acalypha indica* L. sebagai anti malaria adalah senyawa berberin yang merupakan golongan senyawa alkaloid kuartener.



Gambar 2.2 Struktur Berberin

Senyawa berberin banyak terdapat pada tumbuhan *Annonaceae*, *Menispermaceae*, *Papayareceae* dan telah banyak dimanfaatkan sebagai herba antimalaria secara empirik sejak zaman dahulu. Isolat senyawa protoberberin dari ekstrak air tumbuhan *Enantia chlorantha* secara aktif dapat menghambat pertumbuhan *Plasmodium falciparum* (Simanjutak, 1995).

Kadar senyawa marker dapat ditentukan menggunakan UPLC apabila tidak dapat ditentukan secara densitometri dengan syarat kadar senyawa marker dalam sampel tidak rendah. Sistem dalam UPLC untuk penetapan senyawa marker juga harus dikondisikan sedemikian hingga sesuai dengan senyawa target. Penetapan senyawa metabolit sekunder alami biasanya dilakukan dengan menggunakan fasa terbalik dengan fasa diam C-18 (nonpolar) dan fasa geraknya umumnya berupa kombinasi air, metanol, asetonitril yang dimodifikasi keasamannya dengan asam formiat pada PH tertentu (sebagai buffer) (Saifuddin dkk., 2011).

Metode UPLC lebih banyak digunakan dalam penentuan senyawa marker dikarenakan UPLC dapat menetapkan kadar senyawa yang tidak dapat dilakukan menggunakan densitometer. Umumnya sistem yang digunakan untuk analisis senyawa dari bahan alam menggunakan UPLC adalah sistem terbalik yaitu fase diam non polar (C18), fase gerak polar (kombinasi air-metanol-asetonitril dengan modifikasi keasaman menggunakan asam fosfat pH tertentu, asam formiat, TFA (*tri fluoro acetic acid*)).

## **2.6.2 Parameter Non-Spesifik**

Penentuan parameter non-spesifik ekstrak yaitu penentuan aspek kimia, mikrobiologi dan fisis yang akan mempengaruhi keamanan konsumen dan stabilitas (Saifudin dkk, 2011). Parameter non spesifik ekstrak meliputi (Depkes RI, 2000):

### **2.6.2.1 Penetapan Kadar Air secara Gravimetri**

Parameter kadar air adalah pengukuran kandungan air yang berada di dalam bahan, yang bertujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air dalam bahan (Depkes RI, 2000). Kadar air dalam ekstrak tidak boleh lebih dari 10%. Hal ini bertujuan untuk menghindari cepatnya pertumbuhan jamur dalam ekstrak (Soetarno dan Soediro, 1997). Kadar air mempunyai peranan yang besar terhadap mutu suatu produk. Kadar air yang melebihi standar akan menyebabkan produk tersebut rentan ditumbuhi mikroba atau jasad renik lainnya sehingga akan mempengaruhi kestabilan ekstrak. Kandungan air dalam bahan makanan menentukan kesegaran, masa simpan bahan pangan, karena air dapat mempengaruhi sifat-sifat fisik atau adanya perubahan-perubahan kimia seperti mempengaruhi tekstur, kenampakan, dan cita rasa

(Winarno, 1997). Hal ini menjadi faktor pentingnya penentuan kadar air pada ekstrak herbal.

Parameter penentuan kadar air dalam ekstrak yaitu harus pada range tertentu, tergantung jenis ekstrak yang diinginkan. Ekstrak kering harus mengandung kadar air  $< 10\%$ , ekstrak kental  $5 - 30\%$ , dan ekstrak cair  $> 30\%$ . Problem yang sering ditemui dalam penentuan kadar air adalah seringkali keterulangan pengukuran ulang (triplikat) menghasilkan data yang tidak seragam. Hal ini bisa dikarenakan proses sampling yang kurang representatif (Saifudin dkk., 2011), sehingga keseluruhan proses sampling harus representatif sedangkan proses analisis kadar air harus dilakukan dengan teliti dan cermat agar dapat diperoleh hasil yang baik dan selisih yang tidak terlalu jauh.

Analisis gravimetri adalah cara analisis kuantitatif berdasarkan berat tetap (konstan). Unsur atau senyawa yang dianalisis dipisahkan dari sejumlah bahan yang dianalisis. Bagian terbesar analisis gravimetri menyangkut perubahan unsur atau gugus dari senyawa yang dianalisis menjadi senyawa lain yang murni sehingga dapat diketahui berat tetapnya (Mursyidi dan Rohman, 2008). Kelebihan analisis gravimetri adalah prosedur pengerjaannya cukup sederhana akan tetapi akurasinya tinggi. Kekurangan dari metode gravimetri adalah cara ini membutuhkan waktu yang cukup lama (*time consuming*). Berdasarkan hal ini maka penentuan kadar air dalam ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode gravimetri.

Arifin (2006) melakukan pengukuran kadar air ekstrak etanol daun *Eugenia Cumini Merr.* Menggunakan metode gravimetri dan diperoleh kadar air dalam ekstrak  $9,7\% \pm 0,115$ . Yulianti (2013) melakukan metode yang sama untuk

penentuan kadar air (yaitu dengan metode gravimetri) pada standardisasi ekstrak daun Angsana dari tiga daerah yang berbeda dan menghasilkan data;  $17,961\% \pm 4,501$  (dari daerah Tangerang),  $13,843\% \pm 3,591$  (dari daerah Bogor), dan  $20,595\% \pm 2,133$  (dari daerah Yogyakarta).

#### **2.6.2.2 Penentuan Kadar Abu dengan Pengabuan Kering**

Bahan yang dipanaskan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap, sehingga tinggal unsur mineral dan organik. Tujuan dari parameter ini adalah memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak (Depkes RI, 2000). Parameter dalam penentuan kadar abu adalah menghasilkan data pada range tertentu pada pengukuran triplikate (Saifudin dkk., 2011).

Hasil penelitian Khoirani (2013) menunjukkan bahwa standardisasi ekstrak etanol herba Kemangi (*Ocimum americanum*) memiliki kadar abu total sebesar  $20,445\% \pm 0,233$ . Penentuan abu total ekstrak ini dilakukan dengan menggunakan metode pengabuan dengan tanur. Yulianti (2013) melakukan metode yang sama untuk penentuan kadar abu total standardisasi ekstrak daun Angsana dari tiga daerah yang berbeda dan menghasilkan data;  $5,939\% \pm 0,160$  (dari daerah Tangerang),  $5,514\% \pm 0,011$  (dari daerah Bogor), dan  $7,631\% \pm 1,532$  (dari daerah Yogyakarta).

#### **2.6.2.3 Penentuan Kadar Sisa Pelarut dengan Destilasi**

Parameter kadar sisa pelarut merupakan penentuan kandungan sisa pelarut dalam ekstrak cair yaitu dalam penelitian ini berupa etil asetat yang dilakukan

dengan destilasi. Tujuan dari parameter ini adalah untuk memberikan jaminan bahwa selama proses tidak meninggalkan sisa pelarut yang seharusnya tidak boleh ada, sedangkan untuk ekstrak cair menunjukkan jumlah pelarut sesuai dengan standar yang telah ditetapkan. Penetapan sisa pelarut ini dapat dilakukan dengan cara destilasi (umumnya untuk pelarut etanol), atau secara kromatografi gas-cair (Depkes RI, 2000). Batas maksimal kadar sisa pelarut (untuk etanol) dalam ekstrak adalah  $< 1\%$ , artinya sebisa mungkin teruapkan semuanya (BPOM RI, 2006).

#### 2.6.2.4 Penentuan Kadar Cemaran Logam Berat Timbal (Pb) secara AAS

Parameter cemaran logam berat adalah menentukan kandungan logam berat secara spektroskopi serapan atom atau lainnya yang lebih valid. Tujuan dari parameter ini adalah untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak mengandung logam berat tertentu (Hg, Pb, Cu dan logam berat lain) melebihi nilai yang ditetapkan karena berbahaya (toksik) bagi kesehatan (Depkes RI, 2000). Persyaratan parameter non spesifik ekstrak secara umum ditunjukkan pada Tabel 2.1 yang merupakan persyaratan parameter non spesifik ekstrak secara umum (Saifudin dkk., 2011).

Tabel 2.1 Persyaratan Parameter Non Spesifik

Parameter	Persyaratan Maksimal
Kadar logam Pb	$< 10 \text{ mg/Kg}$
Kadar air	
1. Ekstrak kering	$< 10 \%$
2. Ekstrak kental	$5 - 30 \%$
3. Ekstrak cair	$> 30 \%$

Penetapan kadar logam berat dilakukan untuk mengetahui kadar cemaran logam berat dalam ekstrak yang nilainya tidak boleh melebihi persyaratan yang telah ditentukan. Potensi terdeteksinya logam pada ekstrak dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain tempat tumbuh tumbuhan, kondisi air, dan juga peralatan yang digunakan selama proses ekstraksi maupun penyimpanan (Saifudin dkk., 2011).

Hasil penelitian Khoirani (2013) menunjukkan bahwa standardisasi ekstrak etanol herba Kemangi (*Ocimum americanum*) memiliki kadar logam Pb sebesar  $0,007733 \times 10^{-4}$  mg/Kg. Penetapan kadar cemaran logam Pb dilakukan dengan metode AAS menggunakan proses destruksi basah menggunakan 10 mL HNO<sub>3</sub> pekat dan 5 mL HClO<sub>4</sub>. Yulianti (2013) melakukan metode yang sama untuk penentuan kadar logam Pb standardisasi ekstrak daun Angsana dari tiga daerah yang berbeda dan menghasilkan data;  $2,388 \times 10^{-3}$  mg/Kg (dari daerah Tangerang),  $2,709 \times 10^{-3}$  mg/kg (dari daerah Bogor), dan  $3,357 \times 10^{-3}$  mg/Kg (dari daerah Yogyakarta).

## **2.7 Instrumentasi dalam Penelitian**

### **2.7.1 Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) untuk Penentuan Kadar Logam Pb dalam Tumbuhan Anting-anting**

Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) atau yang dikenal dengan Spektrometri serapan atom adalah suatu metode analisis unsur secara kuantitatif yang didasarkan pada prinsip penyerapan cahaya dengan panjang gelombang tertentu oleh atom logam dalam keadaan bebas (Skoog dkk., 2004 dalam Arifiani, 2012). Suatu cahaya dengan panjang gelombang tertentu dikenakan pada komponen tertentu (analit) yang mengandung atom-atom bebas yang

bersangkutan maka sebagian cahaya akan diserap dan sebagian lainnya akan diemisikan. Cahaya yang diserap memiliki intensitas yang sebanding dengan jumlah atom bebas logam yang terkandung dalam komponen sampel (Day & Underwood, 2002). Sistem peralatan AAS terdiri atas sumber sinar (lampu katoda), nyala, tempat sampel, monokromator, dan detektor (Gandjar, 2007). Mekanisme kerja AAS didasarkan pada prinsip penguapan logam dalam suatu nyala dan serapannya pada suatu pita radiasi sempit yang dihasilkan oleh sumber sinar (berupa lampu katoda).

Salah satu logam berat yang harus dianalisis dalam ekstrak herba adalah timbal (Pb). Pb merupakan bahan pencemar udara yang berasal dari asap kendaraan bermotor dan gas buangan industri. Pb digunakan pada kendaraan bermotor yang terkandung dalam persenyawaan *tetra etil lead* (TEL) untuk meningkatkan angka oktan dan dikeluarkan bersama gas buangan (asap) (Inayah dkk., 2010; Purnamasari, 2012). Pb masuk ke dalam tanaman melalui stomata daun. Partikel Pb di udara jatuh mengendap pada permukaan daun sehingga jumlah dan ukuran stomata daun dapat mempengaruhi penyerapan Pb (Rachmawati, 2005). Pb juga dapat masuk melalui akar tanaman dari tanah yang berasal dari buangan sisa limbah rumah tangga maupun industri (Amelia dkk., 2015). Konsumsi Pb dapat merusak sistem saraf, ginjal, menghambat aktivitas enzim yang membantu pembentukan hemoglobin dalam tubuh, mengganggu sistem reproduksi, endokrin, dan otak (Widowati, 2008 dalam Inayah dkk., 2010).

Penentuan kadar Pb secara AAS harus memperhatikan kondisi instrumen AAS yang akan digunakan. Tipe instrumen yang berbeda akan memiliki kondisi optimum yang berbeda pula. Pemilihan panjang gelombang untuk penentuan tiap

logam juga bergantung pada jenis instrumen dan sampel yang digunakan, karena pemilihan panjang gelombang yang akan digunakan akan mempengaruhi hasil analisis. Masing-masing panjang gelombang memiliki range kerja optimum dan juga cela burner yang berbeda. Penentuan kadar logam Pb dengan menggunakan AAS tipe AA 240 dapat dilakukan pada panjang gelombang 217,0 nm dan 283,3 nm. Panjang gelombang 217,0 nm memiliki cela burner sebesar 1,0 nm dengan range kerja optimum 0,1 – 30 µg/mL, sedangkan Panjang gelombang 283,3 nm memiliki cela burner sebesar 0,5 nm dengan range kerja optimum 0,5 – 50 µg/mL (*Manual Book AAS 240*, 1989).

### **2.7.2 *Ultra Performance Liquid Chromatograph-tandem Mass Spectrometry (UPLC-MS)* untuk Penentuan Senyawa Marker Berberin**

UPLC (*Ultra Performance Liquid Chromatography*) adalah salah satu metode pemisahan campuran yang modern, atau dikenal sebagai kromatografi cairan kinerja ultra (Hendayana, 2006). UPLCMS dapat digunakan untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif. Analisis kualitatif dilakukan dengan bantuan detektor MS untuk memberikan gambaran kerangka senyawa analit melalui nilai  $m/z$ . Analisis kuantitatif dilakukan melalui beberapa metode, di antaranya melalui metode normalisasi area, normalisasi area dengan faktor respon detektor, standarisasi dengan standar internal, dan standarisasi dengan adisi standar (Sari, 2010).

Penentuan kadar analit paling sederhana dapat dilakukan dengan metode normalisasi area, yaitu tanpa membutuhkan senyawa standar. Metode ini cukup akurat ketika senyawa dalam campuran memiliki struktur yang mirip sehingga kesalahan akibat variasi respon detektor terhadap masing-masing senyawa tidak

signifikan. Metode ini cukup sederhana karena tidak membutuhkan standar kalibrasi. Kadar senyawa analit dapat ditentukan melalui persamaan (Darmawatia, 2014):

$$\% C_i = \frac{A_i}{\sum^n A_i} \times 100\%$$

Keterangan :

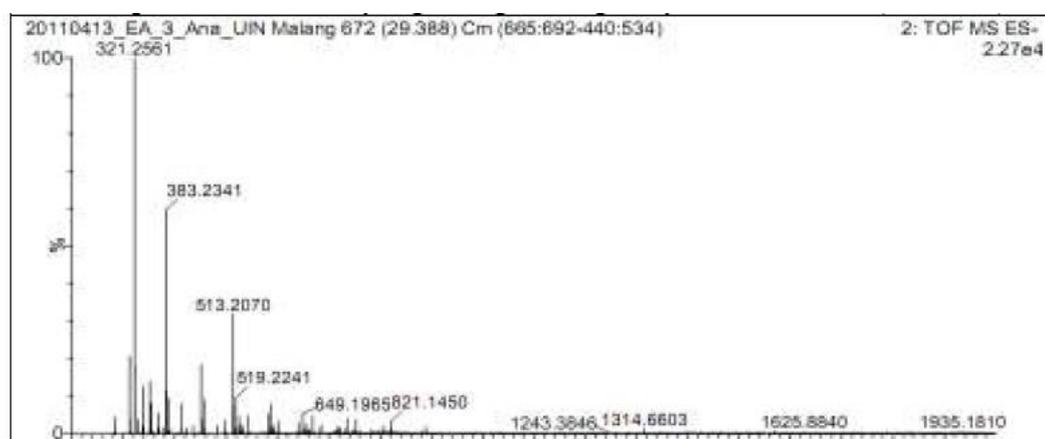
$C_i\%$  = % komposisi senyawa analit dalam campuran

$A_i$  = luas area puncak senyawa analit dalam kromatogram

$\sum^n A_i$  = jumlah total semua luas area dari seluruh senyawa pada kromatogram

Penelitian Husna (2011) tentang identifikasi senyawa ekstrak etil asetat tanaman anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) dilakukan dengan HPLC/DAD/ESI/ToF/MS dengan teknis sebagai berikut: eluen disaring terlebih dahulu sebelum digunakan dengan saringan nilon berdiameter 0,45  $\mu\text{m}$  menggunakan pompa vakum. Isolat berberin tumbuhan Anting-anting hasil KLTP sebanyak 10  $\mu\text{L}$  dan disuntikkan dalam eluen yang mengalir di bawah tekanan menuju kolom. Parameter yang digunakan dalam analisa antara lain: HPLC Alliance 2695 (Waters) with *diode-arraydetector* (DAD) 2996 (Waters); Kolom Sunfire C18, 5 cm, 4,6 mm ID x 150 mm (Waters); Temperatur kolom 300 °C; Kecepatan alir 1 mL/min; Fasa gerak: a. H<sub>2</sub>O (HPLC grade) + asam format, b. Asetonitril; metode HPLC isokratik 30 % G H<sub>2</sub>O + 0,1 % asam format, 70 % asetonitril; panjang gelombang 210 nm, 410 nm, 435 nm. Kondisi alat Spektroskopi Massa untuk identifikasi senyawa (uji kualitatif) : LCT Premier XE (Waters); *Analyzer MS*: TOF (*Time of Flight*) dengan *electrosprayer* modus positif (ES+) dan negatif (ES-) dari m/z 100 hingga m/z 2000; *Capillary voltage*

1800 V, *Sample cone voltage* 60 V; *Desolvation temperature* 300 °C; *Source temperature* 100 °C; *Desolvation gas flow* 600L/hour. Penelitian Husna berhasil memisahkan 5 senyawa dalam ekstrak etilasetat *Acalypha indica* L. salah satunya yaitu senyawa berberin. Adapun hasil spektra MS senyawa berberin dapat ditunjukkan (Husna, 2011):



Gambar 2.3 Spektra MS isolat berberin ekstrak *Acalypha indica* L.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Pelaksanaan Penelitian**

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret sampai Agustus 2016 di laboratorium Kimia Organik dan laboratorium Bioteknologi jurusan Kimia fakultas Sains dan teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, serta laboratorium UPLC-MS Pusat Laboratorium Forensik Bareskrim POLRI Jalan Trunojoyo No.3 Kebayoran Baru Jakarta Selatan.

#### **3.2 Alat dan Bahan Penelitian**

##### **3.2.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, spatula, neraca analitik (Mettler Toledo 2.0.0), bola hisap, pisau, kertas saring, lemari asap, corong *buchner*, pompa vakum, desikator, *vacuum rotary evaporator*, *shaker incubator*, labu destilasi, oven, *hot plate*, botol larutan, kurs porselen, penangas air, mikropipet, termometer, vortex, ayakan 60 mesh, Plat KLT, lampu UV, *magnetic stirrer*, Seperangkat alat UPLC (Waters) dengan detektor *photodiode-array* (PDA) (Waters) dan seperangkat alat spektrometer Massa Xevo G2-S QToF (Waters), *Atomic Absorption Spechtrophotometer* (AAS) merek Varian spectra AA 240.

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan utama yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah seluruh bagian tumbuhan Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) segar yang diperoleh dari

daerah Dinoyo kota Malang. Bahan-bahan kimia yang digunakan meliputi: Etanol 96%, kloroform, aquades, HCl 2%, HNO<sub>3</sub> pekat, HClO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> encer (0,5 M), Asam asetat glasial, Etil Asetat, pereaksi Mayer, Dragendorff, larutan standar Pb.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat deskriptif kuantitatif dan dilakukan secara eksperimental laboratorik. Proses penelitian dilakukan dengan cara sebagai berikut; sampel tumbuhan Ating-anting (*Acalypha indica* Linn.) diambil dari akar, batang dan daun kemudian dikeringkan dan dihaluskan dalam bentuk serbuk dan diayak 90 mesh. Penyiapan ekstrak sampel dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etil asetat. Sampel serbuk diekstraksi secara maserasi selama 24 jam hingga filtrat yang diperoleh berwarna hijau tua bening (tidak keruh). Filtrat yang diperoleh kemudian dipisahkan dari pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak pekat kemudian dilakukan pengujian terhadap parameter standar spesifik maupun non spesifik (dilakukan standardisasi ekstrak). Pengujian parameter spesifik meliputi pengujian kadar senyawa larut air dan etanol dilakukan melalui metode gravimetri, dan pengujian kandungan senyawa alkaloid secara kualitatif menggunakan reagen Meyer atau Dragendorff dan pengujian secara kuantitatif (kadar alkaloid total) melalui metode gravimetri, penentuan senyawa marker berberin kualitatif dan kuantitatif dengan UPLC-MS. Pengujian selanjutnya yaitu penentuan parameter non-spesifik meliputi; penetapan kadar air dan abu dalam ekstrak secara gravimetri, penentuan kadar sisa pelarut (etil asetat) dilakukan menggunakan metode destilasi, dan selanjutnya yaitu penentuan kadar cemaran

logam berat Pb yang dilakukan melalui metode *Absorption Atomic Spectroscopy* (AAS) dengan melalui destruksi basah menggunakan asam kuat ( $\text{HNO}_3$  dan  $\text{HClO}_4$ ).

### **3.4 Tahapan Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut :

1. Pengambilan sampel bahan tumbuhan
2. Preparasi sampel
3. Pembuatan ekstrak etil asetat Anting-anting
4. Pengujian parameter spesifik
  - a. Penetapan senyawa terlarut dalam air dan etanol
  - b. Pengujian kandungan senyawa alkaloid dengan reagen
  - c. Penetapan kadar alkaloid total secara gravimetri
  - d. Penetapan senyawa marker berberin dengan UPLC-MS
5. Pengujian parameter non-spesifik
  - a. Penetapan kadar air
  - b. Penetapan kadar abu
  - c. Penetapan kadar sisa pelarut
  - d. Penetapan cemaran logam berat (Pb)

### **3.5 Cara Kerja**

#### **3.5.1 Pengambilan Sampel Bahan Tumbuhan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tumbuhan Anting-anting segar yang diperoleh dari daerah Dinoyo Malang. Bagian tumbuhan yang digunakan adalah secara keseluruhan dari daun hingga akar. Anting-anting (dalam

bentuk serbuk kering) yang dibutuhkan dalam penelitian ini sebanyak 300 gram, adapun sampel tumbuhan Anting-anting segar yang dibutuhkan yaitu  $\pm 10$  Kg.

### **3.5.2 Preparasi Sampel (Sriwahyuni, 2010 dan Yulianti, 2013)**

Preparasi sampel tumbuhan Anting-anting dilakukan dengan cara sortasi basah untuk memisahkan kotoran dan bahan-bahan asing dari sampel, selanjutnya dilakukan pencucian untuk menghilangkan pengotor yang masih menempel pada sampel. Tahap selanjutnya yaitu pengeringan yang dilakukan dalam oven pada suhu 30 – 37 °C selama 5 x 24 jam, kemudian dilakukan sortasi kering untuk menghilangkan pengotor-pengotor lain yang masih tertinggal pada sampel kering dan dilanjutkan dengan proses penggilingan untuk menghasilkan serbuk simplisia.

### **3.5.3 Pembuatan Ekstrak Etil Asetat Sampel Anting-anting (Husna, 2011; Hayati, 2012)**

Pembuatan ekstrak Anting-anting dilakukan secara maserasi (perendaman) dengan pelarut etil asetat. Serbuk Anting-anting ditimbang sebanyak 300 g dan dibagi menjadi tiga masing-masing 100 g lalu dimaserasi menggunakan 500 mL etil asetat selama 24 jam dan pada 6 jam pertama sekali-kali dilakukan pengadukan. Hasil maserasi disaring dengan kertas saring kemudian residu dimaserasi kembali hingga warna menjadi hijau bening. Filtrat herba Anting-anting yang diperoleh disatukan dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak pekat etil asetat. Rendemen ekstrak dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat bahan yang diekstrak}} \times 100\%$$

### 3.5.4 Pengujian Parameter Spesifik

#### 3.5.4.1 Uji kadar Senyawa Terlarut dalam Air dan Etanol (Depkes RI, 2000; Khoirani, 2013)

Penentuan jumlah zat terlarut dalam pelarut air dan etanol yang identik dengan jumlah senyawa yang terkandung secara gravimetri untuk memberikan gambaran awal jumlah senyawa kandungan.

##### (i) Kadar Senyawa Larut dalam Air (Saifudin, dkk. 2011)

Sejumlah 0,3 g ekstrak dimaserasi dengan 25 mL air-kloroform LP selama 24 jam menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama, kemudian didiamkan selama 18 jam lalu disaring. Filtrat yang diperoleh diuapkan dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara, residu dipanaskan pada suhu 105 °C hingga bobot tetap. Kadar sari larut air dihitung sebagai :

$$\text{Kadar Senyawa larut air} = \frac{W2 - W0}{W1} \times 100\%$$

Keterangan :

W0 = bobot cawan kosong

W1 = bobot ekstrak awal

W2 = bobot cawan + residu yang dioven

##### (ii) Kadar Senyawa Larut dalam Etanol (Saifudin, dkk. 2011)

Sebanyak 0,3 g ekstrak dimaserasi dalam 25 mL etanol 96% selama 24 jam menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama kemudian dibiarkan selama 18 jam dan disaring cepat (untuk menghindari penguapan etanol). Filtrat yang diperoleh diuapkan dalam cawan

dangkal berdasar rata yang telah ditara. Residu dipanaskan pada suhu 80 °C sampai bobot tetap. Kadar sari larut etanol dihitung dengan persamaan :

$$\text{Kadar Senyawa larut etanol} = \frac{W2 - W0}{W1} \times 100\%$$

Keterangan :

W0 = bobot cawan kosong

W1 = bobot ekstrak awal

W2 = bobot cawan + residu yang dioven

#### **3.5.4.2 Uji Kandungan Senyawa Alkaloid dengan Reagen (Syaifudin dkk., 2011; Hayati, 2010)**

Uji pendahuluan dilakukan dengan menggunakan reagen Meyer dan Dragendorff. Sekitar 1 mg ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi dan dilarutkan dalam pelarut semula (etil asetat), lalu ditambahkan 0,5 mL HCl 2% dan larutan dibagi dalam dua tabung reaksi. Tabung I ditambah dengan 2 – 3 tetes reagen Dragendorff, tabung II ditambah dengan 2 – 3 tetes reagen Mayer. Jika tabung I terbentuk endapan jingga dan tabung II terbentuk endapan putih maka menunjukkan positif adanya alkaloid.

#### **3.5.4.3 Penetapan Alkaloid Total secara Gravimetri (KemenKes RI, 2009; Syaifudin dkk., 2011)**

Ekstrak etil asetat Anting-anting ditimbang sebanyak 0,5 g dan dilarutkan dengan 20 mL larutan asam asetat 10% (dalam etanol). Larutan dikocok dengan *magnetic stirrer* selama 4 jam kemudian disaring. Filtrat kemudian dievaporasi hingga seperempat volume awalnya. Ditetaskan NH<sub>4</sub>OH (pH campuran menjadi ± 10) hingga terbentuk endapan alkaloid. Disiapkan kertas saring dan ditimbang

kemudian larutan disaring dan dicuci dengan  $\text{NH}_4\text{OH}$  1%, dikeringkan dengan oven pada suhu  $60^\circ\text{C}$  selama 30 menit lalu dibiarkan hingga dingin. Endapan selanjutnya ditimbang hingga diperoleh bobot konstan. Proses pengujian ini dilakukan hingga tiga kali. Hasil penentuan kadar alkaloid total ini dapat digunakan untuk memilih eluen dalam proses pemisahan dengan KLT. Kadar alkaloid total dihitung berdasarkan rumus:

$$\% \text{ alkaloid} = \frac{W_2 - W_1}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

Keterangan:

$W_1$  = berat kertas saring (g)

$W_2$  = berat kertas saring + endapan (g)

#### **3.5.4.4 Penetapan Senyawa Marker Berberin dengan UPLC/DAD/ESI/ToF/MS (Goshak, 2015; Skopalova, 2011)**

Tahap pertama persiapan kolom UPLC. Sebanyak 1 mg SPE (*solid phase extraction*) (Waters) dilarutkan dalam air kemudian diinjeksikan, lalu dibiarkan turun, selanjutnya ditambahkan air dan dibiarkan kering. Proses selanjutnya ditambahkan metanol pada dan dialirkan.

Tahap kedua yaitu penyuntikan sampel pada sistem UPLC/DAD. Ekstrak etil asetat hasil maserasi diambil sebanyak 10  $\mu\text{L}$  dan disuntikkan secara langsung menggunakan *micro syringe* ke dalam eluen yang mengalir di bawah tekanan menuju kolom. Parameter yang digunakan dalam analisa antara lain: ACQUITY UPLC I-Class (Waters) with *diode-arraydetector* (DAD) 2996 (Waters); Kolom Sunfire C18, panjang 50 mm, diameter 2 mm, dan ukuran partikel 1,7  $\mu\text{m}$  (Waters); Temperatur kolom  $36,9 - 40^\circ\text{C}$ ; Kecepatan alir 1 mL/min; Fasa gerak:

a. H<sub>2</sub>O (UPLC grade) + asam formiat 0,1%, b. Asetonitril; metode UPLC gradien (dapat dilihat pada Lampiran 2).

Tahap ketiga yaitu identifikasi senyawa dengan UPLC/DAD/ESI/ToF/MS yang dilakukan dengan menghubungkan sistem UPLC dengan sumber ion ESI. Kondisi alat Spektroskopi Massa adalah alat: MS system Xevo G2-S QTof (Waters); *Analyzer MS*: TOF (*Time of Flight*) dengan *electrosprayer* modus positif (ES+) dan negatif (ES-) dari m/z 100 hingga m/z 1150; *Capillary voltage* 0,8 kV, *Sample cone voltage* 25 V; *Desolvation temperature* 280 °C; *Source temperature* 100 °C; *Desolvation gas flow* 794 L/min.

### **3.5.5 Pengujian Parameter Non-spesifik**

#### **3.5.5.1 Penetapan Kadar Air (Depkes RI, 2000)**

Analisis kadar air dilakukan dengan metode gravimetri yaitu dengan pemanasan. Analisis ini dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Sebelumnya, cawan dipanaskan dahulu dalam oven pada suhu 100 – 105 °C selama 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya, kemudian cawan disimpan dalam desikator ±10 menit. Selanjutnya cawan tersebut ditimbang dan dilakukan pengulangan sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Sampel kering ditimbang sebanyak 0,5 gram dan dimasukkan ke dalam cawan tersebut setelah dikeringkan dengan oven pada suhu 100 – 105 °C selama ±15 menit untuk menghilangkan kadar air. Selanjutnya sampel disimpan dalam desikator selama ±10 menit dan ditimbang. Sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven ±15 menit, didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai berat konstan. Kadar air dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

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

Keterangan: a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

### 3.5.5.2 Penetapan Kadar Abu (Depkes RI, 2000)

Sebanyak 0,5 g ekstrak ditimbang dengan teliti, dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara, ratakan. Pijarkan pelan-pelan (dengan suhu dinaikkan secara bertahap hingga  $600 \pm 25$  °C) hingga arang habis (selama  $\pm$  30 menit), lalu dinginkan, dan ditimbang. Kadar abu dihitung sebagai :

$$\text{Kadar Abu (Total)} = \frac{W2 - W0}{W1} \times 100\%$$

Keterangan :

W2 = bobot krus + ekstrak setelah pemijaran (g)

W0 = bobot krus kosong (g)

W1 = Bobot sampel awal (g)

### 3.5.5.3 Penetapan Kadar Sisa Pelarut (Saifudin dkk., 2011)

Penetapan kadar sisa pelarut (etil asetat) dilakukan dengan metode destilasi. Sebanyak 0,2 g ekstrak kental dilarutkan dalam air hingga 25 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu destilasi. Suhu destilat diatur pada 77,5 °C. Destilat ditampung tetes per tetes pada tabung destilat sampai tidak menetes lagi. Ditambahkan air hingga 25 mL, tetapkan bobot jenis cairan pada suhu kamar dan hitung persentase dalam cairan menggunakan tabel bobot jenis dan kadar pelarut etil asetat. Kadar sisa pelarut ditentukan melalui persamaan:

$$\text{Sisa pelarut} = \frac{(\text{piknometer+sisa pelarut}) - (\text{piknometer kosong})}{(\text{piknometer+aquades}) - \text{piknometer kosong}}$$

#### 3.5.5.4 Penetapan Cemaran Logam Berat Timbal (Pb) (Saifudin dkk., 2011)

Tahap pertama yaitu terlebih dulu disiapkan larutan standar timbal (Pb) dengan konsentrasi 10 ppm dengan cara dipipet 1 mL larutan induk timbal 1000 ppm dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, diencerkan dengan aquabidest sampai tanda batas dan dihomogenkan. Tahap selanjutnya dibuat larutan standar Pb dengan konsentrasi 0; 0,5; 1; 1,5; 2 ;2,5 dan 3 ppm. Dipipet 2,5 mL, 5 mL, 7,5 mL, 10 mL, 12,5 mL, dan 15 mL larutan standar 10 ppm ke dalam labu ukur 50 mL dan diencerkan dengan aquabidest sampai tanda batas, kemudian dihomogenkan. Dibuat kurva baku timbal (Pb) dengan cara diukur masing-masing absorbansi larutan seri standar timbal 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 dan 3 ppm dengan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) Varian Spectra AA 240 pada panjang gelombang 217 nm, laju alir asetilen pada 2,5 L/menit, laju udara pada 10 L/menit.

Tahap selanjutnya yaitu destruksi basah logam Pb dalam sampel dengan cara melarutkan 1 g ekstrak sampel dengan 10 mL HNO<sub>3</sub> pekat dalam beaker glass 100 mL, kemudian dipanaskan dengan *hot plate* pada suhu 100 °C hingga volume berkurang setengahnya. Ekstrak kental yang telah dingin ditambah dengan 5 mL HClO<sub>4</sub> kemudian dipanaskan kembali hingga asap putih hilang, lalu dibiarkan dingin kemudian dibilas dengan aquadest dan disaring ke dalam labu ukur 50 mL dan ditandabatkan. Kadar logam dalam ekstrak ditentukan secara AAS (menggunakan panjang gelombang spesifik logam Pb 217 nm, laju alir

asetilen pada 2,5 L/menit, laju udara pada 10 L/menit) dengan batasan maksimum 10 mg/Kg untuk logam Pb.

### **3.6 Analisis Data**

Data yang dianalisis meliputi kadar senyawa larut dalam air dan etanol, kadar alkaloid total dalam ekstrak, kadar senyawa marker berberin, kadar air dan abu, kadar sisa pelarut (etil asetat), serta kadar cemaran logam Pb. Data yang diperoleh dari penentuan cemaran logam Pb dihitung berdasarkan analisis regresi linear dengan program Microsoft Office Excel.

Data hasil penentuan keseluruhan parameter disajikan berupa tabel untuk kemudian dibandingkan dengan parameter standar dari Kementerian Kesehatan RI untuk penentuan kualitas dan kelayakan dari ekstrak etanol tumbuhan Anting-anting sebagai obat herbal terstandar.

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Penelitian standardisasi ekstrak etil asetat tumbuhan Anting-anting (*Acalypha indica* L.) sebagai herba antimalaria dilakukan dalam lima tahap di antaranya, pengambilan sampel bahan tumbuhan, preparasi sampel, ekstraksi sampel dengan pelarut etil asetat, dilanjutkan dengan pengujian parameter spesifik dan pengujian parameter pengujian parameter non-spesifik.

#### **4.1 Pengambilan Sampel Bahan Tumbuhan**

Tumbuhan anting-anting yang digunakan dalam penelitian ini adalah seluruh bagian tumbuhan segar mulai daun, batang hingga akar. Proses sampling dilakukan di daerah Dinoyo Malang. Sampel segar yang dibutuhkan sebelum dipreparasi yaitu sekitar 10 Kg.

#### **4.2 Preparasi Sampel**

Tumbuhan Anting-anting segar disortasi basah untuk memisahkan antara bagian daun, batang dan akar tumbuhan, kemudian dicuci untuk membersihkan kotoran yang dapat berupa tanah, debu atau pengotor lainnya yang dapat mengganggu proses ekstraksi sampel. Sampel yang telah dicuci kemudian dipotong kecil-kecil untuk mempercepat proses pengeringan serta mempermudah dalam proses penghalusan sampel.

Tumbuhan anting-anting yang telah dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu 30 – 37 °C untuk mengurangi kadar air sehingga dapat menghambat aktivitas mikroba serta pertumbuhan jamur dan sampel dapat disimpan dalam waktu yang lama. Suhu 30 – 37 °C dipilih karena

pada suhu ini komposisi senyawa metabolit sekunder dalam sampel tidak dikhawatirkan menjadi rusak. Sampel yang telah dikeringkan kemudian dihaluskan dengan cara digrinding dalam ukuran 90 mesh. Sampel halus hasil grinding diperoleh sebanyak 900 gram dari 10 Kg sampel tumbuhan segar. Proses penghalusan sampel ini dilakukan untuk memperbesar luas permukaan sampel sehingga ketika proses ekstraksi kontak antara sampel dengan pelarut akan semakin besar dan hasil rendemen (ekstrak) menjadi lebih besar. Semakin kecil ukuran zat terlarut maka interaksinya dengan pelarut akan semakin maksimal dan efektif.

#### **4.3 Pembuatan Ekstrak Etil Asetat Anting-anting**

Serbuk tumbuhan Anting-anting diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etil asetat. Maserasi bertujuan untuk menarik senyawa-senyawa aktif yang ada dalam sampel tumbuhan Anting-anting dengan pelarut etil asetat. Senyawa-senyawa dengan sifat kepolaran yang sesuai dengan etil asetat akan terekstrak dengan baik. Ekstrak yang diperoleh berwarna hijau pekat hingga hijau kekuningan bening kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator vakum. Rendemen yang dihasilkan berupa ekstrak pekat berwarna hijau kehitaman diperoleh sebanyak 4,012% (b/b). Perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 4.

#### **4.4 Pengujian Parameter Spesifik**

Pengujian parameter spesifik bertujuan untuk mengetahui kandungan komponen senyawa aktif yang bertanggung jawab terhadap efek farmakologi tumbuhan (sebagai obat). Data hasil pengujian parameter spesifik ekstrak etil

asetat tumbuhan Anting-antig dapat dilihat pada Tabel 4.1 sedangkan perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 4.

Tabel 4.1 Hasil pengujian parameter spesifik ekstrak etil asetat Anting-anting

<b>Parameter</b>	<b>Hasil penentuan</b>
Kadar senyawa larut air	9,548% $\pm$ 0,527
Kadar senyawa larut etanol	79,62167% $\pm$ 1,902
Uji Alkaloid dengan reagen	
(a) Dragendorff	(+)
(b) Meyer	(+)
Penentuan alkaloid secara kuantitatif	68,2577% $\pm$ 3,648
Penetapan Senyawa marker	30,17%

#### 4.4.1 Penetapan Senyawa Terlarut dalam Air dan Etanol

Penentuan kadar senyawa larut dalam air bertujuan untuk menunjukkan jumlah kandungan senyawa yang bersifat polar (memiliki sifat kepolaran sama dengan air). Kadar sari larut air dilakukan menggunakan metode gravimetri yang terlebih dahulu diawali dengan pelarutan ekstrak sampel dalam air kemudian dipanaskan di atas titik didih air (105 °C). Senyawa yang tertinggal dalam cawan setelah penguapan dinyatakan sebagai senyawa yang larut dalam air. Air yang digunakan untuk melarutkan ekstrak adalah campuran aquades-kloroform (1000:2,5) atau 0,25 mL kloroform dalam 100 mL aquades. Kloroform difungsikan untuk menarik pengotor-pengotor dalam ekstrak yang bersifat non-polar, sedangkan aquades digunakan sebagai pelarut senyawa-senyawa polar.

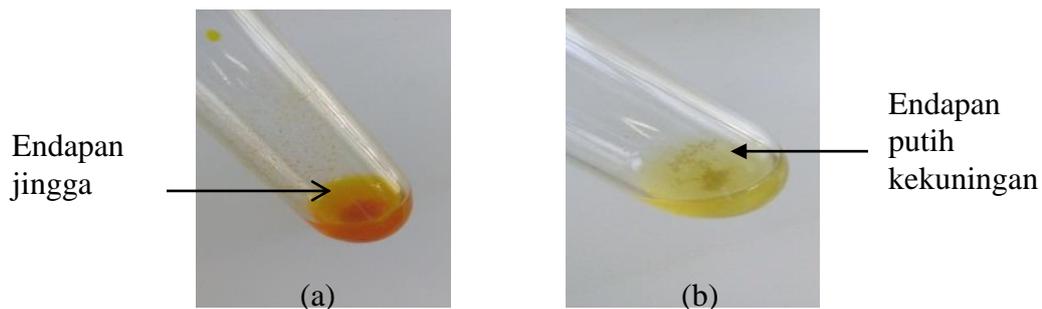
Penetapan kadar senyawa larut etanol dilakukan untuk menunjukkan kandungan senyawa-senyawa yang bersifat semi polar (memiliki sifat kepolaran sama dengan etanol). Etanol yang digunakan sebagai pelarut adalah etanol 96% yang kemudian diuapkan di atas titik didih etanol (80 °C). Senyawa yang

tertinggal dalam cawan setelah proses pemanasan dinyatakan sebagai senyawa larut dalam etanol.

Hasil yang diperoleh dari penetapan kadar senyawa larut air adalah sebanyak  $9,548\% \pm 0,527$ , sedangkan senyawa larut dalam etanol sebanyak  $79,6216\% \pm 1,902$ . Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat diketahui bahwa kadar senyawa larut dalam etanol lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa larut dalam air, artinya kadar senyawa semi polar lebih tinggi dibandingkan dengan kadar senyawa polarnya. Hal ini disebabkan karena pelarut dalam proses maserasi yang digunakan adalah etil asetat yang mana bersifat semi polar dan sifat kepolarannya mirip dengan etanol. Penetapan kadar senyawa larut dalam air dan etanol ini merupakan dugaan secara umum banyaknya senyawa yang bersifat polar (yang larut air) maupun bersifat semi polar (terlarut dalam etanol). Penetapan senyawa larut dalam air maupun etanol ini tidak secara langsung mempengaruhi efek farmakologis senyawa aktif dalam ekstrak (Saifudin, 2011).

#### **4.4.2 Pengujian Kandungan Senyawa Alkaloid dengan Reagen**

Penetapan senyawa alkaloid dalam ekstrak etil asetat tumbuhan Anting-anting dilakukan dengan pengujian fitokimia menggunakan reagen Dragendorff dan reagen Meyer. Prinsip analisis alkaloid menggunakan dua reagen ini adalah terjadinya reaksi pengendapan akibat adanya reaksi pembentukan kompleks antara alkaloid dengan ion logam dari reagen. Alkaloid dalam sampel akan membentuk endapan berwarna putih hingga kekuningan ketika direaksikan dengan reagen Meyer, sedangkan hasil reaksi alkaloid dengan reagen Dragendorff akan menghasilkan endapan berwarna merah hingga jingga (Harborn, 1987).



Gambar 4.1 (a) Hasil uji dengan Dragendorff (b) Hasil uji dengan Meyer

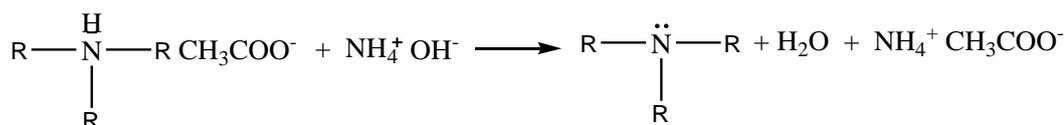
Uji kandungan senyawa alkaloid dengan reagen ini didahului dengan melarutkan sampel uji dalam pelarut semula yaitu etil asetat untuk melarutkan sampel dengan sempurna, dan ditambahkan HCl untuk mengekstrak alkaloid yang bersifat basa.

Reagen Dragendorff mengandung bismut-kalium iodida yang bereaksi dengan alkaloid membentuk endapan merah hingga jingga. Reagen Dragendorff dibuat dengan melarutkan bismut nitrat dalam HCl untuk menghidrolisis garam-garam bismut membentuk ion bismut (Marliana, 2005). Perlu ditambahkan asam untuk menggeser kesetimbangan ke kiri untuk kembali membentuk ion  $\text{Bi}^{3+}$  yang tetap berada dalam larutan (Svehla, 1990).

Pengujian kandungan alkaloid dengan reagen Meyer melibatkan reaksi antara garam kalium-raksa-iodida yang bereaksi dengan alkaloid membentuk endapan putih (Svehla, 1990). Pengujian kandungan alkaloid dalam ekstrak etil asetat Anting-anting menunjukkan hasil positif adanya senyawa alkaloid. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan jingga kecoklatan pada pengujian dengan reagen Dragendorff dan endapan putih pada pengujian dengan reagen Meyer.

#### 4.4.3 Penetapan Alkaloid Total secara Gravimetri

Penetapan kadar senyawa alkaloid dalam ekstrak dilakukan dengan metode gravimetri yang didahului dengan proses pengendapan (BPOM, 2006). Pengendapan alkaloid dalam ekstrak dilakukan dengan menggunakan beberapa larutan di antaranya 10% asam asetat dalam etanol dan  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Etanol difungsikan sebagai pelarut ekstrak uji, sedangkan asam asetat difungsikan untuk memberi suasana asam sehingga alkaloid akan membentuk garam alkaloid. Alkaloid rentan membentuk garam jika bereaksi dengan berbagai asam (Murtadlo, 2013). Hal ini dikarenakan alkaloid secara umum bersifat basa karena adanya atom nitrogen di dalamnya (Gandjar, 2007).  $\text{NH}_4\text{OH}$  ditambahkan untuk membebaskan alkaloid dari bentuk garamnya. Penambahan  $\text{NH}_4\text{OH}$  dilakukan hingga pH mencapai 9 sehingga alkaloid terbebas dari bentuk garamnya membentuk alkaloid bebas yang mengendap. Kemungkinan reaksi yang terjadi pada penentuan alkaloid total ditunjukkan pada Gambar 4.2.

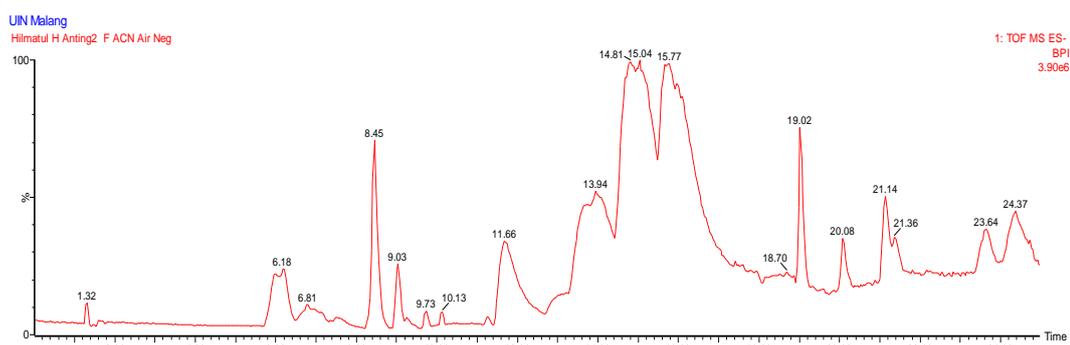


Gambar 4.2 Reaksi Garam Alkaloid dengan Amonia

Hasil penentuan kadar total alkaloid dalam ekstrak menunjukkan bahwa kadar alkaloid dalam ekstrak etil asetat Anting-anting sebesar  $68,2577 \pm 3,648$  yang artinya cukup tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa potensi tumbuhan Anting-anting sebagai obat herbal, terutama obat antimalarial, menjadi semakin tinggi karena telah diketahui kadar senyawa aktifnya cukup tinggi.

#### 4.4.4 Penetapan Senyawa Marker Berberin dengan UPLC-MS

Senyawa marker yang menjadi target dalam ekstrak etil asetat Anting-anting adalah senyawa berberin yang merupakan golongan senyawa alkaloid kuartener. Penentuan senyawa berberin dilakukan menggunakan UPLC-MS baik secara kualitatif maupun secara kuantitatif. Senyawa marker berberin dipisahkan dan dianalisis secara kuantitatif dengan kromatografi cair (UPLC) kemudian diidentifikasi adanya senyawa marker berberin menggunakan detektor spektrum masa (MS) berdasarkan nilai  $m/z$  dari fragmentasi senyawa. Hasil analisis ekstrak etil asetat dengan UPLC-MS ditunjukkan dengan Gambar 4.3.



Keterangan:

TOF MS ES- menunjukkan adanya analyser MS yang dipakai adalah TOF (*Time ofFlight*) dengan *electrosprayer* modus negatif (ES-). Angka 3.90e6 menunjukkan bahwa nilai maksimum intensitas sinyal MS (100%) 3.90 kali sepuluh pangkat 6

Gambar 4.3 Kromatogram UPLC-MS ekstrak etil asetat tumbuhan Anting-anting

Gambar 4.3 menunjukkan adanya total 19 puncak yang membuktikan bahwa dalam ekstrak kasar etil asetat Anting-anting terdapat 19 serapan senyawa. Sembilan belas puncak tersebut merupakan senyawa-senyawa yang terpisah berdasarkan prinsip kromatografi dengan waktu retensi (tR) dan intensitas yang berbeda-beda. Pemisahan yang terjadi dalam kolom didasarkan pada kekuatan

interaksi komponen sampel dengan fasa diam dalam kolom dan fasa gerak (eluen). Senyawa dengan tingkat kepolaran lebih tinggi akan terelusi menuju detektor terlebih dahulu (tR lebih kecil) sedangkan senyawa yang lebih non polar lebih tertahan dalam fasa diam (kolom). Hal ini disebabkan fasa diam yang digunakan bersifat non polar (C18) sedangkan fasa geraknya bersifat polar (air dan asetonitril).

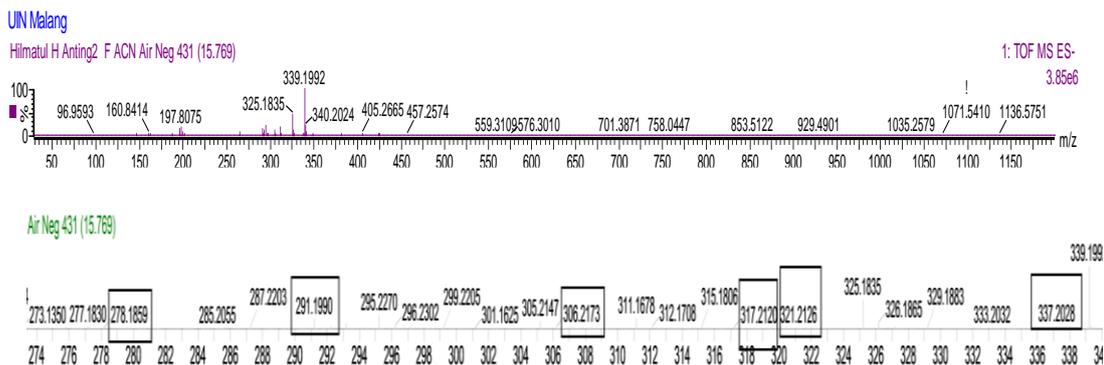
Berdasarkan kromatogram yang dihasilkan dugaan senyawa yang terpisah menurut tingkat kepolarannya ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Dugaan senyawa hasil LC ekstrak etil asetat Anting-anting (Hou dkk., 2014)

No.	tR (menit)	m/z (parent – daughter)	Dugaan Senyawa
1.	8,45	269.2 → 224.8	Emodin
2.	9,035	283.1 → 238.9	Rhein
3.	13,94	447.3 → 271.2	Baicallin
4.	14,81	324 → 309	Dimethyleneberberine
5.	15,77	336.2 → 278.1	Berberine
6.	19,02	352.2 → 278.1	Palmatine

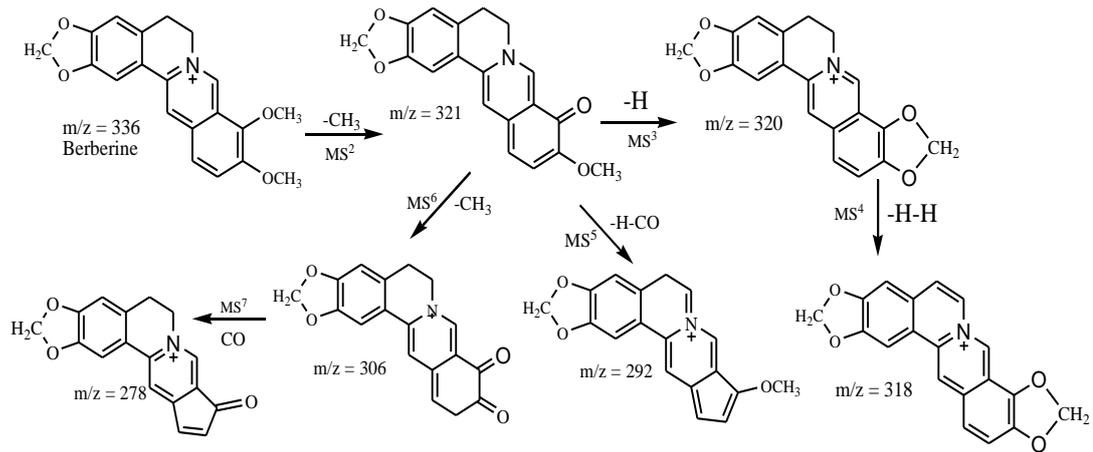
Berdasarkan bentuk strukturnya, tingkat kepolaran emodin > rhein > baicallin > dimethyleneberberine > berberine > palmatin. Senyawa dengan tingkat kepolaran yang lebih tinggi akan terelusi terlebih dahulu menuju detektor karena interaksi dengan fasa geraknya (yang cenderung bersifat polar) lebih besar dibanding dengan interaksinya dengan fasa diam (yang non-polar).

Berdasarkan kromatogram hasil LC dan spektra MS, puncak yang diduga sebagai senyawa berberin yaitu pada tR 15,76. Puncak pada tR 15,76 memiliki spektra massa dengan nilai m/z khas senyawa berberin yang ditunjukkan pada Gambar 4.4.



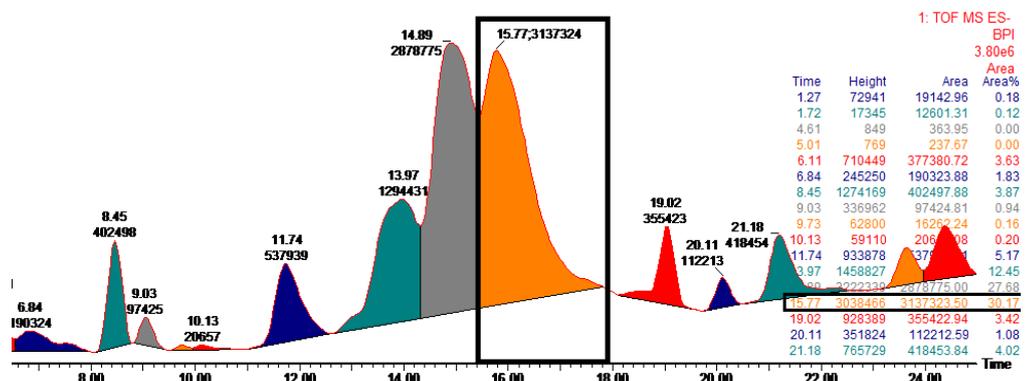
Gambar 4.4 Spektra massa senyawa pada tR 15,76 menit

Gambar 4.4 menunjukkan bahwa puncak pada tR 15,76 menit memiliki m/z 1136.5751 yang dimungkinkan memiliki rumus molekul  $C_{74}H_{78}N_3O_8$  dengan m/z 339.1992 merupakan *base peak* atau puncak dasar dengan intensitas tertinggi (kelimpahan 100%). Spektra dengan tR 15,76 diketahui menghasilkan puncak pada m/z 337; 321; 320; 306; 292; dan 278 yang menunjukkan hasil fragmentasi senyawa berberin. Ciri khas senyawa berberin adalah terdapat puncak pada m/z 336 dan 287 yang menunjukkan bahwa senyawa berberin (dengan BM 336) terfragmentasi dengan kehilangan  $2CH_3-CO$  (Ding dkk., 2007; Hou dkk., 2014). Kemungkinan pola fragmentasi senyawa berberin berdasarkan spektra pada tR 15,76 ditunjukkan pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Kemungkinan pola fragmentasi senyawa berberin

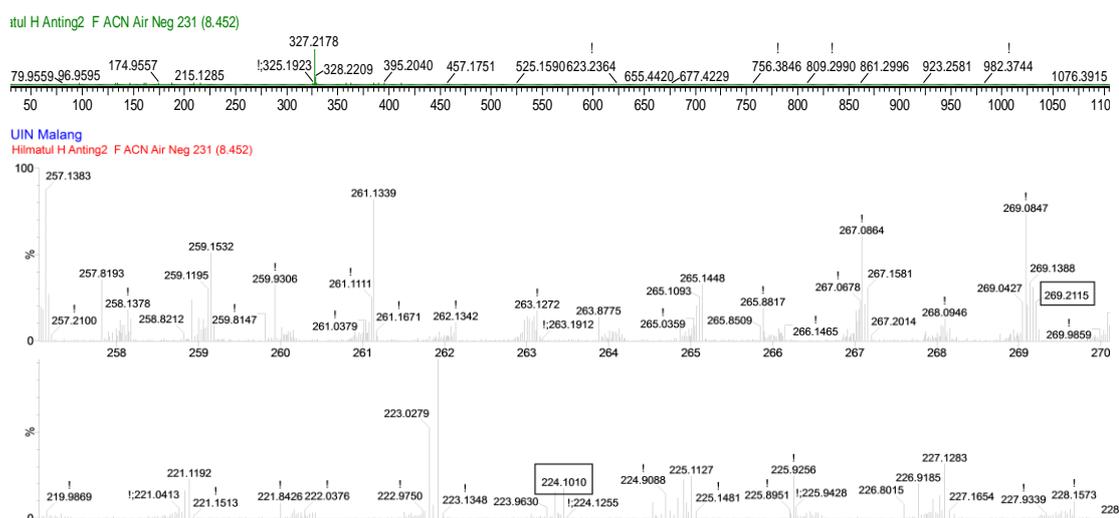
Penentuan kadar senyawa berberin sebagai senyawa marker ditentukan melalui perbandingan luas area. Puncak yang dihitung luas areanya sebagai senyawa berberin yaitu puncak pada tR 15,76 yang ditunjukkan pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Perbandingan luas area hasil LCMS Anting-anting

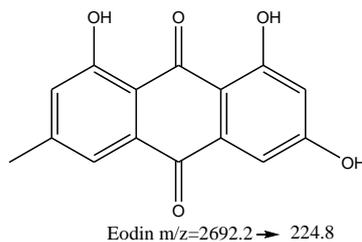
Berdasarkan Gambar 4.6, kadar senyawa berberin dalam sampel ekstrak etil asetat Anting-anting adalah sebanyak 30,17%. Hal ini menunjukkan kadar senyawa berberin dalam ekstrak etil asetat tumbuhan Anting-anting cukup tinggi untuk dimanfaatkan sebagai agen antimalaria.

Puncak-puncak yang diduga merupakan puncak senyawa alkaloid dengan intensitas tinggi (mayor) diketahui terdapat pada tR 8,45; tR 9,035; tR 13,94; tR 14,81; dan 19,02. Spektre MS pada puncak dengan tR 8,45 menit ditunjukkan pada Gambar 4.7.



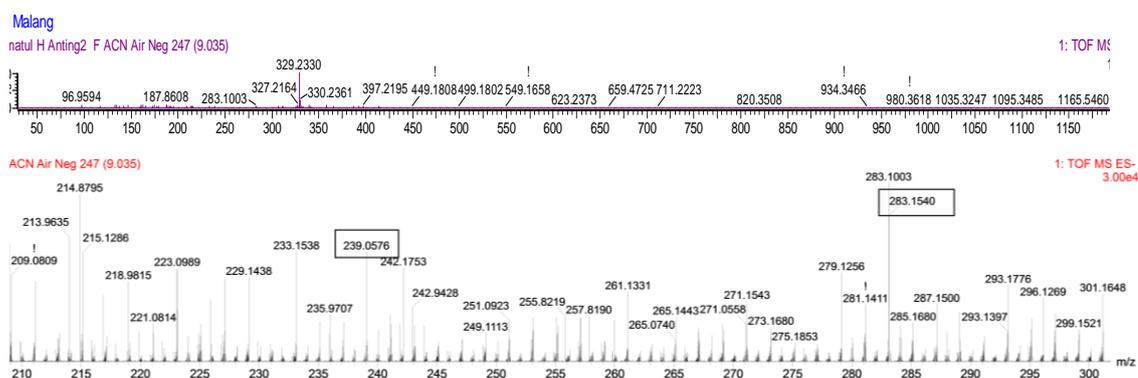
Gambar 4.7 Spektre massa pada tR 8,45 menit

Gambar 4.7 menunjukkan bahwa puncak pada tR 8,45 menit memiliki m/z 1076.3915 yang dimungkinkan memiliki rumus molekul  $C_{53}H_{62}N_3O_{21}$ . Spektre pada tR 8,4 memiliki *base peak* atau puncak dasar dengan intensitas tertinggi (kelimpahan 100%) dengan m/z 327.2178, terdapat ion-ion pada m/z 269.2 dan m/z 224.8 yang merupakan ciri khas m/z senyawa emodin (Hou dkk., 2014) dengan struktur seperti ditunjukkan pada gambar 4.8.

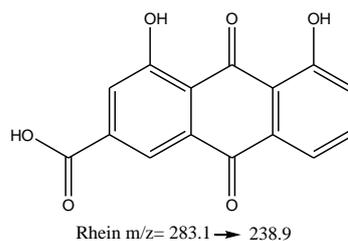


Gambar 4.8 Struktur senyawa emodin

Puncak selanjutnya dengan tR 9,035 menit memiliki spektra massa seperti pada gambar 4.9

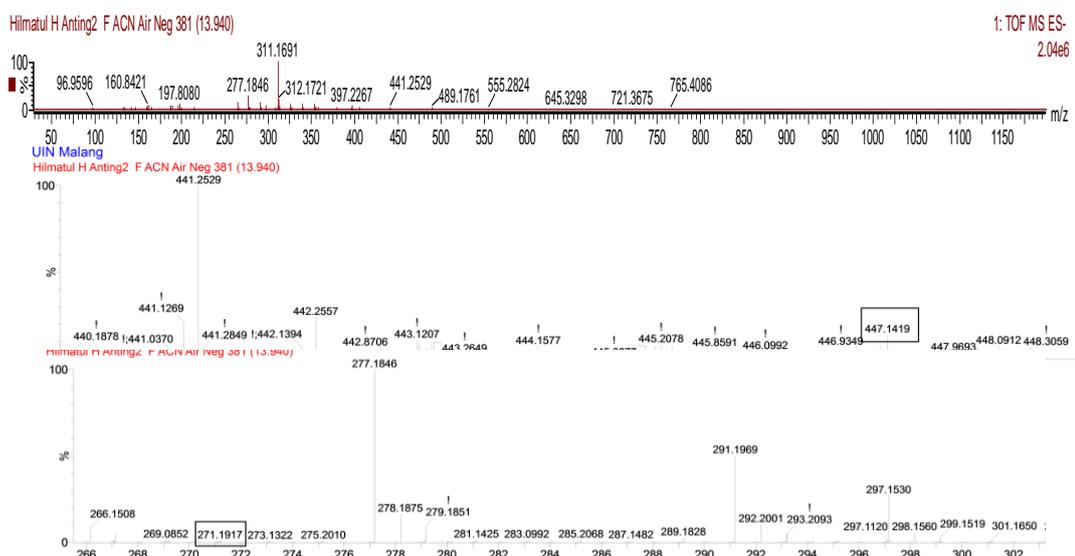


Gambar 4.9 menunjukkan bahwa puncak pada tR 9,035 menit memiliki  $m/z$  1165.5460 yang dimungkinkan memiliki rumus molekul  $C_{78}H_{69}N_8O_5$  yang menghasilkan ion molekuler dengan  $m/z$  327.2178 merupakan *base peak* atau puncak dasar dengan intensitas tertinggi (kelimpahan 100%). Selain itu, spektra pada tR 9,035 memiliki puncak pada  $m/z$  283.1003 dan  $m/z$  238.9 yang merupakan ciri khas fragmentasi senyawa rehin (Hou dkk., 2014) yang ditunjukkan pada Gambar 4.10.



Gambar 4.10 Struktur senyawa rhein

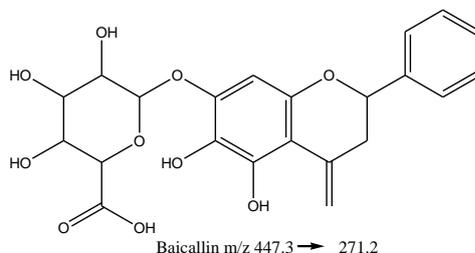
Puncak selanjutnya dengan tR 13,94 menit menghasilkan spektra massa yang ditunjukkan pada Gambar 4.11.



Gambar 4.11 Spektra senyawa pada tR 13,94

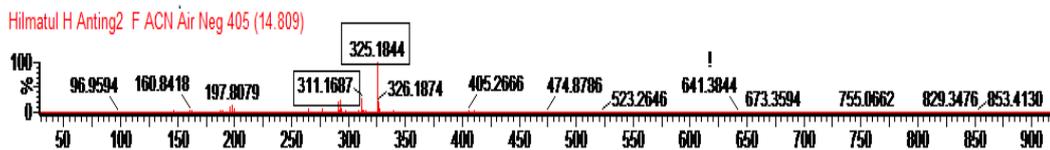
Gambar 4.11 menunjukkan bahwa puncak pada tR 13,94 menit memiliki m/z 766.4086 yang dimungkinkan memiliki rumus molekul  $C_{53}H_{53}N_2O_3$  yang terfragmentasi menjadi ion-ion molekuler m/z 441.2529, m/z 312,1721, m/z 311.1691, m/z 277.1846, m/z 197.8080 hingga m/z 96.9596. Ion molekuler dengan m/z 311.1691 merupakan *base peak* atau puncak dasar dengan intensitas tertinggi (kelimpahan 100%). Selain itu, pada tR 13,94 terdapat puncak spektra

pada  $m/z$  447.3 dan  $m/z$  271.2 yang merupakan ciri khas fragmentasi dari senyawa baicallin (Hou dkk., 2014) yang ditunjukkan pada Gambar 4.12.



Gambar 4.12 Struktur senyawa baicallin

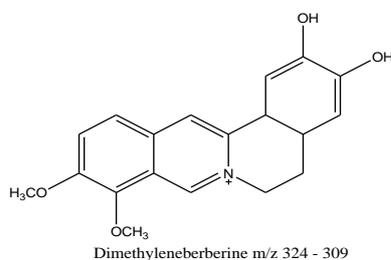
Puncak selanjutnya dengan  $tR$  14,81 memiliki spektra massa yang ditunjukkan pada Gambar 4.13.



Gambar 4.13 Spektra massa senyawa pada  $tR$  14,81

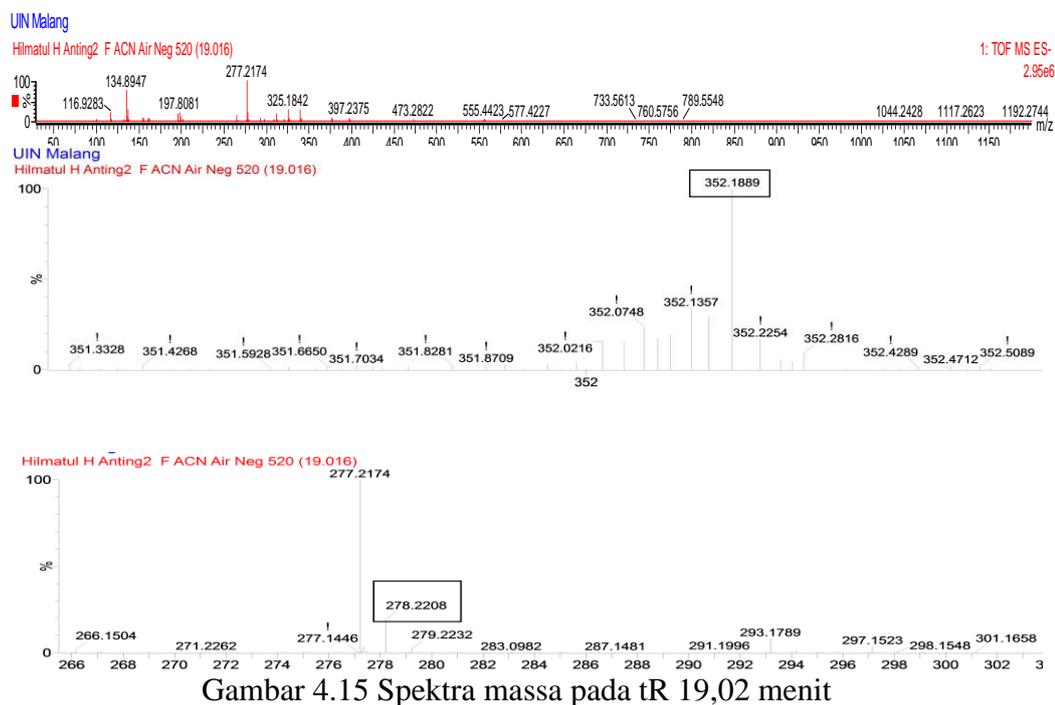
Gambar 14.13 menunjukkan bahwa puncak pada  $tR$  14,8 menit memiliki  $m/z$  853.4130 yang dimungkinkan memiliki rumus molekul  $C_{63}H_{53}N_2O$  yang terfragmentasi menjadi ion-ion molekuler dengan  $m/z$  325.1844,  $m/z$  311.1687, hingga  $m/z$  96.9594. Ion molekuler dengan  $m/z$  325.1844 yang merupakan *base peak* atau puncak dasar dengan intensitas tertinggi (kelimpahan 100%) yang memiliki kemiripan dengan massa relatif senyawa dimetilen berberin ( $m/z$  324). Senyawa dimetilen berberin memiliki ciri pola fragmentasi dari  $m/z$  324  $\rightarrow$   $m/z$

309 sehingga puncak pada tR 14,81 diduga merupakan senyawa dimetilen berberin seperti ditunjukkan pada Gambar 4.14.



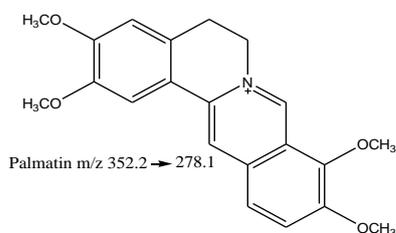
Gambar 4.14 Struktur senyawa dimetilen berberin

Puncak selanjutnya pada tR 19,02 menghasilkan spektra pada Gambar 4.15.



Gambar 14.15 menunjukkan bahwa puncak pada tR 19,02 menit memiliki m/z 1192.2744 yang dimungkinkan memiliki rumus molekul  $C_{82}H_{163}N_2O$  yang

terfragmentasi menjadi ion-ion molekuler dengan  $m/z$  397.2375,  $m/z$  325.1844,  $m/z$  277.2174, hingga  $m/z$  116.9283, dan ion molekuler dengan  $m/z$  277.2174 merupakan *base peak* atau puncak dasar dengan intensitas tertinggi (kelimpahan 100%). Spektra pada  $t_R$  19,02 juga menghasilkan puncak pada  $m/z$  352.2 dan  $m/z$  278.1 yang merupakan ciri khusus spektra senyawa palmatin (Hou et al., 2014). Puncak pada  $t_R$  19,02 diduga merupakan senyawa palmatin dengan struktur yang ditunjukkan pada Gambar 4.16.



Gambar 4.16 Struktur senyawa palmatin

#### 4.5 Pengujian Parameter Non-Spesifik

Tahap selanjutnya adalah penentuan parameter non-spesifik ekstrak yang meliputi kadar air, kadar abu total, kadar sisa pelarut (etil asetat), dan kadar cemaran logam berat timbal (Pb). Parameter non-spesifik tidak terkait secara langsung dengan efek farmakologis ekstrak, akan tetapi dapat mempengaruhi keamanan serta stabilitas ekstrak yang akan dikonsumsi. Penentuan parameter non-spesifik bertujuan untuk mengetahui aspek eksternal ekstrak tumbuhan yang dapat mempengaruhi keamanan konsumen dan stabilitas ekstrak. Data hasil penentuan

parameter non-spesifik dapat dilihat pada Tabel 4.3, sedangkan perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 4.

Tabel 4.3 Hasil pengujian parameter non-spesifik ekstrak etil asetat Anting-anting

<b>Parameter</b>	<b>Hasil penentuan</b>	<b>Syarat maksimal</b>
Kadar air	17,9497% $\pm$ 0,6656	5 – 30% (Voigt, 1994)
Kadar abu	1,978% $\pm$ 0,3153	-
Kadar sisa pelarut	0,9989 $\pm$ 0,00782	1,0% (BPOM RI, 2006)
Kadar cemaran Pb	4,46 $\mu$ g/Kg	10 mg/Kg (BPOM RI, 2006)

#### 4.5.1 Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air dalam proses standardisasi bertujuan untuk menunjukkan sisa air yang masih terkandung dalam ekstrak setelah proses pengentalan ekstrak setelah dimaserasi. Kadar air yang tinggi dalam ekstrak dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme seperti jamur, bakteri atau kapang dalam ekstrak yang tidak baik bagi kesehatan. Kadar air ditetapkan dengan metode gravimetri, yaitu perbedaan berat bahan sebelum dan sesudah pengeringan. Prinsip penetapan kadar air dilakukan dengan menentukan massa sampel awal dibandingkan dengan sampel setelah proses penguapan air dalam bahan (melalui pemanasan di atas titik didih air yaitu 105 °C) hingga konstan.

Hasil penentuan kadar air dalam penelitian ini diperoleh sebesar 17,9497%  $\pm$  0,6656. Berdasarkan hasil nilai ini, ekstrak etil asetat tumbuhan Anting-anting dapat dikategorikan sebagai ekstrak kental. Ekstrak tumbuhan dinyatakan sebagai ekstrak kental jika kadar airnya masuk dalam range 5 – 30% (Voigt, 1995 dalam Saifudin, 2011). Penentuan kadar air dalam ekstrak juga dimaksudkan untuk menjaga kualitas ekstrak selama penyimpanan. Agar kadar air dalam ekstrak

berkurang, maka perlu dilakukan proses pengeringan sampel dengan lebih optimum dalam waktu yang lebih lama.

#### **4.5.2 Penetapan Kadar Abu**

Abu merupakan zat anorganik residu dari suatu proses pembakaran dari suatu bahan tumbuhan. Kadar abu merupakan karakterisasi terhadap spesies tumbuhan obat tertentu karena masing-masing tumbuhan memiliki sisa abu secara spesifik. Penentuan kadar abu berkaitan dengan kandungan mineral yang ada dalam suatu bahan, kemurnian, serta kebersihan suatu bahan yang dihasilkan. Pengukuran kadar abu bertujuan untuk mengetahui besarnya kandungan mineral yang terdapat dalam suatu bahan pangan (Persagi, 2009). Kadar abu merupakan ukuran dari jumlah total mineral yang terdapat dalam suatu tumbuhan.

Penentuan kadar mineral dalam suatu sampel pakan dapat dilakukan dengan metode pengabuan dengan menggunakan tanur pada suhu tinggi, di atas  $600 \pm 25 \text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $612 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Abu yang diperoleh merupakan sisa dari pembakaran yang sempurna (berupa mineral atau zat-zat anorganik). Ketika suatu sampel dipanaskan dalam suhu yang sangat tinggi (di atas  $600 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ), maka zat-zat organik akan hilang karena zat organik pada umumnya akan menguap pada suhu dibawah  $600 \text{ }^{\circ}\text{C}$  sedangkan zat anorganik tetap tertinggal pada sampel karena titik uap mineral pada umumnya lebih tinggi dari  $600 \text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Metode pengabuan kering sebagai penetapan kadar mineral yang dilakukan merupakan prosedur yang berdasarkan SNI nomor 3148.2 tahun 2009 yang mengacu pada AOAC 2005, AOAC Official Method 942.15, serta tercantum dalam Penentuan Standar Umum EKstrak Tumbuhan oleh Dirjen POM Depkes RI (2000). Hasil abu yang baik yaitu berwarna putih keabu-abuan. Waktu pengabuan

dengan merupakan faktor penting dalam metode ini. Jika pengabuan pada suhu 612 °C kurang dari 2 jam maka abu yang dihasilkan menjadi kurang baik, yang biasanya ditunjukkan dengan warna abu yang masih kehitaman. Hasil yang kurang maksimal ini akan mempengaruhi penetapan kadar abu.

Kadar abu total dalam ekstrak etil asetat Anting-anting diperoleh sebesar  $1,978\% \pm 0,3153$ . Besarnya kadar abu total dalam ekstrak *Acalypha indica* L. bahwa ekstrak yang dihasilkan dari maserasi mengandung mineral yang cukup tinggi. Tingginya kadar abu dalam ekstrak diduga karena kandungan internal mineral dalam tumbuhan Anting-anting yang berasal dari dalam tanah.

#### **4.5.3 Penetapan Kadar Sisa Pelarut**

Standardisasi herba Anting-anting dilakukan dengan menggunakan pelarut organik etil asetat. Tujuan penentuan kadar sisa pelarut (etil asetat) dalam ekstrak adalah untuk mengetahui berapa banyak sisa pelarut dalam ekstrak setelah pengeringan. Kadar sisa pelarut yang masih tinggi dalam ekstrak dapat menimbulkan efek negatif bagi tubuh (Saifudin, 2011). Penetapan sisa pelarut dalam ekstrak dilakukan dengan metode destilasi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar sisa etil asetat dengan melalui perbandingan perhitungan bobot jenis pada suhu kamar adalah sebesar  $0,9889 \pm 0,00782$ . Kadar sisa pelarut dalam ekstrak dapat diturunkan hingga 0% dengan memaksimalkan proses penguapan dengan *rotary evaporator vacuum* hingga benar-benar hilang semua pelarut (hingga tidak menetes lagi).

#### 4.5.4 Penetapan Cemaran Logam Berat Timbal (Pb)

Pengujian cemaran logam berat dilakukan untuk menentukan kandungan logam berat timbal (Pb) dalam ekstrak etil asetat tumbuhan anting-anting melalui metode *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS). Logam timbal ditentukan kadarnya karena dalam jumlah yang melebihi ambang batas ( $< 10$  mg/Kg) dapat berbahaya bagi kesehatan (Depkes, 2000). Logam timbal dapat masuk dalam tumbuhan anting-anting dari cemaran asap kendaraan melalui udara. Kadar logam timbal (Pb) yang terkandung dalam ekstrak Anting-anting hasil analisis dengan AAS adalah sebanyak  $4,46 \mu\text{g/Kg}$ . Hal ini menunjukkan bahwa kadar Pb dalam sampel tidak melebihi ambang batas dan aman bagi kesehatan. Tumbuhan Anting-anting dapat digunakan secara luas sebagai obat herbal yang aman bagi tubuh.

#### 4.6 Pemanfaatan Anting-Anting sebagai Tumbuhan Herbal dalam Perspektif

##### Islam

Tumbuhan merupakan anugrah dari Allah SWT yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan pakan (bagi hewan) maupun bahan pangan (bagi manusia) serta dapat dijadikan sebagai bahan obat berbagai macam penyakit. Allah SWT menganjurkan manusia untuk memanfaatkan tumbuh-tumbuhan dengan baik disertai dengan rasa syukur kepada-Nya sebagaimana yang tercantum dalam Al Qur'an surat Yasin ayat 35 berikut:

لِيَأْكُلُوا مِنْ ثَمَرِهِ وَمَا عَمِلَتْهُ أَيْدِيهِمْ أَفَلَا يَشْكُرُونَ ۝ ٣٥

Artinya: “supaya mereka dapat makan dari buahnya, dan dari apa yang diusahakan oleh tangan mereka. Maka mengapakah mereka tidak bersyukur?”. (Qs. Yasin (36) : 35).

Menurut tafsir Al Qur'an dari Kementrian Agama RI, kata “ وَمَا عَمِلْتُمْ أَيْدِيهِمْ ” dalam Qs. Yasin ayat 36 di atas menunjukkan makna bahwa tumbuh-tumbuhan dapat dimanfaatkan baik secara langsung maupun melalui modifikasi (untuk meningkatkan nilai jualnya) demi kemaslahatan manusia dan makhluk hidup lainnya (Kementrian Agama RI, 2010). Hasil penelitian menunjukkan bahwa tumbuhan Anting-anting memiliki aktifitas sebagai obat berbagai macam penyakit, khususnya sebagai obat antima. Tumbuhan Anting-anting (*Acalypha indica* L.) merupakan salah satu pemberian Allah SWT bagi manusia yang dapat dimanfaatkan oleh manusia sebagai bahan obat herbal secara melalui proses standardisasi. Hasil pengujian parameter standar ekstrak herbal menunjukkan bahwa ekstrak tumbuhan Anting-anting secara garis besar aman untuk dikonsumsi. Hal ini menunjukkan bahwa tumbuhan Anting-anting merupakan bukti karunia Allah yang wajib disyukuri sesuai dengan firman-Nya dalam Qs. Yasin ayat 35 di atas.

Berdasarkan berbagai penelitian ilmiah telah menunjukkan bahwa Anting-anting memiliki kemampuan sebagai agen anti radang, antibiotik, diare (Wijayakusuma, 2008), dan juga sebagai antikanker (Febriyanti dkk., 2014). Hal ini menunjukkan bahwa Allah tidak menciptakan segala sesuatu di bumi ini dengan sia-sia tanpa manfaat sebagaimana yang telah difirmankan-Nya dalam Qs. Ali Imran (3) : 190 – 191 berikut:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ۝ ١٩٠ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ۝ ١٩١

Artinya: “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal (190) (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka."* (Qs. Ali Imran (3): 190 – 191).

Qs. Ali Imran ayat 191 menjelaskan bahwa *ulul albab* adalah orang-orang selalu mengingat Allah di setiap kondisi, baik ketika berdiri, duduk, maupun berbaring. Setiap waktu digunakan untuk memikirkan penciptaan semesta alam, tentang kejadian-kejadian di alam yang menggambarkan kesempurnaan alam dan Keagungan Allah SWT. Hal ini akan semakin meningkatkan keimanan, rasa syukur, serta ketaqwaan manusia kepada Allah sebagai Tuhan Seluruh alam (Shihab, 2002). Hasil penelitian Anting-anting sebagai obat antimalaria menghasilkan efektivitas sebesar 90,74% melalui pengujian secara *in vivo* (Hayati dkk., 2012) serta standardisasi yang memenuhi persyaratan menunjukkan bahwa Allah menciptakan tumbuhan Anting-anting dengan segala keistimewaannya dan tidaklah sia-sia.

Penyakit malaria telah mengalami resistensi terhadap obat-obat yang beredar di pasaran seperti klorokuin, primetamine dan lain-lain. Hal ini menjadikan proses pengobatan terhadap penyakit yang disebabkan oleh nyamuk ini menjadi sulit untuk dilakukan. Pengobatan dari bahan alam umumnya tidak banyak menimbulkan efek samping yang negatif bagi konsumen, selain itu juga tidak rentan terhadap efek resistensi dalam pemakaian dengan intensitas tinggi. Allah telah menyiapkan obat bagi segala macam penyakit. Sebagaimana yang telah Rasulullah SAW. sabdakan kepada para sahabatnya. Imam Muslim

merekam sebuah hadits dari Jabir bin ‘Abdullah r.a, dari Rasulullah SAW, bahwasanya beliau bersabda:

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: “*Setiap penyakit ada obatnya. Apabila obat itu tepat untuk suatu penyakit, penyakit itu akan sembuh dengan seizin Allah ‘Azza wa Jalla.*”(H.R. Muslim, no. 1473).

Penggunaan obat untuk penyembuhan suatu penyakit juga disertai dengan kadar (dosis) tertentu. Proses standarisasi obat herbal bertujuan untuk menentukan kadar kandungan bahan-bahan tertentu yang boleh atau harus ada dalam bahan (ekstrak tumbuhan) sehingga aman untuk dikonsumsi oleh manusia. Kandungan senyawa metabolit penting yang bertanggung jawab terhadap aktivitas biologis herbal (parameter spesifik) lebih baik dalam jumlah tinggi, sehingga aktivitas yang dihasilkan (untuk menyembuhkan penyakit) juga semakin optimal, sedangkan kandungan komponen-komponen eksternal yang dapat berupa pengotor (parameter non-spesifik) sebisa mungkin harus dalam kadar rendah sehingga tidak menimbulkan efek samping yang buruk bagi konsumen. Allah SWT. telah menegaskan dalam Firman-Nya bahwa segala sesuatu yang diciptakan di alam semesta sesuai dengan kadar tertentu sebagaimana yang tercantum dalam Qs. Al Furqan ayat 2 sebagai berikut:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ

فَقَدَّرَهُ تَقْدِيرًا ۚ

Artinya: “*yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuasaan(Nya), dan dia telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya.*” (Qs Al Furqan (25) : 2).

Qs Al Furqan ayat 2 di atas telah menunjukkan bahwa segala yang ada di langit maupun di bumi adalah ciptaan Allah SWT. Allah SWT menciptakan segala sesuatu disertai dengan kemampuan dan potensi masing-masing yang sesuai, dengan kadar yang cukup untuk melaksanakan fungsinya, yang kesemuanya berkaitan satu dengan lainnya dalam suatu keseimbangan (Shihab, 2002). Demikian pula dengan ekstrak Anting-anting sebagai herba antimalaria juga memiliki batas kadar tertentu agar aman dikonsumsi oleh manusia sebagaimana yang telah ditetapkan oleh Departemen Kesehatan RI. Hasil penentuan parameter standar spesifik ekstrak menunjukkan kadar senyawa aktif (alkaloid total) sebesar 68,257%, sedangkan senyawa berberin yang merupakan senyawa marker antimalaria diketahui sebesar 30,17% dalam ekstrak tumbuhan Anting-anting sehingga cukup berpotensi untuk dijadikan sebagai obat herbal (antimalaria), sedangkan parameter kadar Pb 4,46  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  yang merupakan parameter non-spesifik berada dalam batas aman sehingga tidak membahayakan konsumen.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Hasil pengujian parameter spesifik standardisasi ekstrak etil asetat Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) menunjukkan bahwa kandungan senyawa larut air sebanyak  $9,548\% \pm 0,527$ , ekstrak larut etanol  $79,62167\% \pm 1,902$ . Kandungan alkaloid dengan reagen Dragendorff dan Meyer menunjukkan hasil positif. Kadar alkaloid total dalam ekstrak diperoleh sebanyak  $68,2577\% \pm 3,648$ . Senyawa marker berberin positif teridentifikasi dengan kadar sebanyak  $30,17\%$ .

Hasil pengujian parameter non-spesifik ekstrak etil asetat Anting-anting menunjukkan kadar air sebanyak  $17,9497\% \pm 0,6656$ , kadar abu sebanyak  $1,978\% \pm 0,3153$ , kadar sisa pelarut (etil asetat)  $0,9989 \pm 0,00782$  dan kadar cemaran logam Pb sebesar  $4,46 \mu\text{g/Kg}$ .

#### **5.2 Saran**

Dibutuhkan penelitian lebih lanjut tentang penentuan metode untuk standardisasi berberin sebagai senyawa marker obat serta penetapan semua parameter standardisasi ekstrak tumbuhan obat sehingga ekstrak Anting-anting dapat dikonsumsi secara lebih luas dan aman sebagai obat herbal terstandar.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amelia, R. A, Rachmadiarti, F. dan Yuliani. 2015. Analisis Kandungan Logam Berat Pb dan pertumbuhan Tanaman Padi di Area Persawahan Dusun Betas, Desa Kapulungan, gempol-Pasuruan. *Jurnal Leternalbio* Vol. 4 (3): 187 – 191.
- Arifiani, A. 2012. *Karakterisasi Simplisia dan Standardisasi Ekstrak Etanol Biji Jinten Hitam (Nigella sativa L.)*. Skripsi. Diterbitkan Jakarta. Program Studi Farmasi FKIK UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Arifini, H., Anggraini, N., Handayani, D., dan Rasyid, R., 2006. *Standardisasi Ekstrak Etanol Daun Eugenia cumini Merr., J. Sains Tek. Far.*, 11 (2)
- Balakrishnan N, Panda AB, Raj NR, Shrivastava A dan Prathani R. 2009. The Evaluation of Nitric Oxide Scavenging Activity of *Acalypha Indica* Linn Root. *Asian Journal Research of Chemisty*. Vol. 2 (2): 148-50.
- BPOM RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta: Direktorat Standardisasi Obat Tradisional, Kosmetik dan Produk Komplemen.
- BPOM RI. 2006. *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 2*. Jakarta: Direktorat Standardisasi Obat Tradisional, Kosmetik dan Produk Komplemen.
- Darmawatia, A. 2014. *Laporan Penelitian Analisis Kuantitatif*. Surabaya: Perpustakaan Universitas Airlangga.
- Departemen Kesehatan RI. 1994. *Materi Medika Indonesia Jilid IV*. Jakarta: Derektorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- Dewoto, H.R. 2007. Pengembangan Obat Tradisional Indonesia Menjadi Fitofarmaka. *Majalah kedokteran Indonesia*. Vol. 57 (7): 205 – 2010.
- Ding, B., Zhou, T., Fan, G., H, Z., and Wu, Y. 2007. Qualitative and Quantitative Determination of ten Alkaloids in Tradisional Chinese Medicine *Corydalis yanshusuo* W.T. Wang by LC-MS/MS and LC-DAD. *Journal of Pharmaceutical and Biochemical Analysis*. Vol. 45: (219 – 226).
- Dkhila, M.A. dkk. 2015. Protective Effect of Berberine Chloride on *Plasmodium Chabaudi*-Induced Hepatic Tissue Injury Mice. *Saudi Arabia Journal of Biological Sciences*. Vol. 22 (2).

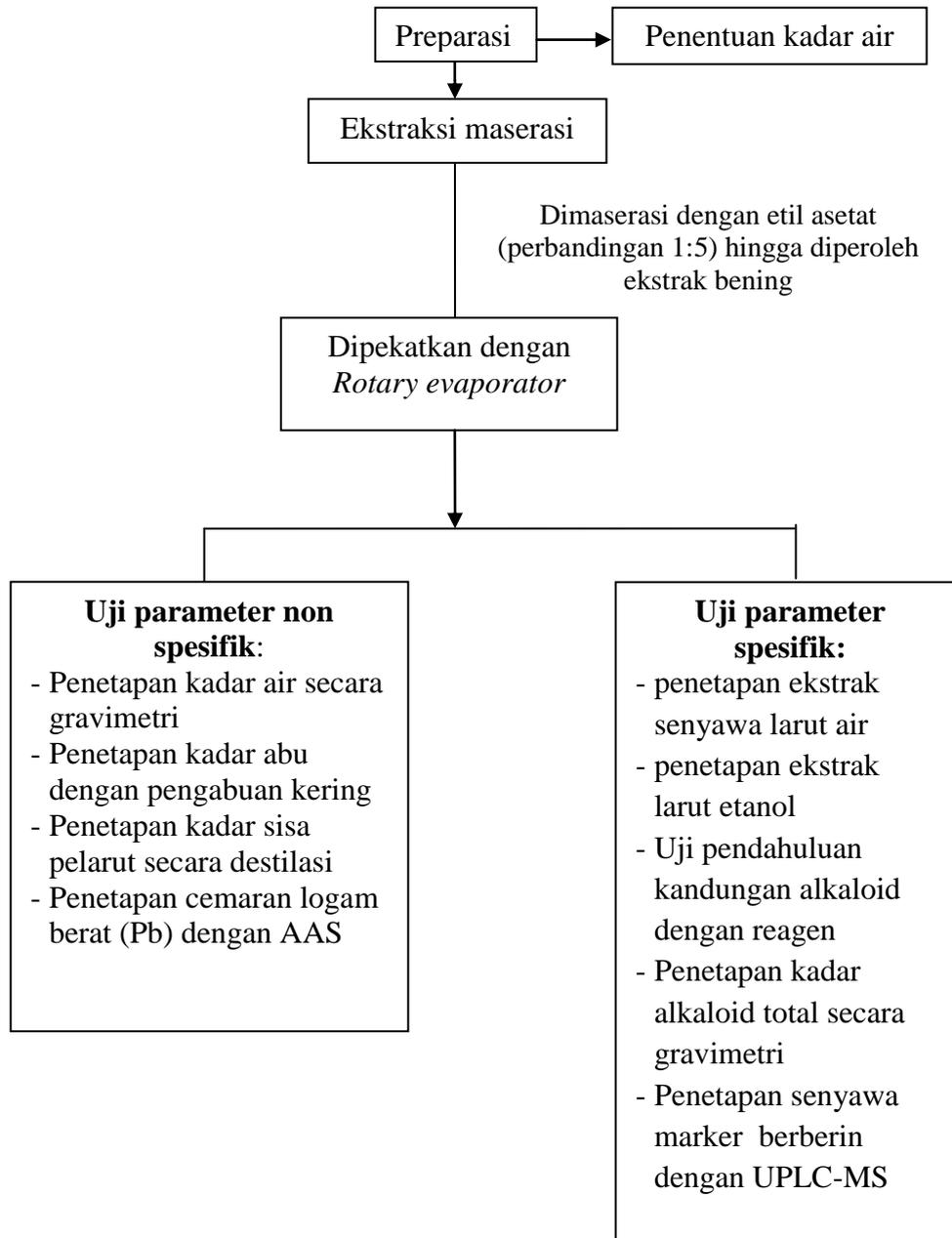
- Febriyanti, M., Supriyatna, dan Abdulah, R., 2014. Kandungan Kimia dan Aktivitas Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi Herba Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn) terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7. *Jurnal Farmasi Indonesia* Vol. 7 (1): 19 – 26.
- Gandjar, I. G. dan Rohman A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Goshawk, J., dan Wood, M. 2015. *Analysis of Plant Alkaloid Through Accurate Mass Screening and Discovery: Application Note Waters The Science of What's Possible*. Wilmslow, UK: Waters Corporation
- Halimah, N. 2010. *Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-Anting (Acalypha indica Linn.) terhadap Larva Udang Artemia salina Leach*. Skripsi Diterbitkan. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Terbitan Kedua*. Bandung: Penerbit ITB.
- Hayati, E.K, Jannah, A., dan Ningsih, R. 2012. Identifikasi Senyawa dan Aktivitas Antimalaria *In Vivo* Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-anting (*Acalypha incica* L.). *Jurnal Molekul*. Vol. 7 (1): 20 – 32.
- Hayati, E.K. dan Halimah, N. 2010. Phytochemical Test and Brine Shrimp Lethality Test Against *Artemia salina* Leach of Anting-anting (*Acalypha indica* L.) Plant Extract. *Jurnal Alchemy*. Vol. 1 (2): 53 – 103.
- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., dan Williamson, E.M., 2005. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Jakarta: EGC.
- Hendayana, S. 2006. *Kimia Pemisahan: Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: Rosda.
- Hernani, Marwati, T. dan Winarti, C. 2007. Pemilihan Pelarut pada Pemurnian Lengkuas (*Alpinia galanga*) secara Ekstraksi. *Jurnal Pascapanen*. Vol. 4 (1): 1 – 8.
- Hou, M. L., Chang, L. W., Lin, C. H., Lin, L.C., and Tsai, T. H. 2014. Determination of Bioactive Components in Chinese Herbal Formulae and Pharmacokinetics of Rhein in Rats bu UPLC-MS/MS. *Journal Molecules*. Vol. 19 ( 4045 – 4047).
- Husna, A. N., 2011. *Identifikasi Senyawa Ekstrak Etilasetat Tanaman Anting-anting (Acalypha indica Linn) dan Uji Aktivitas Antimalaria secara In Vivo pada Hewan Uji*. Skripsi. Diterbitkan. Malang: Fakultas Sains dan teknologi Universitas Islam Negeri maulana Malik Ibrahim.

- Hutapea, J.R. 1993. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (II)*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Botani.
- Inayah, S. N, Las, T., dan Yunita, E. 2010. Kandungan Pb pada daun Angsana (*Pterocarpus indicus*) dan Rumpun Gajah Mini (*Axonopus. Sp*) di Jalan protokol Kota Tangerang. *Jurnal Valensi*. Vol 2 (1): 340 – 346.
- Isnawati, A., Raini, M dan Alegantina, S. 2006. Standarisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L)) dari Tiga Tempat Tumbuh. *Media Litbang Kesehatan*. Vol. 16 (2): 1 – 6.
- Istiqomah, 2013. *Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (Piperis retrofracti fructus)*. Skripsi. Jakarta: UIN Syarif Hidayatulah.
- Jagatheeswari, D., Deepa, J., Ali, S.J. dan Ranganathan, P. 2013. *Acalypha indica* L. an Important Medicinal Plant: a Review of Its Traditional Uses and Pharmacological Properties. *International Journal of Research and Botany*. Vol. 3 (1): 19 – 22.
- Kementerian Kesehatan RI. 2009. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi pertama*. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI.
- Kementrian Agama RI. 2010. *Al-Qur'an dan Tafsirnya (Edisi yang Disempurnakan)*. Jakarta: Ikrar Mandiriabadi.
- Kementrian Agama RI. 2011. *Tumbuhan dalam perspektif Al-Qur'an dan Sains*. Jakarta: Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an.
- Khoirani, N. 2013. *Karakterisasi Simplisia dan Standarisasi Ekstrak Etanol Herba Kemangi (Ocimum americanum L.)*. Skripsi. Program Studi Farmasi FKIK Universitas Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Kunie, Folashade, O., Egharevba, Omoregie, H., Ahmadu, and Ochogu, P. 2012. Standarization of Herbal Medicine – A Review. *International Journal of Biodiversity and Conservation*. Vol. 4 (3): 101 – 112.
- Kusumarini, R., 2013. *Uji Efektivitas Antimalaria Senyawa Ekstrak Kasar Etilasetat dan Ekstrak Kasar Alkaloid Tanaman Anting-anting (Acalypha indica Linn) secara In Vivo pada Mencit Jantan (Mus musculus)*. Skripsi. Diterbitkan. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Manual Book AAS 240. 1989. *Analytical Method Flame AAS Varian 240*. Australia: Pty Ltd .

- Murtadlo, Y., Kusri, D., dan Fachriyah, E. 2013. Isolasi, Identifikasi Senyawa Alkaloid Total Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* Linn.) dan Uji Sitotoksik dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Jurnal Chem Info*. Vol. 1, No. 1 (379 – 385).
- Mustofa, 2009. *Obat Antimalaria Baru: antara Harapan dan kenyataan. Pidato pengukuhan Jabatan Guru Besar pada fakultas Kedokteran UGM*. Diterbitkan. Yogyakarta: fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada.
- Nadia, I., 2012. *Aktivitas Antimalaria secara In Vivo dari Senyawa Triterpenoid Ekstrak Diklorometana Tanaman Ating-anting (*Acalypha indica* Linn.) dan Penentuan Identifikasinya menggunakan Spektrofotometer Infra Merah dan UV-Vis. Skripsi*. Diterbitkan. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Nopika, L. 2010. *Penetapan Kadar Alkaloid Total dari Ekstrak Etanol Umbi Lapis Bakung (*Hymenocallis littoralis* (Jacq.) Salisb.)*
- Osuagwu, G.G.E dan Eme, C.F. 2013. The Phytochemical Composition and Antimicrobial Activity of *Dialium guineense*, *Vitex doniana* and *Dennettia tripetala* Leaves. *Asian Journal of Natural and Applied Sciences*. Vol.2 (3): 169 – 181.
- Purnamasari, R. M. 2012. *Abalisa Timbal, Tembaga, Kadmium pada Daun dan Batang Selada, Bayam Merah, dan Genjer secara Spektrofotometri Serapan Atom. Skripsi*. Jakarta: Program Studi Ekstensi Farmasi FMIPA UI.
- Radji, M., Sari, R. C., dan Sumiati, A. 2008. Uji Aktivitas Antimikroba dan Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Akar Tanaman Akar Kucing (*Acalypha indica* L.), Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Sheff Boerl) dan Sari Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam). *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol. 5 (1).
- Saifudin, A., Rahayu, dan Teruna. 2011. *Standarisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Sari, I. K. 2010. *Analisa Instrumentasi*. Klaten: Penerbit Yayasan Humaniora.
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an Vol. 10*. Jakarta: Penerbit Lentera Hati.
- Simanjuntak, P. 1995. *Tumbuhan sebagai Sumber Zat Aktif Antimalaria*. Bogor: Pusat Litbang Bioteknologi LIPI.
- Skopalova, J., et al. 2011. Electrochemical Oxidation of Berberine and Mass Spectrometric Identification of Its Oxidation Product. *Journal of Biochemistry*. Vol 87 (2012) : 15 – 20.

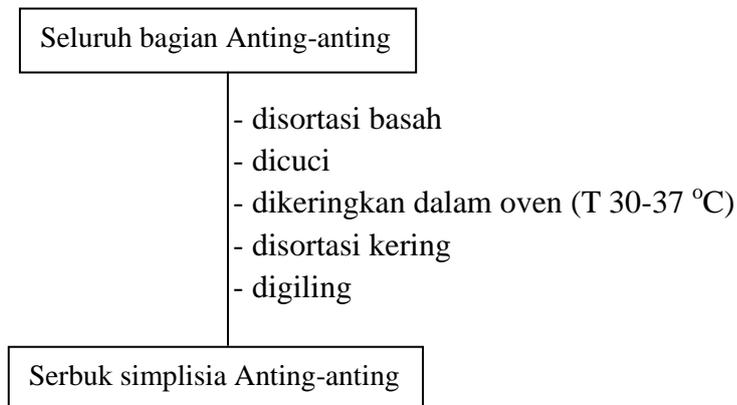
- Soetarno, S., dan Soediro, I.S. 1997. *Standardisasi Mutu Simplisia dan Ekstrak Bahan Obat Tradisional*. Presidium Temu Ilmiah Nasional Bidang Farmasi.
- Sriwahyuni, I., 2010. *Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting-anting (Acalypha indica Linn) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas Menggunakan Brine Shrimp (Artemia salina leach)*. Skripsi. Diterbitkan. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Sudarmadji, S.B., Haryono dan Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Titis, M., Fachriyah, E., dan Kusriani, D. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktifitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis). *Jurnal Chemical Info* Vol. 1, No.1 (196 – 201).
- Tukira, Suyanto dan Hidayati, N. 2010. *Skrining Fitokimia Ekstrak Heksana, Kloroform dan Metanol pada Tumbuhan Andong (Cordyline fruticosa), Anting-anting (Acalypha indica L.) dan Alang-alang (Imperata cylindrical)*. Surabaya: UNESA.
- Underwood, A.L., dan RA. Day. Jr. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif Edisi keenam: Terjemahan dari Quantitative Analysis*. Oleh Hilarius, W. Dan Lemeda, S. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Vijayarekha, P., Sangottaiyan, N., Noorjahan, A., dan Ambiga, S., 2015. Antibacterial Activity of *Acalypha indica* Linn. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*. Vol. 4 (6): 1133 – 1138. India.
- Vogel. 1978. *Text Book Of Practical Organic Chemistry 4th Edition*. London: Longman Group Limited.
- Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Penerjemah Soendari, N.S., Yogyakarta: Gajahmada University Press
- Wasito, H., 2011. *Obat Tradisional Kekayaan Indonesia*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Widowati, W.A, Sastiono, R. Dan Jusuf, R. 2008. *Efek Toksik Logam*. Yogyakarta: Andi.
- Wijesekera, R.O.B. 1991. *The Medicinal Plant Industry*. London: CRC Press.
- Winarno, F. G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.

- Yulianti, R. 2013. *Standardisasi Ekstrak Etanol Daun Angsana (Pterocarpus indicus Willd.)*. Skripsi. Diterbitkan. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Yuniarti, T. 2008. *Ensiklopedia Tanaman Obat Tradisional*. Yogyakarta: Media Pressindo.
- Yusuf, A., M. 2010. *Ensiklopedi Tematis Ayat Al-Qur'an & Hadits Jilid 2*. Jakarta: Perpustakaan Nasional RI.
- Zamrodi, M., 2011. *Uji Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Aktif Tanaman Ating-ating (Acalypha indica Linn)*. Skripsi Diterbitkan. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

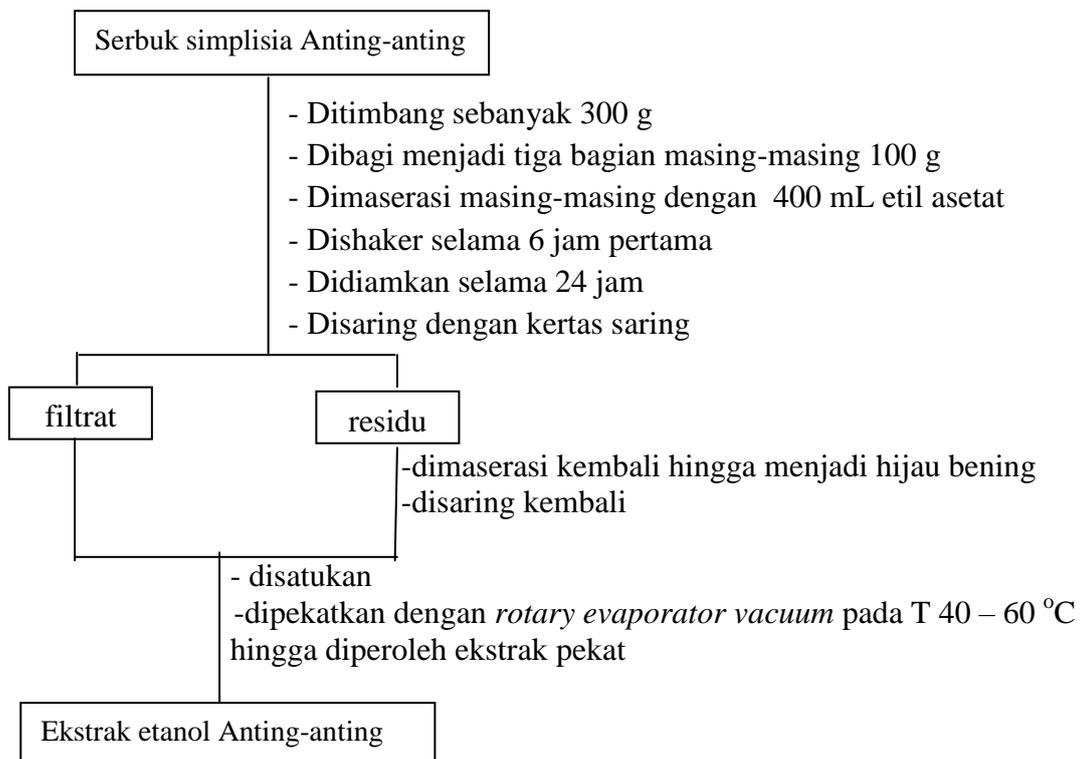
**Lampiran 1. Rancangan Penelitian**

## Lampiran 2. Diagram Alir Penelitian

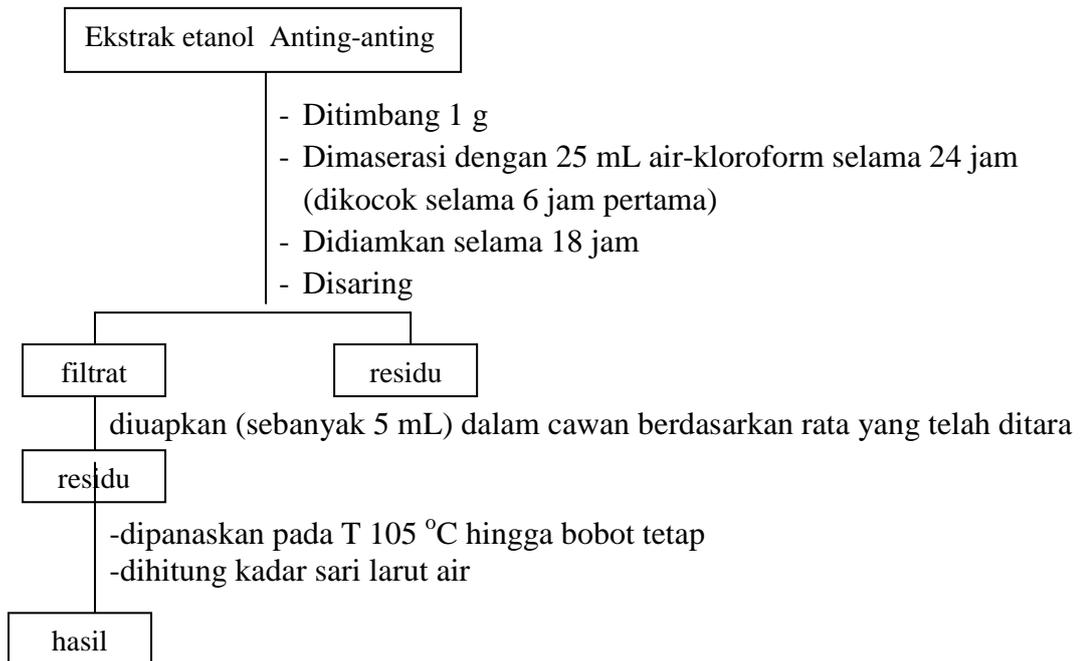
### 1. Preparasi Sampel



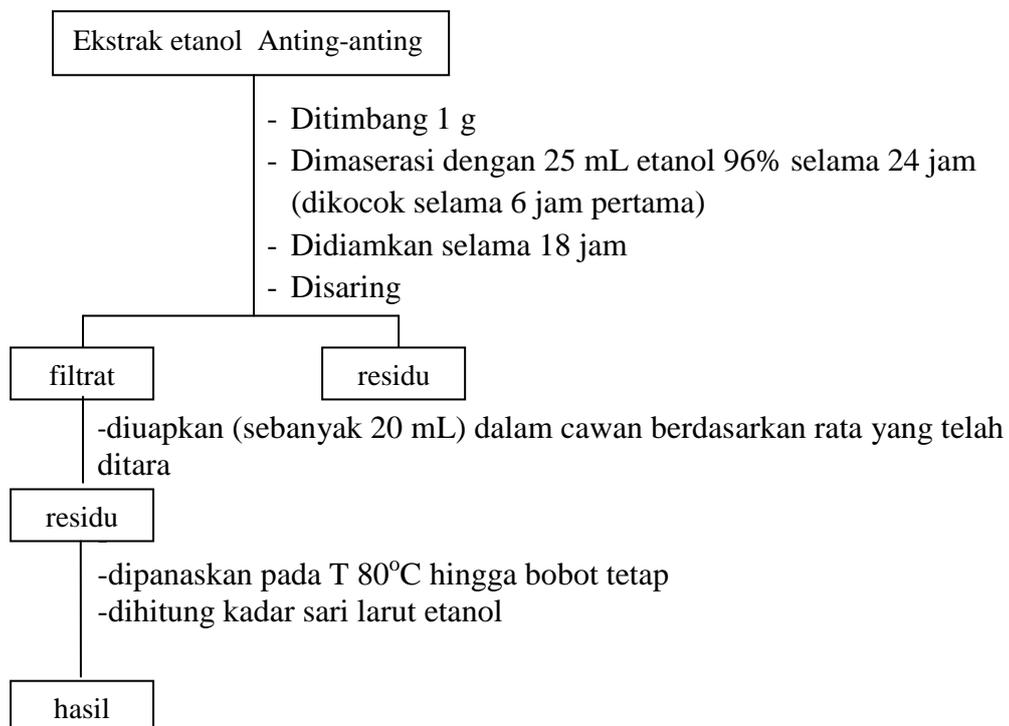
### 2. Pembuatan Ekstrak Etil asetat



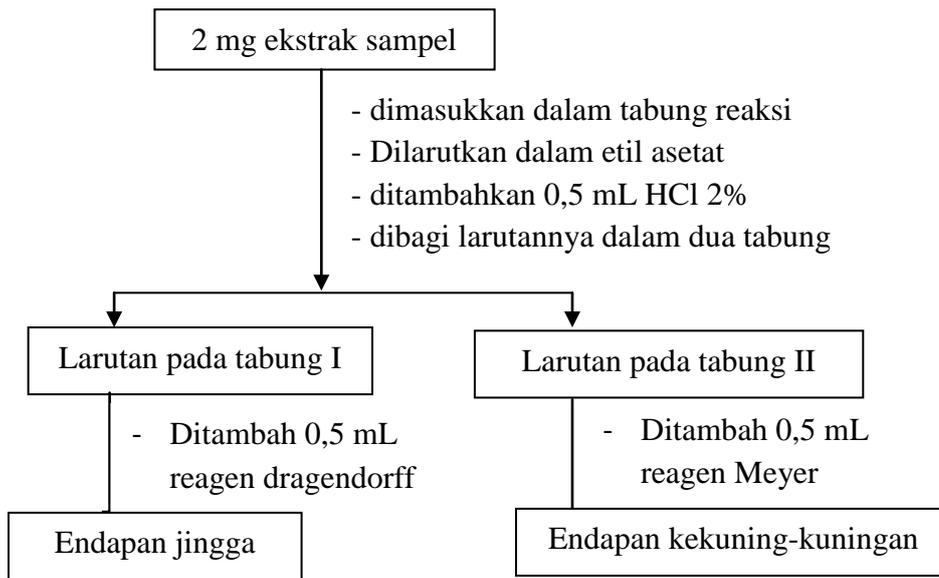
### 3. Penentuan Kadar senyawa Larut Air



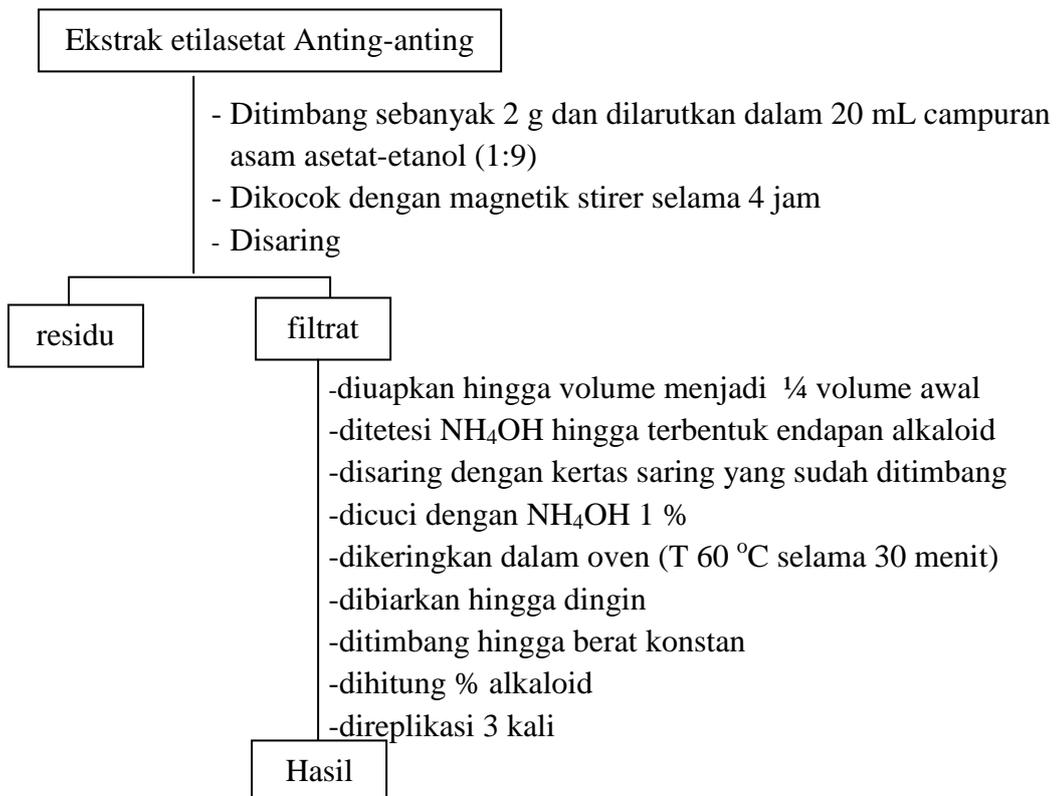
### 4. Penentuan Kadar senyawa Larut Etanol



### 5 Uji Pendahuluan Kandungan Alkaloid dengan Reagen

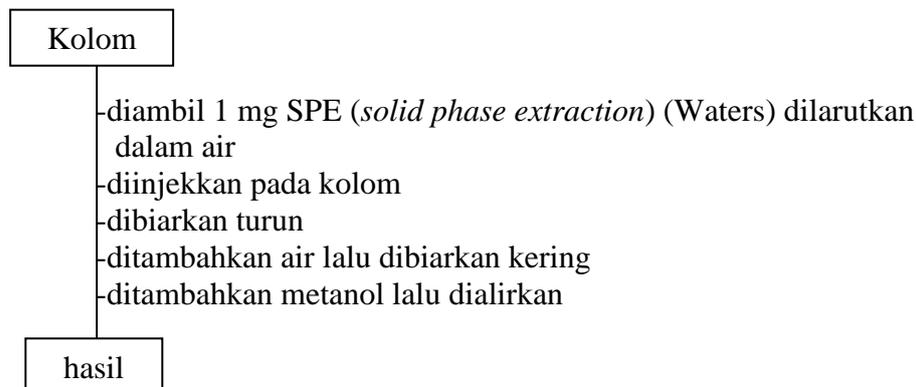


### 6. Penetapan Alkaloid Total secara Gravimetri

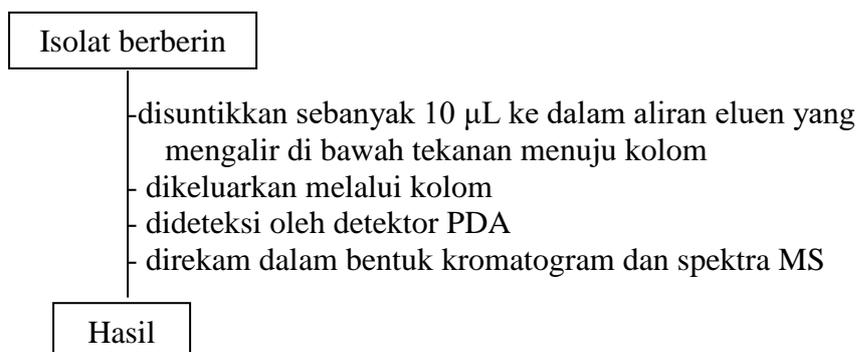


## 7. Penetapan Senyawa Marker Berberin dengan UPLC/DAD/ESI/ToF/MS

### 7.1 Preparasi Kolom UPLC



### 7.2 Penyuntikan Sampel pada UPLC/DAD



Parameter analisa yang digunakan adalah sebagai berikut:

Alat : ACQUITY UPLC I-Class (Waters) with *diode-array* detector DAD) 2996 (Waters)

Column : Sunfire C18, panjang 50 mm, diameter 2 mm, dan ukuran partikel 1,7 µm (Waters)

Flow rate : 1 mL/min, injection 10 microliter

Eluent : A. H<sub>2</sub>O + *formic acid*;  
B. *Acetonitrile*

Column Temperature : 36,9 – 40 °C

Sample temperature : 27,5 °C

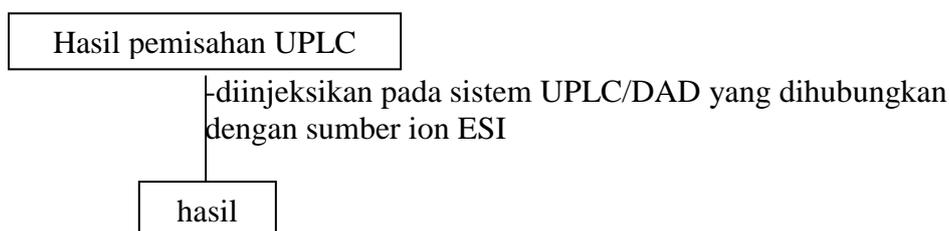
UPLC method : *Gradient* \*

Wavelength : Maxplot, 210 nm, 410 nm dan 435 nm

## \* Sistem Gradien UPLC

No.	Waktu retensi (menit)	Alir (mL/menit)	%A	%B
1.	-	0.300	90.0	10.0
2.	8.00	0.300	50.0	50.0
3.	10.00	0.300	50.0	50.0
4.	18.00	0.300	10.0	90.0
5.	22.00	0.300	10.0	90.0
6.	25.00	0.300	90.0	10.0

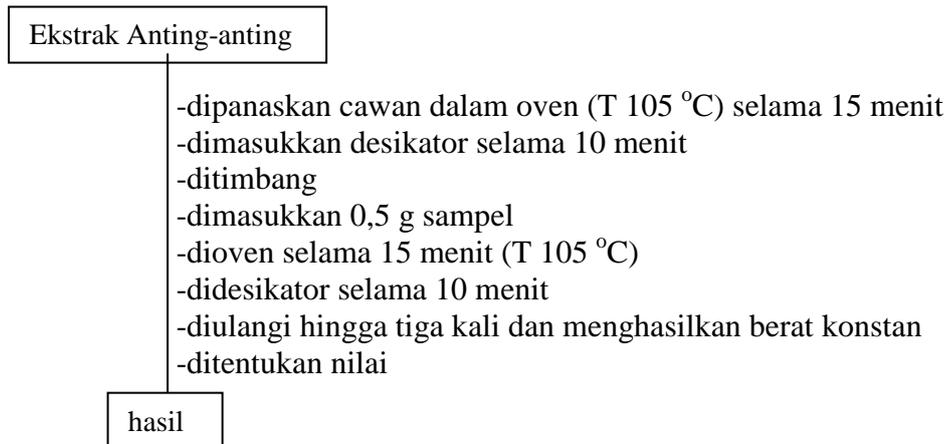
## 7.3 Identifikasi Senyawa dengan UPLC/DAD/ESI/ToF/MS



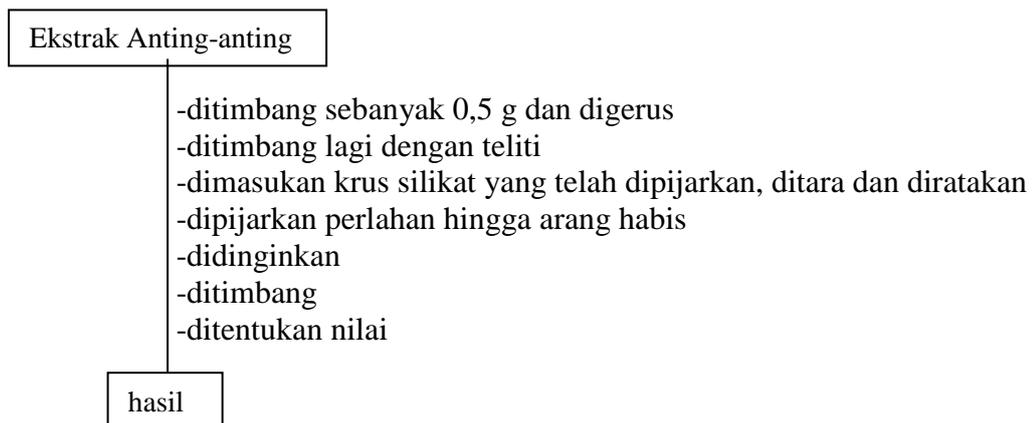
Kondisi alat Spektroskopi Massa adalah sebagai berikut,

Alat : MS system Xevo G2-S QToF (Waters)  
 Analyser MS : TOF (*Time of Flight*) dengan *electrosprayer* modus positif (ES+) dan negatif (ES-) dari m/z 100 sampai m/z 1150  
 Capillary voltage : 0,8 kV  
 Sample cone voltage 60 : 25 V  
 Desolvation temperature : 280 °C  
 Source temperature : 100 °C  
 Desolvation gas flow : 794 L/menit

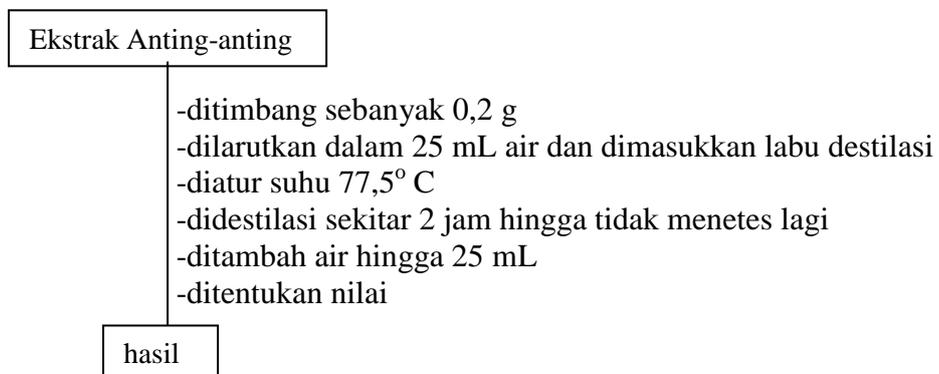
## 8. Penetapan Kadar Air



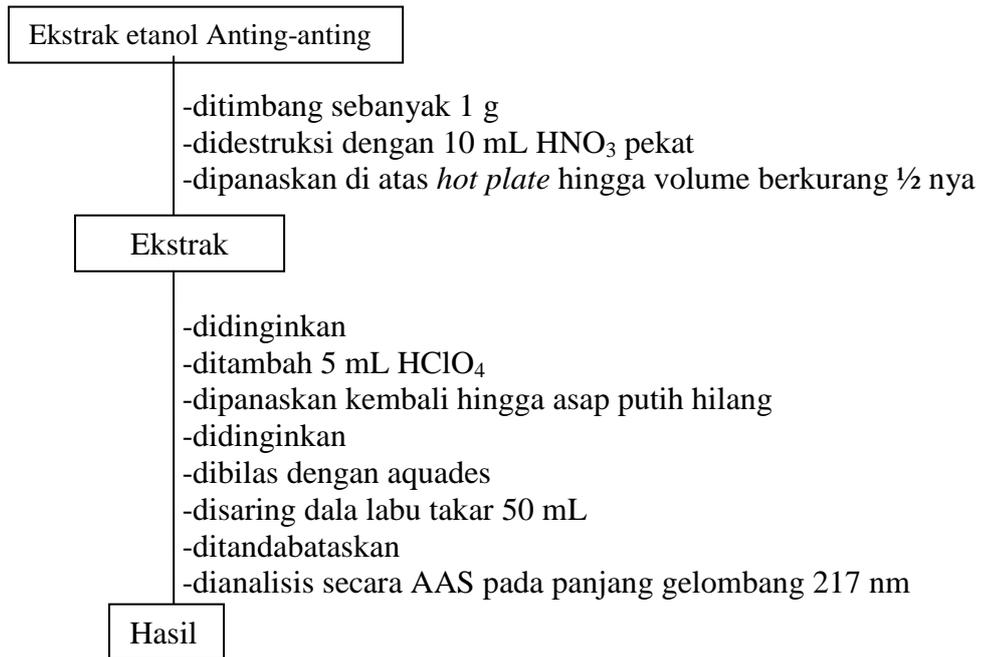
## 9. Penetapan Kadar Abu Total



## 10. Penetapan Kadar Sisa Pelarut



## 11. Penetapan Cemaran logam Pb



### Lampiran 3. Pembuatan Reagen dan Larutan

#### L.3.1 Pembuatan HCl 2%

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\37 \% \times V_1 &= 2 \% \times 10 \text{ mL} \\V_1 &= 0,54 \text{ mL}\end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah dipipet larutan HCl pekat 37% sebanyak 0,54 mL menggunakan pipet volume 1 mL dan pengambilannya dilakukan di dalam lemari asam, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang telah berisi  $\pm$  5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

#### L.3.2 Pembuatan Reagen Dragendorff

Larutan I. 0,6 g  $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL  $\text{H}_2\text{O}$ .

Larutan II. 6 g KI dalam 10 mL  $\text{H}_2\text{O}$ .

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan menimbang 0,6 g  $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dengan neraca analitik, kemudian serbuk tersebut dimasukkan dalam *beaker glass* 50 mL. Selanjutnya diambil larutan HCl pekat sebanyak 2 mL menggunakan pipet ukur 5 mL di dalam lemari asam. Kemudian dimasukkan 10 mL aquades dan larutan HCl pekat 2 mL ke dalam *beaker glass* untuk melarutkan serbuk dengan dibantu pengadukan. Larutan II dibuat dengan menimbang 6 g KI dengan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* 50 mL. Kemudian ditambahkan 10 mL aquades ke dalam *beaker glass* untuk melarutkan serbuk dengan bantuan pengadukan. Kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL  $\text{H}_2\text{O}$  (Wagner, dkk., 2001).

#### L.3.3 Pembuatan Reagen Mayer

Larutan I.  $\text{HgCl}_2$  1,358 g dalam aquades 60 mL

Larutan II. KI 5 g dalam aquades 10 mL

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan menimbang  $\text{HgCl}_2$  1,358 g dengan neraca analitik dan dimasukkan dalam *beaker glass* 50 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades 60 mL untuk melarutkan serbuk dengan bantuan pengadukan. Larutan II dibuat dengan menimbang KI 5 g dengan neraca

analitik dan dimasukkan dalam *beaker glass* 50 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades 10 mL untuk melarutkan serbuk dengan bantuan pengadukan. Kemudian larutan II dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan larutan I dituangkan ke dalam larutan II. Selanjutnya diencerkan dengan aquades sampai tanda batas pada labu ukur 100 mL (Manan, 2006).

### L.3.4 Perhitungan Konsentrasi Larutan Ekstrak Untuk Uji Kadar Logam Berat

a. Pembuatan Larutan Stok 1000 ppm Ekstrak Tanaman Rumput Bambu

$$\text{ppm} = \text{mg/L}$$

$$\text{larutan stok 1000 ppm} = \text{mg/L dalam 10 mL pelarutnya}$$

$$1000 \text{ ppm} = \frac{\text{mg}}{10 \cdot 10^{-3} \text{ L}}$$

$$\text{mg} = 1000 \text{ mg/L} \cdot 10 \cdot 10^{-3} \text{ L}$$

$$\text{mg} = 10 \text{ mg}$$

Jadi, larutan stok 1000 ppm pada masing-masing ekstrak dibuat dengan melarutkan 10 mg sampel ke dalam 10 mL pelarutnya.

b. Larutan standar Pb 5,00 ppm dari larutan stok 1000 ppm dalam labu ukur 100 mL

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 1000 \text{ ppm} &= 100 \text{ ml} \times 5 \text{ ppm} \\ V_1 &= 0,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

c. Seri konsentrasi Pb dibuat dalam labu ukur 50 ml dari larutan 5 ppm

- 0,1 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 5 \text{ ppm} &= 50 \text{ ml} \times 0,1 \text{ ppm} \\ V_1 &= 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

- 0,3 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 5 \text{ ppm} &= 50 \text{ ml} \times 0,3 \text{ ppm} \\ V_1 &= 3 \text{ ml} \end{aligned}$$

- 0,5 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\V_1 \times 5 \text{ ppm} &= 50 \text{ ml} \times 0,5 \text{ ppm} \\V_1 &= 5 \text{ ml}\end{aligned}$$

- 1 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\V_1 \times 5 \text{ ppm} &= 50 \text{ ml} \times 1 \text{ ppm} \\V_1 &= 10 \text{ ml}\end{aligned}$$

- 3 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\V_1 \times 5 \text{ ppm} &= 50 \text{ ml} \times 3 \text{ ppm} \\V_1 &= 30 \text{ ml}\end{aligned}$$

## Lampiran 4. Perhitungan Hasil Penelitian

### L.4.1 Rendemen Ekstrak Kasar Etil Asetat Anting-anting

Data hasil maserasi:

No.	Massa labu kosong (A)(gr)	Massa labu + ekstrak (B) (gr)	Massa ekstrak (B-A) (gr)	Massa Simplisia (gr)
<b>Maserasi I</b>				
1.	162,03	166,63	4,60	300
2.	161,72	165,52	4,20	
3.	161,72	164,90	3,18	
<b>Maserasi II</b>				
1.	161,68	164,675	2,991	120
2.	166,61	164,73	1,880	
	<b>Total:</b>		16,851	420

Perhitungan rendemen ekstrak etil asetat anting-anting hasil maserasi adalah sebagai berikut:

$$\text{Rendemen: } \frac{\text{massa ekstrak yang dipwroleh}}{\text{massa sampel yang diekstrak}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen: } \frac{16,851 \text{ gram}}{420 \text{ gram}} \times 100\% = 4,012 \%$$

### L.4.2 Perhitungan Parameter Spesifik Ekstrak Etil Asetat Anting-anting

#### 1. Uji Kelarutan Senyawa dalam Pelarut Tertentu

##### a. Kadar Senyawa Larut Air

Hasil penimbangan dan perhitungan kadar senyawa yang larut dalam air adalah:

No.	Penimbangan	I	II	III
1	Bobot Cawan Konstan (W0)	74,3644	53,7144	50,0597
2	Bobot awal ekstrak (W1)	0,3257	0,3296	0,3348

Bobot ekstrak dalam cawan setelah pemanasan dalam oven (W2)

No.	Waktu	I	II	III
1	45 menit	74,3967	53,7469	50,0886
2	90 menit	74,3960	53,7473	50,0897

$$\% \text{ kadar senyawa larut air} = \frac{W_2 - W_0}{W_1} \times 100\%$$

Keterangan:

W1 = bobot ekstrak awal (gram)

W2 = bobot cawan + ekstrak setelah pemanasan (gram)

W0 = bobot cawan kosong konstan (gram)

$$\text{I \% kadar senyawa larut air} = \frac{74,3960 - 74,3644}{0,3257} \times 100\% = 9,702\%$$

$$\text{II \% kadar senyawa larut air} = \frac{53,7473 - 53,7144}{0,3296} \times 100\% = 9,982\%$$

$$\text{III \% kadar senyawa larut air} = \frac{50,0897 - 50,0597}{0,3348} \times 100\% = 8,961\%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{9,702\% + 9,982\% + 8,961\%}{3} = 9,548\% \pm 0,527$$

#### a. Kadar Senyawa Larut Etanol

Hasil penimbangan dan perhitungan kadar senyawa yang larut dalam etanol adalah:

No.	Penimbangan	I	II	III
1	Bobot Cawan Konstan (W0)	73,3889	63,6366	57,6757
2	Bobot awal ekstrak (W1)	0,3257	0,3212	0,3053

Bobot ekstrak dalam cawan setelah pemanasan dalam oven (W2)

No.	Waktu	I	II	III
1	45 menit	73,6453	63,8893	57,9147
2	90 menit	73,6462	63,8894	57,9154

$$\% \text{ kadar senyawa larut etanol} = \frac{W_2 - W_0}{W_1} \times 100\%$$

Keterangan:

W1 = bobot ekstrak awal (gram)

W2 = bobot cawan + ekstrak setelah pemanasan (gram)

W0 = bobot cawan kosong konstan (gram)

$$\text{I \% kadar senyawa larut etanol} = \frac{73,6461 - 73,3889}{0,3275} \times 100\% = 78,534$$

$$\text{II \% kadar senyawa larut etanol} = \frac{63,8894 - 63,6366}{0,3212} \times 100\% = 81,818$$

$$\text{III \% kadar senyawa larut etanol} = \frac{57,9154 - 57,6757}{0,3053} \times 100\% = 78,513$$

$$\text{Rata-rata kadar senyawa larut etanol} = \frac{78,534\% + 81,818\% + 78,513\%}{3} = 79,62167\% \pm 1,902$$

## 2. Penentuan Kadar Alkaloid Total

Hasil penimbangan dan perhitungan kadar alkaloid total secara gravimetri

No.	Penimbangan	I	II	III
1	Bobot kertas saring (W1)	1,1215	1,0862	1,1331
2	Bobot awal ekstrak	0,5067	0,5357	0,5140

Bobot ekstrak dalam cawan setelah pemanasan dalam oven (W2)

No.	Waktu	I	II	III
1	45 menit	1,4770	1,4622	1,4656
2	90 menit	1,4767	1,4634	1,4630
3	120 menit	1,4774	1,4638	1,4623

$$\% \text{ kadar alkaloid total} = \frac{W2 - W1}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

Keterangan:

W1 = bobot kertas saring kosong (gram)

W2 = bobot kertas saring + endapan alkaloid setelah pemanasan (gram)

$$\text{I \% kadar alkaloid total} = \frac{1,4774 - 1,1215}{0,5067} \times 100\% = 70,239\%$$

$$\text{II \% kadar alkaloid total} = \frac{1,4638 - 1,0862}{0,5357} \times 100\% = 70,487\%$$

$$\text{III \% kadar alkaloid total} = \frac{1,4623 - 1,1331}{0,5140} \times 100\% = 64,047\%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{70,239\% + 70,487\% + 64,047\%}{3} = 68,2577\% \pm 3,648$$

### L.4.3 Perhitungan Parameter Non-Spesifik Ekstrak Etil Asetat Anting-anting

#### 1. Uji Kadar Air

Hasil penimbangan dan perhitungan kadar air dalam ekstrak:

No.	Penimbangan	I	II	III
1	Bobot Cawan Konstan (A)	30,4850	28,3951	29,1937
2	Bobot cawan dan ekstrak awal (B)	30,9994	28,9074	29,7140

Bobot ekstrak dalam cawan setelah pemanasan dalam oven (C)

No.	Waktu	I	II	III
1	60 menit	30,9645	28,8631	29,6657
2	90 menit	30,9545	28,8520	29,6565
3	120 menit	30,9415	28,8390	29,6434
4	150 menit	30,9107	28,8142	29,6182
5	180 menit	30,9117	28,8134	29,6172

$$\% \text{ kadar air dalam ekstrak} = \frac{B-C}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan:

A = bobot cawan kosong konstan (gram)

B = bobot cawan + ekstrak mula-mula ( $\pm 0,5$  gram)

C = bobot cawan + residu setelah pemanasan (gram)

$$\text{I \% kadar air} = \frac{30,9994 - 30,9117}{30,9994 - 30,4850} \times 100\% = 17,049\%$$

$$\text{II \% kadar air} = \frac{28,9074 - 28,8134}{28,9074 - 28,3951} \times 100\% = 18,349\%$$

$$\text{III \% kadar air} = \frac{29,7140 - 29,6172}{29,7140 - 29,1937} \times 100\% = 18,451\%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{17,049\% + 18,349\% + 18,451\%}{3} = 17,9497\% \pm 0,6656$$

## 2. Uji Kadar Abu

### Hasil penimbangan dan perhitungan kadar abu dalam ekstrak:

No.	Penimbangan	I	II	III
1	Bobot Cawan Konstan (W0)	30,4831	28,3934	29,1926
2	Bobot sampel awal (W1)	0,5059	0,5177	0,5017
3	Bobot setelah tanur (W2)	30,4945	28,4040	29,2008

$$\% \text{ kadar senyawa larut etanol} = \frac{W2 - W0}{W1} \times 100\%$$

Keterangan:

W2 = bobot residu (abu) dalam cawan setelah ditanur (gram)

W1 = bobot ekstrak mula-mula ( $\pm 0,5$  gram)

W0 = bobot cawan kosong konstan (gram)

$$\text{I \% kadar abu} = \frac{30,4945 - 30,4831}{0,5059} \times 100\% = 2,253\%$$

$$\text{II \% kadar abu} = \frac{28,4040 - 28,3934}{0,5177} \times 100\% = 2,048\%$$

$$\text{III \% kadar abu} = \frac{29,2008 - 29,1926}{0,5017} \times 100\% = 1,634\%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{2,253\% + 2,048\% + 1,634\%}{3} = 1,978\% \pm 0,3153$$

## 3. Kadar Sisa Pelarut (Etil Asetat)

Data penimbangan dan perhitungan karakterisasi kadar sisa pelarut:

No.	Bobot piknometer kosong untuk aquades (gram)	Bobot piknometer kosong (gram)	bobot ekstrak (gram)	Piknometer + aquades	Piknometer + sisa pelarut
1	22,9390	22,9947	0,3265	47,8617	47,6106
2	22,9562	22,9306	0,3011	47,6189	47,7803
3	22,9679	22,9416	0,3092	47,6197	47,7881

Perhitungan dilakukan dengan perhitungan bobot jenis dan membandingkan bobot jenis aquades dengan sisa pelarut hasil destilasi:

$$\text{Sisa pelarut} = \frac{(\text{piknometer+sisa pelarut}) - \text{piknometer kosong}}{(\text{piknometer+aquades}) - \text{piknometer kosong}}$$

$$\text{I sisa pelarut} = \frac{(47,8617 - 22,9940)}{(47,6106 - 22,9387)} = 1,0079$$

$$\text{II sisa pelarut} = \frac{(47,6189 - 22,9306)}{(47,7803 - 22,9562)} = 0,9945$$

$$\text{III sisa pelarut} = \frac{(47,6197 - 22,9416)}{(47,7881 - 22,9679)} = 0,9942$$

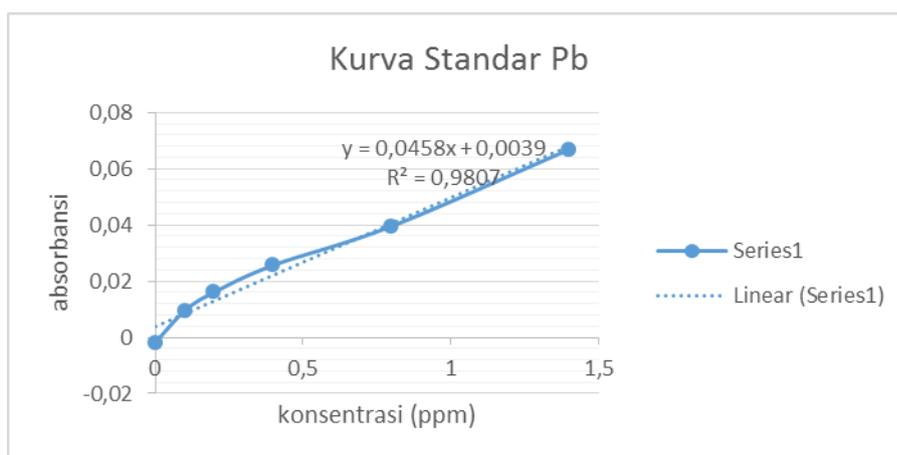
$$\text{Rata-rata} = \frac{(1,0079 + 0,9945 + 0,9942)}{3} = 0,9989 \pm 0,00782$$

#### 4. Kadar Cemaran Logam Timbal (Pb)

Hasil pengukuran standar timbal (Pb) didapatkan data sebagai berikut:

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1	0,00	-0,0019
2	0,10	0,0095
3	0,20	0,0161
4	0,40	0,0257
5	0,80	0,0396
6	1,40	0,0669

Data dimasukkan dalam Ms.excel dan diperoleh kurva kalibrasi sebagai berikut:



Persamaan linear yang diperoleh dari kurva standar adalah:

$$\underline{Y = 0,0458X + 0,0039}$$

$$Y = 0,0458X + 0,0039$$

$$0,070 = 0,0458X + 0,0039$$

$$0,0458X = 0,070 - 0,0039$$

$$X = \frac{0,090 - 0,0039}{0,0458} = 1,443 \text{ ppm} \rightarrow \text{mg/L}$$

$$\text{Kadar logam Pb} = \frac{\text{konsentrasi } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) \times \text{volume akhir (L)}}{\text{berat sampel awal (gram)}}$$

$$= \frac{1,443 \times 0,0034}{1,1002} = 0,00446 \text{ mg/gram} = 4,46 \times 10^{-6} \text{ mg/Kg} = 4,46 \text{ } \mu\text{g/Kg}$$

## Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian

### 1. Preparasi Sampel



Gambar 1. Tumbuhan Anting-anting segar



Gambar 2. Daun dan bunga setelah dipotong kecil-kecil



Gambar 3. Akar dan batang setelah dipotong kecil-kecil



Gambar 4. Pengeringan sampel dalam oven



Gambar 5. Sampel setelah dikeringkan



Gambar 6. Sampel digiling



Gambar 7. Sampel setelah dihaluskan

## 2. Ekstraksi Sampel secara Maserasi



Gambar 8. Penimbangan sampel



Gambar 9. Ekstraksi sampel dengan maserasi



Gambar 10. Pengocokan sampel dengan *shaker*



Gambar 11. Filtrat ekstrak etil asetat

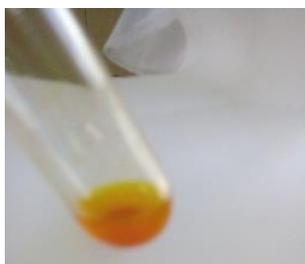


Gambar 12. Pemekatan filtrat dengan *rotary evaporator*



Gambar 13. Penguapan ekstrak pekat dengan desikator

## 3. Pengujian Kandungan Alkaloid dalam Ekstrak dengan Reagen



Gambar 14. Uji alkaloid dengan reagen Dragendorff



Gambar 15. Uji alkaloid dengan reagen Meyer

#### 4. Pengujian Kadar Total Alkaloid secara Gravimetri



Gambar 16. Filtrat ekstrak anting-anting ditetesi  $\text{NH}_4\text{OH}$



Gambar 17. Filtrat ekstrak anting-anting setelah ditetesi  $\text{NH}_4\text{OH}$



Gambar 18. Endapan alkaloid setelah ditetesi  $\text{NH}_4\text{OH}$

#### 5. Penetapan Marker Berberin dengan UPLC/DAD/ESI/ToF/MS



Gambar 19. Seperangkat peralatan UPLC with DAD *detector* yang tersambung dengan spektroskopi massa Xevo G2-S Qtof (Waters)

## 6. Penetapan Kadar Air



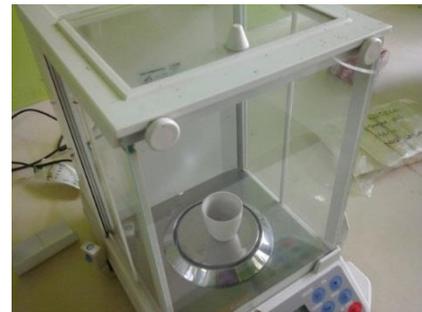
Gambar 20. Cawan kosong ditimbang hingga konstan lalu diisi sampel dan ditimbang kembali



Gambar 21. Cawan berisi sampel dioven pada  $T 105^{\circ}\text{C}$  selama  $\pm 15$  menit



Gambar 22. Dimasukkan dalam desikator selama  $\pm 10$  menit



Gambar 23. Cawan berisi ekstrak yang telah dioven ditimbang kembali hingga berat konstan

## 7. Penetapan Kadar Abu



Gambar 24. Cawan kosong ditimbang hingga konstan lalu diisi sampel dan ditimbang kembali



Gambar 25. Cawan berisi sampel ditanur pada  $T 600 \pm 25 \text{ } ^\circ\text{C}$  selama 30 menit



Gambar 26. Cawan dan abu sisa pengabuan ditimbang kembali



**KEMENTERIAN AGAMA RI**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MALIKI MALANG**  
**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**  
**JURUSAN KIMIA**

Gedung Sains dan Teknologi UIN Malang Lt.2 Jl. Gajayana 50 Malang Telp./Fax +62341558933  
 www.uin-malang.ac.id Email info uin@uin-malang.ac.id, kimia@uin-malang.ac.id

**KARTU KONSULTASI PENELITIAN**

**Nama** : HILMATUL ROSYIDAH  
**NIM** : 12630032  
**Judul Skripsi** : STANDARDISASI CEKSTRA ANTINE-ANTINE. (Acetylnic. InKca L.)  
 SEBAGAI HERBA ANTIMALARIA  
 .....  
**Pembimbing Utama** : Elok Kamilah Hayati, M.Si  
**Pembimbing Agama** : .....  
**Konsultan** : Rohtatul Muhi'ah

No	Tanggal	Materi Konsultasi	Catatan (ditulis tangan)	Tanda tangan (Pembimbing)
1.	09/09 <sup>15</sup>	Bab I	Desain penelitran ; cari nilai KCSO ; ED50 spesifik etanol	
2.	21/09 <sup>15</sup>	Bab I	Penetapan senyawa marker alkaloid /triterpenoid	
3.	12/11 <sup>15</sup>	Bab III	Penetapan alkaloid berberin	
4.	27/11 <sup>15</sup>	Bab III, (Bu lha)	Perlu penetapan senyawa marker secara kuantitatif	
5.	01/12 <sup>15</sup>	Bab III, (Bu lha)	Dipakai 2 pelarut etanol u, semua parameter, metanol → isolasi	
6.	07/12 <sup>15</sup>	Bab III, (Bu lha)	Penetapan berberin secara kuantitatif = HPLC.	
7.	18/12 <sup>15</sup>	Bab III	Penetapan berberin <del>standar</del> dg LC-MS	
8.	12/01 <sup>16</sup>	Bab I, III	Yang diteliti = isolasi	
9.	15/01 <sup>16</sup>	Bab III, (Bu lha)	Penentuan parameter = non spesifik (- mikroba)	
10.	29/01 <sup>16</sup>	Bab I, II, III	Revisi Bab I <sup>sertakan data hasil penelitian terdahulu</sup>	
11.	04/02 <sup>16</sup>	Bab III (Bu lha)	pengukuran mikroskop	
12.	10/02 <sup>16</sup>	Bab III	Penentuan densitas (ext. cair). Penentuan kadar dg densitas...	
13.	03/06 <sup>16</sup>	Hasil - kadar air, abu, pb, serbuk, lemak, alkaloid, KLT	ulangi klt u sikloheksan. kloroform. as. asetat.	
14.	08/06 <sup>16</sup>	Hasil Laboratorium (Bu lha)	Beri jurnal MS berberin	
15.	29/08 <sup>16</sup>	Spektra LCMS (Bu lha)	Beri spektra KLT dihapus	
16.	01/09 <sup>16</sup>	Spektra LCMS (Bu lha)	Pemilihan.	
17.	25/09 <sup>16</sup>	.....	Revisi tawar	
18.	06/10 <sup>16</sup>	.....		
19.	12/10 <sup>16</sup>	Pembahasan - LCMS		
20.	13/10 <sup>16</sup>	Pembahasan - spektra LCMS		



