

**PENELITIAN STANDARISASI PARAMETER SPESIFIK EKSTRAK KULIT BATANG
TANAMAN WARU (*hibiscus tiliaceus* L) SEBAGAI BAHAN BAKU OBAT HERBAL.****Sri Citra Permata Djufri, Moh Adam Mustapa, Teti S Tuloli*****Jurusan Farmasi, Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri
Gorontalo*****ABSTRAK**

Mengingat tumbuhan memiliki banyak peran penting dalam bidang kesehatan bahkan dapat dijadikan produk andalan Indonesia, maka sangat diperlukan upaya untuk meningkatkan kualitas dari obat tradisional sehingga perlu dilakukan standarisasi untuk menjamin khasiat dari tumbuhan tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan parameter spesifik dari ekstrak kulit batang tanaman waru (*Hibiscus tiliaceus* L) sehingga khasiatnya terjamin dan dapat digunakan sebagai obat herbal yang sudah teruji secara ilmiah. Ekstrak kulit batang tanaman waru ini diperoleh dari proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol. Pengujian parameter spesifik meliputi identitas ekstrak, organoleptik ekstrak, senyawa terlarut dalam pelarut tertentu, serta uji kandungan kimia ekstrak. Hasil pengujian identitas ekstrak yaitu nama latin *Hibiscus tiliaceus* L serta bagian tanaman yang digunakan yaitu batang, sedangkan uji organoleptik diperoleh bentuk dari ekstrak yaitu ekstrak kental, berwarna hijau kecoklatan, memiliki rasa yang pahit, dan berbau khas waru, memiliki kandungan senyawa yang larut air 33,33 % dengan standar deviasi $\pm 5,7735041353$, senyawa yang larut dalam N-Heksan 23,33% dengan standar deviasi $\pm 5,7735041353$, dan senyawa yang larut dalam metanol diperoleh persen rata-ratanya yaitu 73,33% dengan standar deviasi $\pm 5,8138971439$. Kadar flavonoid yang diperoleh adalah 0,0257 %. Dari data diatas, disimpulkan bahwa ekstrak kulit batang tanaman waru memenuhi persyaratan secara umum.

Kata Kunci: Standarisasi, Kulit Batang Tanaman Waru (*Hibiscus tiliaceus* L), Bahan Baku Obat Herbal

PENDAHULUAN

Standarisasi merupakan salah satu pengempangan obat asli Indonesia atau serangkaian parameter prosedur dan juga cara pengukuran yang hasilnya merupakan unsur-unsur terkait paradigma mutu kefarmasian, Mutu memiliki arti memenuhi syarat standart (kimia, biologi dan farmasi), termasuk jaminan (batas-batas) stabilitas sebagai produk kefarmasian umumnya. Pengertian standarisasi juga berarti suatu proses untuk menjamin bahwa pada produk akhir (obat, ekstrak atau produk ekstrak) telah mempunyai nilai parameter tertentu yang telah ditetapkan (dirancang dalam formula) terlebih dahulu atau yang sudah konstan. Standarisasi obat herbal Indonesia mempunyai arti yang sangat penting untuk menjamin obat herbal khususnya pada pembuatan obat herbal terstandar (OHT) dan fitofarmaka (Depkes RI, 2000). Standarisasi terbagi menjadi dua yaitu standarisasi yang berfokus pada senyawa atau golongan senyawa yang bertanggung jawab atas aktivitas farmakologis atau parameter spesifik dan standarisasi yang berfokus pada aspek kimia, dan fisika atau parameter non spesifik. Dalam penelitian Tami Oktari, dkk. 2014 mereka melakukan penelitian tentang salah satu uji spesifik pada tanaman waru yaitu uji fitokimia dan identifikasi ekstrak dari tanaman waru (*Hibiscus Tiliaceus L*), hasil yang di dapatkan yaitu dapat diketahui bahwa Ekstrak alami daun waru (*Hibiscus tiliaceus*) menghasilkan sebanyak 111 ml dengan karakter larutan berwarna coklat tua dan beraroma busuk menyengat. Dan uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak alami daun waru mengandung flavonoid, tanin, dan fenol.

Berdasarkan pada uraian yang telah dijabarkan diatas, tujuan dilakukan penelitian ini untuk menetapkan parameter standarisasi ekstrak tanaman waru yang berada di daerah Gorontalo utara sebagai bahan baku obat herbal terstandar. Adapun parameter yang dilakukan adalah parameter spesifik yang meliputi identitas ekstrak, organoleptik, senyawa terlarut pada pelarut tertentu, dan uji kandungan kimia ekstrak.

METODE PENELITIAN

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan maret sampai Juni Tahun 2018, di Laboratorium Fitokimia Jurusan Farmasi Fakultas Olahraga Dan Kesehatan (FOK) Universitas Negeri Gorontalo.

Alat Dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu batang pengaduk, camber, cawan porselin, corong, evaporator, gelas kimia, gelas ukur, gunting, labu bersumbat, maserator, oven, pembakar bunsen, penjepit, pipet tetes, rak tabung reaksi, spatula, stirrer, tabung reaksi, timbangn analitik, timbangan ohaus, wadah sampel. Sedangkan bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alkohol, alumunium foil, aquadest, ekstrak kental kulit batang Waru (*Hibiscus TiliaceusL*), etil astetat, FeCL₃, H₂O, kertas saring, label, magnesium serbuk, methanol, NaOH, N-heksan, reagen dragenroff, reagen wayer, reagen mayer, silica gel dan tissue.

Prosedur Kerja

Determinasi tumbuhan

Sampel Tanaman waru (*Hibiscus TiliaceusL*.) dilakukan pemeriksaan atau determinasi tanaman di bagian Jurusan Farmasi Universitas Negeri Gorontalo.

Pembuatan Sampel

Batang Tanaman Waru (*Hibiscus TiliaceusL*) dibersihkan dari kotoran hingga bersih dengan air mengalir. Selanjutnya, sampel disortasi kering kemudian batang dipisahkan dari kulitnya dan dipotong kecil-kecil. setelah itu disimpan dalam wadah kering tertutup rapat dan dihindari dari sinar matahari.

Pembuatan Ekstrak

Pada tahap ini Kulit Batang Tanaman Waru (*Hibiscus TiliaceusL*) mengalami pengolahan. Diekstraksi menggunakan metode maserasi. Proses ekstraksi berlangsung selama 3 x 24 jam atau 3 hari dengan sesekali dilakukan pengadukan. kemudian dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental (Handa dkk, 2008; Dapas, 2014). Hasil rendamen dari ekstrak dihitung dengan rumus yaitu :

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

$$\% \text{ kadar senyawa larut air} = \frac{A2 - A0}{A1} \times 100\%$$

Parameter Spesifik (Ditjen Pom, 2000)

Identitas ekstrak

Pada identitas ekstrak ini mendeskripsikan tata nama tumbuhan antara lain yaitu nama latin tumbuhan, bagian tumbuhan yang digunakan dan nama indonesia tumbuhan.

Penetapan Organoleptik Ekstrak

Pada penetapan organoleptik ekstrak kulit batang tanaman waru (*Hibiscus Tiliaceus*L) yaitu menggunakan panca indera dalam mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa.

Penentuan Kadar Senyawa Terlarut Dalam Pelarut Tertentu

Dilakukan untuk mengetahui awal jumlah suatu senyawa dapat terlarut pada pelarut air, methanol dan N-heksan 1.Kadar senyawa larut aquadest Ekstrak kental kulit batang Waru (*Hibiscus Tiliaceus* L) sebanyak 1 g (A_1) dimaserasi selama 24 jam dengan 20 ml air, menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam, kemudian disaring. Diuapkan 5 ml filtrat hingga kering dalam cawan penguap, residu dipanaskan pada suhu 105°C (A_2) sampai bobot tetap dan Dihitung kadar dalam persen senyawa yang larut dalam air terhadap berat ekstrak awal.

Ket: A_0 = Bobot cawan Kosong (g) A_1 = Bobot Sampel awal (g)

A_2 = Bobot cawan + residu yang dioven (g)

Kadar senyawa yang larut dalam Nheksan

Sejumlah 1 g ekstrak (A_1) dimaserasi selama 24 jam dengan 20 ml N heksan menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam dan disaring, kemudian diuapkan 5 ml filtrat hingga kering dalam cawan penguap, residu di panaskan pada suhu 105°C (A_2) hingga bobot tetap. Dihitung kadar dalam persen senyawa yang larut dalam kloroform terhadap berat ekstrak awal

$$\% \text{ kadar senyawa Larut N - H e k s a n} = \frac{A_2 - A_0}{A_1} \times 100\%$$

Ket : A_0 = Bobot cawan Kosong (g)

A_1 = Bobot Sampel awal (g)

A_2 = Bobot cawan+ residu yang dioven (g)

Kadar senyawa yang larut dalam methanol

Sejumlah 1 g ekstrak dimaserasi selama 24 jam dengan 20 ml N-heksan menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocokselama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam dan disaring, kemudian diuapkan 5 ml filtrate hingga kering dalam cawan penguap, residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Dihitung kadar dalam persen senyawa yang

larut dalam metanol terhadap berat ekstrak awal.

$$\% \text{ kadar senyawa larut metanol} = \frac{A_2 - A_0}{A_1} \times 100\%$$

Identifikasi kandungan kimia ekstrak

Penapisan Golongan Kimia Ekstrak.

Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 g ekstrak ditambahkan 5 ml metanol dari kulit batang tanaman Waru (*Hibiscus Tiliaceus*L) dibagi menjadi 3 bagian dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan reagen Dragendorff, reagen Mayer, reagen Wagner sebanyak 3 tetes, jika positif mengandung alkaloid terjadi endapan atau keruh (Tukiran, Dkk. 2016)

Uji Flavonoid (Anatasya, 2017)

Uji Flavonoid dengan NaOH 10% sebanyak 0,5 g ekstrak ditambahkan 5 ml metanol dari kulit batang tanaman Waru (*Hibiscus Tiliaceus*L) dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan natrium hidroksida (NaOH) 10% sebanyak 2 tetes dan dikocok kuat. Sampel positif mengandung flavonoid bila larutan mengalami perubahan warna yang sangat mencolok menjadi warna kuning, merah, atau coklat.

Uji Saponin

Sebanyak 0,5 g ditambahkan 2 mL metanol dari Kulit batang tanaman Waru (*Hibiscus Tiliaceus*L) dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 20 ml aquadest dan dikocok kemudian didiamkan 15-20 menit, jika tidak ada busa = negatif, busa lebih dari 1 cm = positif lemah, busa dengan tinggi 1,2 cm = positif dan busa lebih besar dari 2 cm = positif kuat (Sarma dan Babu, 2011)

Uji Tanin

Sebanyak 0,5 g ditambahkan 2 ml metanol dari batang Waru (*Hibiscus Tiliaceus* L) masing-masing ditambahkan beberapa tetes NaCl 10%, kemudian disaring, uji positif jika terbentuk endapan putih atau ditambahkan FeCl₃ sebanyak 3 tetes, menghasilkan biru, biru-hitam, hijau atau biru-hijau dan endapan berarti positif tanin (Tukiran, Dkk 2016; Mojab, dkk. 2003).

Pola kromatogram

Ekstrak sebanyak 5 mg dilarutkan dengan metanol sebanyak 1 mL untuk memperoleh larutan uji. Ditotolkan pada plat KLT dan dielusi dengan fase gerak n-heksan : etil asetat.

Kemudian dibandingkan dengan nilai RF kuarsetin sebagai pembanding. 3. Kadar total senyawa marker

Pembuatan larutan baku Kuarsetin dilarutkan 10 mg kuarsetin dalam 10 ml metanol pada larutan ini disebut larutan induk 1000 ppm. Kemudian larutan diencerkan menjadi 100 ppm dengan cara dipipet 1 mL dari larutan induk dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml selanjutnya diencerkan dengan pelarut sampai garis batas. Kemudian dibuat larutan dengan konsentrasi 10 ppm, dengan cara dipipet 1 mL dari larutan 100 ppm dan ditambahkan metanol 10 ml sampai garis batas. selanjutnya, dibuat larutan standar dengan pengenceran 2,4,6,8 ppm dalam 10 ml metanol. Optimasi panjang gelombang optimasi panjang gelombang dilakukan dengan menentukan panjang gelombang maksimum dengan menggunakan larutan pembanding.

Penentuan Linearitas Kurva

Kalibrasi Baku

Pembanding Kuarsetin larutan baku dengan pengenceran 2,4,6,8 ppm yang telah dibuat, diukur absorbansi dari masing-masing pengenceran dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Kemudian dibuat kurva kalibrasi antara konsentrasi (ppm) dan absorbansi (A) dengan menggunakan rumus regresi linear.

Preparasi sampel ekstrak metanol kulit batang waru

Dikerok silika yang diperoleh dari hasil KLT kemudian dibuat dengan pengenceran 10 ppm. Selanjutnya diukur absorbansi sampel dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum

Analisis Data

Standar Deviasi

Standar deviasi adalah nilai statistik yang digunakan untuk menentukan seberapa besar perbedaan dari nilai sampel terhadap rata-rata. Atau standar deviasi juga menyatakan besarnya keragaman sampel yang akan didapatkan.

Semakin besar nilai standar deviasi semakin besar pula keragaman sampel dan begitu sebaliknya.

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum(X-\mu)^2}{n-1}}$$

Keterangan :

σ = Standar Deviasi

μ = Mean

n = Jumlah data

Hasil dan pembahasan Penelitian

Ekstrak kental yang didapatkan setelah ekstraksi yaitu 50 gram, banyak sampel yang akan diekstrak sebanyak 500 gram. Setelah % rendamen dikalkulasikan didapatkan hasil % rendamen sebanyak 10% yang artinya bahwa dari 100 gram simplisia yang diekstraksi akan diperoleh 10 gram hasil ekstraksi. Persen rendamen yang dihasilkan masuk dalam range persen rendamen, menurut vitrasari 2013, persen rendamen yang baik yaitu 10-15% menyatakan bahwa proses ekstraksi berlangsung dengan sempurna.

Menurut Depkes RI (2000), Penetapan standarisasi parameter spesifik meliputi identitas ekstrak, organoleptik ekstrak, senyawa terlarut dalam pelarut tertentu, serta uji kandungan kimia ekstrak. Pengujian identitas ekstrak bertujuan untuk penetapan identitas ekstrak yaitu melakukan deskripsi tata nama ekstrak (Grace litad, 2010). Ekstrak yang diperoleh pada saat dilakukan pengujian identitas ekstrak yaitu nama ekstrak, ekstrak kulit batang tanaman waru dengan nama latin (*Hibiscus Tiliaceus* L) dan bagian tumbuhan yang digunakan yaitu batang.

Untuk penetapan parameter spesifik dengan pengujian identitas organoleptik bertujuan untuk pengenalan awal yang sederhana agar tidak terjadi kesalahan dalam pemilihan ekstrak (Depkes RI, 2000). Dari hasil yang didapat setelah dilakukan uji menunjukkan bahwa bentuk ekstrak yang diperoleh adalah ekstrak kental, berwarna hijau kecoklatan, memiliki rasa yang pahit, dan bau yang menyengat atau bau khas waru.

Uji parameter spesifik lainnya yaitu uji senyawa terlarut dalam pelarut tertentu yang meliputi senyawa terlarut dalam pelarut air, senyawa terlarut dalam pelarut Nheksan, senyawa terlarut dalam pelarut metanol. Penetapan kadar senyawa terlarut dalam pelarut tertentu ini bertujuan untuk memperkirakan berapa kadar senyawa berdasarkan sifat kepolarannya baik yang bersifat polar maupun nonpolar (saifudin, dkk. 2011). Dari hasil yang didapatkan setelah dilakukan uji senyawa terlarut dalam pelarut tertentu bahwa diperoleh persen rata-rata untuk senyawa yang

larut dalam air yaitu 33,33% dengan standar deviasi $\pm 5,7735041353$, senyawa yang larut dalam N-Heksan diperoleh persen rata-ratanya yaitu 23,33 % dengan standar deviasi $\pm 5,7735041353$, dan senyawa yang larut dalam metanol diperoleh persen rata-ratanya yaitu 73,33% dengan standar deviasi $\pm 5,8138971439$. Dari nilai diatas menunjukkan bahwa senyawa yang terlarut dalam pelarut metanol lebih besar nilainya atau lebih banyak dibandingkan dengan senyawa yang terlarut dalam pelarut N-heksan dan air, hal ini dikarenakan terdapat senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam kulit batang tanaman waru seperti flavonoid, tanin dan saponin.

Pengujian parameter spesifik selanjutnya yaitu uji kandungan kimia ekstrak. Uji kandungan kimia ekstrak bertujuan untuk memberikan informasi awal komposisi kandungan kimia ekstrak. Pada pengujian kimia ini meliputi penapisan golongan kimia, pola kromatogram, dan penentuan kadar senyawa marker. Pada uji penapisan golongan kimia atau identifikasi golongan kimia menggunakan metode skrining fitokimia. Uji skrining fitokimia yang terkandung dalam kulit batang tanaman waru menggunakan beberapa pereaksi kimia yang akan menghasilkan perubahan warna atau terbentuk endapan, hasil skrining diperoleh ekstrak kulit batang tanaman waru positif mengandung senyawa flavonoid, tanin dan saponin serta negatif mengandung alkaloid. Karena banyaknya senyawa yang terdapat dalam tumbuhan jadi senyawa yang di uji yaitu flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin yang memungkinkan berpotensi untuk dijadikan sebagai senyawa aktif pada tanaman waru, menurut puspitasari et al, 2000 flavonoid, alkaloid dan saponin dapat berefek sebagai analgetik dan juga flavonoid mampu menghambat prostaglandin sehingga mempunyai efek antipiretik (suwertayasa, 2013).

Pada uji positif flavonoid ditambahkan pereaksi NaOH. Pada pengujian flavonoid ini dengan menggunakan pereaksi NaOH terjadi perubahan warna dari hijau menjadi warna merah hal ini sesuai dengan literatur yang menyatakan Sampel mengandung flavonoid bila larutan mengalami perubahan warna yang sangat mencolok dari warna awal hijau menjadi warna kuning, merah, atau coklat. Hal ini dikarenakan flavonoid termasuk senyawa fenol sehingga apabila direaksikan dengan basa akan terbentuk warna yang disebabkan terjadinya sistem konjugasi dari gugus aromatik. (Desandi,2014; Marlyn, 2017).

Pada pengujian alkaloid menggunakan tiga pereaksi yaitu tabung pertama pereaksi dragenroff , tabung kedua pereaksi wagner dan tabung ketiga pereaksi mayer tidak terjadi perubahan larutan menjadi keruh atau terdapat endapan berwarna putih. Menurut penelitian Harry S.J. Koleangan, dkk (2017) , Hasil positif bila pada tabung pertama (reagen dragendorff) menghasilkan endapan

merah, pada tabung kedua (reagen wagner) menghasilkan endapan kecoklatan dan pada tabung ketiga (reagen mayer) menghasilkan endapan putih. Pada pengujian tanin ditunjukkan dengan adanya perubahan warna setelah direaksikan dengan FeCl_3 . Hasil yang diperoleh yaitu pada ekstrak kulit batang waru mengandung tanin dengan memberikan perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Penambahan ekstrak dengan FeCl_3 dapat memberikan perubahan warna menjadi hijau, merah, ungu dan hitam yang kuat. Terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak akan bereaksi dengan ion Fe^{3+} membentuk senyawa yang kompleks. Senyawa kompleks ini terbentuk karena adanya ikatan kovalen antara ion atau logam atau non logam (latifah, 2015) Pada pengujian selanjutnya yaitu uji saponin. uji terakhir ini pengujian yang paling sederhana karena ekstrak direaksikan dengan air. Identifikasi adanya saponin menggunakan uji forth dengan dibuktikan adanya busa yang dapat bertahan selama 10 menit. Timbulnya busa pada uji forth ini adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih (Marliana, dkk. 2005).



Gambar 4.5 Proses Parasi Cair-Cair Pada Ekstrak Metanol Kulit Batang tanaman Waru (*Hibiscus Tiliaceus L*)

Setelah dilakukan skrining fitokimia selanjutnya sampel yang telah dipisahkan yang masih mengandung campuran senyawa baik senyawa polar maupun nonpolar di fraksinasi dengan menggunakan metode partisi cair-cair. prinsip dari metode ini dengan menggunakan dua pelarut yang berbeda dilihat dari sifat kepolarannya dan tidak saling bercampur atau “like dissolve like” Fraksinasi dari ekstrak kulit batang tanaman waru (*Hibiscus Tiliaceus L*) menggunakan dua pelarut yang berbeda yaitu metanol dan n-heksan dimana digunakan perbandingan 4 (n-heksan) : 2 (metanol) dalam 900 mL. dan menggunakan sampel sebanyak 6 gram. Dimana 600 mL (n-heksan) : 300 mL (metanol). Pada saat fraksinasi menggunakan corong pisah dan terdapat dua

lapisan, lapisan paling atas yaitu n-heksan dan lapisan bawah metanol.

Setelah dua lapisan terbentuk pada corong pisah, hasil fraksinasi diuapkan lagi sehingga didapatkan ekstrak kental dari dua lapisan yaitu lapisan polar maupun nonpolar. Ekstrak kental yang akan dilanjutkan pada tahap selanjutnya yaitu ekstrak yang ada pada lapisan polar karena senyawa yang akan diidentifikasi adalah senyawa yang bersifat polar yaitu flavonoid.

Selanjutnya hasil dari partisi cair-cair dilanjutkan dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Metode kromatografi lapis tipis menurut Rohman (2007) yaitu bentuk kromatografi yang berbentuk planar selain kromatografi jenis kertas dan kromatografi jenis elektroforesis, pada kromatografi lapis tipis fase diamnya berupa lapisan yang seragam pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, plat aluminium dan plat plastik. Metode KLT ini bertujuan untuk mendapatkan hasil noda yang paling bagus dan menganalisis golongan flavonoid berdasarkan nilai RF. Dimana senyawa-

senyawa dengan memiliki nilai RF yang sama menunjukkan senyawa yang memiliki karakteristik yang sama. Pada saat penentuan jenis eluen yang bagus yang akan digunakan pada kromatografi lapis tipis dapat dilihat dari adanya pemisahan noda yang tampak jelas pada lempeng KLT, pemisahan yang terjadi pada noda disebabkan dari tingkat kepolaran dari pelarut atau eluen yang digunakan. Eluen yang terlalu polar akan menyebabkan noda pada lempeng KLT naik sampai pada batas atas, sedangkan eluen yang sifatnya nonpolar menyebabkan noda tertahan pada titik awal penotolan, sehingga untuk mendapatkan pemisahan noda perlu dilakukan pemilihan eluen yang cocok dengan membandingkan lalu kemudian mengkombinasikan antara setiap eluen dengan konsentrasi tertentu. Pada saat pengujian dengan menggunakan metode KLT, ekstrak dielusi dengan menggunakan fase gerak N-heksan : Etil asetat, Eluen yang digunakan ini dijenuhkan terlebih dahulu pada chamber yang akan digunakan sebelum elusi dimulai. Proses penjenuhan ini dilakukan untuk mempercepat proses elusi dan memaksimalkan proses elusi. Untuk hasil elusi pada tahap awal ini dilihat dari noda yang terbentuk pada batas atas yang telah ditetapkan dengan menggunakan eluen etil asetat. Noda yang pada awalnya terletak dibagian awal penotolan akan bergerak naik perlahan ke bagian batas atas. Pada eluen metanol 100% noda yang terbentuk sama pada eluen etil asetat. Sedangkan pada eluen n-heksan 100% tidak menunjukkan pergerakan noda sedikitpun, hal ini disebabkan tingkat kepolaran dari n-heksan yang bersifat nonpolar.

Berdasarkan hasil yang diperoleh tahap awal maka perlu dilakukan kombinasi eluen yang

berbeda tingkat kepolarannya. Kombinasi eluen yang digunakan ini adalah kombinasi eluen antara nheksan : etil asetat. Perbandingan eluen yang digunakan yaitu 1:1; 2:1; 7:3;6:4;8:2;9:1;3:1 v/v dan fase diam yang digunakan yaitu plat KLT kresel G 60 F 245. Dari tujuh perbandingan tersebut, hasil perbandingan pelarut yang paling baik pemisahannya yaitu perbandingan pelarut Nheksan : Etil asetat (7:3). Selanjutnya perbandingan dengan pemisahan yang baik dilanjutkan pada tahap kromatografi cair vakum (KCV).

Noda hasil elusi n-heksan : etil asetat 7:3.



Tahap selanjutnya yaitu Kromatografi Cair Vakum (KCV). Kromatografi cair vakum yaitu metode untuk memisahkan senyawa dengan didasarkan pada senyawasenyawa yang akan dipisahkan yang terdistribusi pada fase diam dan fase gerak dengan menggunakan perbandingan yang berbeda-beda (Sastrohamidjojo, 1985). Pada tahap ini pemisahan dilakukan terhadap ekstrak metanol kulit batang waru dengan beberapa perbandingan fase gerak dengan urutan pelarut yang digunakan dalam kromatografi dimulai dengan pelarut yang mempunyai sifat kepolarannya yang rendah dan ditingkatkan sifat kepolarannya secara perlahan-lahan (Hosstetmann et al., 1995) yaitu diawali dengan n-heksan 100%, n- heksana : metanol dengan menggunakan perbandingan (80 : 20) v/v, (60 : 40) v/v, (40 : 60) v/v, (20 : 80) v/v dan metanol 100%. Hasil Fraksi yang diperoleh, ditampung dan diuapkan pelarutnya sehingga dihasilkan fraksi berbeda, tetapi pada saat proses penguapan n-heksan 100% tidak mendapatkan ekstrak kental karena telah mengalami penguapan sampai habis, sehingga hasil fraksi yang didapatkan hanya terdapat 5 fraksi yang berbeda.

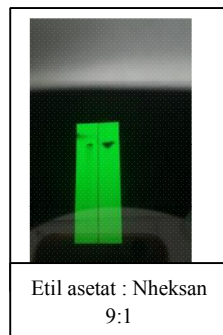
Setelah diperoleh 5 fraksi berbeda dilakukan Kromatografi Lapis Tipis seperti pada tahap sebelumnya. Prosesnya sama dengan proses elusi pada KLT sebelumnya. Eluen yang digunakan

yaitu eluen yang sesuai berdasarkan pemilihan eluen pada KLT sebelumnya. Hasil elusi didapatkan dari pengamatan pada sinar Uv panjang gelombang 254 nm dan 365 nm, hasil menunjukkan bahwa pada fraksi A,C,D, dan E tidak menunjukkan adanya noda yang memiliki pemisahan yang bagus setelah dielusi sedangkan pada fraksi B menunjukkan adanya noda dengan pemisahan yang bagus seperti pada gambar dibawah ini.



Gambar 4.8 lima penampakan noda hasil 5 fraksi yang berbeda

Maka pengujian selanjutnya dilanjutkan dengan menghitung nilai Rf yang diambil dari fraksi B. fluoresensi noda pada fraksi B dengan pengamatan pada sinar 365 nm, sampel di elusi menggunakan eluen Etil asetat ; Nheksan (9;1) didapatkan hasil nilai Rf yaitu 0,74 dimana nilai ini mendekati nilai kuarsetin 0,72 dan sesuai literatur diduga senyawa yang terdapat dalam fraksi B yaitu senyawa flavonoid, menurut muryidi (1990) bahwa senyawa flavonoid memiliki nilai Rf antara 0,2 – 0,75. Dengan demikian noda yang dihasilkan pada fraksi B dapat disimpulkan sebagai senyawa flavonoid.



Gambar 4.8 Hasil nilai Rf sampel dengan kuarsetin dengan perbandingan eluen yang berbeda

Selanjutnya dilakukan penetapan kadar senyawa marker, penetapan kadar senyawa marker ini bertujuan untuk mengetahui berapa kadar total golongan metabolit yang diperkirakan mempengaruhi aktifitas farmokologi. Senyawa marker yang dipilih yang memiliki efek farmakologis yaitu senyawa flavonoid, dimana senyawa flavonoid ini merupakan golongan fenol alam yang luas dalam tumbuhan (Martinus, 2015). Pembuatan larutan baku kuarsetin yaitu dilarutkan 10 mg kuarsetin dalam 10 ml metanol pada larutan ini disebut larutan induk 1000 ppm. Kemudian larutan diencerkan menjadi 100 ppm dengan cara dipipet 1 mL dari larutan induk dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml selanjutnya diencerkan dengan pelarut sampai garis batas. Kemudian dibuat larutan dengan konsentrasi 10 ppm, dengan cara dipipet 1 mL dari larutan 100 ppm dan ditambahkan metanol 10 ml sampai garis batas. selanjutnya, dibuat larutan standar dengan pengenceran 2,4,6,8 ppm dalam 10 ml metanol.

Penentuan kadar ini dengan menggunakan kurva kalibrasi larutan baku dengan metode penetapan konsentrasi sampel (Gandjar dan Rohman, 2017). Instrumen yang digunakan pada penetapan kadar ini yaitu spektrofotometri UV-Vis dengan menggunakan standar. Penetapan kadar senyawa marker dihitung dengan persamaan kurva kalibrasi larutan standar menggunakan persamaan regresi linear. Hasil yang didapatkan dari persamaan regresi linear adalah $y = 0,060x - 0,0164$ dengan koefisien relasi (r^2) adalah 0,997 dimana nilai $r > 0,990$ yang menunjukkan bahwa antara variabel konsentrasi larutan baku dengan nilai serapan memiliki hubungan linearitas yang baik (Indriyani, 2008). Dari hasil penelitian yang dilakukan didapatkan hasil kadar flavonoid total adalah 1,21523 %.

Kesimpulan

Dari pengujian standarisasi yang dilakukan diperoleh nilai parameter spesifik dari ekstrak kulit batang tanaman waru (*Hibiscus Tiliaceus* L) yang didapat dari Desa Boalemo, Kecamatan Kwandang Dan Kabupaten Gorontalo Utara, Provinsi Gorontalo Utara. Hasil pengujian identitas ekstrak yaitu nama latin *Hibiscus Tiliaceus* L serta bagian tanaman yang digunakan yaitu batang, sedangkan uji organoleptik diperoleh bentuk dari ekstrak yaitu ekstrak kental, berwarna hijau kecoklatan, memiliki rasa yang pahit, dan bau khas waru. Memiliki kandungan senyawa yang larut air 33,33 % dengan standar deviasi $\pm 5,7735041353$, senyawa yang larut dalam N-Heksan 23,33% dengan standar deviasi $\pm 5,7735041353$, dan senyawa yang larut dalam metanol diperoleh persen rata-ratanya yaitu 73,33% dengan standar deviasi $\pm 5,8138971439$. Dan kadar flavonoid diperoleh 0,0257 μ /g.

Saran

Perlu adanya penelitian lainnya atau penelitian lanjutan mengenai standarisasi parameter spesifik agar dapat dibandingkan hasil antara penelitian yang satu dengan penelitian lainnya karena masih kurangnya penelitian tentang kulit batang tanaman waru ini.

DAFTAR PUSTAKA

Anastasia Kazia Friany Lisi, 2017. Uji fitokimia dan aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol bunga soyogik (*Saurauia bracteosa* Dc.). *Pharmaconjournal Ilmiah Farmasi – Unsrat* Vol. 6 No. Februari 2017 Issn 2302 – 2493. Fmipa Unsrat; Manado.

Departemen kesehatan, 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Cetakan Pertama. Departemen Kesehatan RI;

Desandi Y, Andi. 2014. Ekstraksi dan Uji Fitokimia (*Sonneratia alba*) Laporan Penelitian. Universitas Padjajaran ; Andalas

Gandjar, I.G., dan Rohman, A. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Pustaka Pelajar; Yogyakarta.

Grace Litad. 2010. Karakteristik Ekstrak Etanol Daun Jati Belanda (*Guazuma ulifolia* Lamk).. Universitas Sanata Dharma; Yogyakarta.

Handa S. S., Khanuja S. P S., Longo G. dan Rakesh D. D. 2008. Extraction Technologies for medicinal and aromatic plants, in. Center for science and high teknologi; Italy

Harry S.J. Koleangan, Dkk. 2017. Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Batang Soyogik (*Saurauia bracteosa* Dc). Universitas Sam Ratulangi Manado; Manado

Marliana, dkk. 2005. Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia buah labu siam (*Sechium edule* Jacq Swartz) dalam ekstrak etanol biofarmasi b3.

Marlyne Mailuhu, 2017. Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Batang Soyogik (*Saurauia bracteosa* Dc. Universitas Sam Ratulangi ; Manado

Martinus, Verawati, B.A. 2015. Penentuan Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Daun Bantotan (*Sageratum conyzoides* L) *Scientia* Vol 5 No.1

Mojab, F., Kalinejad, M., Ghaderi dan Vahidipour, H.R. 2003. Physico chemical Screening of some species of Iranian plant. *Iranian journal of pharmaceutical Research*. Pp 77-81

Saifudin, A., Rahayu, V. and Teruna, H.Y. 2011. Standardisasi Bahan Obat Alam. Graha Ilmu; Yogyakarta.

Sastrohamidjojo, Hardjono. 2001. Kimia Dasar. Gadjah Mada University Press; Yogyakarta.

Tukiran, Andika Pramudya Wardana, Ela Nurlaila, Ayu Mei Santidan Nurul Hidayati. 2016. Analisis Awal Fitokimia Pada Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan *Syzygium* (Myrtaceae). *Prosding Seminar Nasional dan Workshop* Vol.12(6).38-43

Vitrasari, E W. 2013. Antihiperlipidemia Ekstrak Etanol Batang Kayu Kuning (*Arcangelisia Flafa* (L) Merr) Terhadap Tikus Putih Galur Wistar Yang Diinduksi Pakan Tinggi Lemak Skripsi. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi''yayasan Farmasi'': Semarang.