

PETUNJUK PRAKTIKUM

# Analisis Sediaan FARMASI



**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS KRISTEN IMMANUEL  
YOGYAKARTA  
2023**



**LABORATORIUM KIMIA**  
**PETUNJUK PRAKTIKUM**  
**ANALISIS SEDIAAN FARMASI**

Disusun oleh :  
apt. Ellsya Angeline Rawar, M.Pharm.Sci.

**FAKULTAS FARMASI**  
**UNIVERSITAS KRISTEN IMMANUEL**  
**YOGYAKARTA**  
**2023**

## **VISI KEILMUAN**

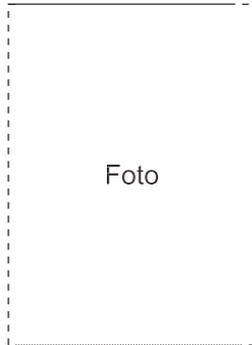
### **Program Studi S1 Farmasi UKRIM**

Menjadi program studi sarjana farmasi yang unggul, kompeten, kreatif, dan berintegritas dalam Ilmu dan Iman di bidang farmasi komunitas dan pengembangan bahan alam.

## **MISI**

### **Program Studi S1 Farmasi UKRIM**

1. Menyelenggarakan pendidikan sarjana farmasi yang unggul dalam bidang farmasi komunitas dan pengembangan bahan alam yang relevan dengan perkembangan zaman dan kebutuhan masyarakat
2. Melaksanakan penelitian dan pengabdian kepada masyarakat dalam bidang farmasi komunitas dan pengembangan bahan alam untuk meningkatkan kesehatan dan kesejahteraan masyarakat
3. Menciptakan suasana program studi sarjana farmasi yang inovatif, kreatif, berjiwa wirausaha dan budaya pengelolaan energi yang memiliki integritas serta keseimbangan antara ilmu dan iman
4. Memberikan kesempatan bagi masyarakat di daerah "Tertinggal, Terdepan, Terluar" untuk menjadi sarjana farmasi



# **IDENTITAS PRAKTIKAN**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS KRISTEN IMMANUEL  
YOGYAKARTA**

Nama :  
NIM Mahasiswa :  
Tahun Angkatan :  
Semester :

## **KATA PENGANTAR**

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas berkat dan anugerah-Nya sehingga kami dapat menyusun buku petunjuk praktikum Analisis Sediaan Farmasi ini dengan baik. Buku petunjuk praktikum ini disusun dengan tujuan untuk menjadi pedoman dalam melakukan praktikum Analisis Sediaan Farmasi di Program Studi S1 Farmasi Universitas Kristen Immanuel sehingga dosen pengampu praktikum, asisten praktikum, laboran, dan mahasiswa yang akan melakukan praktikum dapat mengetahui, memahami, dan mampu melaksanakan praktikum ini dengan baik dan lancar sehingga dapat meningkatkan pengetahuan dan keterampilan mahasiswa untuk mencapai capaian pembelajaran lulusan (CPL) mata kuliah Analisis Sediaan Farmasi. Keterampilan dalam melakukan penelitian terkait mata kuliah Analisis Sediaan Farmasi ini sangat penting karena menjadi dasar dari segala teknik penetapan kadar senyawa aktif dan senyawa tambahan dalam produk farmasi, khususnya obat sehingga kemampuan ini akan berguna dalam mengerjakan tugas akhir (skripsi) maupun dalam bekerja di industri farmasi.

Demikianlah petunjuk praktikum Analisis Sediaan Farmasi ini, semoga berguna bagi semua pihak terkait yang menggunakan buku ini. Kami mohon maaf apabila masih ada kekurangan dalam buku petunjuk praktikum ini, saran dan kritik yang membangun diperlukan untuk mengevaluasi buku ini.

Yogyakarta, Januari 2023

Hormat kami,

Penyusun

## DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	4
DAFTAR ISI.....	5
TATA TERTIB PRAKTIKUM .....	6
RENCANA PRAKTIKUM ANALISIS SEDIAAN FARMASI .....	7
PERTEMUAN 1_PENETAPAN KADAR PARASETAMOL DALAM TABLET SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS (PENETAPAN PANJANG GELOMBANG MAKSIMUM) .....	8
PERTEMUAN 2_PENETAPAN KADAR PARASETAMOL DALAM TABLET SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS (LINIERITAS DAN SENSITIVITAS) .....	12
PERTEMUAN 3_PENETAPAN KADAR PARASETAMOL DALAM TABLET SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS (PRESISI) .....	16
PERTEMUAN 4_PENETAPAN KADAR PARASETAMOL DALAM TABLET SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS (AKURASI) .....	19
PERTEMUAN 5_PENETAPAN KADAR PARASETAMOL DALAM TABLET SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS (SAMPEL) .....	23
PERTEMUAN 6_PEMBUATAN EKSTRAK (MASERASI DAN PENYARINGAN) .....	26
PERTEMUAN 7_PEMBUATAN EKSTRAK_(PENGENTALAN EKSTRAK DENGAN ROTARY EVAPORATOR).....	31
PERTEMUAN 8_SKRINING FITOKIMIA (FLAVONOID, FENOLIK, ALKALOID, SAPONIN, DAN TANIN) .....	34
PERTEMUAN 9_PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL DALAM EKSTRAK .....	37
PERTEMUAN 10_PENETAPAN KADAR FENOLIK TOTAL DALAM EKSTRAK.....	40
PERTEMUAN 11_PENETAPAN KADAR ALKALOID TOTAL DALAM EKSTRAK .....	44
PERTEMUAN 12_PENETAPAN KADAR TANIN TOTAL DALAM EKSTRAK .....	48
PERTEMUAN 13_UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DENGAN METODE DPPH (PENETAPAN NILAI IC50 PADA STANDAR) .....	51
PERTEMUAN 14_UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DENGAN METODE DPPH (PENETAPAN NILAI IC50 PADA EKSTRAK) .....	54

## TATA TERTIB PRAKTIKUM

1. Mahasiswa wajib hadir tepat waktu di laboratorium sesuai dengan jadwal yang telah ditentukan.
2. Mahasiswa diharuskan mengenakan jas praktikum bersih dan berwarna putih, menggunakan sepatu tertutup, rambut diikat rapi jangan sampai ada rambut yang tergerai (digulung rapi).
3. Mahasiswa tidak diperkenankan mengeluarkan handphone selama praktikum berlangsung dan tidak boleh makan dan minum di dalam laboratorium selama praktikum berlangsung.
4. Mahasiswa diwajibkan mengikuti kegiatan praktikum dari awal sampai akhir dan tidak boleh meninggalkan laboratorium selama jam praktikum. Mahasiswa yang akan meninggalkan ruang praktikum diharuskan meminta ijin kepada dosen pengampu praktikum atau laboran.
5. Mahasiswa yang berhalangan hadir saat praktikum WAJIB disertai surat izin atau surat keterangan sakit dari dokter.
6. Mahasiswa yang berhalangan hadir tanpa keterangan dianggap gugur dan WAJIB mengikuti kegiatan praktikum pada tahun ajaran berikutnya.
7. Pembagian waktu praktikum dalam satu sesi Pertemuan praktikum adalah sebagai berikut :
  - a. Pretest lisan = 15 menit
  - b. Praktikum = 100 menit
  - c. Pembuatan laporan = 40 menit
  - d. Post-test = 15 menit
8. Mahasiswa wajib mengikuti pretest lisan sebelum memulai mengerjakan praktikum. Bagi mahasiswa yang tidak mengikuti pretest lisan, tidak diperbolehkan mengikuti praktikum.
9. Setiap peserta wajib menulis laporan praktikum dalam modul praktikum dan ditandatangani dosen setelah selesai melaksanakan praktikum.
10. Setiap peserta wajib cek alat yang diambil dan menuliskan dalam kartu alat sebelum praktikum dimulai dan mengembalikan alat-alat yang telah dipakai dalam keadaan bersih dan kering dan tertata rapi setelah praktikum berakhir kemudian cek alat yang telah dikembalikan. Bagi mereka yang merusakkan atau menghilangkan alat-alat diwajibkan untuk melaporkan kepada laboran dan mengganti alat tersebut sebelum praktikum selanjutnya.
11. Setiap peserta harus menjaga kebersihan laboratorium, bekerja dengan tertib, tenang, teratur, dan dilarang bercanda.
12. Setiap peserta harus melaksanakan semua mata praktikum dan mematuhi budaya kesehatan dan keselamatan kerja (K3).
13. Apabila peserta praktikum melanggar hal-hal telah diatur di atas, maka yang bersangkutan dapat dikeluarkan dari laboratorium, dan tidak diperkenankan untuk melanjutkan praktikum pada hari itu. Kegiatan praktikum dinyatakan batal dan tidak diizinkan untuk inhal.
14. Bagi praktikan yang dua kali berturut-turut tidak mengikuti acara praktikum tanpa alasan yang tepat dinyatakan hilang hak praktikumnya
15. Hal-hal yang belum disebutkan di atas dan diperlukan untuk kelancaran praktikum akan diatur kemudian.

## RENCANA PRAKTIKUM ANALISIS SEDIAAN FARMASI

PERTEMUAN	MATERI PRAKTIKUM
Pertemuan 1	Penetapan Kadar Parasetamol dalam Tablet Secara Spektrofotometri UV-Vis (Penetapan Panjang Gelombang Maksimum)
Pertemuan 2	Penetapan Kadar Parasetamol dalam Tablet Secara Spektrofotometri UV-Vis (Linieritas dan Sensitivitas)
Pertemuan 3	Penetapan Kadar Parasetamol dalam Tablet Secara Spektrofotometri UV-Vis (Presisi)
Pertemuan 4	Penetapan Kadar Parasetamol dalam Tablet Secara Spektrofotometri UV-Vis (Akurasi)
Pertemuan 5	Penetapan Kadar Parasetamol dalam Tablet Secara Spektrofotometri UV-Vis (Sampel)
Pertemuan 6	Pembuatan Ekstrak (Maserasi dan Penyaringan)
Pertemuan 7	Pembuatan Ekstrak (Pengentalan Ekstrak dengan <i>Rotary Evaporator</i> )
Pertemuan 8	Skrining Fitokimia (Flavonoid, Fenolik, Alkaloid, Saponin, dan Tanin)
Pertemuan 9	Penetapan Kadar Flavonoid Total dalam Ekstrak
Pertemuan 10	Penetapan Kadar Fenolik Total dalam Ekstrak
Pertemuan 11	Penetapan Kadar Alkaloid Total dalam Ekstrak
Pertemuan 12	Penetapan Kadar Tanin Total dalam Ekstrak
Pertemuan 13	Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (Penetapan Kadar $IC_{50}$ pada Standar Vitamin C)
Pertemuan 14	Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (Penetapan Kadar $IC_{50}$ pada Sampel)
Pertemuan 15	Presentasi Praktikum dari Pertemuan 1-14
Pertemuan 16	Responsi (Tertulis)

## PERTEMUAN 1

### PENETAPAN KADAR PARASETAMOL DALAM TABLET SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS (PENETAPAN PANJANG GELOMBANG MAKSIMUM)

#### A. TUJUAN PRAKTIKUM

Mahasiswa dapat melakukan penetapan panjang gelombang maksimum pada penetapan kadar parasetamol dalam tablet secara spektrofotometri UV-Vis.

#### B. DASAR TEORI

Spektrofotometer UV-Vis merupakan alat yang digunakan untuk mengukur transmittan atau absorban dari suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang, tiap media akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu tergantung pada senyawa atau warna yang terbentuk (Cairns, 2009). Alat ini digunakan untuk mengukur absorbansi dengan melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu pada suatu objek kaca atau kuarsa yang disebut kuvet. Sebagian dari cahaya tersebut akan diserap dan sisanya akan dilewati. Nilai absorbansi dari cahaya yang diserap sebanding dengan konsentrasi larutan di dalam kuvet (Sastroamidjojo, 2007). Sementara spektrofotometri UV-Vis merupakan pengukuran serapan cahaya di daerah ultraviolet dengan panjang gelombang 200-350 nm dan sinar tampak dengan panjang gelombang 350 nm-800 nm oleh suatu senyawa. Serapan cahaya ultraviolet dan visibel (cahaya tampak) mengakibatkan transisi elektronik, yaitu promosi elektron-elektron dari orbital keadaan dasar yang berenergi rendah ke orbital keadaan tereksitasi berenergi lebih rendah. Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk mengukur kadar polifenol total karena senyawa polifenol memiliki gugus kromofor berupa gugus aromatik benzen yang merupakan penyerap sinar UV sehingga dapat meningkatkan fluoresensi atau terpancarnya sinar oleh sampel (Gandjar dan Rohman, 2012).

Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Pada umumnya sampel harus diubah menjadi suatu larutan yang jernih untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang dipakai antara lain, harus melarutkan sampel dengan sempurna, pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna, tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel, tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis, dan kemurniannya harus tinggi. Untuk mendapatkan spektrum UV-Vis yang baik perlu diperhatikan konsentrasi sampel (Gandjar dan Rohman, 2012).

Spektrofotometer UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif. Spektrum UV-Vis sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer  $A = \epsilon \cdot b \cdot c$  (keterangan: A=absorban;  $\epsilon$ = koefisien absorbtivitas molar;

b= tebal kuvet; c= konsentrasi analik dalam sample) (Rohman dan Gandjar, 2007).

Adapun komponen spektrofotometer yaitu sumber radiasi, monokromator, sel, foto sel, detektor dan tampilan (display) (Gandjar dan Rohman, 2012).

1. Sumber radiasi memiliki fungsi untuk memberikan energi radiasi pada daerah panjang gelombang yang tepat dalam pengukuran dan menjaga intensitas cahaya yang konstan dalam pengukuran. Lampu filament dan lampu hidrogen merupakan sumber radiasi dalam spektrofotometer UV-Vis (Warono dan Syamsuddin (2013).
2. Monokromator memiliki fungsi untuk menghasilkan radiasi monokromatis yang didapatkan melalui kuvet berisi sampel dan blanko yang diteruskan secara bersamaan melalui putaran cermin.
3. Sel atau kuvet memiliki fungsi sebagai wadah yang akan diukur absorbansinya. Syarat dari kuvet tersebut yaitu harus terbuat dari material anti radiasi pada daerah yang digunakan, umumnya kuvet terbuat dari kaca tembus sinar maupun terbuat dari plastik.
4. Fotosel memiliki fungsi untuk menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel lalu diubah menjadi energi listrik yang selanjutnya akan disampaikan ke detektor. Detektor merupakan bahan yang mampu menyerap energi dari foton lalu mengonversinya dalam bentuk lain.
5. Tampilan (display) berfungsi mengubah sinyal listrik dari detektor menjadi pembacaan berupa angka atau meter dan sesuai dengan hasil yang dianalisis.

Panjang gelombang maksimum ( $\lambda$  maks) merupakan panjang gelombang di mana terjadi eksitasi elektronik yang memberikan absorbansi maksimum. Alasan dilakukan pengukuran pada panjang gelombang maksimum adalah perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah paling besar pada panjang gelombang maksimum sehingga akan diperoleh kepekaan analisis yang maksimum. Penentuan panjang gelombang pada penelitian ini dilakukan dengan mengukur absorbansi dari parasetamol pada panjang gelombang ultraviolet yaitu antara panjang gelombang 200 nm-260 nm. Menurut USP Pharmacopeia, panjang gelombang maksimum parasetamol adalah 244 nm (FDA, 2006).

### C. ALAT DAN BAHAN

Alat : Spektrofotometer UV-Vis (1 unit) dengan kuvet kuarsa (2 unit), timbangan analitik Ohaus (1 unit), labu ukur 50 mL (1 pcs), labu ukur 5 mL (1 pcs), mikropipet 20-200  $\mu$ L (1 unit), pipet tetes (1 pcs)

Bahan : standar parasetamol (5 mg), metanol p.a (60 mL), yellow tip (1 pcs)

**D. CARA KERJA****1. Pembuatan larutan induk parasetamol 100 ppm**

Sebanyak 5 mg standar parasetamol dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a sampai tanda batas sehingga akan diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 100 ppm.

**2. Penetapan panjang gelombang maksimum**

Dipipet 100  $\mu$ L dari larutan induk parasetamol 100 ppm kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL, kemudian diencerkan dengan metanol p.a sampai tanda batas sehingga didapatkan konsentrasi larutan parasetamol sebesar 2 ppm, kemudian larutan tersebut dikocok hingga homogen dan dimasukkan ke dalam kuvet kuarsa kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 202-260 nm.

**E. DATA PENGAMATAN**

$\lambda$	Abs								
202		214		226		238		250	
204		216		228		240		252	
206		218		230		242		254	
208		220		232		244		256	
210		222		234		246		258	
212		224		236		248		260	

**F. PEMBAHASAN**

## G. KESIMPULAN

## H. DAFTAR PUSTAKA

FDA, 2006, United States Pharmacopeia National Formulary, USP 29/NF24.

Gandjar I.G, Rohman A. 2012. Analisis Obat Secara Spektroskopi dan Kromatografi. Pustaka Pelajar. Yogyakarta

Yogyakarta, .....

Dosen Pengampu Praktikum

Mahasiswa

apt. Ellsya Angeline R, M.Pharm.Sci

(.....)

## PERTEMUAN 2

### PENETAPAN KADAR PARASETAMOL DALAM TABLET SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS (LINIERITAS DAN SENSITIVITAS)

#### A. TUJUAN PRAKTIKUM

Mahasiswa dapat melakukan uji linieritas dan sensitivitas pada penetapan kadar parasetamol dalam tablet secara spektrofotometri UV-Vis.

#### B. DASAR TEORI

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu berdasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Sesuai ISO/IEC 17025:2005, validasi metode analisis ditujukan untuk menjamin bahwa metode analisis memenuhi spesifikasi yang dapat diterima sesuai dengan tujuan yang diharapkan. Tujuan akhir validasi metode adalah untuk menjamin bahwa tiap pengukuran di masa yang akan datang dalam suatu analisis rutin harus cukup dekat dengan nilai kandungan analit yang sebenarnya, yang terkandung dalam suatu sampel. Dengan demikian, tujuan suatu metode analisis adalah tidak hanya disederhanakan dengan menentukan estimasi kebenaran (nilai sebenarnya) atau bias dan presisi, akan tetapi juga mengevaluasi resiko-resiko yang dapat diekspresikan dengan ketidakpastian pengukuran yang terkait dengan hasil analisis (Gandjar dan Rohman, 2012). *International Conference on Harmonization (ICH)* membagi karakteristik validasi metode analisis dengan 8 parameter yaitu presisi, akurasi, batas deteksi, batas kuantifikasi, spesifisitas, linieritas, kisaran (*range*), ketahanan (*robustness*), dan kesesuaian sistem.

Linieritas merupakan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Linieritas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon ( $y$ ) dengan konsentrasi ( $x$ ). Linieritas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda-beda. Data yang diperoleh selanjutnya diproses dengan metode kuadrat terkecil, untuk selanjutnya dapat ditentukan nilai kemiringan (*slope*), intersep, dan koefisien korelasinya ( $r$ ) (Gandjar dan Rohman, 2012).

Linieritas biasanya ditunjukkan secara langsung dengan mengencerkan larutan baku induk. Dianjurkan untuk melakukan pengenceran secara serial terhadap larutan baku induk pada uji linieritas ini. Penyiapan konsentrasi-konsentrasi yang berbeda dengan menggunakan berat baku yang berbeda akan menghasilkan kesalahan terhadap kajian linieritas analit. Linieritas paling baik dievaluasi dengan pengamatan visual terhadap suatu plot yang menyatakan Hubungan antara fungsi konsentrasi analit dengan sinyal yang diukur (absorbansi, luas puncak, tinggi puncak, area di bawah kurva). Kurva baku adalah kurva yang diperoleh dengan memplotkan nilai absorbansi dengan konsentrasi larutan standar yang bervariasi menggunakan panjang gelombang maksimum. Kurva ini merupakan

hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi. Bila hukum Lambert-Beer terpenuhi maka kurva kalibrasi berupa garis lurus. Setelah mendapatkan kurva kalibrasi yang memenuhi persyaratan analisis, selanjutnya data yang diperoleh dari konsentrasi tiap analit yang memberikan absorbansi berbeda untuk diolah untuk menentukan batas deteksi (LOD) dan batas kuantitas (LOQ). Pada uji linieritas, paling tidak enam konsentrasi yang berbeda yang digunakan pada uji. Sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi  $r$  pada regresi linier  $y = a + bx$ . Hubungan linier yang ideal dicapai jika nilai  $b = 0$  dan  $r = +1$  atau  $-1$  tergantung pada arah garis (Harmita, 2004). Koefisien korelasi dengan nilai mendekati 1 menunjukkan korelasi yang baik antara konsentrasi analit dengan respon (Harmita, 2004). Menurut Miller dan Miller (2005), suatu analisis dikatakan memiliki korelasi yang baik jika koefisien korelasi  $\geq 0,99$ . Mengacu Eurachem (1998), metode analisis bersifat linier pada rentang konsentrasi tertentu jika  $R^2$  yang diperoleh lebih besar dari 0,995. Pada keadaan normal, linieritas diperoleh ketika nilai koefisien determinasi ( $r^2$ )  $\geq 0,997$  (Gandjar dan Rohman, 2012).

Sensitivitas merupakan parameter yang menunjukkan besarnya kenaikan respon analitik karena bertambahnya satu satuan konsentrasi. Sensitivitas diukur dari tingkat kemiringan (slope) kurva kalibrasi. Sensitivitas metode memiliki korelasi positif dengan tingkat kemiringan. Semakin tinggi tingkat kemiringan, maka semakin tinggi sensitivitas metode (Utami, 2010). Sensitivitas metode juga dinyatakan dengan nilai batas deteksi (*Limit of Detection*) dan batas kuantitasi (*Limit of Quantitation*). Batas deteksi (LOD) didefinisikan sebagai konsentrasi analit terkecil yang dapat dideteksi dan dapat dibedakan secara nyata dari nol, tetapi tidak cukup signifikan untuk kuantifikasi, sedangkan batas kuantitasi (LOQ) merupakan konsentrasi terkecil analit yang dapat ditentukan secara kuantitatif dengan tingkat presisi yang dapat diterima (Gonzalez dan Herrador, 2007). Batas deteksi (LOD) merupakan kadar terkecil analit dalam sampel yang masih dapat dideteksi dan memberikan respon berbeda secara signifikan dibanding dengan respon blangko atau noise (Miller dan Miller, 2005). Meskipun demikian, batas deteksi ini tidak dapat dikuantitasikan, hanya menunjukkan hasil secara kualitatif. Batas deteksi merupakan konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, batas deteksi tersebut dapat dihitung dengan angka yang memberikan respon sebesar respon blangko ( $y_b$ ) ditambah 3 simpangan baku blangko ( $3S_b$ ) (Gandjar dan Rohman, 2012). Batas kuantitasi (LOQ) merupakan konsentrasi terendah analit yang dapat ditetapkan secara kuantitatif pada nilai presisi yang masih dapat diterima (Gonzales dan Herrador, 2007).

### C. ALAT DAN BAHAN

Alat : spektrofotometer UV-Vis (1 unit) dengan kuvet kuarsa (2 unit), timbangan analitik Ohaus (1 unit), labu ukur 5 mL (5 pcs), mikropipet 20-200  $\mu$ L (1 unit), pipet tetes (1 pcs)

Bahan : larutan induk parasetamol 100 ppm, metanol p.a (25 mL), yellow tip (1 pcs)

## D. CARA KERJA

Larutan baku dengan seri konsentrasi 1 ppm; 1,5 ppm; 2 ppm; 2,5 ppm; 3 ppm; 3,5 ppm dibuat dengan cara mengambil 50  $\mu\text{L}$ , 75  $\mu\text{L}$ , 100  $\mu\text{L}$ , 125  $\mu\text{L}$ , 150  $\mu\text{L}$ , dan 175  $\mu\text{L}$  dari larutan standar parasetamol 100 ppm lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL, kemudian ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas, diaduk hingga homogen. Larutan tersebut dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang didapatkan pada praktikum P1.

## E. DATA PENGAMATAN

Konsentrasi (ppm)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rata-rata	$y_c$	$y_i - y_c$	$(y_i - y_c)^2$

a:

b:

r:

$S_{y/x}$ :

Nilai LOD:

Nilai LOQ:

Persamaan kurva baku yang didapatkan :

Gambar kurva baku :

## F. PEMBAHASAN

## G. KESIMPULAN

## H. DAFTAR PUSTAKA

Gandjar I.G, Rohman A. 2012. Analisis Obat Secara Spektroskopi dan Kromatografi. Pustaka Pelajar. Yogyakarta

International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceutical for Human use. 2005. ICH Harmonised Tripartite Guideline Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1). ICH.

Dosen Pengampu Praktikum

Yogyakarta, .....

Mahasiswa

apt. Ellsya Angeline R, M.Pharm.Sci

(.....)

## PERTEMUAN 3

### PENETAPAN KADAR PARASETAMOL DALAM TABLET SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS (PRESISI)

#### A. TUJUAN PRAKTIKUM

Mahasiswa dapat melakukan uji presisi pada penetapan kadar parasetamol dalam tablet secara spektrofotometri UV-Vis.

#### B. DASAR TEORI

Presisi merupakan ukuran keterulangan metode analisis dan biasanya diekspresikan sebagai simbangan baku relative atau relative standar deviation (RSD) dari sejumlah sampel. Sesuai dengan ICH, presisi dilakukan pada 3 tingkatan yang berbeda yaitu : keterulangan (repeatability), presisi antara (intermediate precision), dan ketertiruan (reproducibility). Keterulangan merupakan presisi pada kondisi percobaan yang sama (berulang) baik orangnya, peralatannya, tempatnya, maupun waktunya. Dua pilihan yang telah diizinkan penggunaannya oleh ICH untuk mengamati keterulangan, yaitu : (1) suatu pengukuran sebanyak 9 kali (minimal) yang mencakup kisaran yang digunakan dalam prosedur analisis (misalkan dengan 3 konsentrasi yang berbeda pada kisaran konsentrasi tertentu (80%, 100%, dan 120% dari konsentrasi analit); dengan masing-masing dilakukan replikasi sebanyak 3 kali), atau : (2) suatu pengukuran sebanyak 6 kali (minimal) pada konsentrasi 100% dari konsentrasi uji. Presisi antara merupakan presisi pada kondisi percobaan yang salah satunya berbeda, baik orangnya, peralatannya, tempatnya, maupun waktunya. Banyaknya presisi antara yang akan dilakukan tergantung pada keadaan yang mana suatu prosedur akan diperluas. Parameter-parameter yang diamati untuk presisi antara ini meliputi : variasi antar hari, variasi analisis, dan variasi peralatan. Reprodusibilitas mengukur presisi antar laboratorium sebagaimana dalam studi kolaboratif atau studi uji banding antar laboratorium atau uji profesiensi. Dokumentasi presisi seharusnya mencakup : simpangan baku, simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi (CV), dan kisaran kepercayaan sebagaimana dipersyaratkan oleh ICH (Gandjar dan Rohman, 2012).

**Tabel I. Nilai RSD yang diperbolehkan menurut Horwitz dan AOAC PVM (Gonzalez dan Herrador, 2007)**

Analit (%)	Fraksi Analit	Unit	Horwitz (% RSD)	AOAC PVM (% RSD)
100	1	100 %	2	1,3
10	10-1	10 %	2,8	1,8
1	10-2	1 %	4	2,7
0,1	10-3	0,1 %	5,7	3,7
0,01	10-4	100 ppm	8	5,3
0,001	10-5	10 ppm	11,3	7,3
0,0001	10-6	1 ppm	16	11

0,00001	10 <sup>-7</sup>	100 ppb	22,6	15
0,000001	10 <sup>-8</sup>	10 ppb	32	21
0,0000001	10 <sup>-9</sup>	1 ppb	45,3	30

### C. ALAT DAN BAHAN

Alat : Spektrofotometer UV-Vis (1 unit) dengan kuvet kuarsa (2 unit), timbangan analitik Ohaus (1 unit), labu ukur 5 mL (10 pcs), mikropipet 100-1000  $\mu$ L (1 unit), pipet tetes (1 pcs)

Bahan : larutan induk parasetamol 100 ppm, metanol p.a (50 mL), blue tip (1 pcs)

### D. CARA KERJA

Larutan standar dengan seri konsentrasi 2 ppm dibuat dengan cara mengambil 100  $\mu$ L lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL, kemudian ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas, digojok hingga homogen. Larutan tersebut dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang didapatkan pada P1. Uji presisi ini dilakukan dengan 6 kali pengulangan.

### E. DATA PENGAMATAN

No	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rata-rata absorbansi
1				
2				
3				
4				
5				
6				

Rata-rata absorbansi 1-6 :

Standar Deviasi (SD) :

Relative Standar Deviasi (RSD) :

### F. PEMBAHASAN

## G. KESIMPULAN

## H. DAFTAR PUSTAKA

Gandjar I.G, Rohman A. 2012. Analisis Obat Secara Spektroskopi dan Kromatografi. Pustaka Pelajar. Yogyakarta

International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceutical for Human use. 2005. ICH Harmonised Tripartite Guideline Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1). ICH.

Dosen Pengampu Praktikum  
Yogyakarta, .....  
Mahasiswa

apt. Ellsya Angeline R, M.Pharm.Sci

(.....)

## PERTEMUAN 4

### PENETAPAN KADAR PARASETAMOL DALAM TABLET SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS (AKURASI)

#### A. TUJUAN PRAKTIKUM

Mahasiswa dapat melakukan uji akurasi pada penetapan kadar parasetamol dalam tablet secara spektrofotometri UV-Vis.

#### B. DASAR TEORI

Akurasi merupakan ketepatan metode analisis atau kedekatan antara nilai terukur dengan nilai yang diterima baik nilai konvensi, nilai sebenarnya, atau nilai rujukan. Akurasi diukur sebagai banyaknya analit yang diperoleh kembali pada suatu pengukuran dengan melakukan spiking pada suatu sampel. Untuk pengujian senyawa obat, akurasi diperoleh dengan membandingkan hasil pengukuran dengan bahan rujukan standar (standard reference material, SRM). Untuk mendokumentasikan akurasi, ICH merekomendasikan pengumpulan data dari 9 kali penetapan kadar dengan 3 konsentrasi yang berbeda (misal 3 konsentrasi dengan 3 kali replikasi). Data harus dilaporkan sebagai presentase perolehan kembali.

Terdapat tiga cara yang dapat digunakan untuk menentukan akurasi suatu metode analisis yaitu : (1) membandingkan hasil analisis dengan CRM (certified reference material) dari organisasi standar internasional; (2) uji perolehan kembali atau recovery dengan memasukkan analit ke dalam matriks blanko (*spiked blanko*); dan (3) penambahan baku pada matriks sampel yang mengandung analit (standard addition method).

Ketepatan (accuracy) adalah suatu derajat kedekatan hasil pengukuran dengan nilai sebenarnya. Ketepatan dapat dinyatakan dengan persen perolehan kembali (recovery) terhadap sampel yang kadarnya telah diketahui secara pasti (Harmita, 2004). Menurut Harmita (2004), ketepatan dapat ditentukan dengan tiga cara yaitu: membandingkan dengan standar baku, recovery dengan menambahkan analit ke plasebo, dan penambahan baku pada analit. Untuk mendokumentasikan akurasi, International Conference on Harmonization (ICH) merekomendasikan pengumpulan data dari 9 kali penetapan kadar dengan tiga konsentrasi yang berbeda. Data yang diperoleh selanjutnya dilaporkan sebagai nilai persen perolehan kembali (Gandjar dan Rohman, 2007).

Kriteria ketepatan tergantung pada ketelitian metode dan konsentrasi analit dalam matriks. Nilai persen perolehan kembali yang diperoleh dari hasil validasi analisis, sebaiknya memenuhi rentang nilai persen perolehan kembali (% recovery) yang masih diperbolehkan dan tidak menyimpang terlalu jauh dari accepted true value. Menurut Gonzales dan Herrador (2007) penyimpangan persen perolehan kembali (% recovery) yang masih diperbolehkan tergantung pada besar konsentrasi analit dalam sampel. Tabel V menunjukkan persentase perolehan kembali yang masih diperbolehkan sesuai dengan pernyataan AOAC (Gonzalez dan Herrador, 2007).

Tabel II. Persentase perolehan kembali yang diperbolehkan pada studi akurasi menurut AOAC (Gonzales dan Herrador, 2007)

Analit (%)	Frakasi Analit	Unit	Rentang perolehan kembali (%)
100	1	100 %	98-102
10	$10^{-1}$	10 %	98-102
1	$10^{-2}$	1 %	97-103
0,1	$10^{-3}$	0,1 %	95-105
0,01	$10^{-4}$	100 ppm	90-107
0,001	$10^{-5}$	10 ppm	80-110
0,0001	$10^{-6}$	1 ppm	80-110
0,00001	$10^{-7}$	100 ppb	80-110
0,000001	$10^{-8}$	10 ppb	60-115
0,0000001	$10^{-9}$	1 ppb	40-120

### C. ALAT DAN BAHAN

Alat : Spektrofotometer UV-Vis (1 unit) dengan kuvet kuarsa (2 unit), timbangan analitik Ohaus (1 unit), labu ukur 25 mL (2 pcs), labu ukur 10 mL (6 pcs), mikropipet 100-1000  $\mu$ L (1 unit), pipet tetes (1 pcs)

Bahan : larutan parasetamol standar 500 ppm, tablet parasetamol (20 tablet), metanol p.a (60 mL), blue tip (1 pcs)

### D. CARA KERJA

Dua puluh tablet parasetamol ditimbang kemudian digerus hingga homogen, kemudian ditimbang setara 5 mg parasetamol dalam sampel serbuk tablet parasetamol ke dalam 2 labu takar 25 mL. Pada salah satu labu takar ditambahkan 2 mL larutan induk parasetamol dengan konsentrasi 500 ppm. Kedua jenis labu ukur selanjutnya mengalami perlakuan yang sama yaitu ditambahkan metanol p.a hingga volumenya 25 mL kemudian dikocok hingga homogen. Dari masing-masing larutan tersebut diambil 100  $\mu$ L dan diencerkan dengan metanol p.a hingga volumenya tepat 10 mL lalu dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Uji ketepatan metode dilakukan dengan pengulangan sebanyak 3 kali. Hasil absorbansi digunakan untuk menghitung harga perolehan kembali (*recovery*).

### E. DATA PENGAMATAN

Dosis parasetamol dalam satu tablet = 500 mg

Bobot 20 tablet =

Bobot setara 5 mg parasetamol =

Sampel	Bobot sampel	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rata-rata abs	Kadar
Blangko 1						
Blangko 2						
Blangko 3						
Spiking 1						
Spiking 2						
Spiking 3						

Akurasi	Kadar spiking	Kadar blangko	Kadar adisi	Kadar baku	Recovery	Rata-rata recovery
1				0,4		
2				0,4		
3				0,4		

Kadar adisi = kadar spiking - kadar blangko

Recovery = (Kadar adisi/Kadar baku) x 100%

## F. PEMBAHASAN

## G. KESIMPULAN

## H. DAFTAR PUSTAKA

Gandjar, I. G. & Rohman, A., 2007, Kimia Farmasi Analisis, 298-322, Pustaka Pelajar, Yogyakarta

Gonzalez, A.G. & Herrador, M.A., 2007, A Practical Guide to Analytical Method Validation, Including Measurement Uncertainty and Accuracy Profiles, Trends Anal. Chem., 26 (3), 227-238.

Dosen Pengampu Praktikum

Yogyakarta, .....

Mahasiswa

apt. Ellsya Angeline R, M.Pharm.Sci

(.....)

## PERTEMUAN 5

### PENETAPAN KADAR PARASETAMOL DALAM TABLET SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS (SAMPEL)

#### A. TUJUAN PRAKTIKUM

Mahasiswa dapat melakukan penetapan kadar parasetamol dalam tablet secara spektrofotometri UV-Vis.

#### B. DASAR TEORI

Dalam aspek kuantitatif, suatu berkas radiasi dikenakan pada cuplikan (larutan sampel) dan intensitas sinar radiasi yang diteruskan diukur intensitasnya. Radiasi yang diserap oleh sampel ditentukan dengan membandingkan intensitas sinar yang diteruskan dengan intensitas sinar yang diserap, jika tidak ada spesies penyerap lainnya. Intensitas atau kekuatan radiasi cahaya sebanding dengan jumlah foton yang melalui satuan luas penampang per detik (Gandjar dan Rohman, 2012).

Serapan dapat terjadi jika foton/radiasi yang mengenai cuplikan memiliki energi yang sama dengan energi yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadinya perubahan tenaga. Kekuatan radiasi juga mengalami penurunan karena hal ini sangat kecil dibandingkan dengan proses penyerapan. Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk analisis obat sediaan tunggal atau dalam bentuk 2 komponen atau lebih (multi-component), terutama jika dihubungkan dengan kemometrika (Gandjar dan Rohman, 2012).

Dasar analisis kuantitatif senyawa obat dengan spektrofotometri UV-Vis adalah hukum Lambert-Beer, yang menyatakan bahwa ada hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi senyawa obat. Hukum Lambert-Beer diformulasikan dengan persamaan berikut :

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Yang mana A : absorbansi;  $\epsilon$  adalah absorptivitas molar; b=tebal kuvet (cm); dan c adalah konsentrasi (M).

Absorptivitas ( $\epsilon$ ) merupakan suatu konstanta yang tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet, dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel. Absorptivitas tergantung pada suhu, pelarut, struktur Molekul, dan panjang gelombang radiasi. Satuan  $\epsilon$  ditentukan oleh satuan-satuan b dan c. Jika satuan c dalam molar (M) maka absorptivitasnya disebut dengan absorptivitas molar dan disimbolkan dengan  $\epsilon$  dengan satuan  $M^{-1}cm^{-1}$  atau  $liter \cdot mol^{-1}cm^{-1}$ . Jika c dinyatakan dengan persen berat/volume (g/100 mL) maka absorptivitas dapat ditulis dengan  $E1\%1cm$  dan juga seringkali ditulis dengan  $A1\%1cm$ . Hubungan antara nilai  $E1\%1cm$  dan absorptivitas molar ( $\epsilon$ ) adalah sebagai berikut :

$$\epsilon = E \times \frac{BM}{10}$$

Hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa intensitas yang diteruskan oleh larutan zat penyerap berbanding lurus dengan tebal dan konsentrasi larutan. Dalam hukum Lambert-Beer tersebut ada beberapa pembatasan yaitu : (1) sinar yang digunakan dianggap monokromatis; (2) penyerapan terjadi dalam suatu volume yang mempunyai penampang luas yang sama; (3) senyawa yang menyerap dalam larutan tersebut tidak tergantung terhadap yang lain dalam larutan tersebut tidak tergantung pada konsentrasi larutan (Gandjar dan Rohman, 2012).

Dalam analisis tunggal, jika absorbansi suatu seri konsentrasi larutan diukur pada panjang gelombang, suhu, pelarut yang sama; dan absorbansi masing-masing larutan diplotkan terhadap konsentrasinya maka suatu garis lurus akan teramati sesuai dengan persamaan  $A = \epsilon bc$ . Grafik ini disebut dengan plot hukum Lambert-Beer, dan jika garis yang dihasilkan merupakan suatu garis lurus maka dapat dikatakan bahwa hukum Lambert-Beer dipenuhi pada kisaran konsentrasi yang diamati (Gandjar dan Rohman, 2012).

### C. ALAT DAN BAHAN

Alat : Spektrofotometer UV-Vis (1 unit) dengan kuvet kuarsa (2 unit), timbangan analitik Ohaus (1 unit), labu ukur 10 mL (10 pcs), mikropipet 100-1000  $\mu$ L (1 unit), pipet tetes (1 pcs)

Bahan : tablet parasetamol (20 tablet), metanol p.a (60 mL), blue tip (1 pcs)

### D. CARA KERJA

Dua puluh tablet parasetamol ditimbang kemudian digerus hingga homogen, kemudian ditimbang setara 5 mg zat aktif parasetamol dalam labu ukur 25 mL lalu dilarutkan dengan metanol p.a hingga batas tanda, kocok hingga homogen. Selanjutnya, diambil 100  $\mu$ L dan diencerkan dengan metanol p.a hingga volumenya tepat 10 mL lalu dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Penetapan kadar dilakukan dengan pengulangan sebanyak tiga kali.

### E. DATA PENGAMATAN

Dosis parasetamol dalam satu tablet = 500 mg

Berat 20 tablet =

Bobot setara 5 mg parasetamol =

Sampel	Bobot sampel	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rata-rata abs	Kadar	SD
1							
2							
3							

## **F. PEMBAHASAN**

## **G. KESIMPULAN**

## **H. DAFTAR PUSTAKA**

Gandjar I.G, Rohman A. 2012. Analisis Obat Secara Spektroskopi dan Kromatografi. Pustaka Pelajar. Yogyakarta

FDA, 2006, United States Pharmacopeia National Formulary, USP 29/NF24.

Dosen Pengampu Praktikum  
Yogyakarta, .....  
Mahasiswa

apt. Ellsya Angeline R, M.Pharm.Sci  
(.....)

## PERTEMUAN 6

### PEMBUATAN EKSTRAK (MASERASI DAN PENYARINGAN)

#### A. TUJUAN PRAKTIKUM

Mahasiswa dapat melakukan pembuatan ekstrak dengan metode maserasi dan melakukan penyaringan dengan corong Buchner.

#### B. DASAR TEORI

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat dari campurannya dengan menggunakan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Secara garis besar, proses pemisahan secara ekstraksi terdiri dari tiga langkah dasar yaitu : Penambahan sejumlah massa pelarut untuk dikontakkan dengan sampel, biasanya melalui proses difusi. Zat terlarut akan terpisah dari sampel dan larut oleh pelarut membentuk fase ekstrak. Pemisahan fase ekstrak dengan sampel (Wilson, et al., 2000).

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan penyari tertentu. Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian, hingga memenuhi baku yang ditetapkan (Depkes RI 1995).

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan sifat tertentu, terutama kelarutannya terhadap dua cairan tidak saling larut yang berbeda. Pada umumnya ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut yang didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran, biasanya air dan yang lainnya pelarut organik. Bahan yang akan diekstrak biasanya berupa bahan kering yang telah dihancurkan, biasanya berbentuk bubuk atau simplisia (Sembiring, 2007).

Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Bahan-bahan aktif seperti senyawa antimikroba dan antioksidan yang terdapat pada tumbuhan pada umumnya diekstrak dengan pelarut. Pada proses ekstraksi dengan pelarut, jumlah dan jenis senyawa yang masuk kedalam cairan pelarut sangat ditentukan oleh jenis pelarut yang digunakan dan meliputi dua fase yaitu fase pembilasan dan fase ekstraksi. Pada fase pembilasan, pelarut membilas komponen-komponen isi sel yang telah pecah pada proses penghancuran sebelumnya. Pada fase ekstraksi, mula-mula terjadi pembengkakan dinding sel dan pelonggaran kerangka selulosa dinding sel sehingga pori-pori dinding sel menjadi melebar yang menyebabkan pelarut dapat dengan mudah masuk kedalam sel. Bahan isi sel kemudian terlarut ke dalam pelarut sesuai dengan tingkat kelarutannya lalu berdifusi keluar akibat adanya gaya yang ditimbulkan karena perbedaan konsentrasi bahan terlarut yang terdapat di dalam dan di luar sel (Voigt, 1995).

Ekstraksi secara umum dapat digolongkan menjadi dua yaitu ekstraksi padat cair dan ekstraksi cair-cair. Pada ekstraksi cair-cair, senyawa yang dipisahkan terdapat

dalam campuran yang berupa cairan, sedangkan ekstraksi padat-cair adalah suatu metode pemisahan senyawa dari campuran yang berupa padatan (Anonim, 2012).

Metode ekstraksi berdasarkan ada tidaknya proses pemanasan dapat dibagi menjadi dua macam yaitu ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas (Hamdani, 2009):

### 1. Ekstraksi cara dingin

Pada metode ini tidak dilakukan pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung dengan tujuan agar senyawa yang diinginkan tidak menjadi rusak. Beberapa jenis metode ekstraksi cara dingin, yaitu:

#### a. Maserasi atau dispersi

Maserasi merupakan metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut diam atau dengan adanya pengadukan beberapa kali pada suhu ruangan. Metode ini dapat dilakukan dengan cara merendam bahan dengan sekali-sekali dilakukan pengadukan. Pada umumnya perendaman dilakukan selama 24 jam, kemudian pelarut diganti dengan pelarut baru. Maserasi juga dapat dilakukan dengan pengadukan secara sinambung (maserasi kinetik). Kelebihan dari metode ini yaitu efektif untuk senyawa yang tidak tahan panas (terdegradasi karena panas), peralatan yang digunakan relatif sederhana, murah, dan mudah didapat. Namun metode ini juga memiliki beberapa kelemahan yaitu waktu ekstraksi yang lama, membutuhkan pelarut dalam jumlah yang banyak, dan adanya kemungkinan bahwa senyawa tertentu tidak dapat diekstrak karena kelarutannya yang rendah pada suhu ruang (Sarker, S.D., et al, 2006).

#### b. Perkolasi

Perkolasi merupakan metode ekstraksi dengan bahan yang disusun secara unggul dengan menggunakan pelarut yang selalu baru sampai prosesnya sempurna dan umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Prosedur metode ini yaitu bahan direndam dengan pelarut, kemudian pelarut baru dialirkan secara terus menerus sampai warna pelarut tidak lagi berwarna atau tetap bening yang artinya sudah tidak ada lagi senyawa yang terlarut. Kelebihan dari metode ini yaitu tidak diperlukan proses tambahan untuk memisahkan padatan dengan ekstrak, sedangkan kelemahan metode ini adalah jumlah pelarut yang dibutuhkan cukup banyak dan proses juga memerlukan waktu yang cukup lama, serta tidak meratanya kontak antara padatan dengan pelarut (Sarker, S.D., et al, 2006).

### 2. Ekstraksi cara panas

Pada metode ini melibatkan pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung. Adanya panas secara otomatis akan mempercepat proses ekstraksi dibandingkan dengan cara dingin. Beberapa jenis metode ekstraksi cara panas, yaitu:

#### a. Ekstraksi refluks

Ekstraksi refluks merupakan metode ekstraksi yang dilakukan pada titik didih pelarut tersebut, selama waktu dan sejumlah pelarut tertentu

dengan adanya pendingin balik (kondensor). Pada umumnya dilakukan tiga sampai lima kali pengulangan proses pada rafinat pertama. Kelebihan metode refluks adalah padatan yang memiliki tekstur kasar dan tahan terhadap pemanasan langsung dapat diekstrak dengan metode ini. Kelemahan metode ini adalah membutuhkan jumlah pelarut yang banyak (Irawan, B., 2010).

b. Ekstraksi dengan alat soxhlet

Ekstraksi dengan alat soxhlet merupakan ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru, umumnya dilakukan menggunakan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi konstan dengan adanya pendingin balik (kondensor). Pada metode ini, padatan disimpan dalam alat soxhlet dan dipanaskan, sedangkan yang dipanaskan hanyalah pelarutnya. Pelarut terdinginkan dalam kondensor, kemudian mengekstraksi padatan. Kelebihan metode soxhlet adalah proses ekstraksi berlangsung secara kontinu, memerlukan waktu ekstraksi yang lebih sebentar dan jumlah pelarut yang lebih sedikit bila dibandingkan dengan metode maserasi atau perkolasi. Kelemahan dari metode ini adalah dapat menyebabkan rusaknya solute atau komponen lainnya yang tidak tahan panas karena pemanasan ekstrak yang dilakukan secara terus menerus (Sarker, S. D., et al., 2006; Prashant Tiwari, et al., 2011).

Berikut faktor - faktor yang mempengaruhi ekstraksi (Ubay, 2011).

1. Jenis pelarut

Jenis pelarut mempengaruhi senyawa yang tersari, jumlah zat terlarut yang terekstrak dan kecepatan ekstraksi.

2. Suhu

Secara umum, kenaikan suhu akan meningkatkan jumlah zat terlarut ke dalam pelarut.

3. Rasio pelarut dan bahan baku

Jika rasio pelarut-bahan baku besar maka akan memperbesar pula jumlah senyawa yang terlarut. Akibatnya laju ekstraksi akan semakin meningkat.

4. Ukuran partikel

Laju ekstraksi juga meningkat apabila ukuran partikel bahan baku semakin kecil. Dalam arti lain, rendemen ekstrak akan semakin besar bila ukuran partikel semakin kecil.

5. Pengadukan

Fungsi pengadukan adalah untuk mempercepat terjadinya reaksi antara pelarut dengan zat terlarut.

6. Lama waktu

Lamanya waktu ekstraksi akan menghasilkan ekstrak yang lebih banyak, karena kontak antara zat terlarut dengan pelarut lebih lama.

7. Pelarut

Pelarut adalah benda cair atau gas yang melarutkan benda padat, cair atau gas, yang menghasilkan sebuah larutan. Pelarut paling umum digunakan dalam kehidupan sehari-hari adalah air. Pelarut lain yang juga umum digunakan adalah bahan kimia organik (mengandung karbon) yang juga disebut pelarut organik. Pelarut biasanya memiliki titik didih rendah dan lebih mudah menguap, meninggalkan substansi terlarut yang didapatkan.

Untuk membedakan antara pelarut dengan zat yang dilarutkan, pelarut biasanya terdapat dalam jumlah yang lebih besar (documents.tips). Beberapa klasifikasi pelarut telah diusulkan. (Laitinen, 1960) mengusulkan empat jenis pelarut. Pelarut Amfiprotik mempunyai baik sifat asam maupun basa seperti halnya air. Sebagian, seperti metanol dan etanol, memiliki sifat asam-basa yang mirip dengan air dan bersama dengan air, disebut pelarut netral. Lainnya, yang disebut pelarut asam, seperti asam asetat, asam format, asam sulfat, dan asam klorida adalah asam - asam yang jauh lebih kuat dan basa - basa yang jauh lebih lemah daripada air. Pelarut basa seperti amonia cair dan etilendiamina mempunyai kebasaaan yang lebih besar dan keasamaan yang lebih kecil daripada air. Pemilihan pelarut merupakan salah satu faktor yang penting dalam proses ekstraksi. Jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi mempengaruhi jenis komponen aktif bahan yang terekstrak karena masing-masing pelarut mempunyai selektifitas yang berbeda untuk melarutkan komponen aktif dalam bahan. Menurut Perry (1984), berbagai syarat pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi, yaitu sebagai berikut Memiliki daya larut dan selektivitas terhadap solute yang tinggi. Pelarut harus dapat melarutkan komponen yang diinginkan sebanyak mungkin dan sesedikit mungkin melarutkan bahan pengotor. Bersifat inert terhadap bahan baku, sehingga tidak bereaksi dengan komponen yang akan diekstrak. Reaktivitas. Pelarut tidak menyebabkan perubahan secara kimia pada komponen bahan ekstraksi. Tidak menyebabkan terbentuknya emulsi. Tidak korosif. Tidak beracun. Tidak mudah terbakar. Stabil secara kimia dan termal. Tidak berbahaya bagi lingkungan. Memiliki viskositas yang rendah, sehingga mudah untuk dialirkan. Murah dan mudah didapat, serta tersedia dalam jumlah yang besar. Memiliki titik didih yang cukup rendah agar mudah diuapkan. Memiliki tegangan permukaan yang cukup rendah.

### C. ALAT DAN BAHAN

Alat : timbangan analitik Ohaus (1 unit), blender (1 unit), gelas beaker 500 mL (1 pcs), batang pengaduk (1 pcs), corong Buchner (1 unit)

Bahan : serbuk simplisia (50 gram), etanol 96% (500 mL), kertas saring

### D. CARA KERJA

Timbang seksama serbuk simplisia sebanyak 50 gram lalu dimasukkan ke dalam gelas beaker 500 mL. Tambahkan 450 mL etanol 96% ke dalam gelas beaker tersebut. Aduk rendaman hingga homogen lalu didiamkan selama 24 jam. Setelah didiamkan selama 24 jam, saring ekstrak tersebut dengan corong Buchner, lalu filtratnya diambil untuk dikentalkan dengan *rotary evaporator*.

## E. DATA PENGAMATAN

Nama simplisia =  
Bobot serbuk simplisia =  
Volume etanol 96% yang digunakan =

## F. PEMBAHASAN

## G. KESIMPULAN

## H. DAFTAR PUSTAKA

Voigt, R., 1995, Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, Diterjemahkan oleh. Soendani N. S., UGM Press, Yogyakarta.

Dosen Pengampu Praktikum

Yogyakarta, .....

Mahasiswa

apt. Ellsya Angeline R, M.Pharm.Sci

(.....)

## PERTEMUAN 7

### PEMBUATAN EKSTRAK

#### (PENGENTALAN EKSTRAK DENGAN *ROTARY EVAPORATOR*)

#### A. TUJUAN PRAKTIKUM

Mahasiswa dapat mengentalkan ekstrak yang telah didapat dengan *rotary evaporator*.

#### B. DASAR TEORI

Salah satu alat yang sering digunakan dari berbagai evaporator yaitu *rotary evaporator*, di mana alat ini bekerja dengan menggunakan prinsip vakum distilasi, sehingga tekanan akan menurun dan pelarut akan menguap dibawah titik didihnya alat ini bekerja seperti alat distilasi.

Pemanas pada alat ini menggunakan penangas air yang dibantu dengan rotavapor akan memutar labu yang berisi sampel oleh rotavapor sehingga pemanasan akan lebih merata. Selain itu, penurunan diberikan ketika labu yang berisi sampel diputar menyebabkan penguapan lebih cepat. Terjadinya pemutaran labu akan menyebabkan penguapan menjadi lebih cepat terjadi. Pompa vakum umumnya digunakan agar penguapan larutan terjadi menuju kondensor yang selanjutnya akan diubah kembali ke dalam bentuk cair.

Bagian-bagian dari alat yang digunakan dalam proses *rotary evaporator* yaitu sebagai berikut :

- a. Water bath  
Water bath adalah alat yang berfungsi untuk menaikkan temperatur sampel dengan suhu yang dapat diatur sesuai kebutuhan. Dalam water bath terdapat bagian-bagian yaitu tampilan alat yang berfungsi : Layar penampil suhu, Tombol Up/Down untuk menaikkan atau menurunkan suhu, Tombol untuk mengatur suhu, Hot plate untuk memanaskan water bath
- b. Kondensor  
Kondensor adalah alat yang digunakan untuk menurunkan temperatur uap pelarut yang telah menguap. Kondensor berbentuk spiral dirancang agar uap pelarut dapat dikondensasikan dan proses kondensasi berjalan dengan baik. Pada kondensor juga terdapat selang-selang kecil yang berfungsi sebagai tempat mengalir keluar uap gas yang tidak dapat terkondensasikan atau sering disebut gas liar/gas buang, serta memiliki lubang yang berfungsi sebagai tempat keluar masuknya air dari mesin pendingin.
- c. Mesin pendingin  
Mesin pendingin merupakan alat yang digunakan untuk menurunkan temperatur air yang akan dipompakan menuju kondensor. Mesin ini memiliki dua selang yang berfungsi sebagai tempat mengalirnya air dari mesin pendingin ke kondensor.
- d. Tungkai atas dan tungkai bawah  
Tungkai bawah alat ini berfungsi untuk mengatur tinggi rendahnya labu

sampel sedangkan tungkai atas dimana alat ini berfungsi mengatur kemiringan kondensor dan labu alas bulat

e. Labu alas bulat

Terdapat dua labu alas bulat, yakni labu alas bulat tempat pelarut yang telah menguap dan labu alas bulat tempat sampel dan pelarut yang akan dipisahkan.

f. Pompa vakum

Pompa vakum merupakan alat yang digunakan untuk mengatur tekanan dalam labu, sehingga mempermudah penguapan sampel.

Dengan rotary evaporator akan didapatkan cara penguapan pelarut tanpa pemanasan berlebih dan terhindar dari resiko merusak sampel yang biasanya merupakan molekul kombinasi yang sensitif dan kompleks antara pelarut yang telah diturunkan titik didihnya dengan komponen yang akan dipisahkan (Laurence dan Christopher, 1989).Keuntungan penggunaan rotary evaporator antara lain dapat memperoleh pembentukan lapisan film tipis dengan cepat akibat pelarut yang tersebar seluas area labu atau vial mengalami gaya sentrifugal dan gaya friksional antara dinding labu (vial) yang berotasi dengan cairan sampel (Laurence dan Christopher, 1989).

### C. ALAT DAN BAHAN

Alat : timbangan analitik Ohaus (1 unit), rotary evaporator (1 unit), waterbath (1 unit)

Bahan : filtrat ekstrak etanol hasil penyaringan dari corong Buchner.

### D. CARA KERJA

Setelah didiamkan selama 24 jam, saring ekstrak tersebut dengan corong Buchner, lalu filtrat dikentalkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 60°C sampai ekstraknya kental tetapi masih bisa dituang dari *rotary evaporator*. Residu etanol 96% kemudian diuapkan dengan waterbath, caranya masukkan ekstrak kental tersebut ke dalam cawan porselen, lalu ekstrak diaduk-aduk dengan batang pengaduk sampai kental. Ekstrak kental disimpan dalam pot di dalam lemari es untuk digunakan pada praktikum selanjutnya.

### E. DATA PENGAMATAN

Nama ekstrak =

Bobot ekstrak kental =

Rendemen ekstrak = (Bobot ekstrak kental/Bobot awal sampel) x 100%

=

## F. PEMBAHASAN

## G. KESIMPULAN

## H. DAFTAR PUSTAKA

Laurence, M.H., Christopher, J.M., 1989. Experimental Organic Chemistry: Solid Dispersion., Eur. J. Pharm. 50, 47-60.

Dosen Pengampu Praktikum

Yogyakarta, .....

Mahasiswa

apt. Ellsya Angeline R, M.Pharm.Sci

(.....)

## PERTEMUAN 8

### SKRINING FITOKIMIA (FLAVONOID, FENOLIK, ALKALOID, SAPONIN, DAN TANIN)

#### A. TUJUAN PRAKTIKUM

Mahasiswa dapat melakukan skrining fitokimia (flavonoid, fenolik, alkaloid, saponin, dan tanin)

#### B. DASAR TEORI

Skrining fitokimia merupakan suatu tahapan awal yang dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder dalam suatu tanaman. Skrining fitokimia biasanya meliputi pemeriksaan kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, tannin, saponin, dan tanin (Harborne, 1987).

##### a. Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan fenol terbesar yang terdapat di alam dengan struktur kimia C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Senyawa flavonoid yang paling sering ditemukan dalam tanaman biasanya berbentuk glikosida (Harborne, 1987). Flavonoid ini memiliki ikatan dengan gula yang menyebabkan flavonoid ini bersifat polar (Siedel, 2008). Untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid dalam tanaman dilakukan dengan menggunakan pereaksi semprot sitroborat, yang akan menimbulkan bercak berfluoresensi kuning, hijau, atau biru pada UV 366 (Wagner, 1966).

##### b. Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan senyawa yang banyak ditemukan dalam tanaman, mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang sifatnya basa dan membentuk suatu cincin heterosiklik serta mengandung substituen yang bervariasi seperti gugus amina, amida, fenol, dan metoksi sehingga alkaloid bersifat semipolar (Harborne, 1987; Dewi et al., 2013). Untuk mengidentifikasi senyawa alkaloid ini dengan menggunakan pereaksi semprot dragendroff, yang menimbulkan bercak berwarna jingga hingga coklat pada sinar tampak (Wagner, 1996).

##### c. Steroid atau Triterpenoid

Senyawa triterpenoid memiliki struktur siklik berupa alkohol yang menyebabkan senyawa ini cenderung bersifat semipolar (Harborne, 1987). Untuk mengidentifikasi senyawa triterpenoid dan steroid ini dengan menggunakan pereaksi semprot Lieberman-burchard yang pada senyawa steroid akan menimbulkan bercak berwarna hijau hingga biru pada UV 366nm (Wagner, 1996). Dan pada senyawa triterpenoid bercak yang timbul berwarna orange kemerahan pada sinar tampak (Fransworth, 1996).

##### d. Senyawa Polifenol atau Fenolik

Senyawa polifenol merupakan suatu senyawa metabolit sekunder terbesar pada tanaman (Ciptaningsih, 2012). Pada senyawa fenol terdiri dari sebuah cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Salah satu senyawa fenolik yang cenderung larut dalam air dan pelarut polar yaitu tannin dan senyawa fenolik lainnya yaitu flavonoid (Harbone, 1987). Pada identifikasi senyawa polifenol atau fenolik ini dengan menggunakan pereaksi semprot FeCl<sub>3</sub> yang menimbulkan bercak

berwarna kuning tua hingga ungu dan hitam pada sinar tampak (Stahl, 1969; Wagner, 1996).

### C. ALAT DAN BAHAN

Alat : rak tabung reaksi (1 pcs), tabung Reaksi (12 pcs), bunsen (1 set)

Bahan : ekstrak kental, etanol 96%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, HCl pekat, serbuk Mg, NaOH, FeCl<sub>3</sub> 5%, kloroform, HCl 10, pereaksi meyer, etanol 70%

### D. CARA KERJA

#### 1. Preparasi sampel

Timbang 250 mg sampel, dilarutkan ke dalam 25 mL etanol 96% lalu disaring sehingga mendapatkan konsentrasi ekstrak sebesar 10.000 ppm.

#### 2. Identifikasi Senyawa Flavonoid

Masukkan 2 mL larutan ekstrak ke dalam tabung reaksi. Lakukan ini sebanyak 3x. Pada tabung 1, tambahkan 5 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, tabung 2 tambahkan 5 mL HCl pekat serta berikan serbuk Mg, tabung 3 tambahkan dengan 5 mL NaOH. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan timbulnya warna merah, kuning atau jingga (Pamungkas, dkk, 2016).

#### 3. Identifikasi Senyawa Fenolik

Masukkan 1 mL larutan ekstrak ke dalam tabung reaksi kemudian tambahkan 2 tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 5%. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau atau hijau biru (Putranti, 2013).

#### 4. Identifikasi Senyawa Alkaloid

Masukkan 100 mg ekstrak kental ke dalam erlenmeyer lalu tambahkan kloroform 20 mL, disaring dan filtrat ditambahkan HCl 10% sebanyak 10 mL. Hasil ekstraksi akan membentuk dua lapisan, kemudian lapisan HCl diambil 5 mL dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Dan ditambahkan pereaksi meyer. Jika terbentuk endapan putih yang menunjukkan positif alkaloid (Pamungkas, dkk, 2016).

#### 5. Identifikasi Senyawa Saponin

Masukkan 100 mg ekstrak kental ke dalam tabung reaksi, lalu tambahkan 10 mL akuades dan dipanaskan di atas bunsen. Setelah itu diambil 5 mL fase air, dikocok dengan kuat. Jika ada busa yang terbentuk, kemudian tambahkan HCl pekat 1 tetes dengan masih adanya busa maka hal itu menunjukkan positif mengandung saponin (Pamungkas, dkk, 2016).

#### 6. Identifikasi Senyawa Tanin

Sampel ekstrak kental etanol 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 2 mL etanol 70% kemudian di aduk, ekstrak ditambahkan FeCl<sub>3</sub> sebanyak 3 tetes. Jika terjadi perubahan warna biru-hitam, hijau atau biru hijau dan endapan maka menandakan tanin secara umum (Pamungkas, dkk, 2016).

**E. DATA PENGAMATAN**

Senyawa	Teoritis	Pengamatan	Kesimpulan
Flavonoid	Merah, kuning, jingga		
Fenolik	Hijau-biru		
Alkaloid	Endapan putih		
Saponin	Busa		
Tanin	Biru-hitam, hijau, biru		

**F. PEMBAHASAN**

**G. KESIMPULAN**

**H. DAFTAR PUSTAKA**

Harborne, J.B., 1987, Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Imam Sudiro, Edisi II, Hal 4-7:69-76, ITB. Bandung.

Yogyakarta, .....

Dosen Pengampu Praktikum

Mahasiswa

apt. Ellsya Angeline R, M.Pharm.Sci

(.....)

## PERTEMUAN 9

### PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL DALAM EKSTRAK

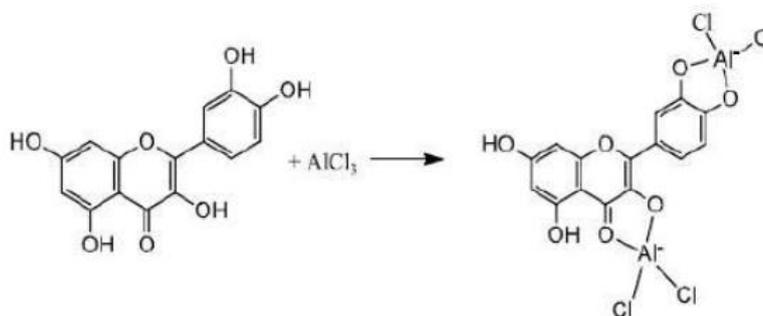
#### A. TUJUAN PRAKTIKUM

Mahasiswa dapat menetapkan kadar flavonoid total dalam ekstrak.

#### B. DASAR TEORI

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Dalam tumbuhan, aglikon flavonoid (flavonoid tanpa gula terikat) terdapat dalam berbagai bentuk struktur. Semuanya mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga (Markham, 1988: 1). Flavonoid biasanya terdapat sebagai flavonoid O-glikosida, pada senyawa tersebut satu gugus hidroksil flavonoid (atau lebih) terikat pada satu gula (atau lebih) dengan ikatan hemiasetal yang tak tahan asam. Pengaruh glikosilasi menyebabkan flavonoid menjadi kurang reaktif dan lebih mudah larut dalam air, sifat ini memungkinkan penyimpanan flavonoid di dalam vakuola sel (Markham, 1988: 5).

Penetapan kadar flavonoid senyawa flavonoid merupakan reduktor dan AlCl<sub>3</sub> merupakan oksidator. Senyawa flavonoid jika di reaksi dengan AlCl<sub>3</sub> akan membentuk senyawa yang kompleks dan stabil, sehingga dapat terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah sinar visibel yang ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning pada larutan. Penambahan natrium asetat berfungsi untuk menstabilkan senyawa kompleks yang stabil (Suharyanto, dkk, 2020) kuersetin sebagai larutan standar karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol (Azizah, B. dan Salamah, N., 2013)



Gambar 1. Reaksi AlCl<sub>3</sub> (Suharyanto, dkk, 2020)

#### C. ALAT DAN BAHAN

Alat : Timbangan analitik, labu takar 5 mL, mikropipet 100-100  $\mu$ L, vorteks, corong kaca, kuvet kuarsa dan instrumen spektrofotometer UV-Vis.

Bahan : Standar kuersetin, etanol p.a, aluminium (III) klorida 10%, natrium asetat 1M,

akuades, kertas saring

#### D. CARA KERJA

##### 1. Pembuatan larutan induk standar kuersetin 100 ppm

Timbang seksama sebanyak 5 mg kuersetin ke dalam labu ukur 50 mL, lalu tambahkan etanol p.a sampai batas tanda, kocok hingga homogen.

##### 2. Pembuatan kurva standar kuersetin

Dibuat seri konsentrasi larutan standar kuersetin 20, 30, 40, 50, 60, 70 ppm dengan cara mengambil 1 mL; 1,5 mL; 2 mL; 2,5 mL; 3 mL; dan 3,5 mL ke dalam labu ukur 5 mL, lalu tambahkan etanol p.a sampai batas tanda, kocok hingga homogen. Kemudian larutan tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang, lalu dibaca serapannya pada panjang gelombang 438 nm.

##### 3. Penetapan kadar flavonoid total dalam ekstrak

Sebanyak 20 mg ekstrak kental ditimbang dan dilarutkan dalam 10 mL etanol p.a kemudian divortex selama 30 detik. Setelah itu saring larutan ekstrak, ambil filtratnya yang memiliki konsentrasi 2000 ppm. Sebanyak 500  $\mu$ L sampel uji ditambahkan dengan 100  $\mu$ L aluminium (III) klorida 10%, 100  $\mu$ L natrium asetat 1M dan 2,8 mL akuades. Setelah diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum kuersetin 438 nm. Flavonoid total dari ekstrak etanol dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi standar kuersetin yang telah diukur sebelumnya. Kandungan flavonoid total dinyatakan sebagai jumlah g kuersetin ekuivalen tiap gram ekstrak.

#### E. DATA PENGAMATAN

##### 1. Hasil pembacaan serapan standar

Konsentrasi	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rata-rata Abs

Persamaan kurva baku :

$r^2=$

2. Hasil pembacaan serapan sampel

Sampel	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rata-rata Abs	Rata-rata Abs	SD	Kadar (ppm)	Kadar (mg/g)	% Kadar (b/b)
1									
2									
3									

**F. PEMBAHASAN**

**G. KESIMPULAN**

**H. DAFTAR PUSTAKA**

Haeria, Hermawati, Andi Tenri Ugi Dg Pine. Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bidara (*Ziziphus spina-christi* L.). *Journal of Pharmaceutical and medicinal Sciences* 2016 1(2) : pp 57-61

Yogyakarta, .....

Dosen Pengampu Praktikum

Mahasiswa

apt. Ellsya Angeline R, M.Pharm.Sci

(.....)

## PERTEMUAN 10

### PENETAPAN KADAR FENOLIK TOTAL DALAM EKSTRAK

#### A. TUJUAN PRAKTIKUM

Mahasiswa dapat menetapkan kadar fenolik total dalam ekstrak.

#### B. DASAR TEORI

Senyawa fenolik tersebar luas di alam dan memiliki variasi struktur yang luas, mudah ditemukan di semua tanaman, daun, bunga dan buah. Senyawa fenolik di alam yang telah diketahui strukturnya antaranya flavonoid, fenol monosiklik sederhana, fenilpropanoid, polifenol (lignin, melanin, tanin), dan kuinon fenolik. (Muhlisah, 2008).

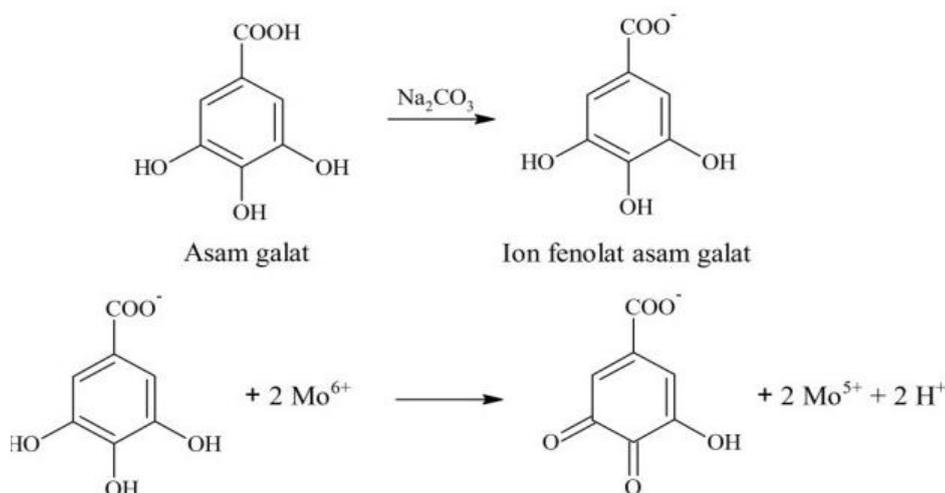
Senyawa fenolik merupakan senyawa yang memiliki cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksil. Flavonoid merupakan golongan terbesar, tetapi fenol monosiklik sederhana, fenilpropanoid dan kuinon fenolik juga terdapat dalam jumlah besar. Beberapa golongan bahan polimer penting dalam tumbuhan seperti lignin, melanin dan tanin adalah senyawa polifenol dan kadang-kadang satuan fenolik dijumpai pada protein, alkaloid dan terpenoid (Harbone, 1987). Kemampuan senyawa fenolik sebagai senyawa biologik aktif memberikan peran besar terhadap kepentingan manusia. Salah satunya sebagai antioksidan untuk pencegahan atau pengobatan penyakit degeneratif seperti kanker, penuaan dini dan gangguan sistem imun tubuh (Apsari dan Susanti, 2011).

Penetapan kadar fenolik dapat dilakukan dengan metode Spektrofotometri UV-Vis karena gugus hidroksil pada komponen fenolik dengan reagen Folin Ciocalteu menghasilkan warna biru yang dapat dideteksi dengan spektrofotometri UV- Vis (Alfian dan Susanti, 2012).

Standar yang digunakan pada analisis senyawa polifenol ialah asam galat, hal ini dikarenakan asam galat bersifat stabil serta memiliki sensitivitas yang tinggi. Metode yang digunakan yaitu Folin-Ciocalteu (Chang dan Xu, 2007). Metode Folin-Ciocalteu digunakan untuk analisis polifenol berdasarkan pada reaksi kolorimetri mengukur konsentrasi total gugus hidroksil polifenol dalam ekstrak tumbuhan. Polifenol pada ekstrak tumbuhan akan bereaksi dengan reagen redoks yaitu Folin-Ciocalteu membentuk kompleks berwarna biru yang dapat diidentifikasi dengan spektrofotometri UV-Vis. Reaksi tersebut membentuk kromofor biru yang dibentuk oleh kompleks phosphotungstic-phosphomolybdenum di mana penyerapan maksimum dari kromofor bergantung pada larutan alkali dan konsentrasi komponen polifenol (Schofield dkk., 2001).

Pada penelitian ini digunakan metode Folin-Ciocalteu untuk penetapan kadar polifenol total. Metode Folin-Ciocalteu merupakan reaksi oksidasi atau reduksi kolorimetrik untuk mengukur semua senyawa polifenol. Pereaksi Folin-Ciocalteu merupakan larutan kompleks ion polimerik yang dibentuk dari asam fosfomolibdat dan asam heteropolifosfat. Pereaksi ini terbuat dari air, natrium tungstat, natrium molibdat, asam fosfat, asam klorida, litium sulfat, dan bromin (Folin dan Ciocalteu,

1944). Pada kenyataannya reagen ini mengandung rangkaian polimerik yang memiliki bentukan umum dengan pusat unit tetrahedral fosfat (PO<sub>4</sub>)<sup>3-</sup> yang dikelilingi oleh beberapa unit oktahedral asam-oksi molibdenum. Struktur tungsten dapat dengan bebas bersubstitusi dengan molibdenum (Singleton dan Rossi, 1965).



Gambar 2. Reaksi Folin-Ciocalteu (Martono, 2020)

Menurut Waterman dan Mole (cit. Khadambi, 2007), dasar metode Folin-Ciocalteu adalah oksidasi gugus fenolik hidroksil. Pereaksi ini mengoksidasi fenolat (garam alkali), mereduksi asam heteropoli menjadi suatu kompleks molibdenum-tungsten (Mo-W). Fenolat hanya terdapat pada larutan basa, tetapi pereaksi Folin-Ciocalteu dan produknya tidak stabil pada kondisi basa. Selama reaksi berlangsung, gugus fenolik-hidroksil bereaksi dengan pereaksi Folin-Ciocalteu membentuk kompleks fosfotungstat-fosfomolibdat berwarna biru dengan struktur yang belum diketahui dan dapat dideteksi dengan spektrofotometer (Jansoon, 2005). Warna biru yang terbentuk akan semakin pekat setara dengan konsentrasi ion fenolat yang terbentuk, artinya semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka semakin banyak ion fenolat yang akan mereduksi asam heteropoli sehingga warna biru yang dihasilkan semakin pekat (Singleton dan Rossi, 1965).

## C. ALAT DAN BAHAN

Alat : Timbangan analitik, labu takar 10 mL, pipet ukur 5 mL, vorteks, corong kaca, kuvet kuarsa dan instrumen spektrofotometer UV-Vis.

Bahan : Standar asam galat, etanol p.a, akuades, Folin Ciocalteu (1:10), larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5%, kertas saring.

## D. CARA KERJA

### 1. Pembuatan larutan induk asam galat 100 ppm

Timbang seksama 5,0 mg asam galat ke dalam labu ukur 50 mL, kemudian dilarutkan dengan 0,5 mL etanol p.a dan diencerkan dengan akuades hingga batas tanda, kocok hingga homogen.

## 2. Pengukuran larutan standar asam galat

Seri konsentrasi standar asam galat 22, 24, 26, 28, 30, dan 32 ppm dibuat dengan cara mengambil 2,2 mL; 2,4 mL; 2,6 mL, 2,8 mL, 3 mL, dan 3,2 mL ke dalam labu ukur 10 mL, lalu tambahkan akuades hingga batas tanda, kocok hingga homogen. Sebanyak 300 µL dari masing-masing larutan diambil dan ditambahkan 1,5 mL Folin Ciocalteu (1:10), larutan divortex dan didiamkan selama 3 menit. Ditambahkan larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5% sebanyak 1,2 mL lalu larutan digojog hingga homogen. Kemudian larutan didiamkan selama 60 menit pada suhu ruangan. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 766 nm dan dibuat kurva kalibrasi asam galat (Andriani dan Murtisiwi, 2018).

## 3. Penentuan kadar fenolik total

Timbang seksama 10,0 mg masing-masing ekstrak dan ekstrak dilarutkan dengan 10 mL akuades, vortex selama 30 detik, lalu disaring dengan corong kaca. Ambil sebanyak 300 µL dari filtrat tersebut diambil dan ditambahkan 1,5 mL Folin-Ciocalteu (1:10), larutan divortex selama 15 detik dan dibiarkan selama 3 menit. Larutan ditambahkan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5% sebanyak 1,2 mL, larutan dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 60 menit. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 766 nm (Andriani dan Murtisiwi, 2018). Kadar fenolik total dalam ekstrak dihitung menggunakan rumus berikut (Samin, dkk., 2014):

$$\text{TPC} = \frac{C \cdot V \cdot f_p}{g}$$

Keterangan:

TPC = Total Phenolic Content

C = konsentrasifenolik (nilai x)

V = volume ekstrak yang digunakan (mL)

Fp = factor pengenceran

g = berat sampel yang digunakan (gram)

## E. DATA PENGAMATAN

### 1. Hasil pembacaan serapan standar

Konsentrasi	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rata-rata Abs

Persamaan kurva baku :

$r^2=$

2. Hasil pembacaan serapan sampel

Sampel	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rata-rata Abs	SD	Kadar (ppm)	Kadar (mg/g)	% Kadar (b/b)
1								
2								
3								

3. PEMBAHASAN

4. KESIMPULAN

5. DAFTAR PUSTAKA

Lalu Aang Robby Dewantara, Agus Dwi Ananto, Yayuk Andayani. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Kacang Panjang (*Vigna unguiculata*) dengan Metode Spektrofotometri UV-Visible LUMBUNG FARMASI : Jurnal Ilmu Kefarmasian, Vo 2 No.1, Januari 2021

Dosen Pengampu Praktikum

Yogyakarta, .....

Mahasiswa

apt. Ellsya Angeline R, M.Pharm.Sci

(.....)

## PERTEMUAN 11

### PENETAPAN KADAR ALKALOID TOTAL DALAM EKSTRAK

#### A. TUJUAN PRAKTIKUM

Mahasiswa dapat menetapkan kadar alkaloid total dalam ekstrak.

#### B. DASAR TEORI

Alkaloid merupakan salah satu metabolisme sekunder yang terdapat pada tumbuhan, yang bisa dijumpai pada bagian daun, ranting, biji, dan kulit batang. Alkaloid mempunyai efek dalam bidang kesehatan berupa pemicu sistem saraf, menaikkan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, antimikroba, obat penenang, obat penyakit jantung dan lain-lain lain (Aksara et al., 2013).

Alkaloid kebanyakan bersifat basa. Sifat tersebut tergantung adanya pasangan elektron pada nitrogen. Kebiasaan alkaloid tergantung pada pasangan elektron bebas pada atom nitrogen mereka. Alkaloid dikelompokkan menjadi :

##### a. Alkaloid sejati

Alkaloid sejati adalah racun, senyawa tersebut menunjukkan aktivitas fisiologi yang luas, hampir tanpa terkecuali bersifat basa; lazim mengandung nitrogen dalam cincin heterosiklik; diturunkan dari asam amino; biasanya terdapat dalam tanaman sebagai garam asam organik.

##### b. Protoalkaloid

Protoalkaloid merupakan asam amino yang relatif sederhana dan nitrogen asam amino tidak terdapat dalam cincin heterosiklik. Protoalkaloid diperoleh berdasarkan biosintesis dari asam amino yang bersifat basa. Contoh meskalin, ephedin, dan N,N-dimetiltriptamin.

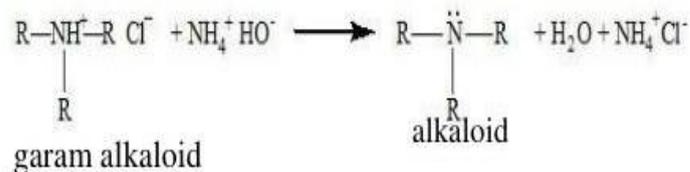
##### c. Pseudoalkaloid

Pseudoalkaloid tidak diturunkan dari prekursor asam amino. Senyawa biasanya bersifat basa. Ada dua seri alkaloid yang penting dalam kelas ini, yaitu alkaloid stereoidal dan purin (Azzahra et al., 2015).

Alkaloid umumnya memiliki aktivitas farmakologi terutama pada mamalia seperti manusia. Bahkan saat ini banyak alkaloid dari sumber alami yang sering digunakan sebagai obat dan obat-obatan alkaloid baru masih terus berkembang untuk penggunaan klinis. Kebanyakan alkaloid dengan aktivitas biologis pada manusia mempengaruhi sistem saraf, terutama sebagai neurotransmitter kimia misalnya asetilkolin, epinefrin, norepinefrin, asam gamma aminobutirat (GABA), dopamin dan serotonin. Alkaloid berfungsi sebagai model untuk sintesis kimia analog dengan sifat yang lebih baik. Contoh penting adalah hiosiamin dan skopolamin (*Atropa belladonna* dan *Datura*) sebagai model untuk bahan parasimpatomimetik sintetis (Azzahra et al., 2015).

Isolasi senyawa alkaloid telah banyak dilakukan oleh para peneliti. Salah satunya adalah dengan menggunakan metode spektrofotometri sederhana dengan cara

pengekstrasian senyawa alkaloid dari bagian tubuh suatu tanaman obat dan pereaksi yang digunakan adalah bromocresol green (BCG). Metode ini dapat mendeteksi seberapa besar kandungan alkaloid total pada suatu bahan dengan menggunakan larutan standar. Larutan standar yang digunakan adalah kafein, dimana standar kafein digunakan sebagai pengidentifikasi total alkaloid dalam tanaman obat itu sendiri. Metode tersebut berdasarkan pada reaksi alkaloid dengan bromocresol green (BCG), dan membentuk sebuah olahan berwarna kuning. Metode itu memaparkan sebuah keuntungan dari sensitifitas dan stabilitas (Latifaningsih, 2012). BCG hanya dapat bereaksi dengan kelas tertentu pada alkaloid (alkaloid yang memiliki nitrogen dalam struktur) alkaloid yang memiliki struktur amina atau amida tidak bereaksi dengan reagen ini (Ajanal et al., 2012). Preparasi deteksi alkaloid yaitu dengan memipet sejumlah tertentu ekstrak sampel ditambahkan dapar fosfat pH 4,7 agar terbentuk garam alkaloid kemudian ditambahkan BCG agar pH larutan menjadi basa, perlakuan tersebut dilakukan agar garam alkaloid membentuk basa bebas alkaloid. Reaksi alkaloid dengan basa secara umum dapat dilihat pada pereaksi berikut (Titis et al., 2013) :



Gambar 3. Reaksi alkaloid dengan basa secara umum (Titis et al., 2013)

### C. ALAT DAN BAHAN

Alat : Timbangan analitik, labu takar 10 mL, mikropipet 100-1000  $\mu\text{L}$ , vorteks, corong kaca, kuvet kuarsa dan instrumen spektrofotometer UV-Vis.

Bahan : Standar kafein, akuades, dapar fosfat pH 4,5, larutan BCG, kloroform, kertas saring.

### D. CARA KERJA

#### 1. Pembuatan larutan induk baku kafein 100 ppm

Timbang seksama 5,0 mg standar kafein dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, tambahkan akuades panas sampai batas tanda, kocok hingga homogen.

#### 2. Pembuatan kurva standar kafein

Seri konsentrasi standar kafein 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm, 14 ppm, dan 16 ppm dibuat dengan cara mengambil 300; 400; 500; 600; 700; dan 800  $\mu\text{L}$  dari larutan induk kafein 100 ppm ke dalam labu ukur 5 mL, lalu tambahkan akuades hingga batas tanda, kocok hingga homogen. Selanjutnya serapan panjang gelombang dibaca pada panjang gelombang 273 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

**3. Penentuan kadar alkaloid total ekstrak**

Timbang seksama 10,0 mg ekstrak, masukkan ke dalam labu ukur 10 mL, lalu tambahkan dengan etanol p.a sampai batas tanda, kocok hingga homogen sehingga didapatkan konsentrasi ekstrak sebanyak 1000 ppm. Saring ekstrak dengan corong kaca dan kertas saring. Pipet 1 mL filtrat tersebut ke dalam labu ukur 10 mL, tambahkan etanol p.a sampai batas tanda, kocok hingga homogen sehingga didapatkan konsentrasi ekstrak sebanyak 100 ppm. Ambil 2 mL dari konsentrasi ekstrak 100 ppm, tambahkan 1 mL dapar fosfat pH 4,5 dan 1 mL larutan BCG, kemudian diekstraksi dengan kloroform sebanyak 5 mL menggunakan vortex. Diambil fase kloroform dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan kloroform sampai batas tanda, kocok hingga homogen, kemudian diukur absorbansi pada panjang gelombang 273 nm. Penentuan kadar alkaloid total dilakukan dengan mencari nilai regresi dan perhitungan koefisien variasi regresi linier. Setelah itu dilakukan perhitungan kadar alkaloid total ekstrak etanol bawang dayak dengan menggunakan rumus  $y = bx + a$ . Dari rumus tersebut maka akan diperoleh kadar alkaloid total dan nilai Standar Deviasi (SD).

**E. DATA PENGAMATAN**

**1. Hasil pembacaan serapan standar**

Konsentrasi	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rata-rata Abs

Persamaan kurva baku :

$r^2$  :

**2. Hasil pembacaan serapan sampel**

Sampel	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rata-rata Abs	SD	Kadar (ppm)	Kadar (mg/g)	% Kadar (b/b)
1								
2								
3								

## F. PEMBAHASAN

## G. KESIMPULAN

## H. DAFTAR PUSTAKA

Septia Wahyuni, Mauritz Pandapotan Marpaung. Penentuan Kadar Alkaloid Total Ekstrak Akar Kuning (*Fibraurea chloroleuca* Miers) Berdasarkan Perbedaan Konsentrasi Etanol dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. Dalton : Jurnal Pendidikan Kimia dan Ilmu Kimia, Volume 3 Nomor 2, November 2020.

Dosen Pengampu Praktikum

Yogyakarta, .....

Mahasiswa

apt. Ellsya Angeline R, M.Pharm.Sci

(.....)

## PERTEMUAN 12

### PENETAPAN KADAR TANIN TOTAL DALAM EKSTRAK

#### A. TUJUAN PRAKTIKUM

Mahasiswa dapat menetapkan kadar tanin total dalam ekstrak.

#### B. DASAR TEORI

Tanin diketahui merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, anti bakteri dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut (Desmiaty et al., 2008).

Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut. Sifat tanin sebagai astringen dapat dimanfaatkan sebagai antidiare, menghentikan pendarahan, dan mencegah peradangan terutama pada mukosa mulut, serta digunakan sebagai antidotum pada keracunan logam berat dan alkaloid. Tanin dibedakan menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi.

Untuk menentukan kadar tanin diukur dengan menggunakan kurva standar tanin. Standar tanin yang digunakan yaitu asam tanat. Pemilihan asam tanat dikarenakan asam tanat merupakan golongan tanin terhidrolisis sehingga dapat digunakan sebagai pembanding dalam pengukuran kadar tanin total (Supriyanto, R 2011). Tanin yang dibaca pada spektrofotometri UV- Vis harus direaksikan dengan reagen pembentuk warna yaitu folin denis dan natrium karbonat. Pembentukan warnanya berdasarkan reaksi reduksi oksidasi, dimana tanin sebagai reduktor. Folin denis sebagai oksidator, tanin yang teroksidasi akan mengubah fosmolibdat dalam folin denis menjadi fosmolibdenim yang berwarna biru yang dapat menyerap sinar pada daerah panjang gelombang ultraviolet visibel (Andriyani D dkk, 2010).  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  bertujuan untuk membuat suasana basa agar terjadi reaksi reduksi folin denis oleh gugus hidroksil dari polifenol di dalam sampel dan akan membentuk kompleks molybdenum-tungsten berwarna biru.

#### C. ALAT DAN BAHAN

Alat : Timbangan analitik, labu takar 10 mL, mikropipet 100-1000  $\mu\text{L}$ , vorteks, corong kaca, kuvet kuarsa dan instrumen spektrofotometer UV-Vis.

Bahan : Standar asam tanat, akuades, reagen Folin Denis,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .

## D. CARA KERJA

### 1. Pembuatan larutan standar asam tanat 100 ppm

Timbang seksama sebanyak 10,0 mg asam tanat kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Tambahkan akuades hingga tanda batas, kocok hingga homogen.

### 2. Pembuatan larutan $\text{Na}_2\text{CO}_3$ jenuh

Pembuatan larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  jenuh dilakukan dengan cara menimbang sebanyak 7,5 gram  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  kemudian dilarutkan dengan aquadest dalam gelas kimia dan dipanaskan pada suhu  $60^\circ\text{C}$ . Setelah larut sempurna dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL (Andriyani dkk, 2010).

### 3. Pengukuran larutan standar asam tanat

Seri konsentrasi standar asam tanat 10, 15, 20, 25, 30, 35 ppm dibuat dengan cara mengambil 500, 750, 1000, 1250, 1500, dan 1750 dari larutan induk 100 ppm lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL, tambahkan akuades hingga tanda batas, kocok hingga homogen. Sebanyak 1 mL dari masing-masing larutan selanjutnya dicampur dengan 1 mL reagen Folin Denis. Campuran dibiarkan selama 3 menit kemudian ditambah dengan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  jenuh sebanyak 1 mL, divortex selama 15 detik, kemudian tabung reaksi dibungkus dengan aluminium foil selama 40 menit untuk proses homogenisasi. Setelah itu, dilakukan pengukuran dengan spektrofotometri sinar tampak pada panjang gelombang 650 nm. Hasil pembacaan absorbansi yang diperoleh digunakan untuk pembuatan kurva kalibrasi standar terhadap konsentrasi dari larutan standar asam tanat (Irianty dan Yenti, 2014)

### 4. Pengukuran kadar tanin dalam larutan sampel

Sebanyak 10 mg ekstrak ditimbang, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, kemudian dilarutkan dengan akuades sampai tanda batas, kocok hingga homogen, lalu disaring. Sebanyak 1 mL dari filtrat ditambahkan 1 mL pereaksi folin denis, didiamkan selama 3 menit, ditambahkan 1,0 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  jenuh dan diinkubasi selama 40 menit, kemudian dibaca serapannya pada panjang gelombang 649,9 nm (Irianty dan Yenti, 2014). Lakukan preparasi sampel sebanyak 3x.

## E. DATA PENGAMATAN

### 1. Hasil pembacaan serapan standar

Konsentrasi	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rata-rata Abs

Persamaan kurva baku :

$$r^2 =$$

2. Hasil pembacaan serapan sampel

Sampel	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rata-rata Abs	SD	Kadar (ppm)	Kadar (mg/g)	% Kadar (b/b)
1								
2								
3								

**F. PEMBAHASAN**

**G. KESIMPULAN**

**H. DAFTAR PUSTAKA**

Mamat Pratama, Raiz Razak, Vivien Sandra Rosalia, 2019, Analisis Kadar Tanin Total Ekstrak Etanol Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarma Indonesia*, Vol 6(2).

Yogyakarta, .....

Dosen Pengampu Praktikum

Mahasiswa

apt. Ellsya Angeline R, M.Pharm.Sci

(.....)

## PERTEMUAN 13

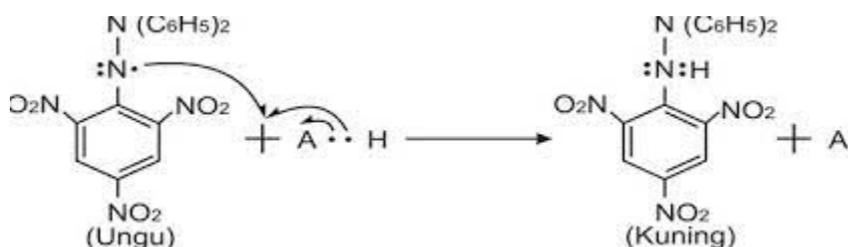
### UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DENGAN METODE DPPH (PENETAPAN NILAI IC<sub>50</sub> PADA STANDAR VITAMIN C)

#### A. TUJUAN PRAKTIKUM

Mahasiswa dapat menetapkan nilai IC<sub>50</sub> pada standar vitamin C.

#### B. DASAR TEORI

Uji senyawa antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH Metode pengujian antioksidan yang umum digunakan terutama untuk senyawa dari bahan alam adalah metode DPPH. Metode ini menggunakan sumber radikal bebas berupa senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Karena adanya elektron yang tidak berpasangan, DPPH memberikan serapan kuat pada 517 nm. Ketika elektronnya menjadi berpasangan oleh keberadaan penangkap radikal bebas, maka absorbansinya menurun secara stokiometri sesuai jumlah elektron yang diambil. Keberadaan senyawa antioksidan dapat mengubah warna larutan DPPH dari ungu menjadi kuning (Dehpour,2009). Metode ini memiliki kelebihan yaitu mudah, cepat, dan sensitif untuk pengujian aktivitas antioksidan senyawa tertentu atau ekstrak tanaman.



Gambar 3 reaksi metode DPPH (Yamaguchi dkk., 1998)

Gambar 3 menunjukkan mekanisme DPPH• menerima hidrogen dari antioksidan. DPPH • adalah satu dari sedikit radikal nitrogen organik yang stabil dan tersedia secara komersial. Efek antioksidan sebanding dengan hilangnya DPPH dalam sampel uji. Pengukuran DPPH • dengan spektrometer UV telah menjadi metode yang paling umum digunakan karena kesederhanaan dan akurasinya. DPPH • menunjukkan penyerapan maksimum yang kuat pada gelombang 517 nm (ungu). Warna berubah dari ungu menjadi kuning diikuti oleh pembentukan DPPH setelah penyerapan hidrogen dari antioksidan. Reaksi ini adalah reaksi stoikiometrik sehubungan dengan jumlah atom hidrogen yang diserap. Oleh karena itu, efek antioksidan dapat dengan mudah dievaluasi dengan mengikuti penurunan penyerapan UV pada 517 nm.

#### C. ALAT DAN BAHAN

Alat : Spektrofotometri UV-Vis (1 unit) dengan kuvet plastik (10 pcs), timbangan analitik Ohaus (1 unit), labu ukur 100 mL (2 pcs), labu ukur 5 mL (5 pcs), mikropipet 100-1000  $\mu$ L (1 unit), pipet tetes (1 pcs)

Bahan : DPPH (5 mg), vitamin C (5 mg), metanol p.a (250 mL), alumunium foil

## D. CARA KERJA

### 1. Cara Pembuatan Larutan DPPH 50 ppm

Larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan cara menimbang 5,0 mg standar DPPH ke dalam labu ukur 100 mL dan melarutkannya dengan menggunakan metanol p.a.

### 2. Cara Pembuatan Larutan Kontrol

Larutan kontrol dibuat dengan cara mencampurkan 2 mL metanol p.a dengan 2 mL DPPH 50 ppm ke dalam tabung reaksi kecil yang sudah dibungkus alumunium foil. Campuran larutan tersebut diinkubasi pada suhu 25 °C selama 30 menit. Selama proses reduksi oleh antioksidan, larutan radikal DPPH akan berubah warna dari ungu menjadi kuning pucat. Penurunan absorbansi ini diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

### 3. Cara Pembuatan Larutan Induk Standar Vitamin C 50 ppm

Sebanyak 5 mg standar vitamin C ke dalam labu ukur 100 mL, dan melarutkannya dengan menggunakan pelarut metanol p.a

### 4. Cara Pembuatan Seri Konsentrasi Standar Vitamin C

Pipet sebanyak 200 µL, 400 µL, 600 µL, 800 µL, dan 1000 µL larutan standar vitamin C 50 ppm ke dalam labu ukur 5 mL. Tambahkan metanol p.a sampai batas tanda. Larutan standar dipipet 2 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kecil yang sudah dibungkus alumunium foil kemudian ditambahkan 2 mL DPPH. Campuran larutan tersebut diinkubasi pada suhu 25 °C selama 30 menit. Selama proses reduksi oleh antioksidan, larutan radikal DPPH akan berubah warna dari ungu menjadi kuning pucat. Penurunan absorbansi ini diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

## E. DATA PENGAMATAN

Absorbansi blanko = Abs blanko 1 + Abs blanko 2 + Abs blanko 3

Absorbansi blanko = ...

Konsentrasi (ppm)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rata-rata abs	Inhibitory Concentration (IC)
2					
4					
6					
8					
10					

*Inhibitory concentration (IC)* = [(Abs blanko-Rata-rata Abs)/Abs blanko]x100%

Persamaan kurva baku yang didapatkan :

$r^2=$

Nilai  $IC_{50}$  :

## F. PEMBAHASAN

## G. KESIMPULAN

## H. DAFTAR PUSTAKA

Fitriana , W. D., Fatmawati, S., & Ersam, T. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-fraksi. 657-660.

Dosen Pengampu Praktikum

Yogyakarta, .....

Mahasiswa

apt. Ellsya Angeline R, M.Pharm.Sci

(.....)

## PERTEMUAN 14

### UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DENGAN METODE DPPH (PENETAPAN NILAI IC<sub>50</sub> PADA EKSTRAK)

#### A. TUJUAN PRAKTIKUM

Mahasiswa dapat menetapkan nilai IC<sub>50</sub> pada ekstrak

#### B. DASAR TEORI

Metode pengujian kuantitatif menggunakan beberapa pengujian yang pertama pengujian penangkapan radikal bebas. Pengujian ini mengukur penangkapan radikal sintetik dalam pelarut organik polar seperti metanol maupun etanol. Radikal sintetik yang sering digunakan adalah DPPH. Reagen DPPH ini memberikan warna violet pada panjang gelombang 517 nm. Kedua, pengujian aktivitas antioksidan dengan sistem linoleat tiosianat, di mana prinsip pengujian ini yaitu pengukuran intensitas warna kompleks feritiosianat yang terbentuk dari reaksi ion feri dengan amonium tiosianat. Ion feri terbentuk dari oksidasi ion fero oleh peroksida yang berasal dari oksidasi asam linoleat. Kompleks feritiosianat yang berwarna merah diukur absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm. Ketiga pengujian dengan asam tiobarbiturat, di mana prinsip pengujian ini adalah reaksi malondialdehid dengan asam tiobarbiturat menghasilkan kromogen merah muda yang dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 532 nm. Dan keempat pengujian dengan sistem betakaroten linoleat. Prinsip pengujian ini dilakukan dengan mengganti kecepatan pemucatan warna betakaroten.

#### C. ALAT DAN BAHAN

Alat : Spektrofotometri UV-Vis (1 unit) dengan kuvet plastik (10 pcs), timbangan analitik Ohaus (1 unit), labu ukur 100 mL (1 pcs), labu ukur 5 mL (5 pcs), pipet ukur 1 mL (1 pcs), pipet ukur 2 mL (1 pcs), dan pipet ukur 5 mL (1 pcs), pipet tetes (1 pcs)

Bahan : ekstrak (100 mg), metanol p.a (125 mL), alumunium foil

#### D. CARA KERJA

##### 1. Cara Pembuatan Larutan Kontrol

Larutan kontrol dibuat dengan cara mencampurkan 2 mL metanol p.a dengan 2 mL DPPH 50 ppm ke dalam tabung reaksi kecil yang sudah dibungkus alumunium foil. Campuran larutan tersebut diinkubasi pada suhu 25 °C selama 30 menit. Selama proses reduksi oleh antioksidan, larutan radikal DPPH akan berubah warna dari ungu menjadi kuning pucat. Penurunan absorbansi ini diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm.

## 2. Cara Pembuatan Larutan Induk Sampel 1000 ppm

Larutan induk uji sampel 1000 ppm dibuat dengan cara menimbang 100 mg sampel ke dalam labu ukur 100 mL dan melarutkannya dengan menggunakan metanol p.a.

## 3. Cara Pembuatan Seri Konsentrasi Sampel

Pipet sebanyak 0,5; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 mL larutan induk uji sampel 1000 ppm ke dalam labu ukur 5 mL. Tambahkan metanol p.a sampai batas tanda. Larutan sampel dipipet 2 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kecil yang sudah dibungkus alumunium foil kemudian ditambahkan 2 mL DPPH. Campuran larutan tersebut diinkubasi pada suhu 25 °C selama 30 menit. Selama proses reduksi oleh antioksidan, larutan radikal DPPH akan berubah warna dari ungu menjadi kuning pucat. Penurunan absorbansi ini diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

## E. DATA PENGAMATAN

Absorbansi blanko = Abs blanko 1 + Abs blanko 2 + Abs blanko 3

Absorbansi blanko = ...

Konsentrasi (ppm)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rata-rata abs	<i>Inhibitory Concentration (IC)</i>
100					
200					
300					
400					
500					

*Inhibitory concentration (IC)* = [(Abs blanko-Rata-rata Abs)/Abs blanko]x100%

Persamaan kurva baku yang didapatkan :

$r^2=$

Nilai  $IC_{50}$  :

## F. PEMBAHASAN

## G. KESIMPULAN

## H. DAFTAR PUSTAKA

Fitriana , W. D., Fatmawati, S., & Ersam, T. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-fraksi. 657-660.

Dosen Pengampu Praktikum

apt. Ellsya Angeline R, M.Pharm.Sci

Yogyakarta, .....

Mahasiswa

(.....)

## REKAPITULASI NILAI PRAKTIKAN

Nama Praktikan/NIM :

PERTEMUAN	PRETEST (10%)	KINERJA (20%)	POST-TEST (20%)	LAPORAN (20%)	PARAF DOSEN
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
<b>RATA-RATA</b>					

Nilai presentasi praktikum (10%) :  
 Nilai responsi praktikum (20%) :  
 Total nilai (dalam bentuk angka) :  
 Total nilai (dalam bentuk huruf) :



**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS KRISTEN IMMANUEL  
YOGYAKARTA**

Jl. Solo Km 11,1 Yogyakarta. Telp. (0274) 2850857  
Hotline 📞 0813 2903 2354