

**KAJIAN FARMAKOGNOSI DAN PENETAPAN KADAR FLAVONOID
TOTAL EKSTRAK ETANOL 70% PAKU RANE (*Selaginella willdenowii*
(Desv. ex Poir.) Beker) YANG TUMBUH DI DESA GUNUNG MALANG
TAMAN NASIONAL GUNUNG HALIMUN SALAK**

Skripsi

**Untuk melengkapi syarat-syarat guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi
pada Program Studi Farmasi**

**Disusun Oleh :
Eva Setiawati
1604015239**

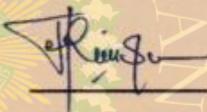
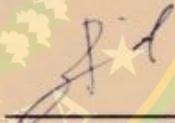


**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
JAKARTA
2020**

Skripsi dengan judul
**KAJIAN FARMAKOGNOSI DAN PENETAPAN KADAR FLAVONOID
TOTAL EKSTRAK ETANOL 70% PAKU RANE (*Selaginella willdenowii*
(Desv. ex Poir.) Beker) YANG TUMBUH DI DESA GUNUNG MALANG
TAMAN NASIONAL GUNUNG HALIMUN SALAK**

**Telah disusun dan dipertahankan di hadapan penguji oleh:
Eva Setiawati, NIM 1604015239**

Penguji :

<u>Ketua</u>	Tanda Tangan	Tanggal
Wakil Dekan I		
Drs. apt. Inding Gusmayadi, M.Si.		<u>20/121</u>
Penguji I		
Dr. apt. Rini Prastiwi, M.Si.		<u>30-08-2020</u>
Penguji II		
Ni Putu Ermi Hikmawanti, M.Farm.		<u>12-09-2020</u>
Pembimbing I		
Rindita, M.Si.		<u>12-10-2020</u>
Pembimbing II		
apt. Landyyun Rahmawan Sjahid, M.Sc.		<u>09-10-2020</u>
Mengetahui:		
Ketua Program Studi Farmasi		
apt. Kori Yati, M.Farm.		<u>15/10/2020</u>

Dinyatakan Lulus pada tanggal: 28 Agustus 2020

ABSTRAK

KAJIAN FARMAKOGNOSI DAN PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOL 70% PAKU RANE (*Selaginella willdenowii* (Des. Ex Poir.) Beker) YANG TUMBUH DI DESA GUNUNG MALANG TAMAN NASIONAL GUNUNG HALIMUN SALAK

**Eva Setiawati
1604015239**

Paku Rane (*Selaginella willdenowii* (Des. Ex Poir.) Beker) secara tradisional digunakan untuk pengobatan pasca bersalin serta mengobati luka. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik farmakognosi dari simplisia Paku Rane yang tumbuh secara liar di kawasan Desa Gunung Malang Taman Nasional Gunung Halimun Salak meliputi makroskopis dan mikroskopis serta penetapan kadar flavonoid total pada ekstrak etanol 70%. Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode ultrasonik. Pada pengamatan makroskopis Paku rane memiliki tipe daun yang berukuran kecil dan memiliki strobilus yang tersusun atas sporangium yang terletak pada ujung daun, pada batang dipenuhi dengan daun. Pada akar terdapat *rhizopora* sebagai penopang batang, merupakan jenis akar serabut dengan banyak percabangan. Pada pemeriksaan mikroskopis ditemukan stomata dengan tipe anomositik yang terdapat pada epidermis atas dan bawah, memiliki arsitektur stelar yang kompleks yang terdiri dari tiga meristel di batang utama dan batang cabang, dan papilate sel epidermis pada spora. Paku rane memiliki kadar flavonoid total sebanyak 12,66 mgQE/g ekstrak.

Kata Kunci: Farmakognosi, Flavonoid Total, Paku Rane (*Selaginella willdenowii*)

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim.

Alhamdulillah rabbil'alam, segala puji hanya milik Allah SWT, Rabb semesta alam yang telah memberikah rahmat beserta karunia-Nya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan judul **“Kajian Farmakognosi dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 70% Paku Rane (*Selaginella willdenowii* (Des. Ex Poir.) Beker) yang Tumbuh Di Desa Gunung Malang Taman Nasional Gunung Halimun Salak”**.

Penulisan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi persyaratan guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA.

Terselesaikannya penelitian dan skripsi ini tidak lepas dari dorongan dan bantuan dari berbagai pihak. Penulis ingin menyampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak apt. Dr. Hadi Sunaryo, M.Si selaku Dekan Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA.
2. Ibu apt. Kori Yati, M.Farm selaku Ketua Program Studi Farmasi FFS UHAMKA.
3. Ibu Rindita, M.Si selaku Pembimbing I dan Bapak apt. Landyyun Rahmawan Sjahid, M.Sc selaku pembimbing II yang telah banyak membantu dan mengarahkan penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
4. Ibu apt. Mirawati Siregar, M.Farm selaku Dosen Pembimbing Akademik beserta para dosen yang telah memberikan ilmu dan masukan-masukan yang berguna selama kuliah dan penulisan skripsi ini.
5. Kedua orang tua, Bapak Roji dan Ibu Ijoh tersayang, serta kakak-kakak penulis yang telah memberikan dukungan, semangat serta do'a yang tiada henti-hentinya.
6. Keluarga besar KMPLH-FARKA yang telah begitu banyak memberikan dorongan semangat, pembelajaran serta pengalaman yang tidak penulis dapatkan dari bangku perkuliahan.
7. Teman-teman angkatan 2016 yang telah menemani dan berjuang bersama selama di FFS UHAMKA.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan ini masih memiliki banyak kekurangan karena keterbatasan ilmu dan kemampuan penulis. Untuk itu saran dan kritik yang membangun dari pembaca sangat penulis harapkan. Penulis berharap skripsi ini dapat berguna bagi semua pihak yang memerlukan.

Jakarta, Agustus 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Permasalahan Penelitian	2
C. Tujuan Penelitian	2
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Landasan Teori	4
1. Deskripsi Paku Rane (<i>Selaginella willdenowii</i>)	4
2. Kandungan Senyawa dan Khasiat Paku Rane	5
3. Simplisia dan Ekstrak	5
4. Kajian Farmakognosi	6
5. Penetapan Kadar Flavonoid	8
6. Spektrofotometer UV-Vis	9
B. Kerangka Berfikir	9
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	11
A. Tempat dan Jadwal Penelitian	11
B. Alat dan Bahan	11
C. Prosedur Penelitian	12
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	19
A. Pengambilan Sampel	19
B. Hasil Determinasi Tumbuhan Paku Rane	19
C. Pengamatan Organoleptis, Makroskopis dan Mikroskopis	20
D. Hasil Ekstraksi	26
E. Penapisan Fitokimia	26
F. Hasil Parameter Fisikokimia	28
G. Hasil Pola Kromatogram Adanya Flavonoid	30
H. Hasil Fluoresensi	31
I. Hasil Kadar Flavonoid Total	33
BAB V PENUTUP	36
A. Simpulan	36
B. Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	41

DAFTAR TABEL

	Hlm.
Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Organoleptis Paku Rane	20
Tabel 2. Hasil Proses Ekstraksi	26
Tabel 3. Hasil identifikasi Ekstrak Paku Rane	27
Tabel 4. Hasil Parameter Fisikokimia	30
Tabel 5. Hasil Pengamatan Perubahan Warna Uji Flouresensi	32
Tabel 6. Hasil absorbansi larutan standar kuersetin	34
Tabel 7. Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Paku Rane	34



DAFTAR GAMBAR

	Hlm.
Gambar 1. Tumbuhan <i>Selaginella willdenowii</i>	4
Gambar 2. Struktur Dasar Flavonoid	9
Gambar 3. Hasil Pengamatan Makroskopik <i>S.willdenowii</i>	22
Gambar 4. Hasil Mikroskopis Penampang Melintang Batang	23
Gambar 5. Hasil Mikroskopis Penampang Melintang Daun	23
Gambar 6. Hasil Mikroskopis Rizopora <i>S. willdenowii</i>	24
Gambar 7. Hasil Mikroskopis Spora	24
Gambar 8. Hasil Mikroskopis Serbuk <i>S. willdenowii</i>	25
Gambar 9. Hasil Pola Kromatogram Ekstrak Etanol 70%	30
Gambar 10. Hasil Uji Fluoresensi Serbuk dan Ekstrak etanol 70%	32
Gambar 11. Kurva Baku Standar Kuersetin	33



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Skema Pola Penelitian	41
Lampiran 2. Surat Determinasi Tumbuhan	42
Lampiran 3. Perhitungan % Rendemen Ekstrak Paku Rane	43
Lampiran 4. Hasil Penafisan Fitokimia Ekstrak Etanol 70%	44
Lampiran 5. Perhitungan Kadar Air	46
Lampiran 6. Perhitungan Kadar Abu Total dan Tidak Larut Asam	47
Lampiran 7. Perhitungan Kadar sari larut air dan etanol	49
Lampiran 8. Perhitungan Rf Pola Kromatogram	50
Lampiran 9. Sertifikat Serbuk Quercetin	51
Lampiran 10. Sertifikat serbuk Mg	52
Lampiran 11. Sertifikat FeCl ₃	53
Lampiran 12. Panjang Gelombang Quersetin	54
Lampiran 13. <i>Operating Time</i> Quersetin	55
Lampiran 14. Kurva Baku Quersetin	56
Lampiran 15. Kurva Kadar Flavonoid Total Paku Rane	57
Lampiran 16. Perhitungan Kadar Flavonoid Total	58
Lampiran 17. Dokumentasi Penelitian	61



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati sangat tinggi dan menjadi salah satu negara *megabiodiversity* di dunia (BAPPENAS 2016). Indonesia menempati peringkat kedua setelah Brazil dalam hal keanekaragaman hayati. Keanekaragaman hayati tumbuhan Indonesia banyak yang berpotensi digunakan sebagai bahan obat. Tercatat sekitar 30.000 jenis tumbuhan di Indonesia telah teridentifikasi dan 950 jenis diantaranya memiliki potensi sebagai obat, namun kurang lebih baru sekitar 180 jenis yang digunakan oleh industri di bidang obat tradisional (BPOM 2012). Salah satu alternatif pencarian tumbuhan berkhasiat obat dapat dilakukan dengan eksplorasi langsung di habitat aslinya, misalnya pencarian tumbuhan obat liar yang biasanya banyak ditemukan di Taman Nasional.

Salah satu Taman Nasional yang ada di Indonesia adalah Taman Nasional Gunung Halimun Salak (TNGHS) yang merupakan Taman Nasional yang memiliki ekosistem hutan hujan tropis, terletak di Provinsi Jawa Barat dan Banten, meliputi Kabupaten Sukabumi, Bogor dan Lebak (Kemenhut 2003). Adapun tumbuhan yang ditemukan oleh Fauziah dkk. (2018) di kawasan resort Gunung Salak 2 terdapat 44 famili, 88 Spesies dan 1.527 individu. Salah satu yang berhasil ditemukan adalah jenis paku-pakuan *Selaginella*. Setyawan (2008) melaporkan jenis *Selaginella* yang tumbuh di TNGHS salah satunya adalah *Selaginella willdenowii*. Penelitian sebelumnya menyebutkan beberapa jenis *Selaginella* yang berasal dari pulau Jawa mengandung bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, steroid, tanin dan saponin (Chikmawati dkk 2012).

Selaginella willdenowii dikenal dengan nama daerah Paku Rane. Tumbuhan ini banyak digunakan sebagai obat tradisional untuk perawatan kesehatan. Masyarakat asli di sekitar Taman Nasional Gunung Halimun Salak memanfaatkan tumbuhan *Selaginella* untuk pengobatan pasca bersalin dan mengobati luka (Setyawan 2008). Ekstrak daun *S.willdenowii* mengandung 4',7"-di-O-metilmenoflavan, isokriptomerin dan 7"-O-metilrobusta-flavon yang secara signifikan sitotoksik terhadap berbagai sel kanker (Silva *et al.* 1995). Pada

penelitian yang dilakukan Chai & Wong (2012), disebutkan bahwa daun *S. willdenowii* memiliki kandungan fenolik dan flavonoid. Kandungan fenol lebih besar pada *Selaginella willdenowii* yang tumbuh di habitat hutan terbuka (Rindita *et al.* 2020) dan memiliki kandungan flavonoid cukup tinggi pada *Selaginella* yang diambil dari alam (Miftahudin dkk. 2015). Analisis kuantitatif senyawa tersebut perlu dilakukan untuk mengetahui berapa persisnya kandungan flavonoid total yang terkandung pada *S. willdenowii*.

Berdasarkan latar belakang di atas, menjadi sangat penting untuk melakukan pengkajian bahan tanaman yang digunakan sebagai obat. Proses tersebut dapat dilakukan dengan kajian farmakognosi yang merupakan parameter awal yang penting untuk penentuan kualitas dari suatu bahan obat. Selain itu penting juga mengetahui banyaknya kandungan flavonoid total pada *S. willdenowii*. Penentuan kadar flavonoid total dilakukan melalui ekstraksi menggunakan metode ultrasonik dengan pelarut etanol 70%. Pada penelitian yang dilakukan Jiang *et al.* (2018), penggunaan metode ultrasonik mendapatkan hasil flavonoid yang lebih tinggi dalam waktu yang lebih pendek, serta mengurangi penggunaan pelarut dibandingkan dengan ekstraksi metode soxhlet, perkolasi dan reflux, prosesnya cepat dan mudah serta sampel yang digunakan sedikit. Selain itu *S. willdenowii* yang digunakan merupakan tumbuhan liar yang diambil langsung dari habitat aslinya, maka sangat penting untuk dijaga populasi penyebarannya.

B. Permasalahan Penelitian

Pemeriksaan kandungan obat pada bahan baku tumbuhan liar dibutuhkan guna mengetahui kandungan apa saja yang terdapat dalam tumbuhan tersebut yang bisa dimanfaatkan sebagai obat. Dengan demikian, dapat dirumuskan masalah yaitu bagaimana hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis dan kadar flavonoid total paku rane (*Selaginella willdenowii*) yang tumbuh secara liar di Desa Gunung Malang Taman Nasional Gunung Halimun Salak.

C. Tujuan Penelitian

Adapun penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik makroskopis dan mikroskopis serta kadar flavonoid total dari ekstrak etanol 70% paku rane (*S. willdenowii*) yang tumbuh secara liar di Desa Gunung Malang Taman Nasional Gunung Halimun Salak.

D. Manfaat Penelitian

Melalui penelitian ini diharapkan dapat memberikan tambahan informasi mengenai karakteristik makroskopis dan mikroskopis dan hasil kadar senyawa flavonoid total yang dimiliki tumbuhan *S.willdenowii* sehingga dapat melengkapi data penelitian mengenai tumbuhan *S.willdenowii* di Indonesia.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. Deskripsi Paku Rane (*Selaginella willdenowii*)

Selaginella willdenowii termasuk dalam famili Selaginellaceae dan dikenal dengan nama daerah paku rane. Morfologi *S. willdenowii* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tumbuhan *Selaginella willdenowii* (Dokumentasi Pribadi 2020)

Klasifikasi tumbuhan *Selaginella willdenowii* adalah sebagai berikut (ITIS 2019):

- Kingdom : Plantae
- Subkingdom : Viridiplantae
- Infrakingdom : Streptophyta
- Superdivisi : Embryophyta
- Divisi : Tracheophyta
- Subdivisi : Lycopodiophytina
- Kelas : Lycopodiopsida
- Sub kelas : Lycopodiidae
- Ordo : Selaginellales
- Keluarga : Selaginellaceae
- Genus : *Selaginella* P. Beauv
- Spesies : *Selaginella willdenowii* (Desv. ex Poir.) Baker
- Sinonim : *Selaginella willdenovii* (Desv. ex. Poir.) Baker

Paku ini hidupnya berumpun dengan akar berwarna putih ke abu-abuan dengan batang tegak berwarna cokelat. Daun berukuran kecil, berwarna kuning-kehijauan. Sporangium terkumpul dalam bentuk strobilus yang terletak di ujung daun (Purnawati dkk. 2014). Memiliki percabangan yang khas yang tersusun di bagian kiri dan kanan batang. Batang yang terbaring dan tegak tersusun atas daun-daun yang saling berhadapan. Akar *S. willdenowii* dekat percabangan batangnya memiliki rizofora (pendukung akar), bentuk dari rizofora tidak berdaun dan tidak berwarna (Winter & Jansen 2003).

2. Kandungan Senyawa dan Khasiat Paku Rane

Tumbuhan *S. willdenowii* termasuk genus *Selaginella*. Beberapa jenis *Selaginella* diketahui mengandung flavonoid, tanin, saponin (Miftahudin dkk. 2015), alkaloid dan steroid (Chikmawati *et al.* 2012). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Chai & Wong (2012), daun *S. willdenowii* memiliki kandungan fenolik dan flavonoid serta memiliki aktivitas antioksidan. Ekstrak daun *S. willdenowii* mengandung 4',7"-di-O-metilamnoflavan, isokriptomerin dan 7"-O-metilrobusta (Silva *et al.* 1995).

Tumbuhan *S. willdenowii* terbukti memiliki beberapa manfaat di antaranya digunakan dalam rebusan sebagai obat setelah melahirkan dan mengobati penyakit kulit seperti gatal dan kurap (Winter & Jansen 2003). Kandungan dari ekstrak *S. willdenowii* berpotensi sebagai antioksidan dan anti kanker (Chikmawati *et al.* 2010) serta signifikan sitotoksik terhadap berbagai sel kanker (Silva *et al.* 1995). Selain itu, masyarakat asli di sekitar Taman Nasional Gunung Halimun Salak memanfaatkan tumbuhan ini untuk pengobatan pasca bersalin atau mengobati luka (Setyawan 2008).

3. Simplisia dan Ekstrak

Dalam penggunaan obat dari bahan alam sebelumnya dikenal dengan dua istilah yaitu simplisia dan ekstraksi. Simplisia atau herbal adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60 °C. Ekstrak merupakan sediaan cair, kental atau kering yang merupakan hasil dari proses ekstraksi atau penyarian simplisia nabati atau hewani menurut cara yang sesuai, di luar pengaruh cahaya matahari langsung (Depkes RI 2008).

Terdapat tiga jenis ekstrak, pertama yaitu ekstrak cair yang diperoleh dari ekstraksi yang masih mengandung sebagian besar cairan penyari. Kedua, ekstrak kental yang didapatkan apabila sebagian besar cairan penyari sudah diuapkan dan yang ketiga adalah ekstrak kering yaitu yang diperoleh setelah tidak mengandung cairan penyari (Hanani 2015). Untuk mendapatkan ketiga jenis ekstrak tersebut dapat dilakukan dengan proses ekstraksi.

Ekstraksi atau penyarian merupakan proses pemisahan senyawa dari matriks atau simplisia menggunakan pelarut yang sesuai. Jenis, sifat fisik, dan sifat kimia kandungan senyawa yang akan diekstraksi menjadi parameter untuk menentukan metode ekstraksi apa yang akan digunakan. Ekstraksi dilakukan dengan tujuan menarik atau memisahkan senyawa dari campurannya atau simplisia. Ada beberapa metode ekstraksi, diantaranya maserasi, perkolasi, refluks, soxhletasi, infusa, dekok, destilasi, lawan arah (*countercurrent*), gelombang mikro (*microwave assisted extraction*, MAE), ekstraksi gas superkritis (*supercritical gas extraction*, SGE) dan ultrasonik (Hanani 2015). Metode ultrasonik merupakan metode ekstraksi yang lebih cepat dibandingkan dengan metode konvensional dengan cara maserasi maupun ekstraksi soxhlet.

Proses ekstraksi metode ultrasonik melibatkan penggunaan gelombang ultrasonik dengan frekuensi kHz sehingga permeabilitas dinding sel meningkat dan isi sel keluar. Frekuensi getaran akan mempengaruhi hasil ekstraksi (Hanani 2015). Ekstraksi dengan gelombang ultrasonik akan menjadi lebih cepat daripada metode konvensional dengan cara maserasi maupun soxhlet dikarenakan prinsip ekstraksi ultrasonik yaitu dengan meningkatkan transfer masa yang disebabkan oleh naiknya penetrasi pelarut ke dalam jaringan tumbuhan lewat efek kapiler. Gelembung kavitasi akan terbentuk pada dinding sel tanaman akibat adanya gelombang ultrasonik. Efek dari pecahnya cahaya gelembung kavitasi ini dapat mengakibatkan peningkatan pori-pori dinding sel. Gelembung kavitasi akan terpecah disebabkan oleh tipisnya bagian kelenjar sel tumbuhan yang dapat mudah rusak oleh sonikasi (Melecchi *et al.* 2006).

4. Kajian Farmakognosi

Farmakognosi merupakan studi mengenai produk obat yang berasal dari lingkungan hidup terutama tumbuhan dan fungi (Heinrich *et al.* 2009). Studi

Kajian farmakognosi memberikan informasi pendahuluan untuk standarisasi guna menjamin kualitas dan kuantitas bahan awal dengan cara kualitatif dan kuantitatif. Cara kualitatif meliputi pemeriksaan organoleptis, pemeriksaan karakteristik simplisia (makroskopi dan mikroskopis), penapisan fitokimia, pola kromatogram dan flouresensi. Cara kuantitatif meliputi pemeriksaan parameter fisikokimia dengan uji kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, dan kadar sari larut etanol.

a. Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

Pemeriksaan karakteristik simplisia dilakukan dengan pengamatan organoleptis, makroskopis dan mikroskopis. Uji organoleptis bertujuan untuk mengetahui bau, warna, bentuk dan rasa dari simplisia yang diuji. Uji makroskopis bertujuan untuk mencari kekhususan morfologi, ukuran dan warna simplisia menggunakan kaca pembesar atau tanpa menggunakan alat. Pemeriksaan mikroskopis menggunakan alat mikroskop yang derajat pembesarannya disesuaikan dengan keperluan. Simplisia yang diuji dapat berupa sayatan melintang atau berupa serbuk. Pada pemeriksaan ini dicari unsur-unsur anatomi jaringan yang khas dan akan diketahui jenis simplisia berdasarkan fragmen pengenal yang spesifik bagi masing-masing simplisia (Depkes RI 1987).

b. Parameter Fisikokimia

Parameter fisikokimia yang diukur meliputi kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, dan kadar sari larut etanol. Kadar air dapat diperiksa dengan cara titrasi, destilasi, dan gravimetri. Pemeriksaan kadar air bertujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air di dalam bahan. Kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak. Nilai maksimal atau rentang yang diperbolehkan berkaitan dengan kemurnian dan kontaminasi. Penentuan kadar sari larut dalam air dan etanol bertujuan untuk mengetahui jumlah zat yang terkandung dalam simplisia yang dapat larut dalam air dan etanol (Depkes RI 2000).

c. Pola Kromatografi dan Flouresensi

Kromatogram merupakan salah satu teknologi yang digunakan untuk memisahkan campuran menjadi komponen-komponen penyusunnya yang

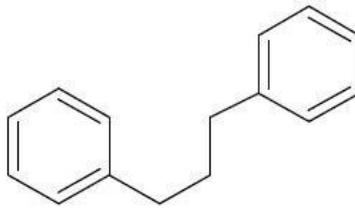
melibatkan dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam dapat berbentuk padat atau cair, gel, dan kolom salut. Fase gerak berbentuk gas atau cair. Pola kromatogram biasanya menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pada KLT, fase diam yang banyak digunakan untuk flavonoid adalah lempeng silika gel 60 GF₂₅₄. Beberapa fase gerak yang umum digunakan adalah etil asetat-asam format-asam asetat glasial-air (100:11:11:27), jenis campuran fase gerak lainnya yang dapat digunakan adalah kloroform-aseton-asam format (75:16,5:8,5) atau kloroform-etil asetat 60:40 (Hanani 2015). Nilai Rf dapat didefinisikan seperti pada persamaan 1.

$$Rf = \frac{\text{Jarak titik spot noda dari titik awal}}{\text{Jarak garis depan titik awal}} \dots\dots\dots(1)$$

Flouresensi merupakan proses pemancaran kembali sinar oleh molekul yang telah menyerap energi sinar yang terjadi pada waktu singkat setelah penyerapan. Jika penyinaran kemudian dihentikan, pemancaran kembali oleh molekul tersebut juga terhenti. Agar suatu molekul berfluoresensi maka molekul tersebut harus menyerap radiasi. Jika konsentrasi senyawa yang menyerap molekul tinggi maka sinar yang mengenai sampel akan diabsorpsi oleh lapisan pertama larutan dan hanya sedikit yang diserap oleh bagian lain sampel pada jarak yang lebih jauh (Gandjar & Rohman 2007). Harborne (1987) menyatakan bahwa ekstrak yang direaksikan dengan berbagai reagen akan dapat dilihat respon flouresensinya di bawah sinar tampak dan sinar ultra violet.

5. Penetapan Kadar Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdiri dari C6-C3-C6 yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan dengan 3 atom C, biasanya dengan ikatan asam O yang berupa ikatan oksigen heterosiklik (Hanani 2015). Umumnya flavonoid ditemukan sebagai glikosida pada tumbuhan dan terdapat pada seluruh bagian tanaman, termasuk pada buah, tepung sari dan akar. Flavonoid memiliki aktivitas sebagai stimulan pada jantung, hesperidin mempengaruhi pembuluh darah kapiler. Selain itu senyawa seperti flavon terhidroksil berguna sebagai diuretik dan antioksidan pada lemak (Sirait 2007). Struktur dasar flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Dasar Flavonoid (Hanani 2015)

Penentuan kuantitatif senyawa dalam ekstrak tumbuhan sama pentingnya dengan penentuan kualitatif ekstrak tumbuhan. Penentuan kuantitatif dapat dilakukan pada ekstrak untuk menentukan kadar total dari metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu jenis tumbuhan. Flavonoid merupakan senyawa yang larut dalam air dan dapat diekstraksi dengan pelarut etanol 70%. Penetapan kadar flavonoid total dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis berdasarkan prinsip kalorimetri aluminium klorida. Kadar flavonoid total dihitung sebagai aglikon (kuersetin) (Depkes RI 2008).

6. Spektrofotometer UV-Vis

Spektrum UV-Visibel merupakan hasil interaksi antara radiasi elektromagnetik (REM) dengan molekul. Spektrofotometer dapat digunakan untuk mengukur besarnya energi yang diabsorpsi atau diteruskan. Jika radiasi monokromatik melewati larutan yang mengandung zat yang dapat menyerap, maka radiasi ini akan dipantulkan, diabsorpsi oleh zat dan sisanya ditransmisikan (Harmita 2009). Secara garis besar daerah spektrum dibagi dalam daerah ultraviolet (190 nm – 380 nm), daerah cahaya tampak (380 nm – 780 nm), daerah inframerah dekat (780 nm – 3000 nm), dan daerah inframerah (2,5 nm – 40 nm). Spektrum ultraviolet dan cahaya tampak suatu zat umumnya tidak mempunyai derajat spesifikasi tinggi, walaupun demikian spektrum tersebut sesuai untuk pemeriksaan kuantitatif dan untuk berbagai zat spektrum tersebut bermanfaat sebagai tambahan untuk identifikasi (Harmita 2006).

B. Kerangka Berfikir

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Chikmawati *et al.* (2012), beberapa jenis *Selaginella* yang berasal dari pulau Jawa mengandung bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, steroid, tanin dan saponin. Hasil penelitian Chai & Wong

(2012) menyebutkan daun *S. willdenowii* memiliki kandungan fenolik dan flavonoid. Kandungan fenol lebih besar pada *S. willdenowii* yang tumbuh di habitat hutan terbuka (Rindita *et al.* 2020) dan *S. willdenowii* yang diambil dari alam memiliki kandungan flavonoid cukup tinggi (Miftahudin dkk. 2015). Ekstrak daun *S. willdenowii* mengandung 4',7"-di-O-metilamenoflavon, isokriptomerin dan 7"-O-metilrobusta-flavon yang secara signifikan sitotoksik terhadap berbagai sel kanker (Silva *et al.* 1995).

Pada penelitian ini dilakukan kajian farmakognosi dan penetapan kadar flavonoid total dari ekstrak etanol 70% *S. wildenowii* yang tumbuh secara liar di wilayah Desa Gunung Malang Taman Nasional Gunung Halimun Salak (TNGHS). Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode ultrasonik, metode ini dipilih karena memiliki beberapa kelebihan diantaranya prosesnya mudah, dapat menghasilkan kadar flavonoid yang lebih tinggi dalam waktu yang lebih pendek (Jiang *et al.* 2018) serta sampel yang digunakan sedikit. Penggunaan sampel yang sedikit baik digunakan mengingat sampel merupakan tumbuhan liar yang diambil dari habitat aslinya dan harus dijaga populasi penyebarannya.

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

A. Tempat dan Jadwal Penelitian

1. Tempat penelitian

Pengambilan sampel di wilayah Desa Gunung Malang Kecamatan Tenjolaya Kabupaten Bogor, Taman Nasional Gunung Halimun Salak (TNGHS) Jawa Barat. Simplisia yang diperoleh diteliti lebih lanjut di Laboratorium Biologi Farmasi, Fitokimia dan Kimia Terpadu Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Jakarta Timur.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah mikroskop Eclipse E100 (Nikon), plat tetes, *cover glass*, *object glass*, pipa kapiler (Marienfeld), batang pengaduk, pipet tetes, mikropipet (DUMO), *beaker glass* (pyrex IWAKI), wadah cokelat, labu ukur (pyrex IWAKI), tabung reaksi (pyrex IWAKI), kaca arloji, botol timbang (IWAKI), krus, ayakan mesh 40, kertas saring, spatel, gelas ukur (Pyrex IWAKI), neraca analitik (OHAUS), *digital thermostatic water bath* (Thomas scientific), *muffle furnace Thermolyne*, oven (Mammert Un 110), *hot plate* (Akebonno) *aluminium foil*, ultrasonik *cleaning bath bransonik 2510* (Branson), *UV Lamp* (CAMAG), kuvet, kertas saring, *vacuum rotary evaporator* (Eyela), dan spektrofotometer UV-Vis UV-1900i (Shimadzu).

2. Bahan

Tumbuhan *S. willdenowii* diperoleh dari Taman Nasional Gunung Halimun Salak tepatnya di Desa Gunung Malang Kecamatan Tenjolaya Kabupaten Bogor, Jawa Barat dan dideterminasi di Herbarium Bogoriense-LIPI Cibinong. Adapun bahan lain yang digunakan meliputi etanol 70%, etanol 96%, aquadest, asam klorida, diklorometana, pereaksi dragendorff, mayer, bouchardat, wagner, amonia, asam sulfat 5%, asam nitrat 25%, kalium asetat, natrium hidroksida 5%, asam klorida 5%, besi (III) klorida 1%, eter, asam asetat anhidrat, *Magnesium Powder*, AlCl_3 , dan kuersetin.

C. Prosedur Penelitian

1. Pengambilan sampel untuk determinasi

Sampel *S. willdenowii* diambil dari Desa Gunung Malang Taman Nasional Gunung Halimun Salak. Pengambilan sampel spesimen basah dideterminasi dengan tujuan mengkonfirmasi kebenaran identitas simplisia. Determinasi dilakukan di Herbarium Bogoriense, Pusat Botani LIPI Bogor.

2. Pengumpulan Sampel dari TNGHS

Sampel *S. willdenowii* diambil sebanyak 2 Kg di desa Gunung Malang, Taman Nasional Gunung Halimun Salak, Jawa Barat. Pengambilan sampel dilakukan di vegetasi hutan terbuka pada ketinggian 1050 m. dpl dengan intensitas cahaya 5.490-20.000 lux, kelembaban udara 38,9-65,0%RH dengan suhu udara 28,2-37,5°C (Rindita *et al.* 2020).

3. Pembuatan simplisia

Tahap pertama pembuatan simplisia dari sampel segar adalah sortasi basah dengan membersihkannya dari pengotor, dibersihkan dengan air mengalir (pencucian), selanjutnya daun dikeringkan dengan cara diangin-anginkan hingga kering dan sortasi kering dilakukan. Simplisia dihaluskan dengan cara diremas kemudian diayak dengan menggunakan ayakan mesh no. 40, ditimbang kemudian dicatat hasilnya (Depkes RI 2008).

4. Pengamatan Organoleptis, Makroskopis dan Mikroskopis

a. Pengamatan Organoleptis

Pengamatan organoleptis dilakukan pada seluruh bagian dari simplisia *S. willdenowii* yang meliputi akar, batang dan daun (Depkes RI 2008). Selain pada simplisia, pemeriksaan dilakukan juga pada ekstrak. Pemeriksaan ini dilakukan menggunakan panca indera yang meliputi pengamatan pada bentuk, warna, aroma, dan rasa (Depkes RI 2000).

b. Pengamatan Makroskopik

Pengamatan makroskopis dilakukan dengan tujuan untuk menentukan ciri khas dari morfologi tanaman *S. willdenowii* yang ditentukan dengan cara pengamatan secara langsung berdasarkan ciri-ciri dari *S. willdenowii*. Pengamatan makroskopis dilakukan pada sampel yang masih segar (Depkes RI 2008). Daun diamati dengan melihat bentuk daun, tepi daun, tulang daun, ujung, pangkal, halus

kasarnya permukaan daun (Eliyanoor 2012), ukuran dan letak pada batang (Winter & Jansen 2003). Akar dilihat jenisnya dan diamati posisinya dan batang diamati arah tumbuhnya (Winter & Jansen 2003).

c. Pengamatan Mikroskopik

Bagian tanaman daun dan batang yang masih segar dipotong melintang kemudian dilihat menggunakan alat mikroskop. Untuk serbuk simplisia dilakukan penghalusan terlebih dahulu kemudian diletakkan pada kaca objek, ditetesi dengan aquadest dan ditutup dengan *cover glass*, lalu diamati di bawah mikroskop dan didokumentasikan (Depkes RI 2008). Anatomi dari sampel segar tumbuhan diamati, pada daun seperti epidermis atas, epidermis bawah, stomata, jaringan daun, pada batang diamati kutikula, epidermis, gabus, kambium gabus, parenkim kortes, serabut sklerenkim, dan parenkim empulur. Pada akar dapat diamati serat sklerenkim, parenkim korteks, dan penampang transversal (Heinrich *et al.* 2009).

5. Pembuatan Ekstraksi Etanol 70% dengan Metode Ultrasonik

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode ultrasonik. Ultrasonik dilakukan selama 40 menit dengan menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:12,5 b/v. Ekstraksi gelombang ultrasonik dilakukan dengan menggunakan ultrasonik *cleaning bath bransonik* 2510. Hasil ekstraksi disaring dengan kertas saring, kemudian dipekatkan dengan cara penguapan dengan menggunakan *rotary evaporator* untuk memisahkan antara pelarut dengan senyawa aktif dalam sampel, kemudian dipekatkan kembali menggunakan *waterbath* hingga didapatkan ekstrak kental (Jiang *et al.* 2018).

6. Perhitungan Rendemen

Perhitungan rendemen dilakukan dengan cara menghitung berat ekstrak kering yang didapat terhadap berat serbuk kering sebelum dilakukan ekstraksi kemudian dikalikan 100% (Depkes RI 2008). Rendemen dihitung dengan menggunakan persamaan 2.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat serbuk simplisia kering}} \times 100 \% \dots\dots\dots(2)$$

7. Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui komponen kimia yang terkandung dalam ekstrak etanol 70% *S. willdenowii* yang meliputi pengujian

terhadap adanya kandungan fenolik, alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid dan steroid.

a. Identifikasi Fenol

Sebanyak 0,1 g ekstrak dilarutkan dengan etanol, ditambahkan dengan 1 ml FeCl_3 . Hasil positif akan terbentuk warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat (Hanani 2015).

b. Identifikasi Alkaloid

Sebanyak 0,1 g ekstrak dilarutkan dengan etanol, ditambahkan 1 ml HCl 2N, kemudian ditambahkan 9 ml aquadest, dipanaskan selama 2 menit, lalu didinginkan dan disaring, kemudian ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi mayer, dragendorff, bouchardat (Hanani 2015) dan wagner ke dalam filtrat (Djoranga dkk. 2014). Hasil positif akan ditandai dengan terbentuk endapan berwarna putih kekuningan pada pereaksi mayer, adanya kekeruhan atau endapan cokelat pada pereaksi dragendorff, endapan cokelat sampai hitam pada pereaksi bouchardat dan endapan cokelat hingga kuning pada pereaksi wagner.

c. Identifikasi Flavonoid

Sebanyak 0,1 g ekstrak ditambahkan 2 ml etanol, dipanaskan lalu disaring, ditambahkan 10 tetes HCl pekat ke dalam filtrat, dan 0,1 g logam Mg. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna merah (Hanani 2015).

d. Identifikasi Saponin

Sebanyak 0,1 g ekstrak dilarutkan dengan etanol, ditambahkan 10 ml air panas, dikocok kuat selama 10 detik sampai terbentuk buih setinggi 1-10 cm, ditambahkan 1 tetes HCl 2N. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya buih dan buih tidak hilang (Hanani 2015).

e. Identifikasi Tanin

Sebanyak 0,1 g ekstrak dilarutkan dengan etanol, ditambahkan dengan 1% gelatin dalam 10% NaCl. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan putih (Hanani 2015).

f. Identifikasi Terpenoid/Steroid

Sebanyak 0,1 g ekstrak dilarutkan dengan 5 ml etanol, dipanaskan lalu didinginkan dan disaring. Filtrat diuapkan sampai kental, ditambahkan 3 tetes eter, 3 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat (Hanani 2015).

8. Pemeriksaan Parameter Fisikokimia

a. Kadar Air

Pengujian kadar air dilakukan dengan metode gravimetri. Sebanyak 2,0 g ekstrak ditimbang dalam botol timbang dangkal bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu penetapan dan ditara. Ekstrak diratakan dalam botol timbang dengan menggoyangkan botol, dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105° C. Setelah dipanaskan dalam oven, botol dalam keadaan tertutup dimasukkan ke dalam desikator dan dibiarkan hingga suhu ruang, kemudian ditimbang (Depkes RI 2008). Kadar air dihitung menggunakan persamaan 3.

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{(w1 - w0) - (w2 - w0)}{(w1 - w0)} \times 100\% \dots \dots \dots (3)$$

Keterangan :

W0 = botol timbang kosong (gram)

W1 = botol timbang + sampel awal (gram)

W2 = botol timbang + sampel akhir (gram)

b. Kadar Abu Total

Sebanyak 2,0 g ekstrak dimasukkan dalam krus silikat yang telah dipijar dan ditara, dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, kemudian didinginkan dan ditimbang (Depkes RI 2008). Kadar abu total dihitung terhadap berat bahan uji b/b seperti pada persamaan 4.

$$\text{Kadar Abu Total (\%)} = \frac{\text{Bobot abu}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\% \dots \dots \dots (4)$$

c. 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 disaring menggunakan kertas saring, kemudian dicuci dengan air panas, dipijarkan dalam krus hingga bobot tetap. Kadar abu tidak larut dalam asam dihitung terhadap berat uji, dan dinyatakan dalam % b/b (Depkes RI 2008). Kadar abu tidak larut asam dihitung seperti pada persamaan 5.

$$\frac{\text{bobot abu tidak larut asam}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\% \dots \dots \dots (5)$$

d. Kadar Sari Larut Air

Sebanyak 5,0 g serbuk ditimbang seksama, dimasukkan ke dalam labu bersumbat, ditambahkan 100 mL air jenuh kloroform, dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama, dan dibiarkan selama 18 jam. Hasil kemudian disaring, sebanyak 20 ml filtrat diuapkan dalam cawan yang telah dipanaskan 105°C hingga didapat bobot tetap (Depkes RI 2008). Kadar sari larut air dihitung dalam % seperti pada persamaan 6.

$$\text{Kadar sari larut air (\%)} = \frac{\text{bobot sari larut air}}{\text{bobot serbuk}} \times \frac{100}{20} \times 100\% \dots \dots \dots (6)$$

e. Kadar Sari Larut etanol

Sebanyak 5,0 g serbuk ditimbang seksama, dimasukkan ke dalam labu bersumbat, ditambahkan 100 mL etanol 95% P, dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama, dibiarkan selama 18 jam. Hasil kemudian disaring, sebanyak 20 ml filtrat diuapkan dalam cawan yang telah dipanaskan 105°C hingga didapat bobot tetap (Depkes RI 2008). Kadar sari larut etanol dihitung dalam % seperti pada persamaan 7.

$$\text{Kadar sari larut etanol (\%)} = \frac{\text{bobot sari larut etanol}}{\text{bobot serbuk}} \times \frac{100}{20} \times 100\% \dots \dots \dots (7)$$

9. Pemeriksaan Pola Kromatogram

Kertas saring ditempatkan dalam bejana kromatografi, tinggi kertas saring 9 cm dan lebar 1 cm, larutan diklorometana : metanol dimasukkan dengan perbandingan 9,75:0,25 ke dalam bejana kromatografi, hingga tinggi 0,5-1 cm dari dasar bejana. Bejana ditutup kedap dan dibiarkan hingga kertas saring basah seluruhnya. Kertas saring harus selalu tercelup ke dalam larutan yang ada dalam bejana. Prosedur KLT dilakukan pada bejana jenuh.

Lempeng plat silika gel 60 GF₂₅₄ dibuat tinggi 9 cm dan lebar 1 cm yang diberi garis dasar bagian bawah 1 cm dari ujung lempeng dan garis akhir 0,5 cm di bagian atas. Ekkstrak etanol 70% *S. willdenowii* ditotolkan pada lempeng KLT menggunakan pipa kapiler sejajar di atas garis dasar. Lempeng KLT dimasukkan ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan. Bejana ditutup dan dibiarkan sampai fase gerak naik mencapai tanda batas atas. Kemudian hitung nilai R_f (Depkes RI 2008). Nilai R_f dihitung sesuai dengan persamaan 1.

10. Karakteristik Fluoresensi

Serbuk simplisia dan ekstrak etanol 70% diteteskan pada plat tetes dan masing-masing ditetesi dengan pereaksi. Pereaksi yang digunakan adalah metanol, asam klorida 2N, asam sulfat 50%, asam nitrat 50%, natrium hidroksida 50% dan amonium hidroksida. Dilihat perubahan warna yang terjadi menggunakan sinar tampak dan menggunakan sinar UV dengan panjang gelombang 366 nm. Karakteristik fluoresensi masing-masing sampel diamati perubahan warnanya (Kokoski 1958).

11. Penetapan Kadar Flavonoid Total

a. Pembuatan Larutan Induk Kuersetin

Sebanyak 10,0 mg kuersetin dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, dilarutkan dengan etanol 95% sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm.

b. Pembuatan Larutan Blanko

Larutan blanko dalam penelitian ini menggunakan 1,5 ml etanol 95%, 0,1 ml $AlCl_3$ 10%, 0,1 ml kalium asetat 1 M, dan dicukupkan dengan aquadest sampai dengan 5 ml dalam labu ukur 5 ml (Chang *et al.* 2002).

c. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan induk 1000 ppm dibuat konsentrasi 50 ppm dengan memipet 0,25 mL dan volume dicukupkan sampai 5 ml dengan etanol 95% sehingga didapat konsentrasi 50 ppm. Kemudian dari larutan 50 ppm dipipet 1 ml ditambahkan etanol 95% sebanyak 1,5 ml, 0,1 ml $AlCl_3$ 10%, 0,1 ml potasium asetat 1 M, dan 2,8 ml aquadestilata, dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml, dikocok sampai homogen, dan diinkubasi selama 30 menit. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang pada kisaran 400-800 nm (Chang *et al.* 2002). Nilai absorbansi mengikuti hukum Lambert Beer berkisar 0,2-0,8.

d. Pembuatan Operating Time

Penentuan operating time dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 ml larutan dengan konsentrasi 50 ppm, ditambahkan 1,5 ml etanol 95%, 0,1 ml $AlCl_3$ 10%, 0,1 ml kalium asetat 1 M, dan 2,8 ml aquadestilata dikocok sampai

homogen (Chang *et al.* 2002). Absorbansinya dibaca pada panjang gelombang 432 nm selama 0-120 menit hingga diperoleh absorbansi yang relatif konstan.

e. Pembuatan Larutan Seri Standar Kuersetin

Dari larutan kuersetin 1000 ppm dibuat menjadi 7 konsentrasi dengan cara memipetkan larutan induk sebanyak 0,105 ml; 0,155 ml; 0,205 ml; 0,255 ml; 0,305 ml; 0,355 ml dan 0,405 ml ke dalam labu ukur 5 ml menggunakan mikropipet, dicukupkan volumenya dengan etanol 95% sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 21, 31, 41, 51, 61, 71, dan 81 ppm.

f. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Pembuatan kurva kalibrasi dilakukan dengan cara hasil larutan standar 21, 31, 41, 51, 61, 71, dan 81 ppm masing-masing dipipet sebanyak 1 ml, dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml dan ditambahkan 1,5 ml etanol 95%, 0,1 ml AlCl₃ 10%, 0,1 ml kalium asetat 1 M, dan 2,8 ml aquadestilata dikocok sampai homogen (Chang *et al.* 2002). Larutan diinkubasi pada suhu kamar selama 90 menit kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 432 nm menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

g. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Sebanyak 0,100 g ekstrak ditambahkan etanol 95% sampai dengan volume 10 ml. Dari larutan tersebut dipipet 5 ml dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml kemudian ditambahkan etanol 95% sampai tanda batas sehingga didapat pengenceran 5000 ppm. Larutan tersebut kemudian dipipet 1 ml dan ditambahkan 1,5 ml etanol 95%, 0,1 ml AlCl₃ 10%, 0,1 ml kalium asetat 1 M, dan 2,8 ml aquadestilata (Chang *et al.* 2002). Larutan diinkubasi selama 90 menit dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 432 nm menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Kadar flavonoid total dinyatakan sebagai mg kuersetin/g ekstrak seperti pada persamaan 8.

$$Flavonoid\ total = \frac{C \times V \times Fp}{m} \dots \dots \dots (8)$$

Keterangan :

- C = Kesetaraan Kuersetin (mg/ml)
- V = Volume total ekstrak etanol (ml)
- Fp = Faktor Pengenceran
- m = Berat sampel (g)

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Determinasi Tumbuhan Paku Rane

Berdasarkan hasil determinasi yang telah dilakukan di Herbarium Bogoriense Pusat Botani LIPI Bogor dapat dilihat pada Lampiran 2, sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Selaginella willdenowii* (Desv. ex Poir.) Baker (Famili Selaginellaceae). Determinasi bertujuan untuk mengkonfirmasi kebenaran identitas tumbuhan yang akan diuji kandungannya. Tumbuhan paku (Pteridophyta) dikelompokkan dalam satu divisi yang jenis-jenisnya telah jelas dan dapat dibedakan dalam tiga bagian pokoknya yaitu akar, batang, dan daun yang dapat dibedakan menjadi dua bagian utama yaitu organ vegetatif yang terdiri dari akar batang, rimpang dan daun serta organ generatif yang terdiri atas spora, sporangium, anteridium dan arkegonium. Menurut Bidlak & Jansky (2011), tumbuhan paku-pakuan memiliki empat klasifikasi yaitu Psilotophyta, Equisetophyta, Polypodiophyta dan Lycophyta.

Salah satu jenis dari klasifikasi Lycophyta adalah *Selaginella* yang sering dikenal dengan *spike moss* lumut. *Selaginella* cenderung bercabang lebih banyak dan dapat dikenali dengan dua perbedaan yang sangat jelas, yaitu: daunnya masing-masing memiliki ukuran yang sangat kecil berbentuk seperti lidah (*ligule*) dan menghasilkan berbagai jenis spora. *S. willdenowii* tumbuh merambat dengan daun berwarna hijau berukuran sangat kecil dan tersusun melingkari bagian batang dengan kedudukan daun berseling. Pada jenis *S. willdenowii*, sporangium terkumpul dalam bentuk strobilus yang dilapisi indusium yang terletak di ujung daun. Akar *S. willdenowii* dekat percabangan batangnya memiliki rizofora (pendukung akar), bentuk dari rizofora tidak berdaun dan tidak berwarna (Winter & Jansen 2003).

B. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di Desa Gunung Malang Taman Nasional Gunung Halimun Salak. Sampel diambil langsung dari habitat aslinya pada vegetasi hutan terbuka pada ketinggian 1050 meter di atas permukaan laut (m. dpl.) dengan kisaran intensitas cahaya 5.490-20.000 lux, kelembaban udara 38,9-65,0%RH dengan suhu udara 28,2-37,5°C (Rindita *et al.* 2020). Menurut Ibrahim

& Jafaar (2012), paparan sinar matahari akan meningkatkan produksi metabolit sekunder pada tumbuhan. Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan Rindita *et al.* (2020) tumbuhan *S. willdenowii* memiliki kadar fenolik dan antioksidan yang lebih tinggi pada vegetasi hutan terbuka dibandingkan dengan *S. willdenowii* yang tumbuh pada hutan tenaung. Diharapkan sampel yang diambil dari vegetasi hutan terbuka ini dapat memiliki kandungan flavonoid yang tinggi. Adapun flavonoid merupakan kelompok terbesar senyawa fenolik.

C. Pengamatan Organoleptis, Makroskopik dan Mikroskopik

1. Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis ini dilakukan pada serbuk dan ekstrak secara visual mengenai bentuk, warna, bau, dan rasa. Diperoleh hasil serbuk kering dengan warna hijau kekuningan dengan bau yang khas dan berasa khas. Pada ekstrak didapat hasil dengan konsistensi kental, warna coklat kehitaman, berbau khas dan berasa hambar. Pemeriksaan organoleptis ini bertujuan memberikan pengenalan awal secara sederhana dan objektif yang dilakukan dengan menggunakan panca indra. Hasil Pemeriksaan organoleptis yang diperoleh pada penelitian ini terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Organoleptis Paku Rane

Pemeriksaan	Hasil	
	Serbuk	Ekstrak
Bentuk	Serbuk kering	ekstrak kental
Warna	Hijau kekuningan	Cokelat kehitaman
Aroma	Khas	Khas
Rasa	Hambar	Hambar

Pemeriksaan organoleptis dilakukan secara visual mengenai bentuk, warna, bau, dan rasa. Diperoleh hasil serbuk kering dengan warna hijau kekuningan dengan bau yang khas dan berasa khas. Pada ekstrak didapat hasil dengan konsistensi kental, warna coklat kehitaman, berbau khas dan berasa hambar. Pemeriksaan organoleptis ini bertujuan memberikan pengenalan awal secara sederhana dan objektif yang dilakukan dengan menggunakan panca indra.

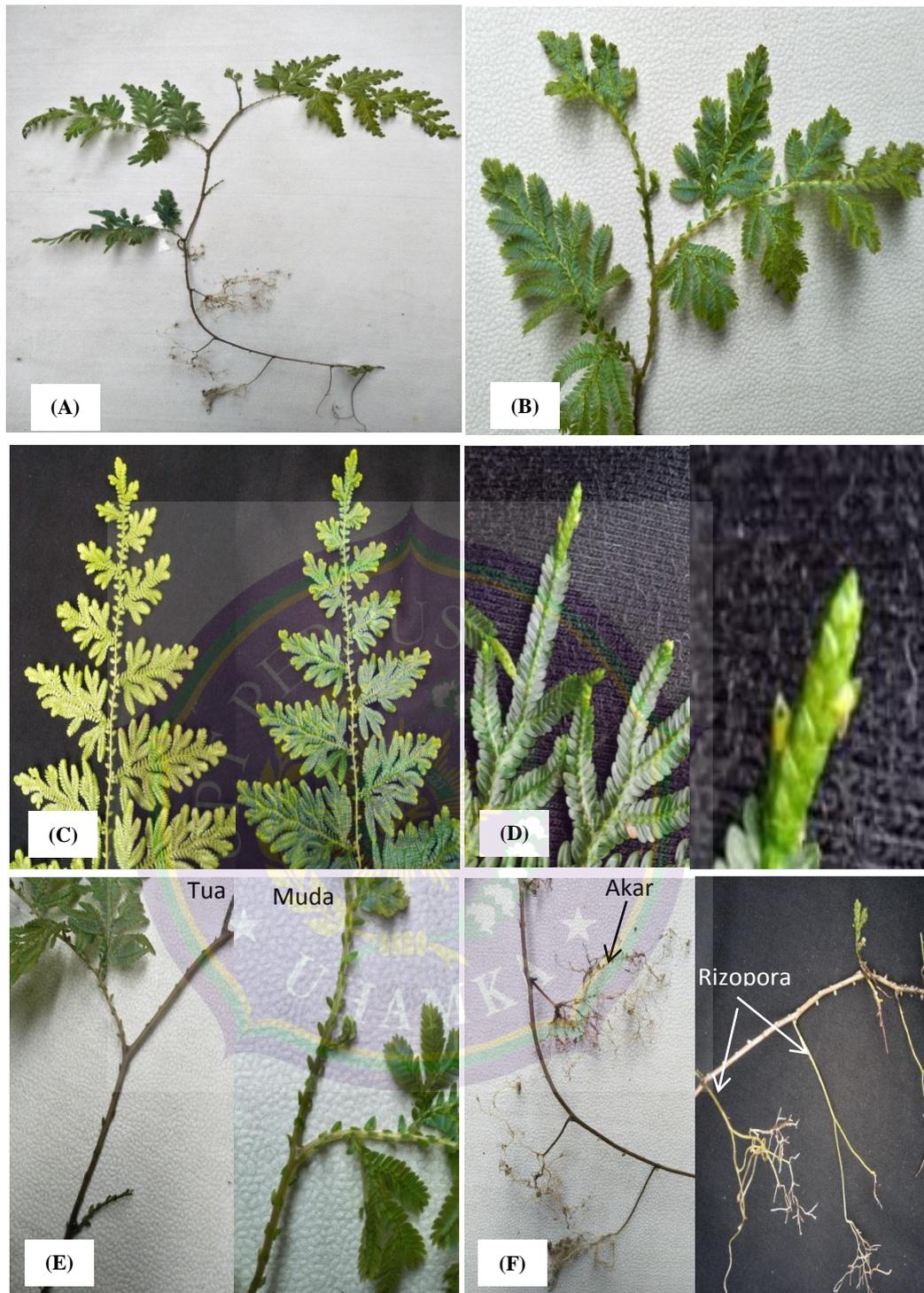
2. Makroskopik

Pemeriksaan makroskopik dilakukan secara visual pada paku rane mulai dari daun, batang hingga akar. Pemeriksaan ini dilakukan untuk menentukan karakteristik identitas dan kemurnian simplisia sebelum dilakukan pemeriksaan selanjutnya. Hasil pengamatan makroskopis dapat dilihat pada Gambar 3.

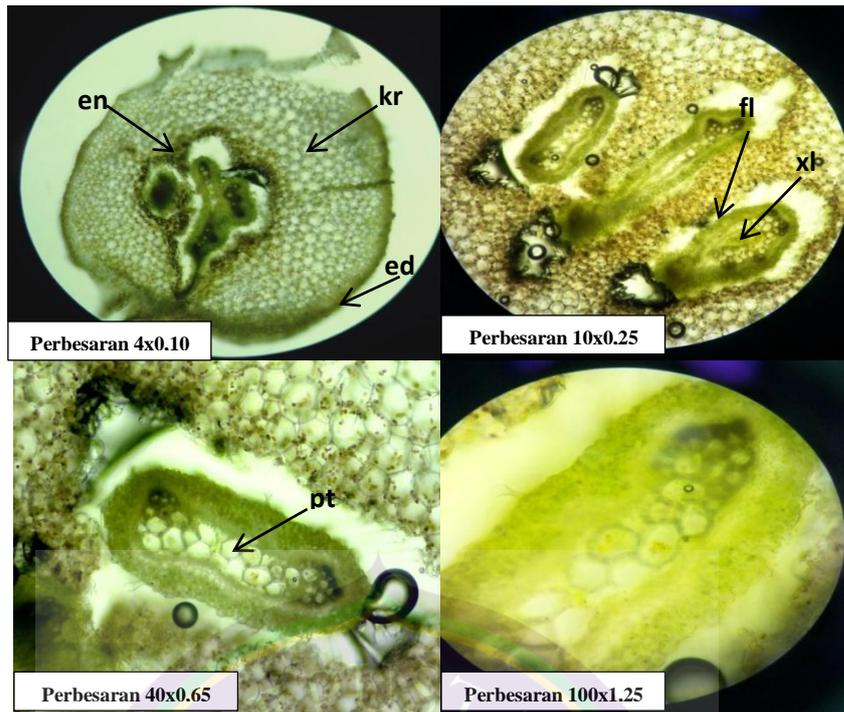
Pada pengamatan makroskopis yang telah dilakukan didapat hasil paku rane mempunyai tinggi yang bervariasi, pada tumbuhan yang masih muda tinggi rata-rata 50 cm, hidup berumpun dan menjalar serta terdapat percabangan yang tersusun di bagian kiri dan kanan batang (Gambar 3A). Pada batang tersusun daun-daun kecil yang dikenal dengan istilah daun mikrofil (Gambar 3B). Daun paku rane tersusun saling berhadapan dan berukuran kecil, berwarna hijau-kekuningan (Gambar 3C) dan pada ujung daunnya terdapat strobilus yang tersusun dari kotak-kotak sporangium membentuk kerucut (Gambar 3D), hal ini sesuai dengan yang disebutkan Purnawati *et al.* (2014). Pada penelitian yang dilakukan Rindita *et al.* (2020), *S. willdenowii* pada hutan ternaung memiliki warna daun hijau dengan nyala kebiruan, hal ini terjadi karena *S. willdenowii* dapat memodifikasi kloroplas untuk mendorong eksploitasi sinar matahari dengan membentuk struktur optik non-pigmen (Fox & Wells 1971). Batang berbentuk bulat sedikit berair dengan warna cokelat pada batang yang tua dan berwarna hijau pada batang yang masih muda (Gambar 3E). Pada batang percabangan akarnya terdapat rizopora (Gambar F) sesuai dengan yang disebutkan Winter & Jansen (2003) yang menyebutkan bahwa akar dari paku rane dekat percabangan batangnya memiliki rizofora (pendukung akar), bentuk dari rizofora tidak berdaun dan akar merupakan jenis akar serabut berwarna putih keabua-abuan.

3. Mikroskopik

Pemeriksaan mikroskopis dilakukan pada penampang melintang paku rane segar yaitu pada daun, batang, akar, spora serta serbuk simplisia. Hasil pemeriksaan mikroskopis *S. willdenowii* dapat dilihat pada Gambar 4 sampai dengan Gambar 8.

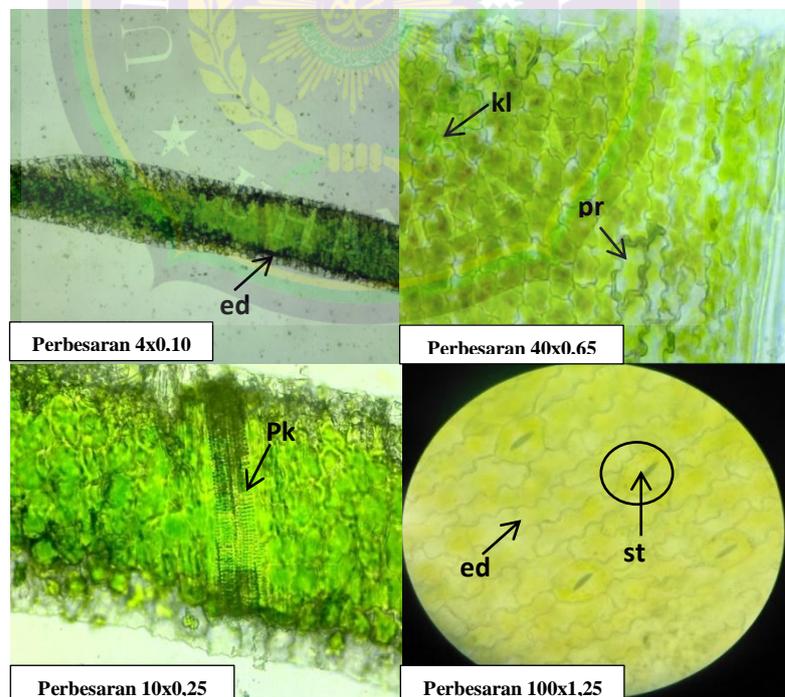


Gambar 3. Hasil Pengamatan Makroskopis *S.willdenowii* : (A) Habitus *S. willdenowi*, (B) letak daun mikrofil pada batang, (C)Perbedaan warna permukaan atas (kanan) dan bawah (kiri) daun. (D) Strobilus pada ujung daun, (E) Perbedaan warna batang mudan dan tua, (F) Letak Rhizopora pada batang



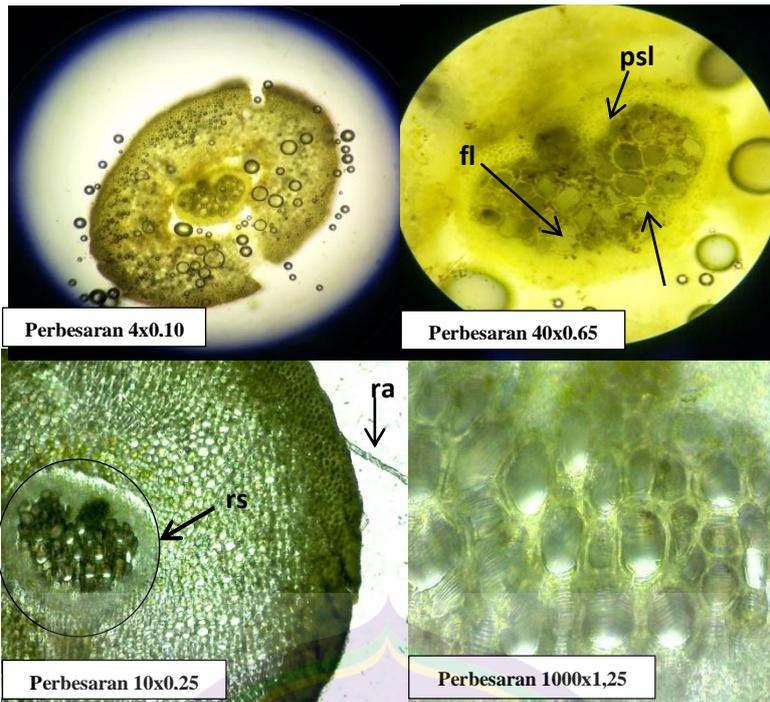
Ket : (en) endodermis, (ed) epidermis, (kr) korteks, (fl) floem), (xl) xylem, (pt) pith

Gambar 4. Hasil Mikroskopik Penampang Melintang Batang



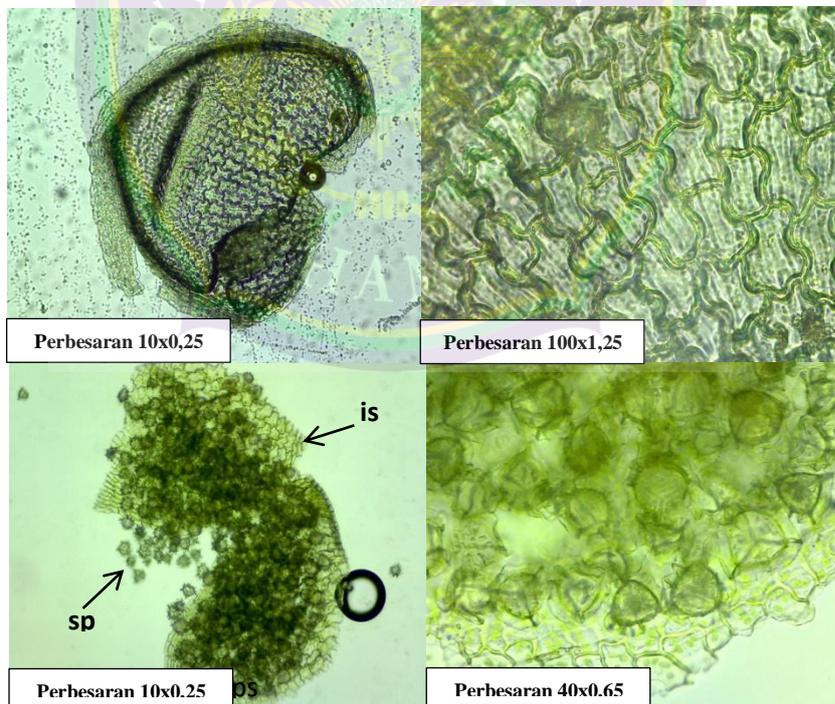
Ket : (ed) Epidermis, (kl) kloroplas, (pr) parenkim, (pk) Pembuluh Kayu, (st) Stomata tipe anomositik

Gambar 5. Hasil Mikroskopik Penampang Melintang Daun



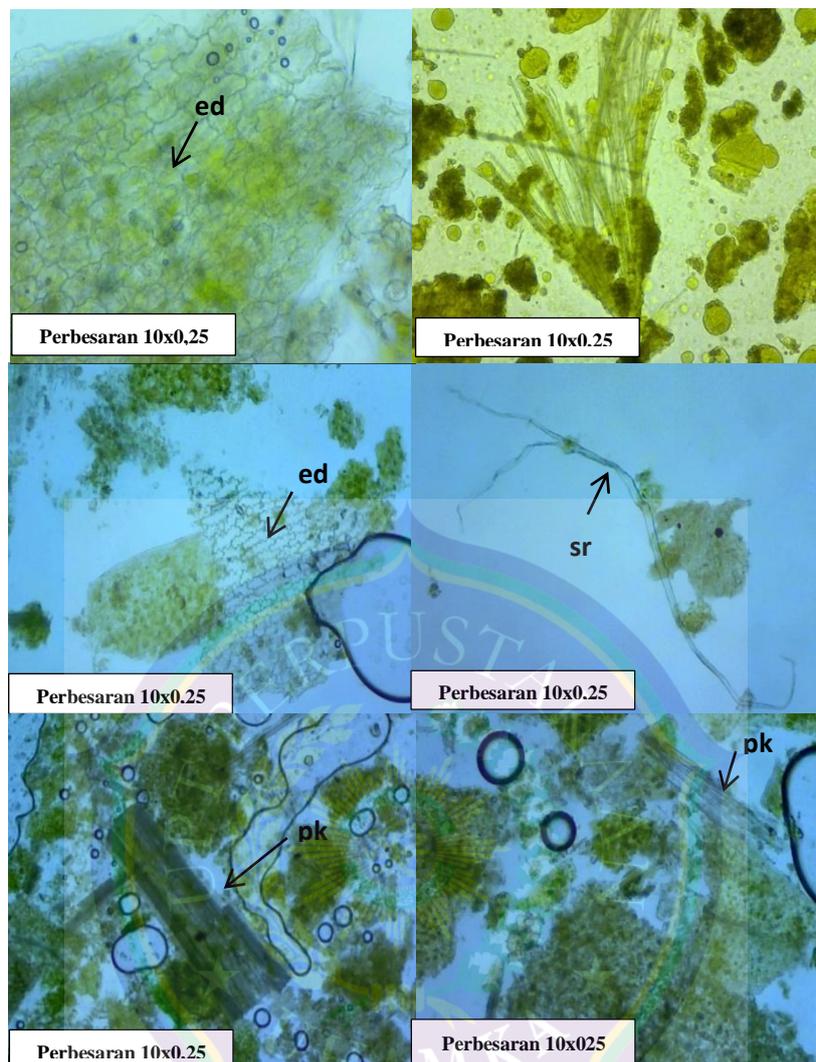
Ket : (psl) perisikel, (fl) floem, (xl) xylem, (ra) rambut akar, (rs) rizopora stele/silinder pusat

Gambar 6. Hasil Mkroskapis Rizopora *S. willdenowii*



Ket : sg (sporangium), (sp) spora, (in) indisium

Gambar 7. Hasil Mikroskopis Spora



Ket : (ed) Sel Epidermis, (sr) Serabut (pk) pembuluh kayu
Gambar 8. Hasil Mikroskopis Serbuk *S. willdenowii*

Dari pemeriksaan mikroskopis ini didapat hasil beberapa fragmen yang teridentifikasi. Hasil mikroskopis penampang melintang paku rane bagian tumbuhan batang *S. willdenowii* segar yang dipotong melintang ditemukan sel endodermis, sel epidermis, korteks, floem, xylem dan pith. Pada bagian daun ditemukan pembuluh kayu dengan penebalan spiral, sel epidermis, stomata tipe anomositik, parenkim dan kloroplas. Pada serbuk ditemukan serabut, sel epidermis dan pembuluh kayu. Pada bagian rizopora ditemukan perisikel, floem, xylem, rambut akar, rhizopora stele/silinder pusat. Pada bagian spora ditemukan sporangium, spora dan indisium.

D. Hasil Ekstraksi

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode ultrasonik menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 12,5 b/v dengan suhu 37°C selama 40 menit (Jiang *et al.* 2018). Penggunaan pelarut etanol 70% pada ekstraksi ini karena sifat yang dimiliki pelarut etanol 70% yang mampu melarutkan hampir semua zat, baik yang bersifat polar maupun non polar (Voigt 1994). Rendemen yang dihasilkan pada penelitian ini sebesar 18,4064% b/b, cara ekstraksi dapat mempengaruhi besar kecilnya suatu rendemen. Pada penelitian ini digunakan ekstraksi dengan metode ultrasonik karena metode ultrasonik diketahui memiliki kelebihan dapat menghasilkan flavonoid yang lebih tinggi dalam waktu yang lebih pendek, dapat mengurangi penggunaan pelarut dibandingkan dengan ekstraksi menggunakan metode soxhlet, perkolasi dan reflux, selain itu serbuk yang digunakan relatif sedikit (Jiang *et al.* 2018).

Hasil pembuatan simplisia rendemen ekstrak etanol 70% paku rane yang diperoleh pada penelitian ini terdapat pada Tabel 2 dan Lampiran 3.

Tabel 2. Hasil Proses Ekstraksi

Jenis	Hasil
Basah	2,021 kg
Kering	978 g
Serbuk	470 g
Serbuk yang digunakan	250 g
Ekstrak kental	45,7659 g
% Rendemen	18,3064%

E. Penapisan Fitokimia

Identifikasi golongan senyawa kimia yang terkandung dalam paku rane dilakukan dengan menggunakan pereaksi kimia (warna dan endapan). Berdasarkan hasil identifikasi menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% paku rane memiliki kandungan senyawa fenolik, alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Penapisan fitokimia dalam penelitian ini dilakukan terhadap ekstrak etanol 70% Paku Rane. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada Tabel 3 dan Lampiran 4.

Tabel 3. Hasil identifikasi Ekstrak Paku Rane

Pengujian	Pereaksi	Hasil dan Keterangan
Fenolik	FeCl ₃	+ Hitam pekat
Alkaloid	Dragendorff	+ Jingga kecokelatan
	Bouchardat	+ endapan
	Mayer	+ endapan putih
	Wagner	+ endapan
Flavonoid	Metanol + HCl (p) + Mg	+ jingga kemerahan
Tanin	FeCl ₃ Gelatin	+ Endapan hijau
Saponin	Aquadest, didinginkan & dikocok, lalu + HCl 2N	+ Buih tidak hilang
Triterpenoid Steroid	Eter + as. Asetat anhidrat + H ₂ SO ₄	- Triterpen : Hijau kecokelatan
		- steroid warna hijau kecokelatan tidak terbentuk lapisan cincin
Keterangan	:(+) menyatakan hasil positif mengidentifikasi.	mengandung senyawa yang
	(-) menyatakan hasil negatif mengidentifikasi	mengandung senyawa yang

Pada uji fenol didapatkan hasil positif yang ditandai terbentuknya warna hitam pekat pada ekstrak ketika tambahkan dengan pereaksi FeCl₃. Hasil positif pada alkaloid ditandai dengan adanya endapan ketika ditetesi pereaksi dragendorff, bouchardat, mayer dan wagner. Pembentukan endapan putih pada pereaksi mayer dan endapan jingga hingga merah pada pereaksi dragendorff terjadi karena terbentuknya senyawa kompleks yang tidak larut. Adanya endapan ketika ditetesi bouchardat dan wagner menandakan adanya alkaloid walaupun warna endapan tidak terlalu signifikan. Pada identifikasi flavonoid hasil positif ditandai dengan perubahan warna. Setelah ditambah air panas akan diperoleh filtrat yang akan ditambahkan serbuk Mg yang terlihat larut, dilanjutkan dengan penambahan HCl pekat. Penambahan serbuk Mg digunakan sebagai pereduksi, proses reduksi tersebut dilakukan dalam suasana asam dengan HCl pekat. Proses reduksi dengan Mg dan HCl pekat menghasilkan warna jingga kemerahan. Pada uji tanin didapatkan hasil negatif pada pereaksi FeCl₃ dengan ditandai tidak terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak etanol 70% paku rane, kemudian pada penambahan gelatin didapatkan hasil positif dengan terbentuknya endapan hijau. Pada identifikasi saponin yang merupakan identifikasi sederhana

dimana setelah ditambahkan air panas kemudian dilakukan pengocokan yang akan terbentuk buih pada permukaan. Hasil yang diperoleh terbentuk buih karena sifat dasar saponin yang membentuk larutan koloidal dalam air dan membentuk buih ketika dilakukan pengocokan. Pada identifikasi triterpenoid dan steroid menggunakan pereaksi asam asetat anhidrat dan H₂SO₄ pekat. Penggunaan asam sulfat guna memberikan suasana asam sehingga menghasilkan perubahan warna, asam asetat anhidrat digunakan untuk membentuk adanya turunan asetil yang terdapat pada steroid. Hasil dari identifikasi ini tidak ditemukan adanya triterpen dan steroid, karena hasil tidak menunjukkan warna merah sampai ungu ataupun terbentuknya lapisan.

Dari beberapa senyawa yang telah diuji, dapat disimpulkan bahwa senyawa yang terkandung tidak sepenuhnya sesuai dengan literatur yang mana tanaman raku rane ini diketahui mengandung senyawa kimia antara lain yaitu flavonoid, tanin, saponin (Miftahudin *et al.* 2015), alkaloid dan steroid (Chikmawati *et al.* 2012). Fenolik dan flavonoid Chai & Wong (2012), sementara pada pengujian ini tidak didapat hasil positif steroid, hal ini dapat terjadi karena perbedaan metode ekstraksi yang pada penelitian sebelumnya menggunakan metode infusa dengan pelarut akuades.

F. Hasil Parameter Fisikokimia

a. Kadar Air

Pengujian kadar air bertujuan untuk memberikan batasan maksimal besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Depkes RI 2000). Pada uji kadar air dilakukan pengukuran sisa zat setelah pengeringan pada suhu 105°C selama 30 menit atau sampai bobot konstan. Pada suhu 105°C ini, air akan menguap dan senyawa-senyawa yang mempunyai titik didih yang lebih rendah dari air akan ikut menguap. Hasil pengujian kadar air ini diperoleh sebesar 6,31%. Sedangkan pada literatur lain, tumbuhan *Selaginella* sp. yang memiliki genus sama dengan *Selaginella willdenowii* memiliki kadar air berkisar 17-25% (Anggelina dkk. 2014). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, hasil pengujian lebih bagus daripada literatur. Hal ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti prosedur pengerjaan, proses ekstraksi atau asal tempat pengambilan

sampel. Dengan mengetahui kadar dapat memberikan batasan maksimal mengenai besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Depkes 2000).

b. Kadar Abu Total dan Abu Tidak Larut Asam

Kadar abu adalah jumlah zat anorganik yang tersisa dalam sampel yang terdestruksi. Kandungan abu tergantung pada jenis bahan dan cara pengabuannya. Untuk mengetahui kadar abu ditentukan dengan cara mengabukan atau membakar sampel dalam tanur pada suhu 500-600°C hingga sampel berubah menjadi abu. Kadar abu ada kaitannya dengan mineral suatu bahan yang mana dapat berupa gram organik atau anorganik. Selain itu, kadar abu dapat menunjukkan kelayakan suatu sampel untuk melakukan pengolahan selanjutnya. Kadar abu total ekstrak paku rane pada penelitian ini diperoleh sebesar 2,5877% dan kadar abu tidak larut asam sebesar 0,47%. Hasil yang didapat cukup rendah jika dibandingkan dengan literatur hasil kadar abu total berkisar antara 10-25% (Anggelina dkk. 2014). Hasil kadar abu total yang didapat menunjukkan bahwa ekstrak yang diuji masih mengandung mineral, sedangkan adanya kadar abu yang tidak larut asam menunjukkan adanya pengotor lain pada ekstrak yang disebabkan karena kurang bersih pada proses sortasi basah dan pencucian (Indriyanti dkk. 2018).

c. Kadar Sari Larut Air dan Sari Larut Etanol

Uji kadar sari larut air dan larut etanol dilakukan untuk mengetahui sampel dapat terlarut lebih banyak dalam pelarut air atau etanol. Air dan etanol merupakan pelarut yang diperbolehkan dan memenuhi syarat kefarmasian. Penggunaan pelarut air dimaksudkan untuk melarutkan senyawa polar dan etanol untuk melarutkan senyawa yang kurang polar yang terdapat dalam ekstrak. Parameter ini dapat memberikan informasi berupa jumlah kandungan senyawa yang dapat diekstraksi (Saifudin, 2011). Hasil pengujian kadar sari larut air diperoleh sebesar 6,85% dan sari larut etanol sebesar 15,14%, terdapat perbedaan antara hasil pengujian sari larut air dengan literatur, pada tumbuhan *Selaginella* sp. yang memiliki genus sama dengan *Sellaginella willdenowii* memiliki kadar sari larut air berkisar 10,27-28,85%. Pada hasil pengujian sari larut etanol sesuai dengan literatur yaitu berkisar 14,3-20,84% (Anggelina dkk. 2014). Hasil dari

pengujian parameter fisikokimia pada ekstrak etanol 70% *Selaginella willdenowii* dapat dilihat pada Tabel 4 dan Lampiran 5, 6 dan 7.

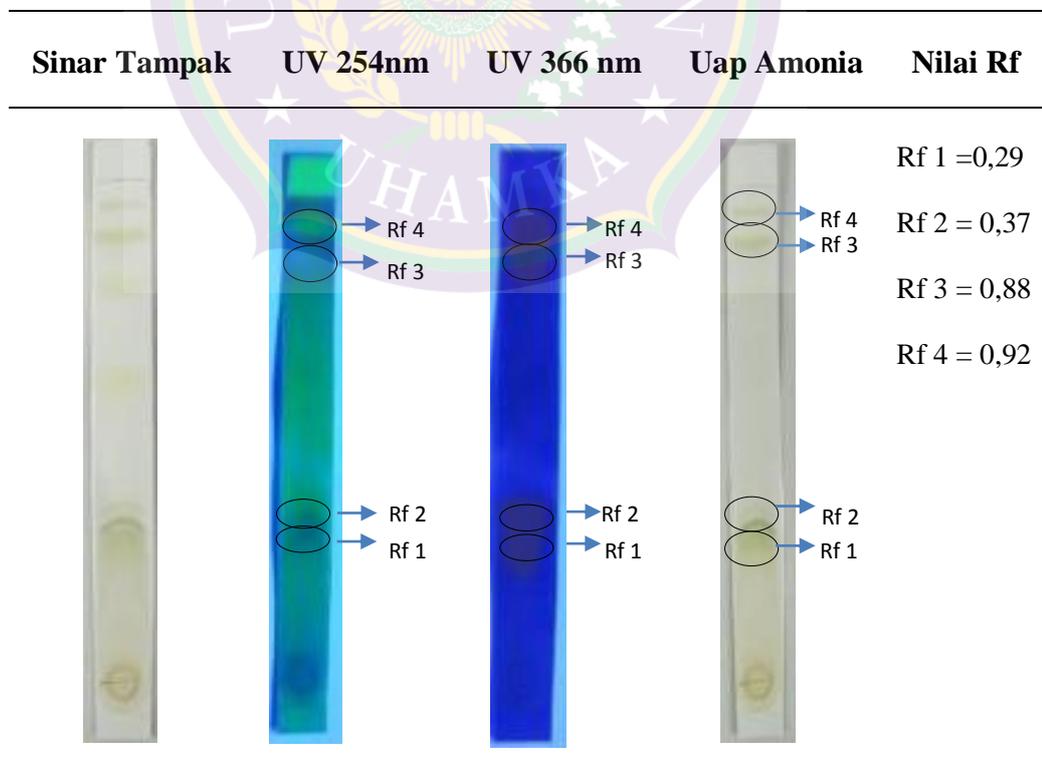
Tabel 4. Hasil Parameter Fisikokimia

Pengujian	Hasil (%)
Kadar Air	6,31
Kadar Total Abu	2,5877
Kadar Abu Tidak Larut Asam	0,47
Kadar Sari Larut Air	6,85
Kadar Sari Larut Etanol	15,14

G. Hasil Pola Kromatogram Adanya Flavonoid

Pemeriksaan pola kromatogram dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis menggunakan plat Silika Gel GF₂₅₄ dan dielusi menggunakan eluen Diklorometana : Metanol dengan perbandingan 9,75 : 0,25. Dilihat di bawah sinar ultraviolet 254 nm dan 366 nm serta penampak noda menggunakan uap amonia. Kemudian dihitung nilai Rf dari bercak yang muncul dan berwarna.

Pemeriksaan pola kromatogram dilakukan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. Hasil Pola Kromatogram dapat dilihat pada Gambar 9 dan Lampiran 8.

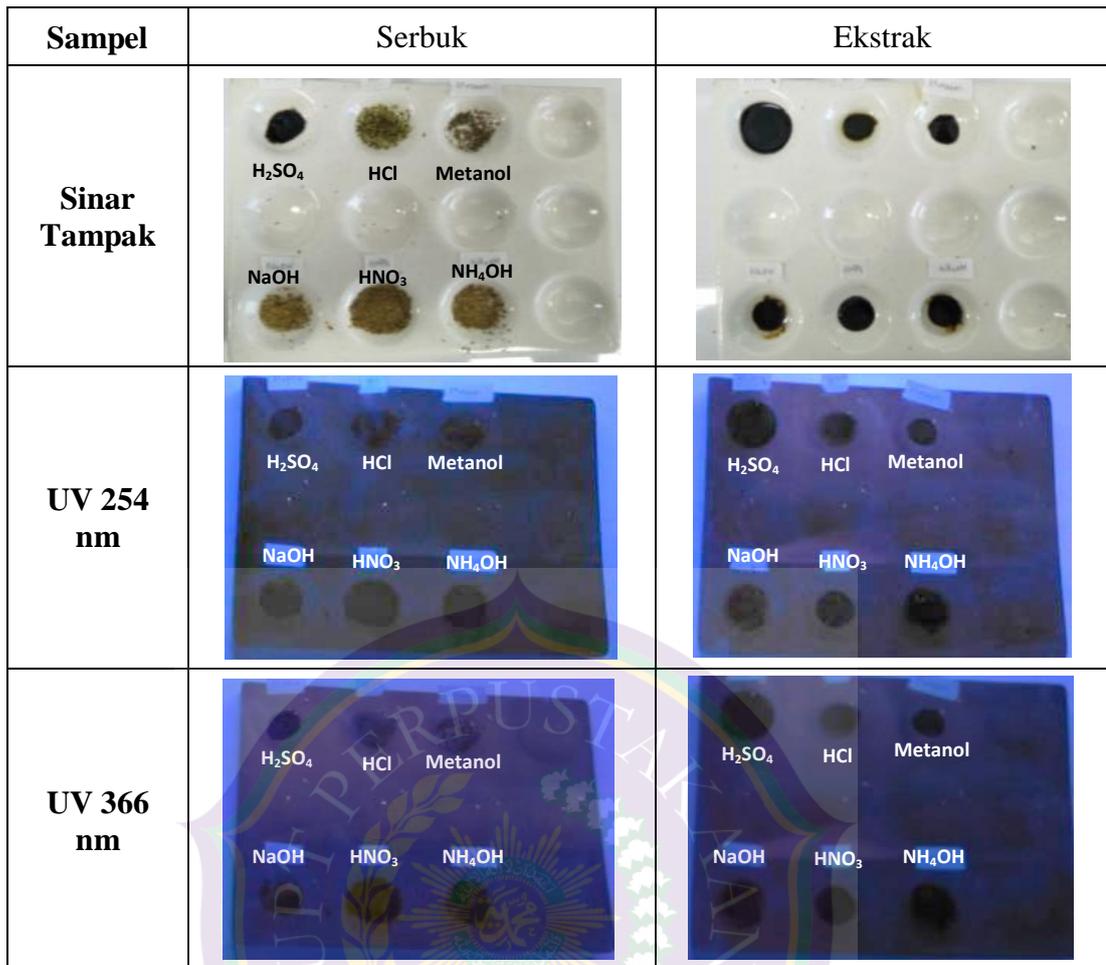


Gambar 9. Hasil Pola Kromatogram Ekstrak Etanol 70%

Pemeriksaan pola kromatogram dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis menggunakan plat Silika Gel GF₂₅₄ dan dielusi menggunakan eluen Diklorometana : Metanol dengan perbandingan 9,75 : 0,25. Dilihat di bawah sinar ultraviolet 254 nm dan 366 nm serta penampakan noda menggunakan uap amonia. Kemudian dihitung nilai Rf dari bercak yang muncul dan berwarna. Pemeriksaan pola kromatogram pada penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid. Hasil perhitungan Rf yang didapat adalah 0,29; 0,3; 0,88; dan 0,92. Dilakukannya uji pola kromatogram dengan KLT bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid secara kuantitatif untuk lebih memastikan bahwa dalam ekstrak yang digunakan mengandung flavonoid. Pada hasil visual terlihat beberapa bercak yang sangat jelas berwarna kuning, begitupun di bawah sinar ultraviolet. Pada penampakan noda dengan uap amonia terdapat bercak kuning atau kuning-cokelat menandakan adanya senyawa flavonoid dalam ekstrak (Arel dkk. 2018). Menurut Markham (1982) warna bercak hijau-kuning memungkinkan jenis flavonoid yang didapat merupakan jenis flavonol yang mengandung 3-OH bebas dan disertai atau tanpa 5-OH bebas.

H. Hasil Fluoresensi

Identifikasi pada serbuk dan ekstrak etanol 70% paku rane dilakukan dengan meneteskan beberapa pereaksi yaitu metanol, asam klorida 2N, asam sulfat 50%, asam nitrat 50%, natrium hidroksida 50% dan amonium hidroksida. Hasil yang didapat fluoresensi yang terlihat di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 dan 366 nm tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Untuk menampakan bercak yang berfluoresensi digunakan sinar UV pada panjang gelombang 366 nm sehingga hasil terlihat warna yang berbeda. Hasil identifikasi fluoresensi dapat dilihat pada Gambar 10 dan Tabel 5. Pada hasil gambar yang ditampilkan terdapat keterbatasan terkait hasil penampakan warna pada kamera sehingga warna pada gambar Gambar 10 tidak terlihat jelas sesuai dengan keterangan yang terdapat pada Tabel 5.



Gambar 10. Hasil Uji Flouresensi Serbuk dan Ekstrak etanol 70% *S. Willdenowii*

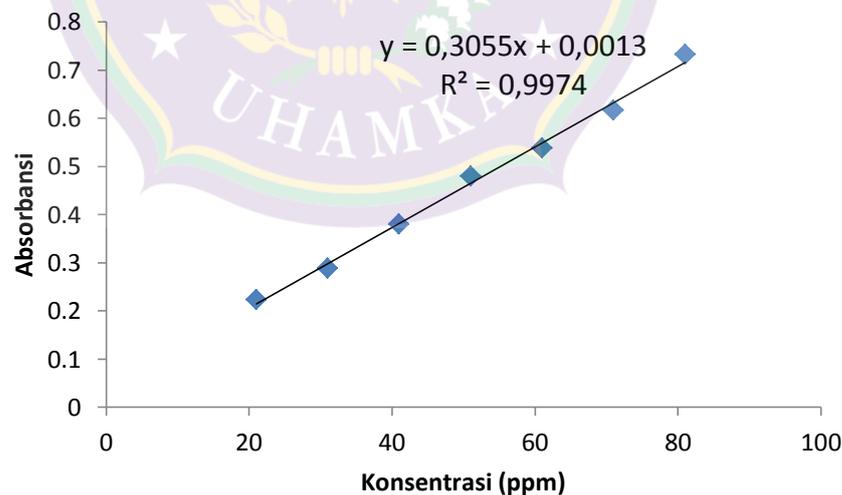
Tabel 5. Hasil Pengamatan Perubahan Warna Uji Flouresensi

Sampel	Visual	254 nm	366 nm
Serbuk + H ₂ SO ₄	Cekelat	Cokelat	Cokelat keunguan
Serbuk + HCl	Hijau	Hijau	Hijau tua
Serbuk + metanol	Hijau kecokelatan	Cokelat	Cokelat
Serbuk + NaOH	Kuning kecokelatan	Cokelat	Cokelat
Serbuk + HNO ₃	Cokelat	Cokelat	Cokelat kekuningan
Serbuk + NH ₄ OH	Cokelat	Cokelat	Cokelat
Ekstrak + H ₂ SO ₄	Cokelat keunguan	Kuning pekat	Kuning kecokelatan
Ekstrak + HCl	Hijau pekat	Cokelat kekuningan	Cokelat
Ekstrak + Metanol	Cokelat	Cokelat	Cokelat
Ekstrak + NaOH	Cokelat	Cokelat	Cokelat keunguan
Ekstrak + HNO ₃	Cokelat kehitaman	Cokelat	Cokelat
Ekstrak + NH ₄ OH	Cokelat kekuningan	Cokelat	Cokelat pekat

I. Hasil Kadar Flavonoid Total

Baku standar yang digunakan dalam penetapan kadar flavonoid digunakan baku standar kuersetin karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus keton dan hidroksil. Reagen yang digunakan pada penetapan kadar flavonoid ini yaitu AlCl_3 dan Potasium Asetat. Penambahan AlCl_3 dilakukan untuk membentuk reaksi antara AlCl_3 dengan golongan flavonoid membentuk kompleks antara gugus hidroksil dengan keton yang bertetangga dengan menghasilkan warna larutan yang lebih kuning, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah *visibel* (tampak) (Sari, 2017). Penambahan potasium asetat untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah *visibel* (Tampak) (Chang *et al.* 2002).

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan menambahkan reagen AlCl_3 , potasium asetat dan aquadest dan didapat hasil pada panjang gelombang 432 nm. Penentuan *operating time* dilakukan selama 120 menit dan didapat waktu *operating time* setelah 90 menit. Penentuan *operating time* bertujuan untuk menentukan waktu sempurnanya reaksi dan stabilnya reaksi yang ditunjukkan dengan tidak adanya penurunan absorbansi (Amalia dkk. 2011).



Gambar 11. Kurva Baku Standar Kuersetin

Tabel 6. Hasil absorbansi larutan standar kuersetin

Konsentrasi (ppm) (x)	Absorbansi (y)
21	0,2238
31	0,2888
41	0,3797
51	0,4799
61	0,5384
71	0,6165
81	0,7325

Berdasarkan hasil Gambar 11 dan Tabel 6 dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka absorbansi akan semakin meningkat. Kurva kalibrasi yang didapatkan menunjukkan hubungan yang linear. Kurva kalibrasi didapat dengan persamaan regresi linear $a = 0,3055$ $b = 0,0013$ $r = 0,9974$. Hasil dari persamaan regresi linear inilah yang digunakan untuk menghitung kadar flavonoid total pada ekstrak paku rane. Hasil data penetapan kadar flavonoid pada ekstrak paku rane yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Penetapan Flavonoid Kadar Ekstrak Paku Rane

Bobot Sampel (g)	Absorbansi	Kadar Flavonoid Total (mgQE/g)	Rata-Rata Flavonoid Total (mgQE/g)
0,1021	0,4671	12,43	
0,1015	0,4701	12,66	12,66
0,1005	0,4731	12,89	

Kandungan flavonoid pada ekstrak paku rane dinyatakan sebagai *Quercetine Equivalen* (QE) dari persamaan kurva standar kuersetin. Penetapan kadar flavonoid dilakukan untuk mengetahui seberapa besar kadar flavonoid yang terkandung dalam ekstrak paku rane. Dari pengujian ini didapatkan hasil kadar flavonoid total ekstrak paku rane sebesar 12,66 mgQE/gram ekstrak, artinya dalam 1 gram ekstrak paku rane mengandung 12,66 mg flavonoid setara kuersetin. Pada penelitian ini digunakan metode ultrasonik karena metode ultrasonik diketahui memiliki kelebihan dapat menghasilkan flavonoid yang lebih tinggi dalam waktu yang lebih pendek (Jiang *et al.* 2018). Hal tersebut sesuai, karena hasil pengujian yang dilakukan pada penelitian ini memiliki kadar lebih tinggi

dibandingkan penelitian yang dilakukan oleh Chai *et al.* (2012), yaitu kadar flavonoid total yang didapat pada *Selaginella wildenowii* dengan metode infusa sebesar 6,93 mgQE/gram. Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Silva *et al.* (1995) menyatakan bahwa ekstrak daun *S.willdenowii* mengandung 4',7"-O-metilamenoflavin, isokriptomerin dan 7"-O-metilrobusta-flavon yang secara signifikan sitotoksik terhadap berbagai sel kanker.



BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa tumbuhan paku rane memiliki ciri khas tersendiri berdasarkan makroskopis dan tempat tumbuhnya. Pada pengamatan makroskopis Paku rane memiliki tipe daun yang berukuran kecil dan memiliki strobilus yang tersusun atas sporangium yang terletak pada ujung daun, pada batang dipenuhi dengan daun. Pada akar terdapat *rhizopora* sebagai penopang batang, merupakan jenis akar serabut dengan banyak percabangan. Pada pemeriksaan mikroskopis ditemukan stomata dengan tipe anomositik yang terdapat pada epidermis atas dan bawah, memiliki arsitektur stelar yang kompleks yang terdiri dari tiga meristel di batang utama dan batang cabang, dan papilata sel epidermis pada spora. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan adanya kandungan fenolik, alkaloid, flavonoid saponin dan tanin. Hasil pengukuran fisikokimia kadar air sebesar 6,31%, abu total 2,5877%, kadar abu tidak larut asam 0,4797%, kadar sari larut air 6,85%, dan kadar sari larut etanol 15,14%. Perolehan kadar flavonoid ekstrak etanol 70% paku rane yang tumbuh di Desa Gunung Malang Taman Nasional Gunung Halimun Salak sebesar 12,66 mgQE/g. Kandungan flavonoid pada ekstrak paku rane dinyatakan sebagai *Quercetine Equivalen* (QE) dari persamaan kurva standar kuersetin.

B. Saran

Perlu dilakukan adanya penelitian lanjutan dengan melakukan isolasi senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan *S. willdenowii*.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, K. R., Sumantri, Ulfah, M. 2011. Perbandingan Metode Spektrofotometri Ultraviolet (UV) dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) Pada Penetapan Kadar Natrium Diklofenak. *Ilmu Farmasi & Farmasi Klinik*. 4 (2), 21-27.
- Angelina, M., Filaila E., Mulyani, H., Hendrawan, S. 2014. Standarisasi Ekstrak Etanol Daun *Selaginella* sp. Dalam : *Seminar Nasional Kimia bahan Alam*. LIPI, Jakarta. Hlm. 19-28.
- Arel, A., Wardi, E. S., Oktaviani, Y. 2018. Profil Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Berenuk (*Crescentia cujete* L.) dan Uji Sitotoksik dengan Metode *Brine Shirmp Lethality Test*. *Jurnal Katalisator*. 3 (2), 82-88.
- Arifin, B., Ibrahim, S. 2018. Struktur, Bioaktivitas dan Antioksidan Flavonoid. *Zarah*. 6 (1), 21-29.
- Autherhoff, H. H., dan Kovar, K. A. 1987. *Identifikasi Obat (Edisi 4)*. Penerjemah : N.C. Sudiarso, Bandung: Penerbit ITB. Hlm. 37-44.
- BAPPENAS. 2016. *Indonesia Biodiversity Strategy and Action Plan (IBSAP) 2012-2020*. Jakarta: Kementerian Perencanaan dan Pembangunan Nasional. Hlm 24.
- Bidlack, J. E., Jansky, J. E. 2011. *Introductory Plant Biology 12th Edition*. Boston: Mc-GrawHill Higher Education. Hlm 408.
- BPOM. 2012. *Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak Vol 1*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Hlm 1.
- Chai, T. T., Wong, F. C. 2012. Antioxidant properties of aqueous extracts of *Selaginella willdenowii*. *Journal of Medicinal Plants Research*. 6 (7), 1289-1296.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 10 (3), 178-182.
- Chikmawati, T., Miftahudin. 2010. *Biodiversitas dan Potensi Marga Selaginella sebagai Antioksidan dan Anti Kanker*. Bogor: Instritut Pertanian Bogor. Hlm 47-59.
- Chikmawati, T., Setyawan, A. D., & Miftahudin. 2012. Phytochemical Composition of *Selaginella* spp from Java Island Indonesia. *Makara Journal of Science*. 16 (2), 129-133.
- Departemen Kesehatan RI. 1987. *Analisis Obat Tradisional Jilid I*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Hlm 2-3.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Mutu Standar Ekstrak*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Hlm. 13-30.

- Departemen Kesehatan RI. 2008. *Farmakope Herbal Edisi I*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Hlm. 171.
- Djoranga, M. I., Pendiangan, D., Kandou, F. E., Tangapo, A. M. 2014. Penapisan Alkaloid pada Tumbuhan Paku dari Halmahera Utara. *Jurnal MIPA UNSRAT Online*. 3 (2), 102-107.
- Eliyanoor, B. 2012. *Penuntun Praktikum Farmakognosi Makroskopik dan Mikroskopik Edisi 2*. Jakarta: EGC. Hlm 2.
- Fauziah, R., Priyanti, Aminudin, I. 2018. Komposisi dan struktur vegetasi di Resort Gunung Salak 2 Taman Nasional Gunung Halimun Salak (TNGHS). *Majalah Ilmiah Biologi Biosfera*. 35 (3), 111-118.
- Fox DL, Wells JR. 1971. Schemochromic Blue Leaf-surfaces of *Sellaginella*. *Amer Fern J*. 61 (3), 137.
- Gandjar, I. G., DEA., Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. Hlm 269-279.
- Hanani, E. 2015. *Analisis Fitokimia*. Jakarta: EGC. Hlm 9-202.
- Harmita. 2006. *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Depok: Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Hlm 15-22.
- Harmita. 2009. *Analisis Fisikokimia Potensiometri & Spektroskopi Volume 1*. Jakarta: EGC. Hlm 19-20.
- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbon, S., Williamson, E. M. 2009. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Jakarta: EGC. Hlm 26.
- Indriyati, E., Purwaningsih, Y., Wigati, D., 2018. Skrining Fitokimia dan Standarisasi Ekstrak Kulit Buah Labu Kuning (*Cucurbita moschata*). *Jurnal Ilmiah Cendikia Eksakta*. 20-25.
- ITIS. 2019. Taxonomic *Selaginella willdenowii*. Integrated Taxonomic Information System. https://www.itis.gov/servlet/SimpletRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=505115#null. Diakses 13 Desember 2019.
- Jiang, Y., Li, D., Ma, X., Jiang, F., He, Q., Qiu, S., Li, Y., & Wang, G. 2018. Ionic liquid–ultrasound-based extraction of biflavonoids from *Selaginella helvetica* and investigation of their antioxidant activity. *Molecules*. 23 (12), 1-18.
- Kemenhut. 2003. SK Menhut No. SK 175/Kpts-ii/Menhut/2003 Tentang Penunjukan Kawasan Taman Nasional Gunung Halimun dan Perubahan Fungsi Kawasan Hutan Lindung, Hutan Produksi Tetap, Hutan Produksi Terbatas Pada Kelompok Hutan Gunung Halimun Dan Kelompok Hutan Gunung Salak. Peraturan Kementrian Kehutanan Republik Indonesia.

- Kokoski, C. J., Kokoski, R. J., Slama, F. J. 1958. Fluorescence of powdered vegetable drugs in ultra-violet radioation. *American Pharm Assoc.* 47 (10), 715-717.
- Markham, K. R. 1982. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Terjemahan Kosasih Fadmawinata. Bandung: Penerbit ITB. Hlm 21.
- Melecchi, M. I. S., Peres, V. F., Dariva, C., Zini, C. A., Abad, F. C., Martinez, M. M., Caramao, E. B. 2006. Optimization of the sonication extraction method of *Hibiscus tiliaceus* L. Flowers. *Ultrasonic sonochemistry.* 13 (3), 242-250.
- Miftahudin., Setyaningsih, D. W. I. S., Chikmawati, T. 2015. Pertumbuhan dan Kandungan Bahan Bioaktif *Selaginella plana* dan *Selaginella willdenovii* pada Beberapa Media Tanam. *Jurnal Sumberdaya Hayati.* 1 (1), 1-6.
- Purnawati, U., Turnip, M., & Lovadi, I. 2014. Eksplorasi paku-pakuan (Pteridophyta) di kawasan Cagar Alam Mandor Kabupaten Landak. *Protobiont.* 3 (2), 155-165.
- Rindita., Anggia, V., Rahmaesa, E., Devi, R. K., Alawiyah, L. F. 2020. Exploration, phenolic content determination, and antioxidant activity of dominant pteridophytes in Gunung Malang Village, Mount Halimun Salak National Park, Indonesia. *Biodiversitas.* 21 (8), 2676-3682.
- Saifudin, A. 2011. *Standarisasi Bahan Obat Alam Edisi Pertama*. Yogyakarta: Graha Ilmu. Hlm. 26-39.
- Sari, K. A. 2017. Penetapan Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Ekstrak Beras Hitam (*Oriza sativa* L.) dari Kalimantan Selatan. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina.* 2 (3), 327-335.
- Setyawan, A. D. 2008. Biflavonoid compounds of *Selaginella* Pal. Beauv. and its benefit. *Biodiversitas.* 9 (1), 64-81.
- Silva, G. L., Chai, H., Gupta, M. P., Farnsworth, N. R., Cordell, G. A., Pezzuto, J. M., Beecher, C. W. W., & Kinghorn D, A. 1995. Cytotoxic biflavonoids from *Selaginella willdenowii*. *Phytochemistry.* 40 (1), 129-134.
- Sirait, M. 2007. *Penuntun Fitokimia Dalam Farmasi*. Bandung: Institut Teknologi Bandung. Hlm 55-69.
- Sukmawati., Sudewi, S., Pontoh, J. 2018. Optimasi dan Validasi Metode, Analisis dalam Penentuan Kandungan Total Flavonoid Pada Ekstrak Daun Gedi Hijau (*Abelmoscus manihot* L.) Yang Diukur Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis). *Pharmacon.* 7 (3), 32-41.
- Syamsul, E. S., Hakim, Y. Y., Nurhasnawati, H. 2019. Penetapan kadar flavonoid total daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd.) dengan metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia.* 1 (1), 11-20.

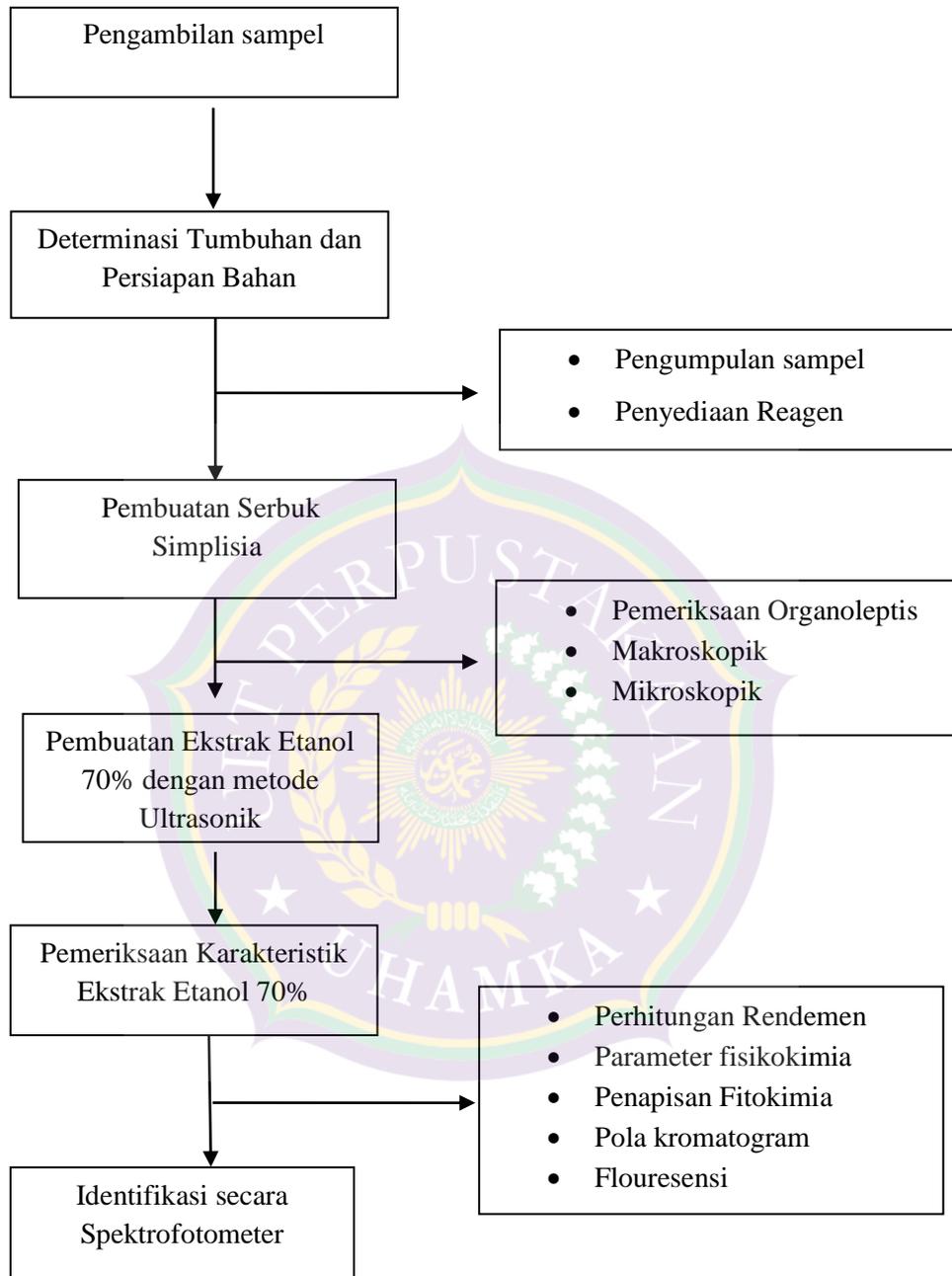
Voigt, R. 1994. *Pelajaran Teknologi Farmasi*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press. Hlm. 10-13.

Winter, W. P. De, & Jansen, P. C. M. 2003. *Selaginella* Pal. Beauv. In: de Winter WP, Amoroso VB (eds). *Plant resources of South-East Asia*. Cryptogams No.15-2: ferns and fern allies. Leiden: Backhuys. Hlm. 178-184.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Pola Penelitian



Lampiran 2. Surat Determinasi Tumbuhan



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(RESEARCH CENTER FOR BIOLOGY)

Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta - Bogor KM. 46 Cibinong 16911
Telp. (+62 21) 87907636 - 87907604, Fax. 87907612
Website : www.biologi.lipi.go.id



Cibinong, 9 Februari 2020

Nomor : 99/IPH.1.01/IF.07/II/2020
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(j), **Eva Setiawati**
NPM : 1604015239
Mhs. UHAMKA
Fak. Farmasi Dan Sains
Islamic Center, Jl. Delfina II/IV Klender
Jakarta Timur - 13460

Dengan hormat,

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

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Paku Rane	<i>Selaginella willdenowii</i> (Desv. ex Poir.) Baker	Selaginellaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

Dr. 
NIP. 670101193000004



Lampiran 3. Perhitungan % Rendemen Ekstrak Paku Rane

Serbuk Simplisia = 250 g

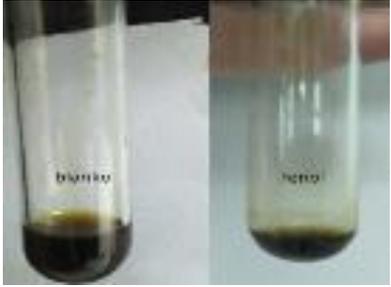
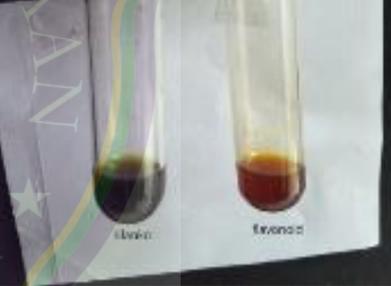
Ekstrak kental = 45,7659 g

$$\begin{aligned} \text{Rendemen (\%)} &= \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat serbuk simplisia kering}} \times 100 \% \\ &= \frac{45,7659 \text{ g}}{250,0 \text{ g}} \times 100 \% = 18,3064 \% \end{aligned}$$



Lampiran 4. Hasil Penafisan Fitokimia Ekstrak Etanol 70%

Hasil Penafisan Fitokimia

Kandungan Senyawa Kimia	Hasil	Gambar
Fenol FeCl ₃	(+) Hitam pekat	
Alkaloid Mayer Dragendorff Bouchardat Bouchardat	(+) Endapan putih (+) Jingga kecoklatan (+) Endapan (+) Endapan	
Flavonoid Etanol+HCl (p)+Logam Mg	(+) Jingga kemerahahan	
Tanin Gelatin+NaCl	(+) Endapan hijau	
Saponin Aquadest, didinginkan & dikocok, lalu + HCl 2N	(+) Buih tidak hilang	

<p>Triterpenoid/Steroid</p> <p>Metanol</p> <p>+Klorofom</p> <p>+H₂SO₄</p>	<p>(-)Hijau kecoklatan</p>	
--	----------------------------	--



Lampiran 5. Perhitungan kadar air

Rumus kadar air :

$$\text{Kadar air}(\%) = \frac{(w1 - w0) - (w2 - w0)}{(w1 - w0)} \times 100\%$$

Keterangan :

W0 = botol timbang kosong (gram)

W1 = botol timbang + sampel awal (gram)

W2 = botol timbang + sampel akhir (gram)

a. Botol timbang 1

$$W0 = 20,2940 \text{ g}$$

$$W1 = 22,3012 \text{ g}$$

$$W2 = 22,2125 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar Air}(\%) &= \frac{(22,2125 \text{ g} - 20,2940 \text{ g}) - (22,3012 \text{ g} - 20,2940 \text{ g})}{(22,2125 \text{ g} - 20,2940 \text{ g})} \times 100 \\ &= 4,4190 \% \end{aligned}$$

b. Botol timbang 2

$$W0 = 25,8969 \text{ g}$$

$$W1 = 27,9064 \text{ g}$$

$$W2 = 27,7733 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar Air}(\%) &= \frac{(27,9064 \text{ g} - 25,8969 \text{ g}) - (27,7733 \text{ g} - 25,8969 \text{ g})}{(27,9064 \text{ g} - 25,8969 \text{ g})} \times 100 \\ &= 6,6235 \% \end{aligned}$$

c. Botol timbang 3

$$W0 = 25,8979 \text{ g}$$

$$W1 = 27,8977 \text{ g}$$

$$W2 = 27,7396 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar Air}(\%) &= \frac{(27,8977 \text{ g} - 25,8979 \text{ g}) - (27,7396 \text{ g} - 25,8979 \text{ g})}{(27,8977 \text{ g} - 25,8979 \text{ g})} \times 100 \\ &= 7,9057 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata - Rata Kadar Air}(\%) &= \frac{4,4190 \% + 6,62\% + 7,9053\%}{3} \\ &= 6,3147 \% \end{aligned}$$

Lampiran 6. Perhitungan Kadar Abu Total dan Tidak Larut Asam

Hasil Kadar Abu Total dan tidak larut asam

Berat krus kosong (W0)	Berat krus + sampel (W1)	Berat krus + abu (W2)	Kadar abu (%)	Abu tidak larut asam (%)
38,1263 g	40,1306 g	38,1763 g	2,394	0,5488
32,7963 g	34,7940 g	32,8615 g	3,2540	0,4705
22,9478 g	24,9483 g	22,9907 g	2,1444	0,4798
Rata – Rata Kadar Abu (%) = 2,5877%				
Rata-rata abu tidak larut asam = 0,4997%				

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

Keterangan : W0 =Berat Wadah Krus Kosong

W1=Berat Wadah Krus + Sampel (Ekstrak Kental)

W2=Berat Wadah Krus + Sampel Abu

$$\text{Rumus tidak larut asam} = \frac{\text{Bobot setelah ditanur} - \text{bobot setelah dilarutkan asam}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{38,1763 \text{ g} - 38,1263 \text{ g}}{40,1306 \text{ g} - 38,1263 \text{ g}} \times 100 \% = 2,394\%$$

$$\% \text{ tidak larut asam} = \frac{38,1763 \text{ g} - 38,1653}{40,1306 \text{ g} - 38,1263 \text{ g}} \times 100 \% = 0,5488\%$$

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{32,8615 \text{ g} - 38,1263 \text{ g}}{34,7940 \text{ g} - 32,7963 \text{ g}} \times 100 \% = 3,2540\%$$

$$\% \text{ tidak larut asam} = \frac{32,8615 \text{ g} - 32,8521}{34,7940 \text{ g} - 32,7963 \text{ g}} \times 100 \% = 0,4705\%$$

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{22,9907 \text{ g} - 22,9478 \text{ g}}{24,9483 \text{ g} - 22,9478 \text{ g}} \times 100 \% = 2,1444\%$$

$$\% \text{ tidak larut asam} = \frac{22,9907 \text{ g} - 22,9711}{24,9483 \text{ g} - 22,9478 \text{ g}} \times 100 \% = 0,4798\%$$

$$\text{Rata-rata Kadar Abu} (\%) = \frac{2,394\% + 3,2540\% + 2,1444\%}{3} = 2,5877\%$$

$$\text{Rata-rata Kadar Abu (\%)} = \frac{0,5488\%+0,4705\%+0,4798\%}{3} = 0,4997\%$$



Lampiran 7. Perhitungan Kadar sari larut air dan etanol

a. Perhitungan Kadar Sari Larut Air

Hasil Kadar Sari Larut Air

No	Bobot serbuk (W0)	Bobot cawan kosong (W1)	Bobot cawan setelah dipanaskan (W2)	Kadar sari larut air (%)
1	5,0001 g	53,6180 g	53,6721 g	6,85
2	5,0015 g	53,6180 g	53,6981 g	
3	5,0010 g	53,6180 g	53,6892 g	

$$\% \text{Kadar sari larut air} = \frac{W2-W1}{W0} \times \frac{V \text{ Ekstrak}}{V \text{ uji}} \times 100 \%$$

$$1. \% \text{ Kadar sari larut air} = \frac{53,6721-53,6180}{5,0001} \times \frac{100}{20} \times 100\% = 5,41\%$$

$$2. \% \text{ Kadar sari larut air} = \frac{53,6981-53,6180}{5,0015} \times \frac{100}{20} \times 100\% = 8,01\%$$

$$3. \% \text{ Kadar sari larut air} = \frac{53,6892-53,6180}{5,0010} \times \frac{100}{20} \times 100\% = 7,12\%$$

$$\text{Rata-rata kadar sari larut air (\%)} = \frac{5,41\%+8,01\%+7,12\%}{3} = 6,85\%$$

b. Perhitungan Kadar Sari Larut Etanol

Hasil Kadar Sari Larut Etanol

No	Bobot serbuk (W0)	Bobot cawan kosong (W1)	Bobot cawan setelah dipanaskan (W2)	Kadar sari larut air (%)
1	5,0021 g	53,6180 g	53,7641 g	15,14
2	5,0015 g	53,6180 g	53,7751 g	
3	5,0011 g	53,6180 g	53,7692 g	

$$\% \text{Kadar sari larut air} = \frac{W2-W1}{W0} \times \frac{V \text{ Ekstrak}}{V \text{ uji}} \times 100\%$$

$$1. \% \text{ Kadar sari larut air} = \frac{53,7641-53,6180}{5,0021} \times \frac{100}{20} \times 100\% = 14,60\%$$

$$2. \% \text{ Kadar sari larut air} = \frac{53,7751-53,6180}{5,0015} \times \frac{100}{20} \times 100\% = 15,71\%$$

$$3. \% \text{ Kadar sari larut air} = \frac{53,7692-53,6180}{5,0011} \times \frac{100}{20} \times 100\% = 15,12\%$$

$$\text{Rata-rata kadar sari larut air (\%)} = \frac{14,60\%+15,71\%+15,12\%}{3} = 15,14\%$$

Lampiran 8. Perhitungan Rf Pola Kromatogram

$$\mathbf{Rf1} = \frac{2,2}{7,5} = 0,29$$

$$\mathbf{Rf2} = \frac{2,4}{7,5} = 0,37$$

$$\mathbf{Rf3} = \frac{6,6}{7,5} = 0,88$$

$$\mathbf{Rf4} = \frac{6,9}{7,5} = 0,92$$



Lampiran 9. Sertifikat Serbuk Quercetin

SIGMA-ALDRICH

sigmaaldrich.com

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA

Website: www.sigmaaldrich.com

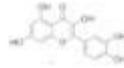
Email USA: techserv@sigmaaldrich.com

Outside USA: eurtechserv@sigmaaldrich.com

Certificate of Analysis

Product Name:
Quercetin - $\geq 95\%$ (HPLC), solid

Product Number: Q4951
Batch Number: SLB52349V
Brand: SIGMA
CAS Number: 117-39-5
Formula: C₁₅H₁₀O₇
Formula Weight: 302.24 g/mol
Quality Release Date: 21 OCT 2016



Test	Specification	Result
Appearance (Color)	Conforms	Conforms
Yellow		
Appearance (Form)	Powder	Powder
¹ H NMR Spectrum	Conforms to Structure	Conforms
Loss on Drying	$\leq 4\%$	3%
Purity (HPLC)	$\geq 95\%$	95%



Rodney Burbeck, Manager
Analytical Services
St. Louis, Missouri US

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

Version Number: 1

Page 1 of 1

Lampiran 10. Sertifikat serbuk Mg



Certificate of Analysis

1.05815.1000 Magnesium powder particle size about 0.06-0.3mm
Batch K46999215

Batch Values		
Assay (complexometric)	99.3	%
Substances insoluble in hydrochloric acid	< 0.05	%
Fe (Iron)	≤ 0.05	%

Date of release (DD.MM.YYYY) 06.08.2015
Minimum shelf life (DD.MM.YYYY) 31.08.2020

Dr. Michael Heldmaier
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.



Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt (Germany): +49 6151 72-0
EMD Millipore Corporation - a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany
290 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA, Phone: (978) 715-4321
SALSA Version 332289 79900002481429 Date: 06.08.2015

Page 1 of 1

Lampiran 11. Sertifikat FeCl₃



Certificate of Analysis

8.03945.1000 Iron(III) chloride anhydrous for synthesis
Batch S7378645

Batch Values		
Assay (odometric)	99.7	%
Identity (Fe)	passes test	
Identity (Cl)	passes test	

Date of examination (DD.MM.YYYY) 23.02.2017
Minimum shelf life (DD.MM.YYYY) 29.02.2020

Dr. Jörg Bauer
Responsible laboratory manager quality control

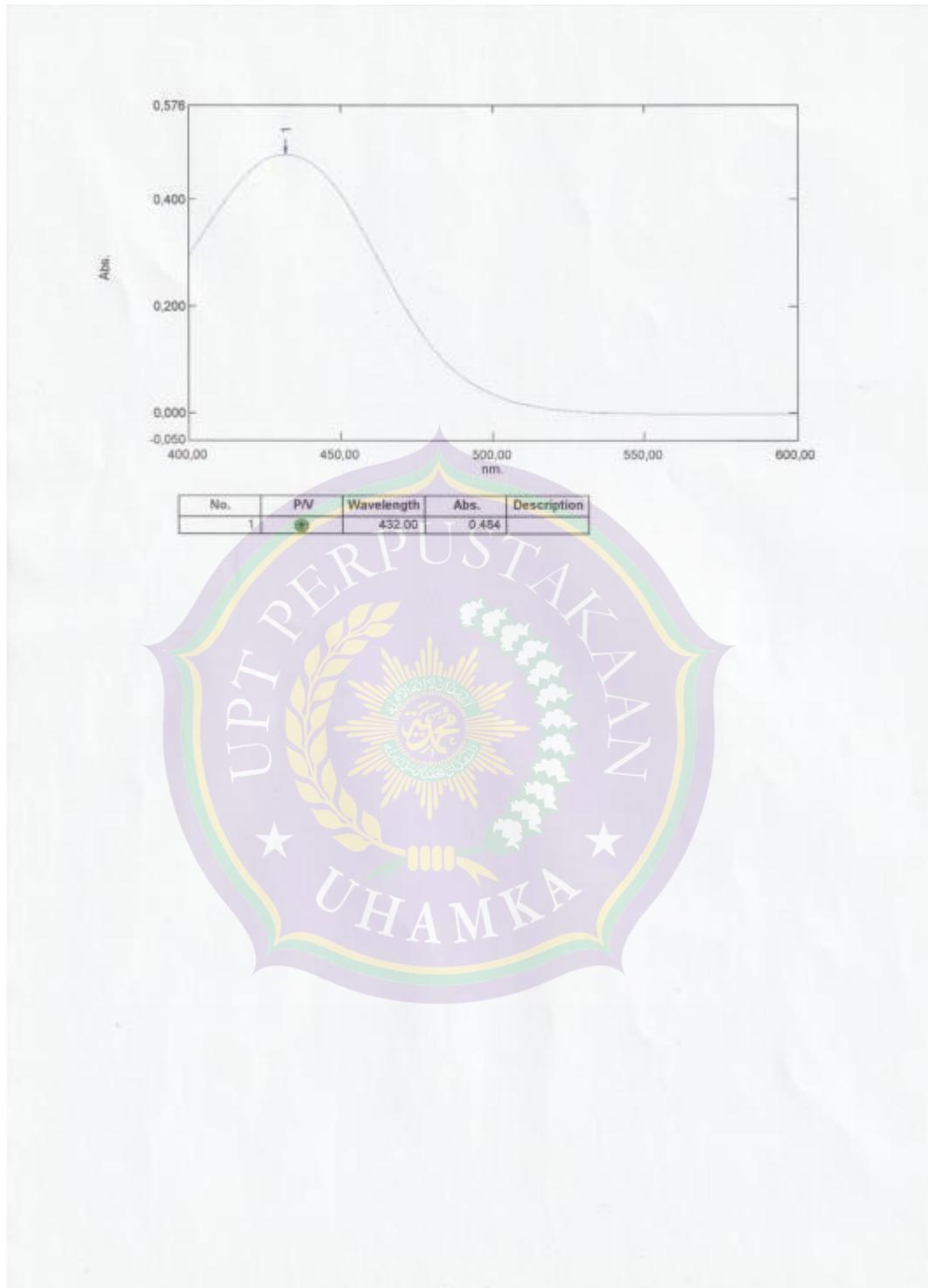
This document has been produced electronically and is valid without a signature.



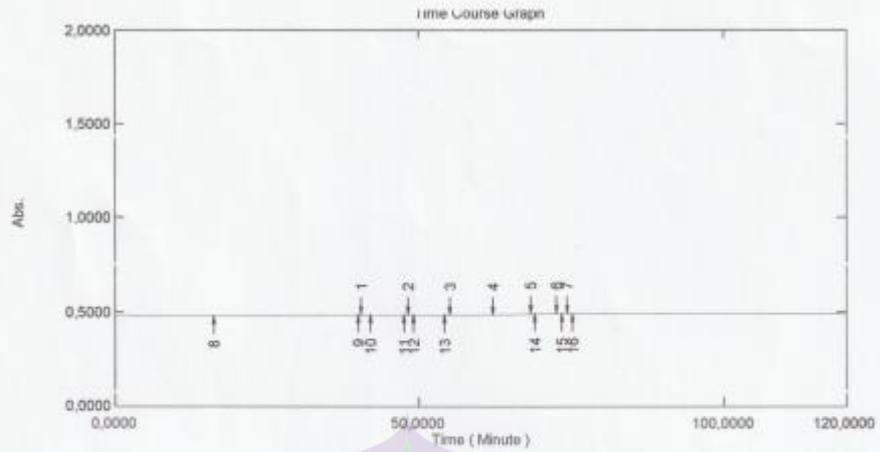
Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt (Germany); +49 6151 72-0
EMD Millipore Corporation - a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany
290 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA, Phone: (978) 715-4321
SILSA Version 62953 990004673602 Date: 26.10.2017

Page 1 of 1

Lampiran 12. Panjang Gelombang Quersetin

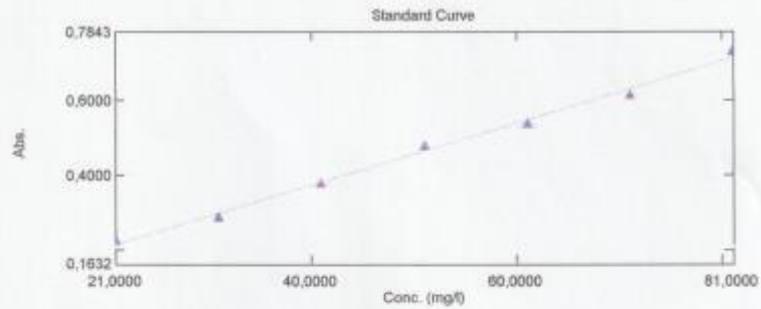


Lampiran 13. Operating Time Quersetin



Time	Abs	Time	Abs	Time	Abs	Time	Abs
0.0000	0.4818	31.0000	0.4822	61.0000	0.4844	91.0000	0.4928
1.0000	0.4813	32.0000	0.4829	62.0000	0.4853	92.0000	0.4928
2.0000	0.4806	33.0000	0.4830	63.0000	0.4855	93.0000	0.4928
3.0000	0.4800	34.0000	0.4833	64.0000	0.4863	94.0000	0.4926
4.0000	0.4797	35.0000	0.4837	65.0000	0.4865	95.0000	0.4928
5.0000	0.4795	36.0000	0.4837	66.0000	0.4873	96.0000	0.4928
6.0000	0.4790	37.0000	0.4836	67.0000	0.4877	97.0000	0.4928
7.0000	0.4785	38.0000	0.4836	68.0000	0.4882	98.0000	0.4928
8.0000	0.4783	39.0000	0.4836	69.0000	0.4879	99.0000	0.4928
9.0000	0.4779	40.0000	0.4825	70.0000	0.4888	100.0000	0.4927
10.0000	0.4783	41.0000	0.4837	71.0000	0.4901	101.0000	0.4928
11.0000	0.4783	42.0000	0.4825	72.0000	0.4900	102.0000	0.4927
12.0000	0.4783	43.0000	0.4834	73.0000	0.4905	103.0000	0.4928
13.0000	0.4777	44.0000	0.4835	74.0000	0.4915	104.0000	0.4928
14.0000	0.4776	45.0000	0.4827	75.0000	0.4904	105.0000	0.4925
15.0000	0.4774	46.0000	0.4828	76.0000	0.4921	106.0000	0.4924
16.0000	0.4771	47.0000	0.4821	77.0000	0.4920	107.0000	0.4922
17.0000	0.4776	48.0000	0.4830	78.0000	0.4924	108.0000	0.4922
18.0000	0.4777	49.0000	0.4818	79.0000	0.4926	109.0000	0.4920
19.0000	0.4779	50.0000	0.4819	80.0000	0.4926	110.0000	0.4919
20.0000	0.4783	51.0000	0.4824	81.0000	0.4930	111.0000	0.4919
21.0000	0.4783	52.0000	0.4825	82.0000	0.4929	112.0000	0.4915
22.0000	0.4790	53.0000	0.4835	83.0000	0.4926	113.0000	0.4917
23.0000	0.4792	54.0000	0.4828	84.0000	0.4930	114.0000	0.4912
24.0000	0.4795	55.0000	0.4842	85.0000	0.4928	115.0000	0.4910
25.0000	0.4796	56.0000	0.4833	86.0000	0.4929	116.0000	0.4907
26.0000	0.4801	57.0000	0.4835	87.0000	0.4928	117.0000	0.4907
27.0000	0.4801	58.0000	0.4845	88.0000	0.4929	118.0000	0.4906
28.0000	0.4806	59.0000	0.4843	89.0000	0.4929	119.0000	0.4912
29.0000	0.4810	80.0000	0.4849	90.0000	0.4929	120.0000	0.4913
30.0000	0.4814						

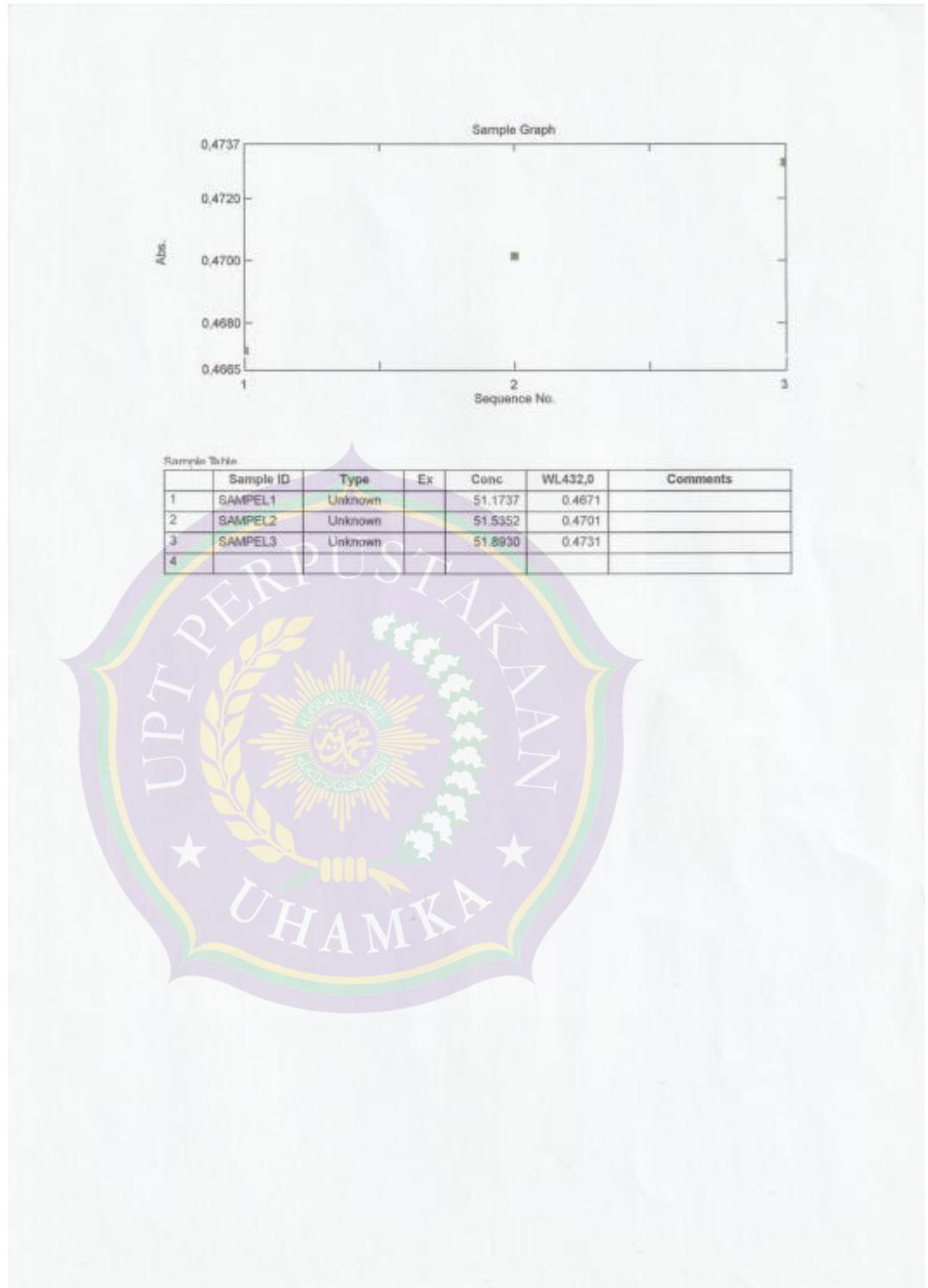
Lampiran 14. Kurva Baku Quersetin



Standarisasi Tabel

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL432,9	Wgt.Factor	Comments
1	STANDAR1	Standard		21,0000	0,2238	1,0000	
2	STANDAR2	Standard		31,0000	0,2888	1,0000	
3	STANDAR3	Standard		41,0000	0,3797	1,0000	
4	STANDAR4	Standard		51,0000	0,4799	1,0000	
5	STANDAR5	Standard		61,0000	0,5384	1,0000	
6	STANDAR6	Standard		71,0000	0,6195	1,0000	
7	STANDAR7	Standard		81,0000	0,7325	1,0000	
8							

Lampiran 15. Kurva Kadar Flavonoid Total Paku Rane



Lampiran 16. Perhitungan Kadar Flavonoid Total

Pembuatan larutan induk Quersetin

10,0 mg quersetin dilarutkan dengan etanol 95% kedalam labu ukur 10 ml hingga didapat konsentrasi 1000 ppm.

Penentuan Panjang Gelombang maksimal Quersetin

Panjang gelombang quersetin dibaca pada konsentrasi 50 ppm. Dari larutan induk dipipet 0,25 ml ditambahkan etanol 95% kedalam labu ukur 5 ml sehingga didapat konsentrasi 50 ppm.

$$V_1.N_1 = V_2.N_2$$

$$x.1000 \text{ ppm} = 5 \text{ ml} \cdot 50 \text{ ppm}$$

$$x = \frac{5 \text{ ml} \cdot 50 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} = 0,25 \text{ ml}$$

Hasil penentuan panjang gelombang quersetin diperoleh sebagai berikut

Panjang Gelombang = 432 nm

Absorbansi = 0,484

$$\begin{aligned} a &= \frac{A}{b \cdot c} \\ &= \frac{0,484}{1 \times 50} \\ &= 0,0097 \end{aligned}$$

$$C_{\min} = \frac{0,2}{0,0097} = 20,6185 \sim 21$$

$$C_{\max} = \frac{0,8}{0,0097} = 82,4742 \sim 82$$

Dibuat 7 konsentrasi dengan range 21 - 82 ppm. Penelitian ini menggunakan deret seri konsentrasi quersetin yaitu 21, 31, 41, 51, 61, 71 dan 81 ppm dalam labu ukur 5 ml.

$$21 \text{ ppm} = \frac{21 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 5 \text{ ml} = 0,105 \text{ ml}$$

$$31 \text{ ppm} = \frac{31 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 5 \text{ ml} = 0,155 \text{ ml}$$

$$41 \text{ ppm} = \frac{41 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 5 \text{ ml} = 0,205 \text{ ml}$$

$$51 \text{ ppm} = \frac{51 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 5 \text{ ml} = 0,255 \text{ ml}$$

$$61 \text{ ppm} = \frac{61 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 5 \text{ ml} = 0,305 \text{ ml}$$

$$71 \text{ ppm} = \frac{71 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 5 \text{ ml} = 0,355 \text{ ml}$$

$$81 \text{ ppm} = \frac{81 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \times 5 \text{ ml} = 0,405 \text{ ml}$$

Diperoleh hasil absorbansi kurva kalibrasi sebagai berikut :

Hasil Absorbansi Kurva Kalibrasi

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) (x)	Absorbansi (y)
21	0,2238
31	0,2888
41	0,3797
51	0,4799
61	0,5384
71	0,6165
81	0,7325

Keterangan :

Y = absorbansi sampel, x = konsentrasi ppm ($\mu\text{g/mL}$)

$$a=0,3055$$

$$r^2=0,9974$$

$$b=0,0013$$

Absorbansi ekstrak etanol 70% paku Rane

$$y_1 = 0,4671$$

$$y_2 = 0,4701$$

$$y_3 = 0,4731$$

$$\text{Kadar Flavonoid (mgQE/g)} = \frac{x \cdot v \cdot fp}{\text{bobot sampel}}$$

$$a. y = bx \pm a$$

$$0,4671 = 0,0013 x + 0,3055$$

$$0,4671 - 0,3055 = 0,0013 x$$

$$X = 124,3076 \mu\text{g/ml} \sim 0,1243 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Kadar Flavonoid} = \frac{0,1243 \text{ mg/ml} \cdot 5 \text{ ml} \cdot \frac{10 \text{ ml}}{5 \text{ ml}}}{0,100 \text{ g}} = 12,43 \text{ mgQE/g}$$

b. $y = bx \pm a$

$$0,4701 = 0,0013 x + 0,3055$$

$$0,4701 - 0,3055 = 0,0013 x$$

$$X = 126,6153 \text{ } \mu\text{g/ml} \sim 0,1266 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Kadar (Flavonoid)} = \frac{0,1266 \text{ mg/ml} \cdot 5 \text{ ml} \cdot \frac{10 \text{ ml}}{5 \text{ ml}}}{0,100 \text{ g}} = 12,66 \text{ mgQE/g}$$

c. $y = bx \pm a$

$$0,4731 = 0,0013 x + 0,3055$$

$$0,4731 - 0,3055 = 0,0013 x$$

$$X = 128,9230 \text{ } \mu\text{g/ml} \sim 0,12891 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Kadar Flavonoid} = \frac{0,1289 \text{ mg/ml} \cdot 5 \text{ ml} \cdot \frac{10 \text{ ml}}{5 \text{ ml}}}{0,100 \text{ g}} = 12,89 \text{ mgQE/g}$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{12,43 \text{ mgQE/g} + 12,66 \text{ mgQE/g} + 12,89 \text{ mgQE/g}}{3} = 12,76 \text{ mgQE/g}$$

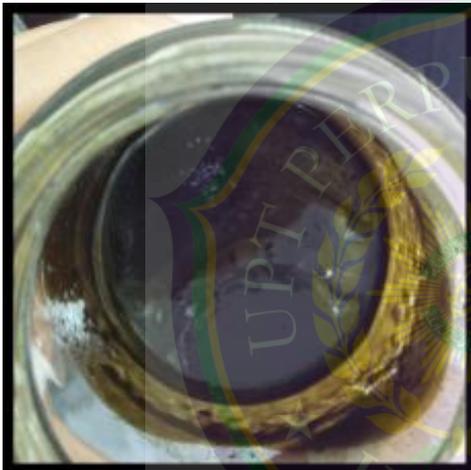
Lampiran 17. Dokumentasi Penelitian



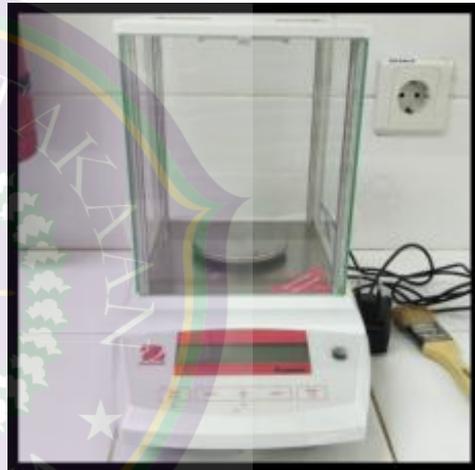
Sampel Segar



Serbuk Simplisia



Ekstrak Etanol 70%



Timbangan Analitik



Proses Ekstraksi dengan Ultrasonik



Chamber KLT



Larutan Baku Kuersetin



Hasil Kadar Abu



Mikropipet dan Tip



Hot Plate



Spektrofotometer Uv-Vis



Desikator



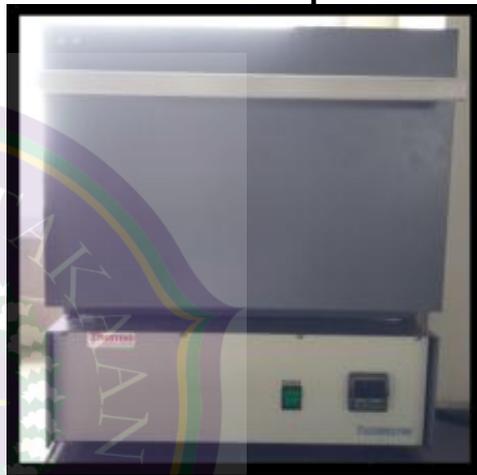
UV BOX



Mikroskop



Oven



Furnance