

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Tinjauan Pustaka

II.1.1. Definisi Bintangur



Gambar 1. Bintangur (*Callophylum soulattri* Burm. F)⁽¹⁶⁾

Bintangur (*Callophylum soulattri* Burm. F) adalah tumbuhan besar yang selalu hijau, biasa disebut tamanu, *mastwood*, *beach callophyllum* atau *beautyleaf*. Bintangur merupakan salah satu jenis dari famili *Callophylleae* yang banyak terdapat di hutan-hutan Kalimantan yang termasuk tanaman tipe tepi jalan.⁽³⁾ Tanaman Bintangur penyebarannya terdapat pada Indo-China, Thailand, Malaysia hingga ke Australia Utara dan Melanesia. Di Indonesia, jenis ini dijumpai di daerah Sumatera, Kalimantan dan Papua.⁽¹⁷⁾ Penyebarannya yaitu di daerah tropis terutama di daerah pesisir pantai dan kawasan dataran rendah, namun dapat dijumpai di dataran tinggi.⁽¹⁸⁾

II.1.1.1. Klasifikasi Tanaman⁽¹⁶⁾

Kingdom : Plantae

Sub kingdom : Tracheobinta

| | |
|--------------|---|
| Super divisi | : Spermatophyta |
| Divisi | : Magnoliophyta |
| Kelas | : Magnoliopsida |
| Sub kelas | : Dilleniidae |
| Ordo | : Theales |
| Famili | : Clusiaceae |
| Genus | : Calophyllum |
| Spesies | : <i>Calophyllum soulattri</i> Burm. <i>F</i> |

II.1.1.2. Nama Daerah

Tanaman ini dikenal dengan nama yang berbeda pada setiap daerah. Bangka Belitung biasa menyebutnya mentangor. Daerah lain ada yang menyebutnya dengan nama aci, nyamplung, betur, kapur naga, penaga dan bunut. Daerah Tagalog menyebut bintangur dengan palo maria. Pulau Asia Tenggara dan Oseania mengenal dengan nama bintangur, bitaog, tamanu atau kamani.⁽¹⁹⁾

II.1.1.3. Deskripsi Bintangur



Gambar 2. Pohon Bintangur⁽¹⁶⁾

Pohon bintangur memiliki ketinggian ± 20 m, diameter mencapai 150 cm dengan batang tebal yang berbentuk lonjong dan ditutupi oleh kulit yang bertekstur kasar retak-retak berwarna hitam. Sebagian batangnya merayap di tanah, cabang tumbuh miring atau horizontal melebar sampai di atas permukaan laut. Batang mengeluarkan getah berwarna putih ketika dilukai.⁽²⁰⁾



Gambar 3. Batang Bintangur⁽²⁰⁾

Daun duduknya berhadapan, tekstur keras seperti kulit, berwarna hijau mengkilap, kaku, bangun daun memanjang sampai jorong, pada bagian basal bulat sampai meruncing, ujung daun membulat sedikit bertakik atau agak runcing, tepi daun mempunyai urat daun yang halus dan sejajar.⁽²⁰⁾



Gambar 4. Daun Bintangur⁽¹⁶⁾

Bunga di ketiak daun tersusun tandan, berwarna putih terdiri dari 4 daun kelopak (sepala) dan 8 daun mahkota bunga (petala). Bintangur memiliki buah yang banyak dan tersusun dalam kelompok-kelompok.⁽²⁰⁾



Gambar 5. Bunga Bintangur⁽¹⁶⁾

Buah berbentuk bulat sampai oval atau memanjang, ketebalan sedang, lapisan luar keras berwarna hijau abu-abu. Buah yang sudah matang memiliki kulit ari halus berwarna kuning dengan rasa mirip buah apel.⁽²⁰⁾



Gambar 6. Buah Bintangur⁽¹⁶⁾

Pohon bintangur yang telah berbunga sebanyak dua kali dalam setahun dapat dikategorikan sebagai bintangur dewasa.⁽²¹⁾ Bintangur termasuk jenis penyusun hutan rawa-gambut karena memiliki daya adaptasi yang baik pada kondisi hutan rawa-gambut yang terdegradasi. Pohon bintangur cenderung memiliki percabangan yang banyak dan tidak mudah mengalami pruning alami.⁽²²⁾

II.1.1.4. Tempat Tumbuh

Bintangur mampu tumbuh baik di lahan gambut pada kondisi terbuka sehingga dikategorikan jenis intoleran atau butuh cahaya penuh pada tingkat permudaan. Keberadaan tersebar di beberapa tipe hutan baik hutan kering, hutan rawa gambut maupun hutan kerangas.⁽³⁾ Bintangur dapat tumbuh pada tanah pasir yang marginal dan salin, juga pada tanah liat, dengan ketinggian tempat 0-300 m dpl. Curah hujan 1000-3000 mm/tahun; berdrainase bagus, pH 4 - 7,4; sangat toleran terhadap tanah medium. Bintangur tumbuh dengan baik pada suhu tahunan 18-33°C.⁽¹⁸⁾

II.1.1.5. Kandungan Senyawa Kimia

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada daun bintangur antara lain golongan senyawa flavonoid, steroid, fenol, tanin dan saponin.⁽¹³⁾ Adapun kandungan senyawa kimia yang terdapat pada tanaman bintangur secara spesifik antara lain amentoflavon, katekin, leukosianidin, mirisetin dan glukosida, piranoamentoflavon, kuarsetin, kuarsetrin, leukosianidin, beta-amirin, *canophyllic acid*, *canophyllal*, *canophyllol*, *canophyllum*, *epifredelanol*, *friedelin*, *erythrodiol-3-acetate*, *sixteen xanthones including buchanaxanthone*, *calophyllumin A*, *caloxanthones A-E*, *euxanthone*, *jacareubins*, *macluraxanthone*, *apetalolide*, *calaustralin*, *calophyllolide*, *costatolid*, *inophyllolide*, *12-dihydro-inophyllolide*, *inophyllums*, *ponnalide*, *calophyllic acid*, *isocalophyllic acid*, *peudobrasilic acid*, *calophynic acid*, *cinnamic acid*, *inophyrone*, *campesterol*, *cholesterol*, *beta-sitosterol*, *stigmasterol*, *inophenic acid*, *inophyllic acid*, *arachidic acid*, *erucic acid*, *oleic acid*, *palmitic acid*, *palmitoleic acid*, *stearic acid*.⁽²⁰⁾

Senyawa yang telah diisolasi dari tumbuhan ini antara lain turunan terpenoid yaitu squalatron A dan friedelin, turunan xanton antara lain squalatrin, kaloksanon B, kaloksanon C, makluraksanton, filatrin, braksisantone dan trapezifoliksanton dan turunan kumarin yaitu squalamarin. Adapun dari golongan steroid yang telah berhasil diisolasi yaitu senyawa stigmasterol dan beta-sitosterol.⁽²³⁾ Tanaman yang dapat digunakan sebagai bahan obat mengandung banyak kandungan kimia dan umumnya tidak diketahui atau tidak dapat dipastikan zat aktif yang berperan dalam menimbulkan efek terapi atau menimbulkan efek samping. Kandungan kimia suatu tanaman juga ditentukan oleh beberapa faktor karena tanaman merupakan organisme hidup sehingga letak geografis atau tempat tumbuh tanaman, iklim, cara pembudidayaan, cara dan waktu panen serta cara perlakuan pasca panen dapat mempengaruhi kandungan kimianya.⁽²⁰⁾

II.1.1.6. Kegunaan Tanaman

Bintangur telah diketahui mempunyai aktivitas farmakologis seperti analgesic, aktivitas sitotoksik, anti dislipidemia, anti kanker dan anti HIV.⁽²⁰⁾ Tumbuhan bintangur di Indonesia telah digunakan sebagai obat tradisional, baik bagian daun, kulit batang, biji maupun bunga. Getah bintangur disadap untuk mendapatkan minyak yang diindikasikan berkhasiat untuk menekan pertumbuhan virus. Daun bintangur berkhasiat sebagai obat oles untuk sakit pinggang, bahan kosmetik untuk perawatan kulit, penyembuhan luka bakar dan luka potong. Daun bintangur yang sudah kering juga dapat dibakar, kemudian asapnya yang diisap bisa menghilangkan penyakit

fertigo (pusing) dan migraen (sakit kepala sebelah). Infus daunnya dapat digunakan untuk mengobati sakit mata, wasir dan disentri. Daun bintangur yang dipanaskan juga dapat digunakan sebagai tapal untuk luka, bisul dan ruam kulit. Bijinya dapat diekstrak menjadi bahan baku biofuel untuk mengatasi rambut rontok karena memiliki kemampuan antiparasit.⁽¹⁷⁾ Minyak bijinya dapat dioleskan secara eksternal sebagai analgesik terhadap rematik dan linu pinggul dan dapat juga digunakan sebagai obat terhadap pembengkakan, bisul, kudis, kurap dan gatal.

Kulit biji bintangur berpotensi dan berkorelasi sebagai bahan antikanker. Kulit kayu bersifat astringen dan mengandung 11-19% tanin dan dilaporkan bersifat antiseptik dan desinfektan serta dapat mengobati `orkitis. Oleoresin dari kulit kayu yang mengandung asam benzoat menunjukkan sifat sikatrisasi. Rebusan akar secara tradisional digunakan untuk mengobati bisul dan oftalmia atau peradangan pada mata⁽³⁾. Kayunya dipergunakan sebagai bahan kayu pertukangan. Kayu bintangur masuk dalam kelas II-IV bila disimpan pada kondisi terbuka dan jika digunakan langsung berhubungan dengan tanah daya tahannya sekitar $0,5 \pm 3,5$ tahun.⁽²⁴⁾ Kegunaan kayu bintangur yaitu antara lain dapat digunakan untuk konstruksi ringan, bahan lantai, papan hias, perabot rumah tangga, kayu lapis, pulp dan venir. Selain itu buah bintangur dapat dimanfaatkan untuk bahan biodiesel.⁽²⁵⁾

II.1.2. Ekstrak

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

tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan.⁽²⁶⁾ Menurut Farmakope Herbal Indonesia (FHI), ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati menurut cara yang sesuai di luar pengaruh cahaya matahari langsung.⁽¹⁰⁾ Penyarian merupakan peristiwa perpindahan massa zat aktif yang semula berada di dalam sel yang ditarik oleh cairan penyari. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria antara lain murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, selektif, dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat. Farmakope Indonesia menetapkan bahwa sebagai cairan penyari adalah air, etanol, etanol-air atau eter.⁽²⁷⁾

Berdasarkan sifatnya ekstrak dapat dibagi menjadi empat, yaitu ekstrak encer, ekstrak kental, ekstrak kering, dan ekstrak cair. Ekstrak encer (*Extractum tenue*) merupakan sediaan yang memiliki konsistensi seperti cairan madu yang mudah mengalir. Ekstrak kental (*Extractum spissum*) merupakan sediaan kental yang apabila dalam keadaan dingin dan kecil kemungkinan bisa dituang. Kandungan airnya berjumlah sampai dengan 30%.⁽²⁸⁾ Ekstrak kering (*Extractum siccum*) merupakan sediaan yang memiliki konsistensi kering dan mudah dihancurkan dengan tangan melalui penguapan yang sebaiknya memiliki kandungan lembab tidak lebih dari 5%. Ekstrak cair (*Extractum fluidum*) merupakan sediaan dari simplisia nabati yang mengandung etanol sebagai pelarut atau sebagai pengawet atau sebagai pelarut dan pengawet. Jika tidak dinyatakan lain pada masing-masing monografi tiap mL ekstrak mengandung bahan aktif dari 1 g simplisia yang memenuhi syarat.⁽²⁸⁾

II.1.3. Ekstraksi

II.1.3.1. Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penyarian suatu senyawa aktif dari suatu bahan atau simplisia nabati atau hewani dengan menggunakan pelarut tertentu yang cocok. Pembuatan ekstrak (ekstraksi) bisa dilakukan dengan berbagai metode, sesuai dengan sifat dan tujuannya.⁽²⁹⁾ Proses ekstraksi dihentikan apabila telah tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi, artinya sebelum memilih suatu metode ekstraksi maka target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu.

Proses ekstraksi membutuhkan bahan yang akan diekstraksi, pelarut ekstraksi dan alat ekstraksi. Faktor yang mempengaruhi ekstraksi antara lain sifat dan karakteristik bahan yang akan diekstraksi, stabilitas bahan yang akan diekstraksi, harga bahan yang akan diekstraksi, pelarut, konsentrasi bahan dan *recovery* pelarut. Beberapa target ekstraksi diantaranya senyawa bioaktif yang tidak diketahui, senyawa yang diketahui ada pada organisme dan sekelompok senyawa yang berhubungan secara structural.⁽³⁰⁾

II.1.3.2. Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi terbagi menjadi metode panas dan metode dingin. Metode panas merupakan metode yang melibatkan pemanasan dan digunakan pada senyawa aktif yang tahan panas, sementara metode dingin tidak memerlukan pemanasan. Adapun metode dingin antara lain:

a. Maserasi

Metode maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling sederhana sehingga banyak digunakan untuk keefisienan prosedur. Metode ini sesuai untuk skala kecil maupun skala industry.⁽³¹⁾ Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai kedalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi sel dalam tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan.⁽³²⁾

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan proses mengekstraksi senyawa terlarut dari jaringan selular simplisa dengan pelarut yang selalu baru hingga sempurna dan umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Metode ini melakukan penyaringan secara berkesinambungan.⁽³³⁾ Metode perkolasi dilakukan dengan cara serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator yaitu wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya. Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah.⁽³²⁾

Adapun metode panas pada ekstraksi terdiri dari;

a. Sokletasi

Metode ekstraksi sokletasi adalah sejenis ekstraksi dengan pelarut cair organik yang dilakukan secara berulang-ulang pada suhu tertentu dengan jumlah pelarut tertentu. Pelarut yang digunakan harus disesuaikan dengan tingkat kepolaran ekstrak yang ingin diperoleh. Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam

sarung selulosa (atau dapat juga menggunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan diatas labu dan dibawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan kedalam labu dan suhu penangas diatur dibawah suhu refluks.⁽³⁴⁾

Prinsip dari sokletasi yaitu penyaringan yang berulang-ulang sehingga hasil yang didapat sempurna dan pelarut yang digunakan relatif sedikit.⁽³⁵⁾ Kelebihan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu dan sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Metode sokletasi juga mampu menghasilkan rendemen yang tinggi. Kekurangannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih.⁽³²⁾

b. Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dengan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dan adanya pendingin balik. Sampel dimasukkan bersama pelarut kedalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali kedalam labu. Prinsip dari metode refluks adalah pelarut yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi, namun akan didinginkan dengan kondensor sehingga pelarut yang sebelumnya dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor.⁽³⁶⁾

II.1.4. Standardisasi

Standardisasi merupakan rangkaian proses yang melibatkan berbagai metode analisis kimiawi berdasarkan data farmakologis, melibatkan analisis fisik dan

mikrobiologi berdasarkan kriteria umum keamanan (toksikologi) terhadap suatu ekstrak bahan alam⁽⁸⁾. Literatur lain menyebutkan bahwa standardisasi adalah proses penentuan spesifikasi bahan berdasarkan parameter tertentu untuk mencapai tingkat kualitas standar berdasarkan dua parameter yaitu parameter spesifik dan parameter non-spesifik.⁽³⁷⁾

Tujuan dari standardisasi umumnya untuk menjamin standar mutu dan keamanan ekstrak tanaman obat. Literatur lain menyebutkan bahwa standardisasi juga bertujuan untuk menjaga konsistensi dan keseragaman khasiat dari obat herba, menjaga keamanan dan stabilitas ekstrak atau bentuk sediaan yang terkait dengan keamanan kepada konsumen dan meningkatkan nilai ekonomi.⁽⁸⁾ Penentuan nilai standardisasi ini perlu acuan yang menandakan bahwa simplisia dan ekstrak tersebut memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan. Penetapan standar mutu yang dilakukan meliputi parameter spesifik dan non-spesifik.

II.1.4.1. Parameter Spesifik

Parameter spesifik berfokus pada senyawa atau golongan senyawa yang bertanggungjawab terhadap aktivitas farmakologis. Analisis kimia yang dilibatkan ditujukan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif terhadap senyawa aktif. Adapun parameter spesifik yang ditetapkan antara lain:

II.1.4.1.1. Identitas Ekstrak

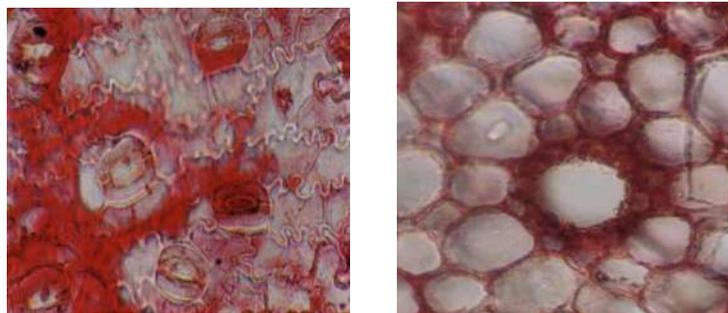
Pendeskripsian tata nama yaitu nama simplisia dan ekstrak, nama latin tumbuhan, bagian tumbuhan yang digunakan dan nama Indonesia tumbuhan. Parameter Identitas simplisia dan ekstrak bertujuan untuk memberikan identitas objektif nama secara spesifik.⁽²⁹⁾

II.1.4.1.2. Penetapan Organoleptik Ekstrak

Pemeriksaan organoleptik ekstrak meliputi bentuk, bau, rasa dan warna. Pernyataan “tidak berbau”, “praktis tidak berbau”, “berbau khas lemah” atau lainnya, ditetapkan dengan pengamatan setelah bahan terkena udara selama 15 menit.

II.1.4.1.3. Uji Mikroskopik

Uji mikroskopik dilakukan terhadap serbuk simplisia dan diamati fragmen pengenal antara lain stomata dan kristal Ca oksalat pada bagian daun dan dibandingkan dengan pustaka.⁽¹⁰⁾ Studi literatur pada uji mikroskopis daun bintangur (*C. soulattri*), stomata berbentuk bulat panjang dan dikelilingi tiga atau empat sel tetangga yang bentuknya tidak seragam, salah satu sel tetangga jelas sekali lebih kecil dari sel tetangga lainnya. Untuk Ca oksalat pada daun bintangur (*C. soulattri*) berupa hablur, tunggal dengan bentuk prisma dan amorf.⁽³⁴⁾



Gambar 7. Fragmen Pengenal Daun Bintangur Secara Mikroskopis

Keterangan: Tipe Stomata (Kiri), Kristal Ca oksalat (Kanan) *C. Soulattri*

II.1.4.1.4. Uji Makroskopik

Uji makroskopik dilakukan untuk mencari kekhususan morfologi pada daun bintangur (*C. Soulattri*) dan membandingkan dengan pustaka.⁽³⁸⁾ Studi literatur memaparkan bahwa morfologi daun bintangur berwarna hijau mengkilat, yang muda

berwarna merah coklat, tulang daun membelah tegas, pertulangan daun menyirip dan tampak tidak jelas, bentuk daun lonjong dan ujung daun tumpul atau lancip.⁽²⁴⁾

II.1.4.1.5. Penetapan Kadar Sari Larut Air

Penetapan kadar senyawa larut air bertujuan untuk menentukan jumlah solut yang identik dengan jumlah kandungan senyawa yang larut pada air sehingga dapat diperoleh dasar untuk perhitungan dosis ketika sampel dibuat dalam sediaan jamu sebagai pengobatan asli Indonesia.⁽³⁹⁾ Batas kadar sari larut air yang ditetapkan berdasarkan persyaratan mutu yaitu >6%.

II.1.4.1.6. Penetapan Kadar Sari Larut Etanol

Penetapan kadar senyawa terlarut dalam pelarut etanol ini bertujuan sebagai perkiraan banyaknya kandungan senyawa-senyawa aktif yang bersifat non- polar atau larut dalam etanol.⁽⁸⁾ Penetapan ini dilakukan untuk menentukan jumlah larutan yang identik dengan jumlah senyawa kandungan secara gravimetri. Tujuannya adalah memberikan gambaran awal jumlah senyawa kandungan.

II.1.4.2. Parameter Non-Spesifik

Penetapan parameter non-spesifik berfokus pada aspek kimia, mikrobiologi, dan fisis yang akan mempengaruhi keamanan konsumen dan stabilitas, meliputi : kadar air, cemaran logam berat.

II.1.4.2.1. Susut Pengerinan

Susut pengeringan merupakan salah satu parameter non spesifik yang bertujuan untuk memberikan batasan maksimal tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Parameter susut pengeringan pada dasarnya adalah pengukuran

sisa zat setelah pengeringan pada temperatur 105°C sampai berat konstan, yang dinyatakan sebagai nilai persen.⁽²⁹⁾ Penimbangan dinyatakan sudah mencapai bobot tetap apabila perbedaan dua kali penimbangan berturut-turut setelah dikeringkan selama 1 jam tidak lebih dari 0,25% atau perbedaan penimbangan tersebut tidak melebihi 0,5 mg pada penimbangan dengan timbangan analitik.⁽²⁹⁾ Batas susut pengeringan tidak boleh melebihi 11%.⁽¹⁰⁾

II.1.4.2.2. Bobot Jenis

Bobot jenis merupakan masa per satuan volume pada suhu kamar tertentu (25°C) yang ditentukan dengan alat khusus yaitu piknometer. Tujuannya yaitu memberikan batasan tentang besarnya massa per satuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai pekat yang masih dapat dituang.⁽²⁹⁾

II.1.4.2.3. Kadar Air

Kadar air merupakan parameter untuk menetapkan residu air setelah proses pengeringan. Penentuan kadar air juga terkait dengan kemurnian ekstrak. Kadar air yang terlalu tinggi menyebabkan tumbuhnya mikroba yang akan menurunkan stabilitas ekstrak. Penentuan kadar air pada sampel bertujuan untuk memberikan batasan minimal besarnya kandungan air dalam sampel, semakin besar jumlah kandungan air pada sampel maka semakin mudah sampel ditumbuhi jamur kapang. Hal tersebut dapat menyebabkan menurunnya aktivitas biologi sampel. Menurut persyaratan mutu kadar air ekstrak harus lebih kecil dari 10%.⁽⁴⁰⁾

II.1.4.2.4. Penetapan Kadar Abu Total

Penetapan kadar abu dilakukan untuk mengetahui jumlah bahan anorganik atau mineral yang tersisa setelah proses pengabuan.^(41,42) Tujuan dilakukannya pengujian kadar abu adalah untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak.⁽²⁹⁾ Sifat fisik bahan atau ekstrak dapat dipengaruhi oleh adanya kadar senyawa anorganik atau mineral yang terdapat pada ekstrak.⁽⁴³⁾ Batas kadar abu total menurut standar Farmakope Herbal Indonesia yaitu tidak lebih dari 16,6%.⁽¹⁰⁾

II.1.4.2.5. Cemaran Logam Berat

Cemaran logam berat pada makanan merupakan salah satu jenis cemaran yang banyak terdapat dilingkungan. Kandungan logam yang melebihi batas maksimal sesuai syarat yang ditetapkan dapat mengganggu kesehatan manusia karena menyebabkan toksisitas pada beberapa jaringan tubuh. Ada beberapa jenis logam berat yang berbahaya bagi manusia antara lain arsen (As), timbal (Pb), Cadmium (Cd) dan merkuri (Hg)⁽⁴⁴⁾. Batas cemaran logam Pb dan Cd yang diperbolehkan oleh pemerintah, yaitu Pb <10 ppm dan Cd <0,30 ppm.⁽³⁷⁾

II.1.4.2.6 Cemaran Mikroba Angka Lempeng Total

Tujuan uji cemaran mikroba yaitu untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak mengandung cemaran mikroba dan jamur melebihi batas yang ditetapkan.⁽⁴⁵⁾ Berdasarkan peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional, bahwa batas maksimum cemaran bakteri yaitu ≤ 10.000 koloni/g dan untuk kapang yaitu ≤ 1.000 koloni/g.⁽⁴⁶⁾

Angka lempeng total adalah angka yang menunjukkan jumlah bakteri mesofil dalam tiap 1 ml atau 1 gram makanan yang diperiksa. Prinsip dari ALT adalah menghitung pertumbuhan koloni bakteri aerob mesofil setelah sampel makanan ditanam pada lempeng media yang sesuai dengan cara tuang kemudian dieramkan selama 24-48 jam pada suhu 35-37°C.⁽⁴⁷⁾ Menurut standarisasi bahan obat alam menyatakan bahwa syarat hasil pemeriksaan parameter mikrobiologis untuk ALT (Angka Lempeng Total) bakteri yaitu < 10 koloni/g.⁽⁸⁾

II.1.4.3. Metode Uji Kandungan Kimia Ekstrak

II.1.4.3.1. *Operating Time*

Waktu operasional atau *operating time* merupakan waktu yang dibutuhkan suatu senyawa untuk bereaksi dengan senyawa lain hingga terbentuk senyawa produk yang stabil. Kestabilan senyawa produk diketahui dengan mengamati absorbansi mulai dari saat direaksikan hingga tercapai serapan yang stabil. Pengukuran serapan ini dilakukan pada panjang gelombang maksimal teoritis dengan mengukur antara waktu dengan absorbansi larutan.⁽⁴⁸⁾ Hasil pengukuran *operating time* akan terbentuk kurva hubungan antara serapan dan waktu dari larutan. Penetapan *operating time* perlu dilakukan untuk meminimalisir terjadinya kesalahan pengukuran. Hal ini disebabkan karena senyawa-senyawa yang akan diukur absorbansinya dalam penelitian ini merupakan suatu senyawa kompleks antara kuersetin dengan $AlCl_3$. Senyawa kompleks ini membutuhkan waktu agar reaksi yang terbentuk stabil. Bila pengukuran dilakukan sebelum waktu *operating time*, maka terdapat kemungkinan reaksi yang terbentuk belum sempurna.⁽⁴⁹⁾

II.1.4.3.2. Scanning Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum adalah panjang gelombang yang dihasilkan suatu senyawa pada serapan maksimum. Serapan diukur menggunakan panjang gelombang maksimal dikarenakan memiliki kepekaan dan keakuratan yang maksimal. Selain itu, perubahan absorbansi karena adanya perubahan konsentrasi adalah yang terbesar. Pita serapan disekitar panjang gelombang maksimal yang dihasilkan datar dan jika dilakukan pengukuran ulang maka kesalahan yang disebabkan oleh pemasangan ulang akan kecil sekali sehingga hukum Lambert-Beer akan terpenuhi dengan baik dan diperoleh kurva baku yang linier.⁽⁵⁰⁾ Tujuan penentuan panjang gelombang maksimum agar mengetahui daerah serapan yang dapat dihasilkan berupa nilai absorbansi dari larutan baku kuersetin yang diukur serapannya menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 400-600 nm.

II.1.4.3.3. Verifikasi Metode Analisis

Verifikasi metode diperlukan untuk menentukan apakah seluruh tahap pengujian telah memenuhi standar yang ditetapkan. Verifikasi metode bertujuan untuk membuktikan bahwa laboratorium yang akan digunakan mampu melakukan pengujian dengan metode tersebut dan hasilnya valid. Hal ini dilakukan karena laboratorium yang berbeda memiliki kondisi, peralatan, serta kemampuan personil yang berbeda sehingga kinerja antar laboratorium berbeda. Metode analisis dikatakan baik apabila memenuhi kriteria antara lain:⁽⁵¹⁾

1. Peka (*sensitive*) dimana metode yang digunakan harus dapat menetapkan kadar

senyawa dalam konsentrasi yang kecil. Kriteria ini dapat dibuktikan dari hasil uji LOD (*Limit of Detection*) dan uji LOQ (*Limit of Quantification*).

2. Teliti (*accurate*) dimana metode yang digunakan dalam satu seri pengukuran dapat menghasilkan suatu hasil analisis yang sama atau hampir sama yang dibuktikan melalui hasil uji parameter presisi.
3. Tepat (*precise*) dimana metode yang digunakan dapat menghasilkan nilai rata-rata (*mean*) yang sangat dekat dengan nilai sebenarnya yang dibuktikan dengan hasil uji parameter akurasi.
4. Selektif dimana metode yang digunakan tidak banyak terpengaruh oleh adanya senyawa lain pada suatu analisis penetapan kadar dari senyawa tertentu. Kriteria ini dapat dibuktikan melalui uji spesifisitas.
5. Kasar (*rugged*) dimana perubahan komposisi pelarut atau variasi lingkungan tidak menyebabkan perubahan pada hasil analisis.
6. Praktis dimana metode yang digunakan mudah dikerjakan, tidak membutuhkan banyak waktu dan biaya.

Berdasarkan ICH, metode analisis diklasifikasikan dalam 3 kategori yaitu kategori 1, kategori 2 dan kategori 3. Dalam hal ini, penetapan kadar flavonoid total pada penelitian ini termasuk kategori 1 yaitu prosedur analisis yang digunakan untuk penetapan kadar komponen utama dalam bahan baku obat dan sediaan obat jadi sehingga parameter verifikasi yang perlu dilakukan untuk penetapan kadar flavonoid pada kategori 1 antara lain uji linearitas, rentang, uji akurasi dan presisi, serta uji spesifisitas. Menurut ICH dan Farmakope Indonesia VI, untuk pengujian kategori 1 tidak perlu dilakukan evaluasi nilai LOD dan LOQ karena komponen utama atau bahan

aktif pada umumnya berada dalam jumlah besar, namun pada penelitian ini tetap dilakukan untuk melengkapi data yang ada. Masing-masing parameter memiliki batas kriteria yang diterima seperti tabel dibawah ini.⁽⁵²⁾ Berikut merupakan kriteria nilai verifikasi berdasarkan ICH yang dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Kriteria Nilai Verifikasi Berdasarkan ICH⁽⁵³⁾

| Parameter | Kriteria yang Diterima |
|--------------------------------------|--|
| Linearitas | $r \geq 0,998$ |
| Akurasi | FDA 98-102%; EPA 50-150% |
| Presisi | RSD < 2% |
| LOD (<i>Limit of Detection</i>) | Dari Kurva Kalibrasi : $3,3 \times \sigma/S$ |
| LOQ (<i>Limit of Quantitation</i>) | Dari Kurva Kalibrasi : $10 \times \sigma/S$ |

1. Uji Linieritas dan Rentang

Linieritas merupakan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Konsentrasi dari sampel di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer. Hukum Lambert-Beer (*Beer's law*) adalah hubungan linearitas antara absorbansi dengan konsentrasi larutan sampel. Adapun rentang adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan dan linearitas yang dapat diterima. Rentang dapat dilakukan dengan cara membuat kurva kalibrasi dari beberapa set larutan standar yang telah diketahui konsentrasinya.⁽⁵⁴⁾

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 dengan minimum 5 konsentrasi larutan standar yang berbeda pada kisaran 50-150% dengan pengukuran ulang (replikasi) sebanyak 3 kali.⁽⁵³⁾

Berdasarkan SNI 6989.8:2009, kriteria yang baik dari koefisien korelasi regresi linier ($r \geq 0,995$). Sedangkan berdasarkan ICH, kriteria yang baik dari ($r \geq 0,998$). Menurut AOAC (2005), kriteria keberterimaan uji linieritas yaitu $r > 0,9900$.^(53,55,56)

2. Uji Presisi

Presisi (ketelitian) merupakan suatu metode analisis yang menunjukkan kedekatan hasil serangkaian pengukuran yang diperoleh dari pengujian berulang pada kondisi tertentu.⁽⁵⁶⁾ Presisi biasanya diekspresikan sebagai simpangan baku relatif dari sejumlah sampel yang berbeda signifikan secara statistik. Pengujian presisi metode analisis dapat dibagi menjadi tiga kategori, yaitu keterulangan (*repeatability*), ketertiruan (*reproducibility*) dan presisi antara (*intermediate precision*). ICH menetapkan presisi harus dilakukan pada 3 tingkatan yang berbeda, yaitu:⁽⁵⁷⁾

- a. Keterulangan (*repeatability*) yaitu ketepatan pada kondisi percobaan yang sama atau berulang, baik pada orang, peralatan, tempat, maupun waktunya. Analisis tersebut dilakukan dengan menggunakan minimum 9 penentuan dalam rentang penggunaan metode analisis seperti menggunakan 3 konsentrasi dengan 3 replikasi.
- b. Presisi antara (*intermediate precision*) yaitu ketepatan (*precision*) pada kondisi percobaan yang berbeda, baik orang, peralatan, tempat, maupun waktunya.

c. Reprodusibilitas atau ketertiruan menggambarkan presisi yang diperoleh antar laboratorium. Tujuan dilakukannya validasi reprodusibilitas yaitu untuk memverifikasi bahwa metode akan memberikan hasil yang sama bila digunakan pada laboratorium yang berbeda.

Pengujian presisi pada saat awal validasi metode seringkali hanya menggunakan 2 parameter yaitu keterulangan dan presisi antara. Reprodusibilitas biasanya dilakukan ketika akan melakukan uji banding antar laboratorium. Penelitian ini termasuk jenis analisis pengukuran kadar obat. Menurut ICH untuk jenis analisis pengukuran kadar, rentang yang digunakan yaitu 80%, 100% dan 120% atau dapat digambarkan dalam unit ppm.⁽⁵³⁾ Nilai %RSD yang dapat diterima standar ICH adalah <2%. Sedangkan menurut SNI batas keberterimaan %RSD <10%. Berdasarkan AOAC (2016), kriteria nilai % RSD yang dapat diterima < 7,3 yang dapat dilihat pada tabel berikut.^(53,55,56)

Tabel 2. Kriteria Nilai Presisi yang Diterima⁽⁵⁵⁾

| Analit (%) | Rasio Analit | Unit | RSD (%) |
|-------------------|---------------------|-------------|----------------|
| 100 | 1 | 100% | < 1,3 |
| 10 | 10-1 | 10% | < 1,8 |
| 1 | 10-2 | 1% | < 2,7 |
| 0,1 | 10-3 | 0,1% | < 3,7 |
| 0,01 | 10-4 | 100 ppm | < 5,3 |
| 0,001 | 10-5 | 10 ppm | < 7,3 |
| 0,0001 | 10-6 | 1 ppm | < 11 |
| 0,00001 | 10-7 | 100 ppb | <15 |
| 0,000001 | 10-8 | 10 ppb | < 21 |
| 0,0000001 | 10-9 | 1 ppb | < 30 |

3. Uji Akurasi

Akurasi (kecermatan) adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Terdapat tiga cara yang dapat digunakan untuk menentukan akurasi suatu metode analisis antara lain:⁽⁵⁴⁾

- a. Metode perbandingan yaitu dilakukan dengan mengukur kadar analit dalam sampel dan kemudian membandingkan hasil perolehannya dengan standar pembanding yang telah diketahui kadarnya secara pasti. Pembanding yang digunakan haruslah memiliki karakteristik yang sama dengan sampel.
- b. Metode simulasi (*spiked placebo recovery*) yaitu metode yang dilakukan dengan mengukur kadar analit dalam larutan placebo yang sebelumnya telah ditambahkan larutan standar dengan konsentrasi tertentu, kemudian hasil analisis tersebut dibandingkan dengan konsentrasi standar sebenarnya.
- c. Metode penambahan baku (*standard additional method*) yaitu metode yang dilakukan dengan menambahkan sejumlah larutan standar kedalam sampel lalu selisih dari konsentrasi sampel sesudah dan sebelum ditambahkan larutan standar dibandingkan dengan kadar sebenarnya. Metode ini seringkali dipilih terutama ketika placebo dari sampel tidak diketahui.

ICH merekomendasikan pengumpulan data dari 9 kali penetapan kadar yaitu minimal dengan 3 konsentrasi yang berbeda (tinggi, sedang dan rendah) dimana pengukuran dari masing-masing konsentrasi dilakukan minimal sebanyak 3 kali replikasi. Data yang dilaporkan harus berupa persentase perolehan kembali. Berdasarkan ICH, kriteria penerimaan untuk persen recovery (%R) menurut FDA 98-

102% dan menurut EPA 50-150%.⁽⁵³⁾ Menurut SNI, batas keberterimaan persen R (%R) \approx 70% - 125%.⁽⁵⁵⁾ Menurut AOAC, persen *recovery* yang dapat diterima adalah sebagai berikut.⁽⁵⁶⁾

Tabel 3. Kriteria Nilai %*Recovery*⁽⁵⁶⁾

| Analit pada matriks sampel | Rasio Analit | Unit | Rata-rata perolehan kembali |
|-----------------------------------|---------------------|-------------|------------------------------------|
| 100 | 1 | 100% | 98-102 |
| ≤ 10 | 10-1 | 10% | 98-102 |
| ≤ 1 | 10-2 | 1% | 97-103 |
| $\leq 0,1$ | 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 |

4. Uji Spesifisitas

Spesifisitas menunjukkan kemampuan metode analisis menentukan analit tertentu dalam sampel secara spesifik dan tidak terpengaruh oleh adanya pengotor. Spesifisitas yang baik harus dimiliki oleh metode kualitatif ataupun kuantitatif.⁽⁴⁹⁾

5. LOD dan LOQ

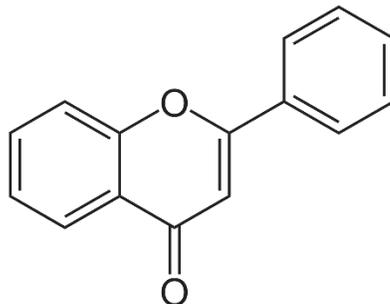
Batas deteksi (*Limit of Detection*) adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. Batas kuantifikasi (*Limit of Quantification*) merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih

dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama. *Limit Of Detection* dan *Limit Of Quantitation* ditentukan dengan mengukur respon blanko 10 kali lalu dihitung simpangan baku respon blanko.⁽⁵⁹⁾

II.1.4.3.4. Penetapan kadar flavonoid

a. Senyawa Flavonoid

Senyawa flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu dan biru serta sebagai zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan.⁽⁶⁰⁾ Golongan flavonoid memiliki kerangka karbon yang terdiri atas dua cincin benzen tersubstitusi yang disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon.

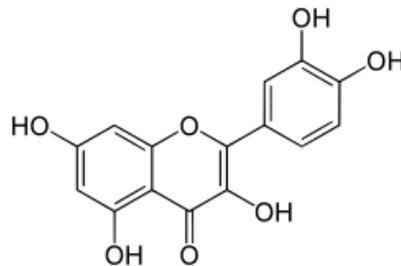


Gambar 8. Struktur Flavonoid⁽⁶⁰⁾

Pengelompokan flavonoid yaitu berdasarkan pada cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar.⁽⁶¹⁾ Golongan terbesar flavonoid memiliki cincin piran yang menghubungkan rantai tiga karbon dengan salah satu cincin benzene.⁽⁶²⁾ Senyawa flavonoid memiliki ketahanan optimal pada rentang suhu 0°C – 100°C.⁽⁶³⁾

b. Kuarsetin

Kuarsetin adalah flavonoid yang mempunyai beberapa aktivitas farmakologi, seperti antiinflamasi dan antioksidan yang tersebar luas di alam. Flavonol ini merupakan inhibitor pengangkut auksin polar yang muncul secara alami. Kuarsetin adalah senyawa golongan flavonol yang banyak terkandung dalam buah-buahan dan sayuran, misalnya apel, anggur, teh, bawang merah, dan kopi.

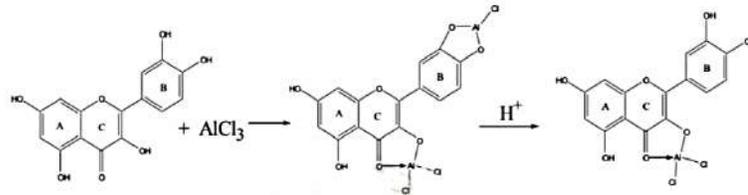


Gambar 9. Struktur Kuarsetin⁽⁵²⁾

Kuarsetin memiliki 5 gugus –OH bebas yang dapat disubstitusi oleh gugus asil melalui reaksi esterifikasi. Ester kuarsetin dengan mereaksikan kuarsetin dengan senyawa golongan asam karboksilat, halida asam karboksilat dan anhidrida karboksilat. Kuarsetin 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.⁽⁶⁴⁾ Kuarsetin memiliki rumus molekul $C_{15}H_{10}O_7$ dan berat molekul 302.236 g/mol, dengan titik lebur $316^{\circ}C$. Kuarsetin adalah senyawa flavonol terbesar, kuarsetin dan glikosidanya berada dalam jumlah sekitar 60-70% dari flavonoid. Kuarsetin dipercaya dapat melindungi tubuh dari beberapa jenis penyakit degeneratif dengan cara mencegah terjadinya proses peroksidasi lemak.⁽⁶⁵⁾

c. Prinsip Penetapan Kadar Flavonoid

Prinsip metode dalam penetapan kadar flavonoid yaitu flavonoid ditetapkan kadarnya sebagai aglikon dengan terlebih dahulu dilakukan hidrolisis dan selanjutnya dilakukan pengukuran dengan spektrofotometri dengan mereaksikan AlCl_3 yang selektif dengan kuarsetin pada panjang gelombang maksimum. Reaksi aluminium klorida (AlCl_3) dengan kuarsetin menyebabkan terjadinya pembentukan kompleks antara aluminium klorida dengan gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari golongan flavon dan flavonol.⁽²⁹⁾



Gambar 10. Pembentukan Senyawa Kompleks Kuarsetin- AlCl_3 ⁽⁶⁶⁾

II.1.4.4. Spektrofotometri UV-Vis

II.1.4.4.1. Definisi Spektrofotometri UV-Vis

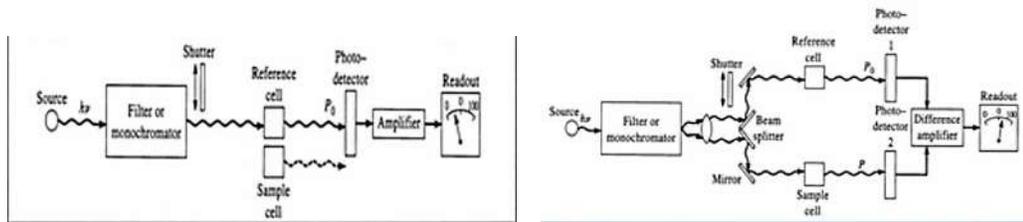
Spektrofotometri UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk mempromosikan elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Spektroskopi UV-Vis biasanya digunakan untuk molekul dan ion anorganik atau kompleks di dalam larutan. Spektrum UV-Vis mempunyai bentuk yang lebar dan hanya sedikit informasi tentang struktur yang bisa didapatkan dari spektrum ini. Spektrum ini juga sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif.⁽⁶⁶⁾

Sinar ultraviolet berada pada panjang gelombang 200-400 nm, sedangkan sinar tampak berada pada panjang gelombang 400-800 nm. Absorpsi spektrofotometri UV-Vis adalah istilah yang digunakan ketika radiasi ultraviolet dan cahaya tampak diabsorpsi oleh molekul yang diukur. Spektrofotometer digunakan karena kemampuannya dalam menganalisa banyak senyawa kimia serta kepraktisannya dalam hal preparasi sampel apabila dibandingkan dengan beberapa metode. Konsentrasi dari sampel di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer. Hukum Lambert-Beer (*Beer's law*) adalah hubungan linearitas antara absorban dengan konsentrasi larutan sampel. Cahaya yang berasal dari suatu sumber disebut juga radiasi elektromagnetik. Interaksi antara cahaya atau radiasi elektromagnetik dengan materi dapat terjadi secara emisi, absorpsi dan hamburan sehingga biasa dikenal adanya spektroskopi emisi, spektroskopi absorpsi dan spektroskopi hamburan.⁽⁶⁶⁾

II.1.4.4.2. Prinsip Kerja Spektrofotometri

Prinsip kerja spektrofotometri UV-Vis yaitu terjadi interaksi antara energy yang berupa sinar monokromatis dari sumber sinar dengan materi berupa molekul. Besar energy yang diserap akan menyebabkan elektron tereksitasi dari *ground state* ke keadaan tereksitasi yang memiliki energi yang lebih tinggi. Prinsip berdasarkan hukum *Lambert-Beer* bila cahaya monokromatis melalui suatu media, maka sebagian cahaya diserap, sebagian dipantulkan dan sebagian dipancarkan.⁽⁵⁵⁾ Pengukuran pada spektrofotometri UV-Vis dilandasi oleh hukum Lambert-Beer.⁽⁵¹⁾

II.1.4.4.3. Instrumentasi Spektrofotometri UV-Vis



Gambar 11. Tipe Spektrofotometri UV-Vis⁽⁵⁴⁾

Keterangan : *Single Beam* (Kiri); *Double Beam* (Kanan)

1. Sumber cahaya

Sumber cahaya dipergunakan untuk pengukuran absorpsi. Sumber cahaya ini harus memancarkan sinar dengan kekuatan yang cukup untuk penentuan dan pengukuran, juga harus memancarkan cahaya berkesinambungan yang berarti harus mengandung semua panjang gelombang dari daerah yang dipakai. Kekuatan sinar radiasi harus konstan selama waktu yang diperlukan.

Sumber cahaya tampak yang paling umum dipakai adalah lampu Wolfram, sedangkan sumber radiasi Ultra-violet biasa dipergunakan lampu hidrogen atau deuterium yang terdiri dari tabung kaca dengan jendela dari *kwartz* yang mengandung hidrogen dengan tekanan tinggi.⁽⁶⁶⁾

2. Monokromator

Monokromator dipergunakan untuk memisahkan radiasi ke dalam komponen-komponen panjang gelombang dan dapat memisahkan bagian spektrum yang diinginkan dari lainnya. Sel absorpsi dipakai dari bahan silika, kuvet dan plastik banyak dipakai untuk daerah Sinar Tampak. Kualitas data absorbans sangat tergantung pada cara pemakaian dan pemeliharaan sel.⁽⁶⁶⁾

3. Kuvet

Kuvet berfungsi sebagai tempat sampel. Berbentuk persegi panjang dengan lebar 1 cm, memiliki permukaan lurus dan sejajar secara optis, transparan, tidak bereaksi terhadap bahan kimia, tidak mudah rapuh dan memiliki bentuk sederhana namun solid.⁽⁶⁷⁾

4. Detektor

Detektor dipergunakan untuk menghasilkan sinyal elektrik. Dimana signal elektrik ini sebanding dengan cahaya yang diserap. Sinyal elektrik ini kemudian dialirkan ke alat pengukur.⁽⁶⁶⁾

5. *Read out*

Read out adalah suatu sistem yang menangkap isyarat listrik yang berasal dari detektor dan mengeluarkannya dalam bentuk angka transmittan atau absorbansi yang ditampilkan pada display alat.⁽⁶⁸⁾

II.2. Landasan Teori

Pada penelitian ini metode pembuatan ekstrak yang digunakan yaitu metode sokletasi. Metode ini dipilih karena dapat memperoleh hasil rendemen yang lebih besar jika dibandingkan maserasi, menggunakan lebih sedikit pelarut, pelarut yang digunakan selalu segar sehingga lebih efektif menarik senyawa pada sampel, waktu yang digunakan lebih cepat dan sampel yang diekstraksi lebih sempurna karena dilakukan secara berulang.⁽⁶⁹⁾ Hasil penelitian oleh Puspitasari dan Prayogo (2016) diketahui bahwa hasil ekstraksi dengan metode sokletasi dapat menghasilkan rendemen

yang lebih tinggi daripada metode maserasi sehingga diharapkan kadar flavonoid yang didapat lebih tinggi.⁽⁷⁰⁾

Bintangur merupakan salah satu tanaman endemik Indonesia yang diteliti memiliki beragam manfaat terutama dalam pengobatan sehingga tanaman ini dapat diolah menjadi ekstrak untuk digunakan sebagai obat herbal. Suatu obat herbal yang dibuat dalam bentuk ekstrak perlu dilakukan penetapan mutu bahan baku sesuai standar yang dipersyaratkan yaitu melalui standardisasi. Standardisasi pada simplisia dan ekstrak penting untuk dilakukan karena obat berbasis herbal harus terjamin berkhasiat, aman dan bermutu. Standardisasi juga bertujuan untuk menyeragamkan komposisi kandungan senyawa aktif yang konsisten supaya dapat menghasilkan dosis yang seragam sehingga efek farmakologis dapat dipertanggungjawabkan.

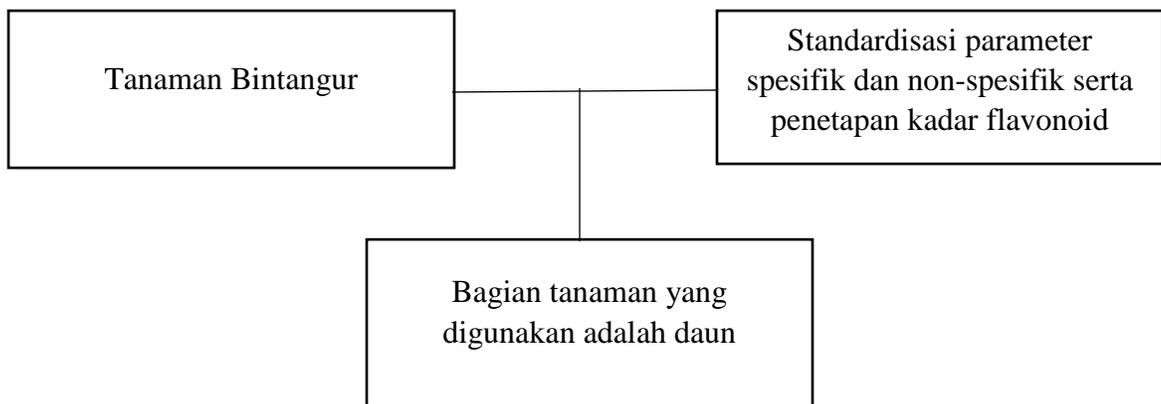
Penelitian mengenai standardisasi tanaman yang berada pada famili yang sama dengan bintangur telah dilakukan yaitu pada asam gelugur (*Garcinia atroviridis Griff.*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada parameter spesifiknya ekstrak buah asam gelugur memiliki karakter spesifik berupa ekstrak kental dengan warna coklat tua dengan bau khas dan memiliki rasa yang asam. Ekstrak buah asam gelugur memiliki rendemen 37,15%, mengandung beberapa metabolit sekunder seperti flavonoid dan saponin, kadar sari larut air sebesar 3,6%, kadar sari larut etanol sebesar 3,99%, sementara parameter non-spesifiknya meliputi kadar abu total sebesar 2,99%, kadar abu tidak larut asam sebesar 1,03% dan susut pengeringan sebesar 7,20% yang dinilai telah memenuhi parameter standar yang ditetapkan berdasarkan FHI.⁽⁷¹⁾

Studi yang dilakukan Violet (2018), memaparkan bahwa pada daun bintangur senyawa fitokimia yang terdeteksi paling tinggi secara kualitatif berdasarkan deteksi warna adalah flavonoid, steroid dan tanin.⁽³⁾ Flavonoid menjadi salah satu kandungan metabolit sekunder terdeteksi paling tinggi sehingga diketahui bahwa tanaman bintangur memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi pula. Sahin (2013) melaporkan bahwa flavonoid tahan terhadap proses pemanasan pada suhu 100⁰C sehingga sokletasi dapat digunakan sebagai metode ekstraksinya.⁽⁷²⁾ Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Eris, dkk (2019) terkait penetapan kadar flavonoid pada ekstrak kulit batang bintangur (*Callophylum Soulattri*) dengan metode DPPH menunjukkan kadar flavonoid sebesar 8,06±0,09 mgQE/g, sedangkan pada ekstrak kulit batang bintangur dengan spesies berbeda (*Callophylum teysmannii*) menunjukkan kadar flavonoid total sebesar 6,56±0,09mgQE/g.⁽⁶⁾

Kadar flavonoid pada ekstrak etanol daun bintangur yang terkandung perlu dianalisis untuk memberikan informasi kadar golongan kandungan kimia sebagai parameter mutu ekstrak dalam kaitannya dengan efek biologis⁽²⁹⁾. Penetapan kadar flavonoid total pada sampel dapat dilakukan dengan menggunakan kuarsetin sebagai larutan standar dan dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis.⁽⁷³⁾ Penelitian terkait penetapan kadar flavonoid total dengan standar kuarsetin dan menggunakan spektrofotometri UV-Vis sudah dilakukan oleh Aminah, dkk (2019) terhadap ekstrak etanol kulit buah alpukat (*Persea Americana* Mill.) dengan hasil kadar flavonoid sebesar 4,0122 mgQE/g. Penggunaan kuarsetin dipilih sebagai larutan standar karena kuarsetin 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.⁽⁶⁴⁾ Kuarsetin juga termasuk senyawa golongan flavonol yang jumlahnya paling banyak, kuarsetin dan glikosidanya berjumlah sekitar 60% - 75% dari flavonoid total.⁽⁷⁴⁾ Analisis flavonoid dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis karena flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi sehingga menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum sinar ultraviolet dan spektrum sinar tampak.⁽⁶²⁾

II.3. Kerangka Konsep



Gambar 12. Kerangka Konsep Penelitian

II.4. Hipotesis

1. Ekstrak etanol daun bintangur memiliki karakter yang spesifik berupa ekstrak kental dengan warna coklat tua dengan bau khas dan memiliki rasa yang asam.
2. Ekstrak etanol daun bintangur telah memenuhi persyaratan standar parameter non-spesifik.
3. Ekstrak etanol daun bintangur memiliki kadar flavonoid total pada rentang $6,56 \pm 0,09$ - $8,06 \pm 0,09$ mgQE/g.