

# Standardisasi dan Pengukuran Kadar Flavonoid Daun Ketepeng Kecil (*Senna tora* (L.) Roxb.) Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Mahdalena Sy. Pakaya<sup>1\*</sup>, Ishak Isa<sup>2</sup>, Muhammad Taupik<sup>3</sup>, Mohamad Aprianto Paneo<sup>4</sup>, Aldawaty I. Ahyar<sup>5</sup>

<sup>1,3,4,5</sup>Jurusan Farmasi Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo,  
Jl. Jenderal Sudirman No. 06 Kota Gorontalo 96128, Indonesia

<sup>2</sup>Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan IPA, Universitas Negeri Gorontalo, Indonesia

\* Penulis Korespondensi. Email: [mahdalena@ung.ac.id](mailto:mahdalena@ung.ac.id)

## ABSTRAK

Ketepeng kecil (*Senna tora* (L.) Roxb.) merupakan tanaman liar yang digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional untuk mengobati diare serta cacingan. Dalam pengembangan tanaman sebagai obat tradisional, perlu adanya standarisasi mutu bahan tanaman agar terjamin kualitas, stabilitas dan keamanannya. Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan standarisasi ekstrak baik secara spesifik dan non spesifik serta menentukan kadar flavonoid dalam fraksi daun ketepeng kecil (*Senna tora* (L.) Roxb.). Metode penelitian yang digunakan yaitu uji skrining fitokimia, uji parameter spesifik, uji parameter non spesifik, dan penetapan kadar flavonoid. Hasil skrining fitokimia, fraksi yang mengandung senyawa flavonoid adalah fraksi etanol 70%. Hasil dari standarisasi untuk parameter spesifik menunjukkan organoleptik fraksi etanol 70% berbentuk semi padat/kental, berwarna hitam, dan berbau khas, dengan kadar sari larut air sebanyak 19,18% dan dalam kadar sari larut etanol sebanyak 23,35%. Hasil standarisasi untuk parameter non spesifik menunjukkan kadar abu total 1,76%, dan kadar abu tidak larut asam 2,890%, susut pengeringan 4,96%, kadar air 18,80%. Sedangkan pada cemaran logam dan mikroba menunjukkan tidak adanya cemaran pada fraksi etanol 70%. Adapun hasil untuk analisis kadar flavonoid fraksi etanol 70% daun ketepeng kecil dilakukan pada panjang gelombang 438,36 nm dengan nilai absorbansi yaitu 0,0154. Kadar total flavonoid dihitung dengan persamaan linear standar kuersetin yaitu  $y = 0,0648x + (-0,0232)$  dengan koefisien korelasi ( $r^2$ ) = 0,9948 dengan kadar flavonoid total sebesar 4,713%.

### Kata Kunci:

Flavonoid; Ketepeng Kecil (*Senna tora* (L.) Roxb.); Standarisasi; Spektrofotometri UV-Vis

**Diterima:**  
29-10-2023

**Disetujui:**  
08-01-2024

**Online:**  
15-01-2024

## ABSTRACT

Sickle senna (*Senna tora* (L.) Roxb.) is a wild plant that is used by the community as a traditional medicine to treat diarrhea and intestinal worms. In the development of plants as traditional medicines, it is necessary to standardize the quality of plant materials to ensure their quality, stability, and safety. This study aims to determine the standardization of extracts both specifically and non-specifically and to determine the level of flavonoids in the fraction of sickle senna (*Senna tora* (L.) Roxb.) leaves. This study applies a phytochemical screening test, specific parameter test, non-specific parameter test, and flavonoid levels determination. The result of phytochemical screening shows that the fraction containing flavonoid compounds is 70% ethanol fraction. The results of standardization for specific parameter show the

organoleptic ethanol fraction of 70% is in the form of semi-solid/viscous, black color and distinctive smell, with water soluble extract content is 19.08%, and ethanol soluble extract content is 23.35%. the standardization result for non-specific parameter shows that the total ash content is 1.76%, the acid insoluble ash content is 2.890%, drying shrinkage is 4.96%, and water content is 18.80%. meanwhile, metal and microbial contamination show no contamination in the 70% ethanol fraction. The result for the analysis of the flavonoid content of the 70% ethanol fraction. The result for the analysis of the flavonoid content of the 70% ethanol fraction of sickle senna leaves is carried out at a wavelength of 438.36 nm with an absorbance value of 0.0154. The total flavonoid level is calculated by the standard linear equation of quercetin, which is  $y=0.0648x + (-0.0232)$  with a correlation coefficient ( $r^2$ ) = 0,9948 and a total flavonoid content of 4.713%.

Copyright © 2024 Jsscr. All rights reserved.

#### Keywords:

Flavonoids; Sickle senna (*Senna tora* (L.) Roxb.); Standardization; UV-Vis Spectrofotometry

Received:	Accepted:	Online:
2023 -10-29	2024-01-08	2024 -01-15

## 1. Pendahuluan

Indonesia merupakan salah satu negara dengan keanekaragaman hayati terbesar di dunia yang memiliki lebih dari 30.000 spesies tanaman tingkat tinggi. Hingga saat ini tercatat, 7000 spesies tanaman telah diketahui khasiatnya, tetapi hanya kurang dari 300 tanaman yang telah digunakan sebagai bahan baku industri farmasi secara reguler. Sekitar 1000 jenis tanaman telah diidentifikasi dari aspek botani sistematis tumbuhan dengan baik [1].

Terdapat banyak tanaman yang berkhasiat serta banyak digunakan masyarakat dalam pengobatan tradisional salah satunya adalah tanaman ketepeng kecil (*Senna tora* (L.) Roxb.). Ketepeng kecil adalah tanaman perdu yang mudah tumbuh liar sehingga untuk menemukannya tidak sulit. Sebagian masyarakat menggunakan tanaman ini sebagai obat tradisional, diantaranya sebagai anti parasit, laktan, anti *helminth*, kudis, influenza, bronchitis, dan malaria. Kandungan kimia yang terdapat dalam tanaman ketepeng kecil (*Senna tora* (L.) Roxb.), diantaranya adalah *chryzophanol*, *emodin*, *aloe-emodin*, *rhein*, *physcion*, *obtusin*, *aurantio-obtusin*, *robru-busarin*, *tora-chryson*, *toralactone*, vitamin A [2].

Tanaman ketepeng kecil sendiri diketahui mengandung senyawa flavonoid. Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman, dan memiliki khasiat sebagai antiradang, antipiretik, antidiare, antibakteri, antihipertensi, hingga dilatasi pembuluh darah kapiler. Flavonoid sebagai antidiare mempunyai mekanisme kerja dengan cara menghambat motilitas usus sehingga dapat mengurangi sekresi cairan dan elektrolit. Selain itu, Flavonoid bekerja sebagai antihelmintik dengan cara menghambat kerja enzim asetilkolinesterasi yang akan berpengaruh kepada otot-otot cacing, sehingga menyebabkan kematian. Selain itu, flavonoid yang bersentuhan dengan tubuh cacing akan cepat diserap dan menyebabkan denaturasi protein dalam jaringan tubuh cacing sehingga akan menyebabkan kematian [3]. Hal ini tentunya memiliki keterkaitan dengan penggunaan empiris tanaman ketepeng kecil sebagai anti *helminth* atau obat cacingan dan anti diare.

Kadar flavonoid dalam tanaman dapat ditentukan dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Spketrofotometri UV-Vis merupakan metode yang sesuai dalam analisis flavonoid dikarenakan sistem aromatik yang terkonjugasi dalam flavonoid dapat menunjukkan pita serapan yang kuat pada daerah spektrum ultraviolet dan cahaya tampak [4].

Berdasarkan latar belakang diatas, penulis tertarik untuk menguji standardisasi serta kadar flavonoid dalam fraksi daun Ketepeng Kecil (*Senna tora* (L.) Roxb.). Dalam penelitian ini akan di uji apakah fraksi dari tanaman ketepeng kecil telah memenuhi parameter standardisasi untuk menjamin fraksi dapat digunakan sebagai bahan baku obat herbal. Serta untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dalam fraksi dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

## 2. Metode

### Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental karena dilakukan beberapa pengujian untuk menetapkan standarisasi melalui uji spesifik dan uji non spesifik, uji kualitatif senyawa metabolit sekunder serta uji kadar flavonoid dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis

### Bahan dan Alat penelitian

Bahan yang digunakan yaitu  $AlCl_3$ , asam asetat anhidrat, aquadest, bubuk magnesium, dragendrof, fraksi simplisia daun ketepeng kecil (*Senna tora* (L.) Roxb.), etanol 70% PA, etil asetat PA,  $FeCl_3$  PA,  $H_2SO_4$  PA, HCl PA,  $HNO_3$  2% PA, inokulum bakteri, inokulum jamur, kloroform, larutan baku  $Pb(NO_3)_2$ , larutan baku  $Cd(NO_3)_2$ , medium NA, medium NB, medium PDA, NaCl, Silika gel Gf<sub>254</sub>, spiritus, plat KLT, liebermen burchard PA, n-heksan PA, NaOH PA, dan pereaksi mayer PA. Alat yang digunakan yaitu autoklaf (Hirayama®), batang pengaduk, blender, bunsen, cawan penguap, cawan petri, cawan porselin, chamber, corong pisah, deksikator, gelas kimia, gelas ukur, krus silika, labu bersumbat, labu erlenmeyer, lampu UV 366 nm (Memmert type UN260®), lampu UV 254 nm (Memmert type UN260®), mikropipet, oven (Memmert tipe UN 260®), pipa kapiler, pipet tetes, plat KLT, rotary evaporator (RV 8 V Ika ggermany®), shaker incubator (IKA®), spatula, Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV 1800®), Spektrofotometer Serapan Atom (Shimadzu ASC 7000®), tabung reaksi, timbangan analitik, toples, dan vial

### Ekstraksi Daun Ketepeng Kecil (*Senna tora* (L.) Roxb.)

Sampel yang akan digunakan dalam penilitian ini adalah daun dari tanaman ketepeng kecil (*Senna tora* (L.) Roxb.) yang masih segar, diambil dari Desa Bongohulawa, Kecamatan Bongomeme, Kabupaten Gorontalo, Provinsi Gorontalo. Daun ketepeng kecil yang telah dipanen dicuci bersih, dirajang kemudian dikeringkan, pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan. Simplisia kering kemudian dihaluskan untuk memperoleh serbuk simplisia. Serbuk yang telah didapatkan selanjutnya di ayak menggunakan ayakan mesh No. 40. Sebanyak 300 g serbuk simplisia daun ketepeng kecil (*Senna tora* (L.) Roxb.) diekstraksi menggunakan metode remaserasi dengan pelarut dengan kepolaran yang makin meningkat yaitu n-heksan, etil asetat, dan etanol 70%. Pertama, simplisia dimasukkan ke dalam wadah yang telah berisi pelarut n-heksan sebanyak 3000 ml dan direndam selama 24 jam, sambil sesekali dikocok (setiap 8 jam). Setelah itu, filtrat ditampung dan residu dikeringkan. Residu kemudian diekstraksi lebih lanjut dengan cara yang sama menggunakan pelarut etil asetat dan etanol 70% masing-masing sebanyak 3000 ml.

Ketiga macam fraksi dengan pelarut yang berbeda tersebut lalu diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh fraksi kental dan kemudian ditimbang bobot fraksi dan dihitung persentase rendamen.

### Penetapan Organolepik

Penetapan ini menggunakan panca indra untuk mengetahui bentuk, warna, bau, dan rasa dari sampel

### Penetapan Senyawa Larut Dalam Air

Ekstrak sebanyak 2 g ekstrak dimaserasi selama 24 jam dengan 40 ml air-kloroform (1 mL kloroform dalam 39 mL air) menggunakan labu bersumbat, dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama. Kemudian dibiarkan selama 18 jam. Setelah itu disaring. Uapkan 8 mL filtrat. Residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Dihitung kadar dalam persen senyawa yang larut dalam air terhadap berat ekstrak awal.

#### Penetapan Senyawa Larut Dalam Etanol

Sebanyak 2 gram ekstrak dimaserasi selama 24 jam dengan 40 mL etanol 95% menggunakan labu bersumbat, dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama. Kemudian dibiarkan selama 18 jam. Disaring dengan cepat untuk menghindari terjadinya penguapan etanol. Kemudian diuapkan 8 mL filtrat hingga kering. Residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap.

#### Uji Flavonoid

Masing-masing ekstrak etanol, etil asetat dan N-Heksan sebanyak 1 ml dimasukan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium dan 2 mL HCl pekat kemudian dikocok. Apabila terbentuk larutan berwarna merah, kuning, atau jingga menunjukkan adanya flavonoid [6].

#### Uji alkaloid

Sebanyak 5 tetes filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes HCl 2N serta 2 tetes pereaksi Dragendorff. Jika terbentuk endapan berwarna coklat kemerahan dari warna jingga, hal ini menunjukkan adanya senyawa alkaloid [7].

#### Uji Terpenoid dan Steroid

Masing-masing ekstrak etanol, etil asetat dan N-heksan sebanyak 1 ml dimasukan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat dan 2 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Dilihat perubahan warna yang terjadi, apabila terbentuk warna orange, merah atau kuning, menunjukkan adanya terpenoid. Tetapi apabila terbentuk warna hijau berarti sampel positif mengandung steroid [1].

#### Uji Saponin

Masing-masing ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan sebanyak 1 ml dimasukan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan 2 mL aquadest kemudian dipanaskan selama 2-3 menit, tunggu hingga dingin kemudian dikocok selama 10 detik, diamati perubahan yang terjadi. Apabila terbentuk buih selama tidak kurang dari 10 menit serta dengan penambahan HCl 2N buih tidak hilang maka positif mengandung saponin [8].

#### Uji Tanin

Masing-masing ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan sebanyak 1 ml dimasukan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan 1 mL larutan FeCl<sub>3</sub> %. Apabila berubah warna biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin [7].

#### Pemisahan Menggunakan KLT

Hasil ekstrak yang mengandung paling banyak senyawa diidentifikasi kembali menggunakan KLT. Ekstrak ditotolkan pada lempeng silika dan dielusi menggunakan fase gerak yang sesuai berdasarkan literature. Hasil penampakan dilihat menggunakan lampu UV 254 dan 366 lalu dihitung nilai R<sub>f</sub>.

#### Penetapan Kadar Air

Sebanyak 1 gram fraksi dikeringkan dalam oven selama 2 jam pada suhu 105°C setelah itu ditimbang. Pengeringan dilanjutkan dengan selang waktu 1 jam hingga perbedaan antara 2 penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% [9].

#### Penetapan Kadar Abu

Sebanyak 1 gram fraksi ditimbang dan ditempatkan dalam cawan porselin yang telah dimasukkan terlebih dahulu kedalam oven dan ditimbang. Kemudian perlahan-lahan dimasukkan fraksi ke dalam oven sampai arangnya hilang. Setelah didinginkan dengan desikator dan ditimbang sampai mencapai berat tertentu, kemudian dihitung kadar abu total [9].

#### Penetapan Kadar Abu tidak larut asam

Setelah dilakukan pengukuran kadar abu total, abu yang diperoleh pada pengukuran kadar abu sebelumnya dilarutkan dalam 25 ml asam sulfat encer selama 5 menit. Bagian yang tidak larut asam kemudian dikumpulkan, disaring melalui kertas saring tanpa abu dan residu dibilas dengan air panas. Abu yang telah disaring dengan kertas saring diletakkan diatas kaca arloji, kemudian dibakar secara perlahan dalam oven dan ditimbang [9].

#### Penetapan Susut Pengeringan

Esktrak ditimbang sebanyak 1 gram dalam cawan yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan ditimbang. Fraksi kemudian dikeringkan pada suhu penetapan sampai bobot tetap. Kemudian dibuka tutupnya, dibiarkan cawan dalam desikator hingga suhu kamar. Dicatat bobot tetap yang diperoleh [9].

#### Pembuatan kurva baku Pd dan Cd

Dari larutan baku  $Pb(NO_3)_2$  dipipet 5 mL kemudian dicukupkan volumenya sampai 50 ml dengan  $HNO_3$  2%, dari larutan ini akan dipipet lagi 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL dan 5 mL. Kemudian dimasukan kedalam labu ukur 50 mL dan dicukupkan lagi volumenya sampai batas yang telah diberi tanda. Akan diperoleh larutan baku dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Dari larutan baku  $Cd(NO_3)_2$  1000 ppm dipipet 5 ml kemudian dicukupkan volumenya sampai 50 ml dengan  $HNO_3$  2% (100 ppm). Dari larutan ini akan dipipet lagi 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL dan 5 mL. Kemudian dimasukan kedalam labu ukur 100 mL dan dicukupkan lagi volumenya hingga batas yang telah diberi tanda. Akan diperoleh larutan baku dengan konsentrasi 0,1 ppm, 0,2 ppm, 0,3 ppm, 0,4 ppm dan 0,5 ppm [10].

#### Larutan Uji

Ditimbang 5 g sampel kemudian dimasukan kedalam gelas kimia, ditambahkan 5 mL  $HNO_3$  dan 1 mL  $HClO_4$  lalu didestruksi pada suhu 200°C sampai diperoleh larutan jernih, didinginkan dan disaring menggunakan kertas whatman No 40-41. Dimasukan dalam labu ukur 50 mL, dan dicukupkan volumenya dengan aquadest [10].

### Pengukuran Kadar Logam

Kadar Logam Pb diukur menggunakan spektrofotometer serapan atom pada panjang gelombang 217 nm, sedangkan kadar logam Cd diukur pada panjang gelombang 288,8 nm [10].

### Persiapan Sampel

Ditimbang fraksi sebanyak 10 g dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 250 mL. Ditambahkan medium NB 90 mL ke dalam sampel dan kocok hingga homogen ( $10^{-1}$ ). Disiapkan 6 buah tabung reaksi dan dimasukkan masing-masing 9 mL NaCl ke dalam tabung reaksi dan disimpan pada rak tabung. Diambil sebanyak 1 mL suspensi  $10^{-1}$  ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL NaCl dan dikocok hingga homogen ( $10^{-2}$ ). Dilakukan pengenceran bertingkat hingga diperoleh pengenceran  $10^{-6}$  [11].

### Metode ALT

Diambil suspensi sampel (pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-6}$ ) dan dimasukkan masing-masing 1 mL ke dalam cawan petri steril. Ditambahkan 10 mL NA (bakteri) ke dalam masing-masing cawan petri tersebut. Diputar cawan petri sampai suspensi dan medium homogen. Kemudian diinkubasi selama 24 jam (bakteri) dan dihitung mikroba yang tumbuh [11]. Diambil suspensi sampel (pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-6}$ ) dan dimasukkan masing-masing 1 mL ke dalam cawan petri steril. Ditambahkan 10 mL PDA (kapang) ke dalam masing-masing cawan petri tersebut. Diputar cawan petri sampai suspensi dan medium homogen. Kemudian diinkubasi 72 jam (kapang) dan dihitung mikroba yang tumbuh [11].

### Penentuan panjang gelombang quersetin

Penentuan panjang gelombang quersetin dilakukan dengan cara membuat quersetin 100 ppm, kemudian sebanyak 1 mL larutan quersetin direaksikan dengan 1 mL  $\text{AlCl}_3$  2% dan ditambahkan 8 mL asam asetat 5% larutan dibiarkan selama 30 menit kemudian lakukan pembacaan pada rentang panjang gelombang 200-600 nm [12].

### Pembuatan kurva standar quersetin

Ditimbang sebanyak 25 mg baku standar quersetin dan dilarutkan dalam 25 mL etanol 70%. Larutan stok dipipet sebanyak 1 mL dan dicukupkan volumenya sampai 10 mL dengan methanol sehingga diperoleh 100 ppm. Dari larutan standar quersetin 100 ppm kemudian dibuat beberapa konsentrasi yaitu 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm dari masing-masing konsentrasi larutan standar quersetin dipipet 1 mL. Kemudian ditambahkan 1 mL  $\text{AlCl}_3$  2% dan ditambahkan 8 mL asam asetat 5%. Kemudian sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum [12].

### Penentuan kadar flavonoid Ketepeng Kecil (*Senna tora* (L.) Roxb.)

Ditimbang sebanyak 25 mg ekstrak dan dilarutkan dalam 25 mL metanol, larutan stok dipipet sebanyak 1 mL dan dicukupkan volumenya sampai 10 mL dengan metanol. Diambil 1 mL larutan ekstrak kemudian ditambahkan 1 mL  $\text{AlCl}_3$  2% dan ditambahkan 8 mL asam asetat 5% dan sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

### 3. Hasil dan Pembahasan

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi bertingkat menggunakan tiga pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam untuk masing-masing pelarut dengan perbandingan sampel dan pelarut sebanyak 300 gram : 3 Liter. Dari banyak sampel dan pelarut diperoleh hasil rendamen seperti pada tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Persentase Rendamen

Fraksi	Berat Sampel (g)	Pelarut (mL)	Berat Ekstrak Kental (g)	Rendemen (%)
N-Heksan	300	3000	18	6
Etil Asetat	289	3000	28	9,6
Etanol 70%	273	3000	33	12,08

Hasil menunjukkan ekstrak yang diperoleh dari maserasi bertingkat menggunakan pelarut n-heksan sebanyak 18 gram dengan persen rendamen 6%, etil asetat sebanyak 28 gram dengan persen rendamen 9,6%, dan etanol 70% sebanyak 33 gram dengan persen rendamen 12,08%. Hasil presentase rendamen fraksi N-Heksan dan etil asetat menunjukkan presentase yang lebih kecil dibandingkan dengan fraksi etanol 70%. Tingginya persen rendamen dalam pelarut etanol 70% menunjukkan bahwa etanol 70% mampu mengekstrak senyawa-senyawa aktif dalam simplisia dengan sifat kepolaran yang mirip dengan pelarut etanol 70%. Dikarenakan kemampuan dari masing-masing pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda, etanol dengan sifat polar dapat menarik lebih banyak senyawa daripada pelarut non polar dan semi polar seperti n-heksan dan etil asetat [13].

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit apa saja yang terkandung dalam masing-masing ekstrak. Uji ini dilakukan dengan menggunakan pereaksi warna yang berbeda-beda untuk tiap senyawa metabolit sekunder. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun ketepeng kecil (*Senna tora* (L.) Roxb.) dapat dilihat pada tabel 2

**Tabel 2.** Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Ketepeng Kecil

Uji Fitokimia	Reagen	Fraksi		
		N-Heksan	Etil Asetat	Etanol 70%
Alkaloid	HCl + pereaksi Mayer	-	-	-
	HCl + pereaksi Dragendorf	-	-	-
	HCl + pereaksi Lieberman	-	-	-
Flavonoid	Serbuk Mg+ HCl	-	-	+
Saponin	Air panas + HCl	+	+	+
Tanin	FeCl <sub>3</sub>	+	+	+
Steroid	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + asam asetat anhidrat	+	-	-
Terpenoid	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + asam asetat anhidrat	-	-	-

Hasil menunjukkan bahwa fraksi daun ketepeng kecil mengandung senyawa flavonoid, tanin, steroid dan saponin. Hal ini membuktikan bahwa daun ketepeng kecil mengandung senyawa aktif metabolit sekunder. Fraksi etanol 70% yang memiliki kandungan senyawa flavonoid kemudian dilakukan uji organoleptik yang meliputi bentuk, warna, rasa dan bau. Hasil organoleptik dari ekstrak etanol 70% daun ketepeng kecil dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Organoleptik

Sampel	Uji Organoleptik	Hasil
Fraksi Daun Ketepeng Kecil ( <i>Senna tora</i> (L.) Roxb.)	Warna	Hitam
	Bentuk	Fraksi Kental
	Rasa	Pahit
	Bau	Khas

Uji organoleptik bertujuan untuk memberikan pengenalan awal ekstrak secara objektif dan sederhana yang dilakukan dengan menggunakan panca indra [10]. Uji organoleptik meliputi pemeriksaan bentuk ekstrak yang kental, warna ekstrak yang hijau kehitaman, bau atau aroma yang khas, dan rasa dari ekstrak yang pahit pekat.

Fraksi etanol 70% selanjutnya diuji parameter sari larut pelarut tertentu. Pelarut yang dimaksud adalah air dan etanol. Pengujian ini dilakukan dengan melarutkan ekstrak pada air ataupun etanol dan dilihat banyaknya kandungan senyawa yang terlarut dalam pelarut-pelarut tersebut.

Tabel 4. Hasil Uji Sari Larut Pelarut

Sampel	Parameter	Hasil
Daun Ketepeng	Senyawa larut dalam air	19,18%
Kecil	Senyawa larut Etanol	23,35%

Tabel 4 menunjukkan senyawa dalam fraksi daun ketepeng kecil lebih banyak terlarut dalam air dengan presentase sebesar 19,18% dan senyawa yang terlarut dalam etanol hanya sebanyak 23,35%, hal ini menunjukkan bahwa fraksi daun ketepeng kecil lebih banyak terlarut dalam etanol dibandingkan dalam air. Penetapan kadar senyawa larut dalam air dan etanol ini merupakan dugaan secara umum banyaknya senyawa yang bersifat polar (yang larut air) maupun bersifat semi polar (terlarut dalam etanol). Penetapan senyawa larut dalam air maupun etanol ini tidak secara langsung mempengaruhi efek farmakologis senyawa aktif dalam fraksi [1].

Penentuan Pola kromatogram menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan dengan menggunakan perbandingan fase gerak yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda dan hampir mendekati kepolaran senyawa yang akan ditentukan dengan melihat jalan noda dan dihitung nilai R<sub>f</sub>. Eluen yang digunakan pada kromatografi lapis tipis yaitu berupa perbandingan antara N-Heksan: Etil asetat dengan perbandingan 7:3. Jarak noda dan nilai R<sub>f</sub> yang ditempuh fraksi etanol 70% dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Eluen N-Heksan : Etil asetat (7:3)	Jerak tempuh noda (cm)	Jarak tempuh pelarut (cm)	Harga Rf
Daun Ketepeng Kecil ( <i>Senna tora</i> (L.) Roxb.)	1,1	4	Rf <sub>1</sub> 0,275
	1,4	4	Rf <sub>2</sub> 0,35
	1,8	4	Rf <sub>3</sub> 0,45
	2,4	4	Rf <sub>4</sub> 0,6

Berdasarkan uji KLT yang telah dilakukan menunjukkan bahwa fraksi etanol daun ketepeng kecil mengandung senyawa flavonoid karena dilihat dari nilai Rf yang didapat yakni 0,275, 0,35, 0,45 dan 0,6. Nilai Rf senyawa flavonoid berkisar antara 0,2 - 0,8 atau dinyatakan lain dapat dilihat dari hasil fluoresensi yang terbentuk [14]. Parameter nonspesifik merupakan pengujian yang meliputi uji kadar air, kadar abu, kadar abu tidak larut asam, susut pengeringan, cemaran logam berat, dan cemaran mikroba. Hasil dari ke empat parameter ini dapat dilihat pada tabel 6

Tabel 6. Hasil Uji Parameter Nonspesifik

Parameter	Hasil	Syarat
Kadar Air	18,80%	5-30% [15]
Susut Pengeringan	4,96%	<11% [16]
Kadar Abu	1,76%	<10% [17]
Kadar Abu tidak larut asam	2,890%	<4,60% [17]
Cemaran Logam Berat Pb	-5,2053 $\mu\text{g/L}$	<10 mg/kg [10]
Cemaran Mikroba		<5x10 <sup>7</sup> koloni/g
a. Jamur	7,41 $\times 10^5$	[18]
b. Bakteri	2,04 $\times 10^6$	<5x10 <sup>7</sup> koloni/g [18]

Berdasarkan hasil yang diperoleh, pada pengujian kadar air diperoleh hasil 18,80%. Pengukuran kadar air dalam suatu bahan diperlukan dalam berbagai bidang, terlebih pada suatu fraksi. Tingginya kadar air dapat mengakibatkan tumbuhnya jamur-jamur yang tidak baik bagi kesehatan. Range kadar air tergantung dari jenis fraksi, untuk fraksi kental sendiri memiliki range kadar air antara 5-30% [15].

Pengujian parameter non spesifik selanjutnya yaitu susut pengeringan. Penetapan susut pengeringan pada fraksi merupakan salah satu syarat yang harus terpenuhi dalam standarisasi tanaman yang berkhasiat sebagai obat. Dengan mengetahui susut pengeringan dapat memberikan batas maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Pada uji susut pengeringan diperoleh hasil 4,96%. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang hilang pada fraksi etanol daun ketepeng kecil sebanyak 4,96%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak yang diperoleh memenuhi syarat yaitu kurang dari 11% [16].

Pengujian selanjutnya adalah kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam. Kadar abu ini penting dilakukan karena kadar abu dapat menunjukkan kelayakan suatu sampel untuk pengolahan selanjutnya. Hasil kadar abu total diperoleh sebesar 1,76% sedangkan kadar abu tidak larut asam sebesar 2,890%. Hasil tersebut memenuhi syarat batas kadar abu tidak larut asam yaitu kurang dari 4,6% [17]. Besarnya kadar abu total

menunjukkan bahwa fraksi yang diperoleh dari proses maserasi mengandung banyak mineral sedangkan adanya kadar abu yang tidak larut asam menunjukkan adanya pasir atau pengotor lainnya dalam fraksi [19]. Dari hasil penetapan kadar abu dapat diketahui kandungan mineral dalam fraksi dan kandungan mineral tidak larut asam dimana rentang maksimal berhubungan dengan kemurnian dan kontaminan [15].

Selain beberapa pengujian diatas, fraksi etanol daun ketepeng kecil juga dilakukan uji cemaran mikroba dan logam berat. Penentuan cemaran mikroba termasuk salah satu uji untuk syarat kemurnian fraksi. Uji ini mencakup penentuan jumlah mikroorganisme yang diperbolehkan serta menunjukkan ada tidaknya bakteri dalam fraksi. Pengujian cemaran mikroba dilakukan untuk memberikan jaminan bahwa fraksi tidak mengandung mikroba patogen dan mikroba non patogen melebihi batas yang ditetapkan karena dapat berpengaruh pada stabilitas fraksi dan berbahaya bagi kesehatan [20].

Hasil uji cemaran bakteri dan jamur dari fraksi etanol daun ketepeng kecil di dapatkan hasil jumlah koloni dari masing-masing cawan petri kurang dari 25 koloni. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun ketepeng kecil masih di bawah batas maksimum atau dapat dikatakan tidak tercemar dan memenuhi syarat untuk dapat digunakan sebagai bahan baku obat, hal ini dapat disebabkan karena fraksi yang digunakan merupakan fraksi etanol yang memang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan mikroba atau bakteri yang terdapat dalam fraksi. Menurut peraturan BPOM RI No. 12 tahun 2014, persyaratan angka lempeng total (ALT) yang diperbolehkan pada bahan baku obat herbal adalah  $1 \times 10^6$  cfu/mL.

Adapun hasil dari cemaran logam Timbal (Pb) yaitu  $5,2053 \mu\text{g/L}$ . Hasil tersebut menunjukkan bahwa kandungan logam Timbal (Pb) fraksi etanol daun ketepeng kecil masih berada dalam batasan normal bahkan nilainya masih jauh dibawah batas normal. Batasan cemaran logam berat timbal (Pb) dalam ekstrak tidak boleh melewati batas yang ditetapkan dalam buku Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia volume II yaitu  $< 10 \text{ mg/kg}$  [21]. Nilai absorbansi yang telah dari pengukuran larutan baku dapat dilihat pada tabel 7.

**Tabel 7.** Hasil Pembacaan Nilai Absorbansi

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
5	0,327
10	0,633
15	0,887
20	1,275
25	1,628

Selanjutnya dimasukkan dalam persamaan regresi untuk menentukan panjang gelombang dari kuersetin, dan nilai hasil pengukuran absorbansi sampel digunakan untuk menghitung kadar flavonoid total dari ekstrak sampel ketepeng kecil. Hasil dari panjang gelombang dan kadar total flavonoid dapat dilihat pada tabel 8

Tabel 8. Hasil Pembacaan Panjang Gelombang

Sampel Ekstrak Daun Ketepeng Kecil	Hasil
Panjang gelombang maksimum	438,36 nm
Kadar flavonoid total	47,13 µg/ml

Kadar flavonoid ditentukan melalui persamaan regresi kurva standar dengan konsentrasi larutan quersetin adalah 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm. Semakin tinggi konsentrasi zat maka semakin tinggi pula nilai absorbansi yang diperoleh, sehingga menunjukkan hubungan lurus antara konsentrasi dan nilai absorbansi [22]. Berdasarkan hasil regresi di aplikasi excel menunjukkan persamaan yaitu  $y = 0,0643x - 0,0232$  dengan nilai  $R^2$  0,9948. Pada pengukuran kadar flavonoid total penambahan pereaksi  $AlCl_3$ . Hal ini bertujuan membuat koompleks antara senyawa flavonoid dan  $AlCl_3$  pada gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 dan C-5, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke *visible* (tampak) yang ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna kuning [23]. Berdasarkan pengukuran yang telah dilakukan diperoleh hasil 47,13 µg/mg. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi etanol daun ketepeng kecil (*Senna tora* (L.) Roxb.) mengandung flavonoid sebanyak 47,13 µg/mg.

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa berdasarkan pengujian standarisasi meliputi parameter spesifik dan parameter non-spesifik fraksi etanol 70% tanaman ketepeng kecil (*Senna tora* (L.) Roxb.) telah memenuhi standarisasi mutu bahan baku. Serta kadar flavonoid total sebanyak 47,13 µg/mg pada panjang gelombang maksimum 438,36 nm.

#### Referensi

- [1]. Sulistyarini, I., Sari, D. A., dan Wicaksono, T. A. (2020). *Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (Hylocereus polyrhizus)*. Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta. 56-62
- [2]. Murni., Gunawan., Janitra, B. (2014). *Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Ketepeng (Cassia alata L.) Dan Ketepeng Kecil (Cassia tora L.) Terhadap Plasmodium Falciparum Secara In Vitro*. BALABA. 10 (2) : 83-88
- [3]. Sukmawati., Hadi, H., Aminah. (2017). *Potensi Senyawa Flavonoid Daun Afrika (Vernonia amygdalina Del.) Asal Ternate Sebagai Antioksidan*. Jurnal As-Syifa. 09 (02) : 195-200
- [4]. Aminah., Tomayahu, Nurhayati., Abidin, Zainal. (2017). *Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (Persea americana Mill.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis*. Jurnal Fitofarmaka Indonesia. 4 (2) : 226-230. DOI: 10.33096/jffi.v4i2.265
- [5]. Handayani, T. W., Yusuf, Y., Tandi, J. (2020). *Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Biji Kelor (Moringa oleifera Lam) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis*. Jurnal Riset Kimia. Vol 6(3). 230-238
- [6]. Mabruroh QE, Mursiti S, Kusumo E. (2019). *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari daun murbei (Morus alba Linn)*. Indonesian journal of Chemical science. 8 (1)
- [7]. Atmoko, T., dan Ma'aruf, A. (2009). *Uji Toksisitas Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Tumbuhan Sumber Pakan Orang Utan Terhadap Larva Artemia salina Leach*. Jurnal penelitian Hutan dan Konservasi Alam VI. (1): 39.

- [8]. Wardana, A. P. & Tukiran. (2016). *Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kloroform Tumbuhan Gowok (Syzygium polycephalum)*. Prosiding Seminar Nasional Kimia Dan Pembelajarannya. 21- 26
- [9]. Andrian, Kikik., Rochmah, Nur., Arifah Farida Noor. (2018). *Karakterisasi Parameter Spesifik Dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Teratai (Nelumbium nelumbo D.)*. Prosiding Seminar Nasional Sains, Teknologi dan Analisis. Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wijaya Kediri
- [10]. Irsyad, Muchammad. (2013). *Standarisasi Ekstrak Etanol Tumbuhan Katumpangan Air (Paperomia pellucida L. Kunth)*. Skripsi. Jakarta : Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Program Studi Farmasi, UIN Syarif Hidayatullah
- [11]. Anonymous. (2000). *Parameter Standar Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: BPOM
- [12]. Ipandi, I., Triyasmono, L., dan Prayitno, B. (2016). *Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kajajahi (Leucosyke capitellata Wedd)*. Pharmascience, 3(1), 93-100.
- [13]. Sari, Meliani., Ulfa, Rani. Nareza., Marpaung, Mauritz. Pandapotan., Purnama. (2021). *Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Daun Papasan (Coccinia grandis L.) Berdasarkan Perbedaan Pelarut Polar*. Jurnal Riset Kimia. 7 (1) : 30-41
- [14]. Rasyid, R., Nofriyelli, E., Andayani, R. (2018). *Validasi Metode Analisis Mangiferin Dalam Plasma In Vitro Secara Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri*. Padang : Universitas Andalas
- [15]. Utami, Y. P., Sisang, S., Burhan, A. (2016). *Pengukuran Parameter Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Patikala (Etlingera elatior (Jack) R.M. Sm) Asal Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan*. MFF. 24 (1) : 5-10
- [16]. Manarisip, Geraldin. Ester., Fatmawati, Rotinsulu, Henki. (2020). *Standarisasi Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) dan Uji Antibakteri Terhadap Bakteri Pseudomonas aeruginosa*. PHARMACON. 9 (4) : 533-541
- [17]. Ulfah, Maria., Kurniawan, Ricky. Chandra., Erny, Metalia. (2020). *Standardisasi Parameter Non Spesifik dan Spesifik Ekstrak Etanol Daun Jamblang (Syzygium cumini (L.) skeels)*. Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik. 17 (2): 35-43
- [18]. Anonymous. (2014). *Persyaratn Mutu Obat Tradisional*. Jakarta : Badan Pengawas Obat Dan Makanan RI
- [19]. Kartikasari, D., Nurkhasanah, Suwijiyo, P. (2014). *Karakterisasi Simplisia Dan Ekstrak Etanol Daun Bertoni (Stevia rebaudiana) Dari Tiga Tempat Tumbuh*. Proceeding Seminar Nasional Perkembangan Terbaru Pemanfaatan Herbal Sebagian Agen Preventif Pada Terapi Kanker. Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik. 149- 150.
- [20]. Ratnani, R.D., Hartati, I., Anas, Y., Endah, D., Khilyati, D. D. (2015). *Standardisasi Spesifik Dan Non Spesifik Ekstraksi Hidrotropi Andrographolid Dari Sambiloto (Andrographis Paniculata)*. Semarang: Universitas Wahid Hasyim
- [21]. Solikha, D. F. (2019). *Penentuan Kadar Tembaga (Ii) Pada Sampel Menggunakan Spektroskopi Serapan Atom (SSA) Perkin Erlmer Analyst 100 Metode Kurva Kalibrasi*. Jurnal Ilmiah Indonesia. Vol. 4 No. 2
- [22]. Salmia. (2016). *Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Kulit Batang Kedondong Bangkok (Spondias Dulcis) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis*. Skripsi Jurusan Farmasi. Universitas Negeri Alaudin Makassar
- [23]. Kumalasar, Eka., Nazir, M. Ahlun., Putra, Aditya. M. P. (2018). *Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 70% Daun Bawang Dayak (Eleutherine palmifolia L.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis*. Jurnal Insan Farmasi Indonesia. 1 (2) :201-209