

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Uraian Tumbuhan

Uraian tanaman meliputi : Sistematika tumbuhan, nama daerah dan nama asing tumbuhan, morfologi tumbuhan, zat-zat yang terkandung dan khasiat tumbuhan.

2.2.1 Morfologi Tumbuhan



Gambar 2.1 Tumbuhan Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.)

Asam Jawa (*Tamarindus indica*) tersebar luas dari Afrika, India, Asia Tenggara, dan China. Daun pohon asam jawa (*Tamarindus indica*) selalu berwarna hijau (tidak mengalami masa gugur daun), tinggi pohon nya dapat mencapai 30 m dengan diameter batang di pangkal pohon hingga 2 m. Asam jawa (*Tamarindus indica*) termasuk tumbuhan tropis, pohon asam jawa (*Tamarindus indica*) dapat tumbuh baik hingga ketinggian 1.000 m dpl pada tanah berpasir atau tanah liat, khususnya di wilayah yang musim keringnya jelas dan cukup panjang.

Bentuk daun asam jawa (*Tamarindus indica*) majemuk menyirip genap, panjang 5-13 cm, letak berseling, dengan daun penumpu seperti pita meruncing berwarna merah jambu keputihan. Anak daun lonjong menyempit, 8-16 pasang, masing-masing berukuran 0,5 x 1-3,5 cm, bertepi rata, pangkalnya miring dan ujungnya membundar sampai sedikit berlekuk. (Agoes, 2010).

2.1.2 Nama Daerah dan Nama Asing Tumbuhan

Adapun nama ilmiah, nama daerah, dan nama asing daun asam jawa sebagai berikut (Agoes, 2010) : Nama ilmiah : *Tamarindus indica*.L

Nama daerah : Asam(Melayu), asem (Jawa)

Nama asing : Sampalok(Tagalog), Ma-kham(Thailand)

2.1.3 Klasifikasi Tumbuhan

Klasifikasi tumbuhan asam jawa sebagai berikut :

Divisio : Spermatophyta

Sub divisio : Magnoliophyta

Kingdom : Plantae

Sub kingdom : Tracheobionta

Class : Magnoliopsida

Sub classis : Risidae

Ordo : Fabales

Famili : Fabaceae

Genus : Tamarindus

Species : *Tamarindusindica*. L

2.1.4 Zat-zat yang terkandung

Daun *Tamarindusindica* L. memiliki banyak kandungan antara lain protein, lemak, serat, asam tatarat, dan metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, mineral seperti sodium (natrium), potasium (kalium), magnesium, fosfor, kalsium, dan sulfur. Selain mineral juga ada beberapa vitamin seperti thiamin (vitamin B1), pektin, ribhoflavin (vitamin B2), β -karoten (vitamin A), asam askorbat (vitamin C), dan niasin (vitamin B3 atau B kompleks). Kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak daun *Tamarindusindica* L. yang berupa flavonoid, tannin, saponin, dan alkaloid ini lah yang membuat daun *Tamarindusindica* L. dapat berkhasiat sebagai antibakteri. (Fakhrurrazi etal, 2016)

2.1.5 Khasiat Tumbuhan

Ada beberapa khasiat yang terdapat pada daun asam jawa, yaitu diantaranya menurunkan demam panas dalam, membantu mengeluarkan keringat, manambah nafsu makan, melancarkan pengeluaran empedu, menghilangkan nyeri, menurunkan kolesterol tinggi, anti radang, menurunkan demam, melangsingkan tubuh, mengobati rematik, batuk, sakit kuning, sariawan, cacingan, susah tidur, koreng, luka, bisul, eksim, dan bersifat antiseptik. (Agoes, 2010)

2.2 Uraian Tumbuhan

Uraian tanaman meliputi : Sistematika tumbuhan, nama daerah dan nama asing tumbuhan, morfologi tumbuhan, zat-zat yang terkandung dan khasiat tumbuhan.

2.1.1 Morfologi Tumbuhan



Gambar 2.2 Tumbuhan Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae*).

Leilem (*Clerodendrum minahassae*) dapat ditemukan dan tumbuh dengan baik di lokasi penelitian yang berada dalam variasi ketinggian 1 - 1,324 mdpl, yaitu Tomohon (700 - 800 mdpl) dan Kauditan (0 - 240 mdpl). Leilem merupakan salah satu tanaman endemik lokal yang masuk dalam genus *Clerodendrum*. Dimana genus ini telah dimanfaatkan secara luas untuk mengobati berbagai macam penyakit melalui pengobatan tradisional oleh masyarakat adat di seluruh dunia. Oleh karenanya banyak ilmuwan di dunia mengerahkan perhatian khusus untuk mengeksplor pemanfaatan, mengidentifikasi kandungan senyawa yang dimiliki serta aktivitas biologi dari genus ini.

2.2.2 Nama Daerah dan Nama Asing Tumbuhan

Adapun nama ilmiah dari daun Leilem sebagai berikut :

Nama ilmiah : *Clerodendrum minahassa*.

2.2.3 Klasifikasi Tumbuhan

Klasifikasi tumbuhan daun leilem sebagai berikut :

Divisio	: Spermatophyta
Sub divisio	: Magniliophyta
Kingdom	: Plantae

Sub kingdom : Tracheobionta
 Class : Magnoliopsida
 Sub classis : Risidae
 Ordo : Fabales
 Famili : Lamiaceae
 Genus : Clerodendrum L.
 Species : *Clerodendrumminahassa*.

2.1.4 Zat-zat yang terkandung

Daun leilem memiliki kandungan sebagai obat antiinflamasi dan antibakteri dan antidiabetes. Kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak daun *Clerodendrumminahassa* yang berupa flavonoid, tannin, terpenoid dan steroid, dan saponin.

2.1.5 Khasiat Tumbuhan

Ada beberapa khasiat yang terdapat pada daun leilem (*Clerodendrumminahassa*) yaitu untuk mengobati penyakit seperti sakit perut, cacingan dan penyakit paru-paru.

2.3 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan (Depkes RI, 2000).

Simplisia dibedakan dengan simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan ialah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau senyawa nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhan nya dan belum berupa senyawa kimia murni. (Depkes RI, 2000).

2.4 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau

serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Kemenkes RI, 2014). Ada beberapa jenis ekstrak yakni: ekstrak cair, ekstrak kental dan ekstrak kering. Ekstrak cair jika hasil ekstraksi masih bisa dituang, biasanya kadar air lebih dari 30%. Ekstrak kental jika memiliki kadar air antara 5-30%. Ekstrak kering jika mengandung kadar air kurang dari 5%.

Faktor yang mempengaruhi ekstrak yaitu faktor biologi dan faktor kimia. Faktor biologi meliputi: spesies tumbuhan, lokasi tumbuh, 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).

2.5 Ekstraksi

Ekstraksi suatu tanaman obat adalah pemisahan secara kimia atau fisika suatu bahan padat atau bahan cair dari suatu padatan, yaitu tanaman obat (Depkes RI, 2000). Metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut dibedakan menjadi dua cara yaitu: cara dingin dan cara panas. Cara dingin terbagi menjadi dua yaitu: maserasi dan perkolasi, sedangkan cara panas dibagi menjadi empat jenis yaitu: refluks, soxhlet, digesti, difusi, dan dekok (Depkes RI, 2000).

2.6 Standardisasi

Standardisasi adalah rangkaian proses yang melibatkan berbagai metode analisis kimiawi berdasarkan data farmakologis, melibatkan analisis fisik dan mikrobiologi berdasarkan kriteria umum keamanan (toksikologi) terhadap suatu ekstrak alam (Saefudin et al., 2011).

Standardisasi secara normative ditujukan untuk memberikan efikasi yang terukur secara farmakologis dan menjamin keamanan konsumen. Standardisasi obat herbal meliputi dua aspek :

1. Aspek parameter spesifik: berfokus pada senyawa atau golongan senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas farmakologis. Analisis kimia yang dilibatkan ditujukan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif terhadap senyawa aktif.

2. Aspek parameter non spesifik: berfokus pada aspek kimia, mikrobiologi dan fisika yang akan mempengaruhi keamanan konsumen dan stabilitas misal kadar logam berat, aflatoksin, kadar air dan lain-lain.

2.7 Standardisasi Obat Herbal

Standardisasi obat herbal merupakan rangkaian proses melibatkan berbagai metode analisis kimiawi berdasarkan data farmakologis, melibatkan analisis fisik dan mikrobiologi berdasarkan kriteria umum keamanan (toksisitas) terhadap suatu ekstrak alam atau tumbuhan obat herbal (Saefudin, Rahayu, & Teruna, 2011).

Dengan kata lain, pengertian standardisasi juga berarti proses menjamin bahwa produk akhir obat (obat ekstrak atau produk ekstrak) mempunyai nilai parameter tertentu yang konstan dan ditetapkan terlebih dahulu. Terdapat dua faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak yaitu faktor biologi dari bahan asal tumbuhan obat dan faktor kimia bahan obat tersebut. Standardisasi ekstrak terdiri dari parameter standard spesifik dan parameter Standardisasi dalam kefarmasian tidak lain adalah serangkaian parameter, prosedur dan cara pengukuran yang hasilnya merupakan unsur-unsur terkait paradigma mutu kefarmasian, mutu dalam artian memenuhi syarat standard (kimia biologi dan farmasi), termasuk jaminan (batas-batas) stabilitas sebagai produk kefarmasian umumnya. standard non spesifik (Depkes RI, 2000)

2.8 Parameter-parameter Standar Ekstrak

Parameter-parameter standard ekstrak terdiri dari parameter spesifik dan parameter non spesifik.

2.8.3 Parameter Spesifik Ekstrak (Depkes RI, 2000)

Penentuan parameter spesifik adalah aspek kandungan kimia kualitatif dan aspek kuantitatif kadar senyawa kimia yang bertanggung jawab langsung terhadap aktivitas farmakologi tertentu. Parameter spesifik ekstrak meliputi :

1. Identitas (parameter identitas ekstrak) meliputi : deskripsi tata nama, nama ekstrak (generik, dagang, paten), nama lain tumbuhan (sistematika botani), bagian tumbuhan yang digunakan (rimpang, daun dsb) dan nama Indonesia tumbuhan.

2. Organoleptis : Parameter organileptik ekstrak meliputi penggunaan pancaindra mendeskripsikan bentuk, warna, bau, rasa guna pengenalan awal yang sederhana se-objektif mungkin.
3. Senyawa terlarut dalam pelarut tertentu : melarutkan ekstrak dengan pelarut (alkohol/air) untuk ditentukan jumlah larutan yang identik dengan jumlah senyawa kandungan secara gravimetrik. Dalam hal tertentu dapat diukur senyawa terlarut dalam pelarut lain misalnya heksana, diklorometan, metanol. Tujuannya untuk memberikan gambaran awal jumlah senyawa kandungan.
4. Uji kandungan kimia ekstrak :
 - a. Pola kromatogram

Pola kromatogram dilakukan sebagai analisis kromatografi sehingga memberikan pola kromatogram yang khas. Bertujuan untuk memberikan gambaran awal komposisi kandungan kimia berdasarkan pola kromatogram (KLT, KCKT). (Depkes RI, 2000)
 - b. Kadar kandungan kimia tertentu

Suatu kandungan kimia yang berupa senyawa identitas atau senyawa kimia utama ataupun kandungan kimia lainnya, maka secara kromatografi instrumental dapat dilakukan penetapan kadar kandungan kimia tersebut. Instrumen yang dapat digunakan adalah densitometri, kromatografi gas, KCKT atau instrumen yang sesuai. Tujuannya memberikan data kadar kandungan kimia tertentu sebagai senyawa identitas atau senyawa yang diduga bertanggung jawab pada efek farmakologi. (Depkes RI, 2000)

2.8.4 Parameter Non Spesifik Ekstrak (Depkes RI, 2000)

Penentuan parameter non spesifik ekstrak yaitu penentuan aspek kimia, mikrobiologis, dan fisis yang akan mempengaruhi keamanan konsumen dan stabilitas (Saefudin, dkk. 2011)

Parameter non spesifik ekstrak menurut buku "Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat" (Depkes RI, 2000), meliputi :

1. Bobot jenis

Parameter bobot jenis adalah massa per satuan volume yang diukur pada suhu kamar (25 C) yang menggunakan alat khusus piknometer atau alat lainnya. Tujuannya adalah memberikan batasan tentang besarnya

massa persatuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai ekstrak pekat (kental) yang masih dapat dituang, bobot jenis juga terkait dengan kemurnian dari ekstrak kontaminasi (Depkes RI, 2000).

2. Kadar air

Parameter kadar air adalah pengukuran kandungan air yang berada didalam bahan, yang bertujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air dalam bahan. (Depkes RI, 2000).

3. Kadar abu

Kadar abu adalah bahan dipanaskan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap. Sehingga tinggal unsur mineral dan organik, yang memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak. Parameter kadar abu ini terkait dengan kemurnian dan kontaminasi suatu ekstrak (Depkes RI, 2000).

2.9 Obat Tradisional

Obat tradisional sudah dikenal masyarakat sejak zaman dahulu. Pengobatan dengan menggunakan obat-obatan tradisional juga merupakan salah satu alternatif dalam bidang pengobatan.

Menurut Undang-undang NO 32 Tahun 2019 Tentang Persyaratan Keamanan Dan Mutu Obat Tradisional Pada Pasal 1 Ayat 1 Obat Tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan, dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat. (Depkes RI, 2019).

2.10 Studi Literatur

Penelitian kepustakaan dan studi pustaka atau riset pustaka meski bisa dikatakan mirip akan tetapi berbeda. Studi pustaka adalah istilah lain dari kajian pustaka, tinjauan pustaka, kajian teoritis, landasan teori, telaah pustaka (*literaturereview*), dan tinjauan teoritis. Yang dimaksud penelitian kepustakaan adalah penelitian yang dilakukan hanya berdasarkan atas karya tertulis, termasuk hasil penelitian baik yang telah maupun yang belum dipublikasikan. Meskipun merupakan sebuah penelitian, penelitian dengan studi literatur tidak harus turun ke lapangan dan bertemu dengan responden. Data – data yang dibutuhkan dalam penelitian dapat diperoleh dari sumber pustaka atau dokumen. Menurut Zed, 2014 pada riset pustaka (*libraryresearch*), penelusuran pustaka tidak hanya

untuk langkah awal menyiapkan kerangka penelitian (*research design*) akan tetapi sekaligus untuk memperoleh data penelitian. Selain data, beberapa hal yang harus ada dalam sebuah penelitian supaya dapat dikatakan ilmiah, juga memerlukan hal lain seperti rumusan masalah, landasan teori, analisis data, dan pengambilan kesimpulan. Penelitian dengan studi literatur adalah penelitian yang persiapannya sama dengan penelitian lainnya akan tetapi sumber dan metode pengumpul data dengan mengambil data di pustaka, membaca, mencatat, dan mengolah bahan penelitian. Meskipun terlihat mudah, studi literatur membutuhkan ketekunan yang tinggi agar data dan analisis data serta kesimpulan yang dihasilkan sesuai dengan tujuan yang diharapkan. Untuk itu dibutuhkan persiapan dan pelaksanaan persiapan dan pelaksanaan yang optimal

2.11 Prosedur Kerja Berdasarkan Studi Literatur 1

2.11.3 Penyiapan ekstrak

Daun asam jawa dikeringkan dan dibersihkan dari pengotor. Kemudian setelah kering diserbuk menggunakan blender dan diayak dengan ayakan ukuran 100 mesh. Masingmasing serbuk ditimbang sebanyak 200g, kemudian dimaserasi dengan alkohol 50%. Maserasi dilakukan selama 24 jam dengan beberapa kali pengocokan selama 6 jam pertama, kemudian didiamkan selama 18 jam. Maserat disaring, residu dimaserasi sebanyak 4 kali. Filtrat dipekatkan dengan penguap vakum putar.

2.11.2 Pengujian terhadap ekstrak

Pengujian meliputi penentuan parameter spesifik dan non spesifik. Parameter spesifik meliputi ; identitas, organoleptik, senyawa terlarut dalam air dan terlarut dalam etanol. Kata kunci: Folin, Ciocalteu, senyawa fenolikkromatogram KLT, standarisasi, *Tamaridusindica*. Parameter non spesifik meliputi penentuan: susut pengeringan, kadar air, kadar abu, sisapelarut dan cemarkan logam berat. Prosedur penentuan menggunakan metode baku dengan sedikit modifikasi.

2.11.3 Uji Kimia

Uji kimia meliputi penentuan kandungan golongan kimia seperti : flavonoid, tanin, glikosida umum, glikosida jantung, glikosida antrakinon, saponin, dan alkaloid.

2.11.4 Standardisasi Parameter Spesifik

1. Identitas

Pendeskripsian tata nama yaitu nama simplisia dan ekstrak, nama latin tumbuhan, bagian tumbuhan yang digunakan dan nama Indonesia tumbuhan (Depkes RI., 2000).

2. Pemeriksaan Organoleptik

Pemeriksaan organoleptik ekstrak meliputi bentuk, bau, rasa dan warna. Pernyataan “tidak berbau”, “praktis tidak berbau”, “berbau khas lemah” atau lainnya, ditetapkan dengan pengamatan setelah bahan terkena udaraselama 15 menit. Waktu 15 menit dihitung setelah wadah yang berisi tidak lebih dari 25 g bahan dibuka. Untuk wadah yang berisi lebih dari 25 g bahan penetapan dilakukan setelah lebih kurang 25 g bahan dipindahkan kedalam cawan penguap 100 ml (Depkes RI., 2000 ; Depkes RI., 2008).

3. Uji Makroskopik

Uji makroskopik dilakukan dengan menggunakan kaca pembesar atau tanpa alat. Cara ini dilakukan untuk mencari kekhususan morfologi dan warna simplisia daun leilem (Eliyanoor, 2012).

4. Uji Mikroskopik

Uji mikroskopik dilakukan terhadap serbuk simplisia dan diamati fragmen pengenal daun leilem secara umum yang dilakukan melalui pengamatan di bawah mikroskop, menggunakan kloralhid-rat LP (Depkes RI., 2008 ; Eliyanoor, 2012).

5. Uji Mikroskopik

Uji mikroskopik dilakukan terhadap serbuk simplisia dan diamati fragmen pengenal daun leilem secara umum yang dilakukan melalui pengamatan di bawah mikroskop, menggunakan kloralhid-rat LP (Depkes RI., 2008 ; Eliyanoor, 2012).

2.11.5 Standardisasi Parameter Non Spesifik

1. Penetapan Kadar sari Larut Air

Sebanyak 5 gram ekstrak etanol dimaserasi selama 24 jam dalam 100 ml air-kloroform (2,5 ml kloroform dalam air suling sampai 1 liter) dalam labu

bersumbat sambil dikocok sesekali selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam, kemudian disaring. Sejumlah 20 ml filtrat pertama diuapkan sampai kering dalam cawan penguap yang berdasar rata yang telah dipanaskan dan ditara. Sisa dipanaskan pada suhu 105oC sampai bobot tetap. Kadar dalam, persen sari yang larut dalam air dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara.

2. Penetapan Kadar Sari Larut Etanol

Sebanyak 5 gram ekstrak etanol yang telah dikeringkan, dimaserasi selama 24 jam dalam 100 ml etanol 96% dalam labu bersumbat sambil dikocok sesekali selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam. Kemudian disaring cepat untuk menghindari penguapan etanol. Sejumlah 20 ml filtrat diuapkan sampai kering dalam cawan penguap yang berdasar rata yang telah dipanaskan dan ditara. Sisa dipanaskan pada suhu 105oC sampai bobot tetap. Kadar dalam persen sari yang larut dalam etanol 96% dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara.

3. Penetapan Kadar Abu Total

Sebanyak 2 gram ekstrak etanol yang digerus dan ditimbang seksama dimasukkan dalam krus porselin yang telah dipijar dan ditara, kemudian diratakan. Krus dipijar perlahan-lahan sampai arang habis, pijaran dilakukan pada suhu 600oC selama 3 jam kemudian didinginkan dan ditimbang sampai diperoleh bobot tetap. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara.

4. Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Asam

Abu yang diperoleh dalam penetapan kadar abu dididihkan dalam 25 ml asam klorida encer selama 5 menit, bagian yang tidak larut dalam asam dikumpulkan dengan disaring melalui kertas saring yang telah diketahui beratnya lalu sisa dipanaskan, didinginkan dan ditimbang sampai bobot tetap. Kadar abu yang tidak larut dalam asam dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara.

5. Penetapan Kadar Air

Sebanyak 200 ml toluen dan 2 ml air suling dimasukkan ke dalam labu alas bulat, lalu didestilasi selama 2 jam. Setelah itu, toluen dibiarkan mendingin selama 30 menit, dan dibaca volume air pada tabung penerima dengan ketelitian 0,05 ml. Kemudian ke dalam labu tersebut dimasukkan 5 gram ekstrak etanol yang telah ditimbang seksama, labu dipanaskan hati-hati selama 15 menit. Setelah toluen mendidih, kecepatan tetesan diatur lebih kurang 2 tetes tiap detik sampai sebagian besar air terdestilasi, kemudian kecepatan tetesan dinaikkan hingga 4 tetes tiap detik. Setelah semua air terdestilasi, bagian dalam pendingin

dibilas dengan toluen. Destilasi dilanjutkan selama 5 menit, kemudian tabung penerima dibiarkan mendingin pada suhu kamar. Setelah air dan toluen memisah sempurna, volume air dibaca dengan ketelitian 0,05 ml. Selisih kedua volume air yang dibaca sesuai dengan kandungan air yang terdapat dalam bahan yang diperiksa. Kadar air dihitung dalam persen.

2.11.6 Penentuan pola kromatogram

Penentuan pola kromatogram dimulai dari penyiapan larutan uji, kemudian dilanjutkan dengan penentuan fase gerak optimum. Telah diketahui gerak optimum digunakan.

1. Mencari fase gerak optimum

Sebanyak 20 µl larutan uji ditotolkan pada lempeng silika gel GF254, kemudian dielusi dengan berbagai fase gerak. Fase gerak yang digunakan antara lain n-butanolasam asetat-air (4:1:5), kloroform-etil asetat (1:1), kloroform-metanol (1:5), kloroform-metanol-air (80:12:2). Hasil elusi diamati pada cahaya tampak, lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Kemudian lempeng disemprot dengan penampak bercak besi (III) klorida 10% dalam aquadest. Fase gerak yang memberikan pemisahan yang terbaik digunakan untuk percobaan selanjutnya.

2. Pembuatan pola kromatogram

Sebanyak 20 µl larutan uji ditotolkan pada lempeng silika kemudian dielusi dengan fase gerak terpilih. Hasil elusi diamati dibawah cahaya tampak, lampu UV 254 dan 366 nm. Kemudian disemprot dengan penampak noda larutan besi (III) klorida. Lempeng juga diamati dibawah densitometer dengan panjang gelombang 254 dan 366 nm.

2.11.7 Penetapan kadar fenol total

1. Pembuatan larutan uji

Sebanyak 0,1g ekstrak dihidrolisis dalam suasana asam menggunakan asam klorida 2N sebanyak 10ml, dipanaskan selama 30 menit. Larutan yang diperoleh didinginkan dan disaring. Filtrat dipartisi dengan eter sebanyak 2 kali masing-masing 5 ml. Fase eter digabung dan diuapkan kering Residu dilarutkan dalam metanol.

2. Pembuatan kurva kalibrasi

Pipet 1,0 ml, 2,0 ml, 3,0 ml, 4,0 ml dan 5,0 ml larutan stok asam galat. Masukkan kedalam labu takar 10,0 ml. Selanjutnya tambahkan 500 µl pereaksi

FolinCiocalteu, di kocok selama 1 menit.

Sebelum menit ke-8 tambahkan 4,0 ml larutan natrium karbonat 10%. Lalu kocok selama 1 menit, kemudian tambahkan akuades sampai tanda batas. Serapan dibaca pada panjang gelombang 642 nm, setelah 90 menit.

3. Penetapan kadar fenol total

Ekstrak etanol daun asam jawa (200 mg) ditimbang seksama, dimasukkan kedalam labu takar 100,0 ml. Ekstrak dilarutkan dengan akuades, digenapkan volume sampai tanda batas. Dipipet dan larutan stok sebanyak 5,0 ml dan masukkan kedalam labu takar 10,0 ml. Selanjutnya ditambahkan 500 µl pereaksi FolinCiocalteu, dikocok selama 1 menit. Sebelum menit ke-8 ditambahkan 4,0 ml larutan natrium karbonat 10%, lalu dikocok selama 1 menit, kemudian genapkan volume dengan akuades. Serapan diukur pada panjang gelombang 642 nm.

2.12. Prosedur Kerja Berdasarkan Studi Literatur 2

2.12.1 Penyiapan Simplicia

Tumbuhan leilem diperoleh dari Kelurahan Kairagi Dua, Kecamatan Mapanget, Kota Manado, Provinsi Sulawesi Utara. Leilem dideterminasi di Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya–Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Bagian tanaman yang digunakan adalah helaian daun. Helaian daun kemudian dicuci bersih dengan air mengalir, dirajang, lalu dikeringkan dalam lemari pengering selama 3 x 24 jam. Daun yang telah kering diserbukan tanpa menyebabkan kerusakan atau kehilangan kandungan kimia.

2.12.2 Penyiapan Ekstrak

Serbuk daun leilem sebanyak 400 gram dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70 % sebanyak 4 L. Proses penyarian dilakukan selama 3 x 24 jam sambil sekali-sekali diaduk, kemudian dipisahkan mase-rat. Proses penyarian diulang dengan jenis pelarut yang sama sebanyak 2,5 L selama 2 x 24 jam, semua maserat dikumpulkan lalu diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental.

2.12.3 Uji Kimia

Uji Kimia Uji kimia meliputi penentuan kandungan golongan kimia seperti Uji Alkaloid, uji flavonoid, uji tanin, uji terpenoid dan steroid, dan uji saponin.

2.12.4 Standardisasi Parameter Spesifik

1. Identitas

Pendesripsian tata nama yaitu nama simplisia dan ekstrak, nama latin tumbuhan, bagian tumbuhan yang digunakan dan nama Indonesia tumbuhan (Depkes RI., 2000).

2. Pemeriksaan Organoleptik

Pemeriksaan organoleptik ekstrak meliputi bentuk, bau, rasa dan warna. Pernyataan “tidak berbau”, “praktis tidak berbau”, “berbau khas lemah” atau lainnya, ditetapkan dengan pengamatan setelah bahan terkena udara selama 15 menit. Waktu 15 menit dihitung setelah wadah yang berisi tidak lebih dari 25 g bahan dibuka. Untuk wadah yang berisi lebih dari 25 g bahan penetapan dilakukan setelah lebih kurang 25 g bahan dipindahkan ke dalam cawan penguap 100 ml (Depkes RI., 2000 ; Depkes RI., 2008).

3. Uji Makroskopik

Uji makroskopik dilakukan dengan menggunakan kaca pembesar atau tanpa alat. Cara ini dilakukan untuk mencari kekhususan morfologi dan warna simplisia daun leilem.

4. Uji Mikroskopik

Uji mikroskopik dilakukan terhadap serbuk simplisia dan diamati fragmen pengenalan daun leilem secara umum yang dilakukan melalui pengamatan di bawah mikroskop, menggunakan kloralhidrat LP (Depkes RI., 2008 ; Eliyanoor, 2012).

2.12.5 Standardisasi Parameter Non Spesifik.

1. Penetapan Kadar Sari Larut Air

Simplisia dan ekstrak masing-masing sebanyak 5 g ditimbang, masukkan ke dalam labu bersumbat, tambahkan 100 mL air jenuh kloroform. Kocok berkali-kali selama 6 jam pertama, biarkan selama 18 jam. Filtrat disaring dan diuapkan hingga kering dalam cawan dangkal beralas datar yang telah ditara. Residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap, hitung kadar dalam % sari larut air (Depkes RI., 2008).

2. Penetapan Kadar Sari Larut Etanol

Simplisia dan ekstrak masing-masing sebanyak 5 g ditimbang, masukkan ke dalam labu bersumbat, tambahkan 100 mL etanol P. Kocok berkali-kali selama 6 jam pertama, biarkan selama 18 jam. Filtrat disaring dan diuapkan hingga kering dalam cawan dangkal beralas datar yang telah ditara. Residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap, hitung kadar dalam % sari larut air (Depkes RI., 2008).

3. Penetapan Bobot Jenis

Piknometer dibersihkan dan dikeringkan. Ekstrak diencerkan 5% menggunakan air. Ekstrak cair dimasukkan ke dalam piknometer, dibuang kelebihan ekstrak cair dan ditimbang. Bobot piknometer kosong dikurangi dengan bobot piknometer yang telah diisi. Bobot jenis ekstrak cair adalah hasil yang diperoleh dengan membagi kerapatan ekstrak dengan kerapatan air dalam piknometer pada suhu 25°C (Depkes RI., 2000).

4. Penetapan Kadar Abu Total

Simplisia dan ekstrak masing-masing sebanyak 2 g ditimbang dan dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijar dan ditara, pijarkan perlahan-lahan hingga suhu yang menyebabkan senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sampai tinggal unsur mineral dan anorganik saja yaitu pada suhu $600 \pm 25^\circ\text{C}$, dinginkan dan timbang. Kadar abu total dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam % b/b (Depkes RI., 2008).

5. Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Asam

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu total dididihkan dengan 25 mL asam klorida encer LP selama 5 menit. Bagian yang tidak larut dalam asam dikumpulkan, saring melalui kertas saring bebas abu, Kadar abu yang tidak larut dalam asam dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam % b/b (Depkes RI., 2008).

6. Penetapan Kadar Air

Kadar air ditetapkan dengan cara destilasi toluen. Toluena yang digunakan dijenuhkan dengan air terlebih dahulu, kemudian simplisia dan ekstrak masing-masing sebanyak 5 g ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu alas bulat dan ditambahkan toluena yang telah dijenuhkan. Labu dipanaskan selama 15 menit, setelah toluena mulai mendidih, penyulingan diatur 2 tetes/ detik, lalu 4 tetes/detik. Setelah semua air tersuling, pemanasan dilanjutkan selama 5 menit. Biarkan tabung penerima dalam keadaan dingin mencapai hingga suhu kamar. Volume air dibaca sesudah toluena dan air memisah sempurna.

