

**PENENTUAN KADAR FENOLIK TOTAL DARI
EKSTRAK DAUN, BUNGA, BUAH DAN AKAR
SENDUDUK (*Melastoma malabathricum L*)**

DRAFT PROPOSAL



Oleh :

DINDA RAHMATULLAH RIZQI

NIM : 1904137

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2023**

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Manusia sangat membutuhkan tumbuhan yang ada disekitarnya untuk memenuhi kebutuhan sehari - hari, baik sebagai bahan pangan, papan, sandang, obat - obatan tradisional, ritual dan bahkan untuk kecantikan dapat diperoleh dari tumbuhan. Kekayaan alam yang ada di Indonesia menyebabkan adanya keanekaragaman tumbuhan. Keanekaragaman yang tinggi ini sehingga mendorong masyarakat untuk memanfaatkan tumbuhan. Salah satu pemanfaatan tumbuhan ini yaitu sebagai pengobatan tradisional (Hidayah *dkk*, 2012). Bahan alam yang berasal dari tumbuhan merupakan bahan aktif yang dapat digunakan sebagai komponen obat paling banyak digunakan dan memainkan peran penting dalam pengobatan atau pencegahan penyakit manusia (Alnajar *dkk*, 2012).

Peneliti dari berbagai negara telah mengadakan penelitian dan pengujian terhadap berbagai tumbuhan yang digunakan oleh masyarakat untuk penyembuhan penyakit tertentu secara tradisional. Secara ilmiah hasil penelitian dan pengujian dapat disimpulkan bahwa penggunaan tumbuhan sebagai ramuan obat tradisional dapat dipertanggungjawabkan dan tidak mengandung resiko yang membahayakan untuk mengobati penyakit tertentu (Latief, 2012). Pada tanaman obat terdapat senyawa metabolit sekunder, senyawa metabolit sekunder ini adalah senyawa yang bertanggung jawab sebagai zat yang berkhasiat obat (Latief, 2012).

Senyawa metabolit sekunder yang dimiliki oleh tanaman hingga menyebabkan adanya beragam aktivitas dari tumbuhan dikarenakan terdapat kelompok besar senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, fenolat, saponin,

steroid, terpenoid, tanin dan lain-lain (Sarker, 2007). Kelompok senyawa metabolit sekunder yang banyak ditemukan dan tersebar luas dalam tumbuhan adalah senyawa fenolik. Kelompok senyawa ini telah dikarakterisasi dan diisolasi lebih dari 8000 senyawa (Dai dan Mumper, 2010).

Senyawa fenolik adalah senyawa bahan alam yang penggunaannya saat ini cukup luas. Kemampuannya sebagai senyawa biologik aktif memberikan suatu peran yang besar terhadap kepentingan manusia. Salah satunya yaitu untuk antioksidan sebagai pencegahan dan pengobatan untuk penyakit degenerative, kanker, penuaan dini, dan gangguan sistem imun tubuh (Andriani dan Murtisiwi, 2018). Antioksidan sangat bermanfaat karena dapat menghambat radikal bebas. Produksi antioksidan secara alami mempunyai kelebihan dan jarang mempunyai efek toksik dibandingkan dengan antioksidan sintetik (Ayuchecaria *dkk.*, 2020).

Tumbuhan yang berkhasiat obat yang dikenal dan dimanfaatkan oleh masyarakat salah satunya yaitu tumbuhan senduduk (*Melastoma malabathricum* L). Senduduk ini memiliki khasiat sebagai penghilang nyeri (analgesik), pereda demam (antipiretik), mengobati keputihan (leukoria), peluruh urin (diuretik), menghilangkan pembengkakan, mengobati luka berdarah atau luka bakar, radang dinding pembuluh darah disertai pembukaan darah didalam salurannya (Dalimartha, 2000).

Daun senduduk (*Melastoma malabathricum* L) mempunyai khasiat sebagai obat penurun demam, pereda nyeri, mengobati keputihan, diare, luka yang disebabkan oleh infeksi bakteri (Sitorus *dkk*, 2020). Di lingkungan masyarakat bagian daunnya umumnya dimanfaatkan sebagai obat luka, dijadikan lalapan makan, serta

dipercaya baik untuk kesehatan. Tumbuhan ini memiliki senyawa seperti flavonoid, tanin, fenolik, saponin, steroida dan glikosida (Hanani, 2015).

Bunga senduduk (*Melastoma malabathricum L*) mempunyai khasiat untuk mengobati sakit perut karena gangguan lambung. Bunga senduduk memiliki senyawa kimia flavonoid. Pada buah senduduk (*Melastoma malabathricum L*) dimanfaatkan untuk mengobati pendarahan Rahim. Buah senduduk memiliki kandungan senyawa yaitu, fenolik, flavonoid dan saponin. Sedangkan pada akar senduduk (*Melastoma malabathricum L*) memiliki khasiat untuk mengobati penyakit bisul, sakit gigi, obat penenang dan cacingan pada anak (Robinson, 1995).

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Nawawi *dkk* (2018) didapatkan kadar fenolik total dari ekstrak etanol 96% senduduk (*Melastoma malabathricum L*) dengan metode Folin-ciocalteu yang digunakan untuk menguji fenolik total didasarkan pada kekuatan mereduksi dari gugus hidroksil senyawa fenolik pada bagian daun $17,467 \pm 0,035$ (mg GAE/mg Ekstrak). Sedangkan pada bagian batang $8,213 \pm 0,0085$ (mg GAE/mg Ekstrak). Senyawa fenolik yang mempunyai gugus hidroksil lebih banyak akan menghasilkan kandungan fenolik total yang tinggi (Pambayun *dkk*, 2007).

Berdasarkan uraian penjelasan diatas maka peneliti tertarik untuk menentukan kadar fenolik total dari bagian tanaman senduduk (*Melastoma malabathricum L*) yang terpisah yaitu daun, bunga, buah dan akar. Sehingga nantinya pemanfaatan tumbuhan ini dapat lebih maksimal dan dijadikan sebagai alternatif pengobatan. Penentuan kadar fenolik total ini dilakukan dengan metode *Folin-Ciocalteu* secara Spektrofotometer UV-Vis.

1.2 Rumusan Masalah

Berapakah kadar fenolik total dari ekstrak daun, bunga, buah dan akar senduduk (*Melastoma malabathricum L*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui kadar fenolik total dari ekstrak daun, bunga, buah dan akar senduduk (*Melastoma malabathricum L*)

1.4 Hipotesa

H₀ : Ekstrak etanol daun, bunga, buah dan akar tumbuhan senduduk (*Melastoma malabathricum L*) tidak memiliki kadar fenolat total.

H₁: Ekstrak etanol daun, bunga buah dan akar tumbuhan senduduk (*Melastoma malabathricum L*) memiliki kadar fenolat total.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Sebagai penerapan ilmu kefarmasian dari peneliti sendiri khususnya di bidang biologi farmasi
2. Memberikan informasi tentang kadar fenolik total dari tumbuhan senduduk (*Melastoma malabathricum L*)
3. Diharapkan penelitian ini dijadikan sebagai bahan referensi bagi peneliti selanjutnya

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Biologi

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan Senduduk *Melastoma malabathricum* L

Dalam taksonomi tumbuhan, senduduk akar diklasifikasikan sebagai mana dirujuk dalam Pramana (2013) sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Myrtales
Suku	: Melastomataceae
Marga	: Melastoma
Spesies	: <i>Melastoma malabathricum</i> L



Gambar 1. Tumbuhan senduduk *Melastoma malabathricum* L (Pramana, 2013)

Nama daerah dari tumbuhan senduduk antara lain: senggani (Sulawesi), kluruk, sengganen (Jawa), senduduk (Melayu), herendong (Sunda), kemaden (Madura) (Dalimartha, 1999).

2.1.2. Morfologi Senduduk

Senduduk (*Melastoma malabathricum* L) berupa perdu atau pohon kecil. Batangnya berkayu, berwarna cokelat, tegak setinggi 1,5-5 m dengan percabangan simpodial. Daunnya tunggal, bertangkai, letaknya berhadapan bersilang. Helai daun berwarna hijau, berbentuk bulat telur dengan panjang 2-20 cm dan lebar 1-8 cm, memiliki ujung dan pangkal daun runcing, bagian tepi daun rata, permukaannya berambut pendek yang jarang dan kaku sehingga teraba kasar dengan 3 tulang daun yang melengkung, dengan panjang petiolus 5-12 mm (Starr dan Loope, 2003).

2.1.3 Manfaat Senduduk

Tumbuhan senduduk ini diyakini sebagai obat herbal oleh rakyat Cina, India dan Indonesia. Banyak temuan ilmiah mengungkapkan pemanfaatan senduduk sebagai obat seperti obat luka, diare, wasir, disentri, sakit perut. Adapun bagian - bagian yang digunakan adalah daun, tunas, kulit, biji dan akar dari tumbuhan senduduk. Penemuan lain juga mengungkapkan senduduk dapat digunakan secara farmakologi, seperti antiseptik, antiinflamasi, antitoksik dan antioksidan (Joffry, dkk., 2012).

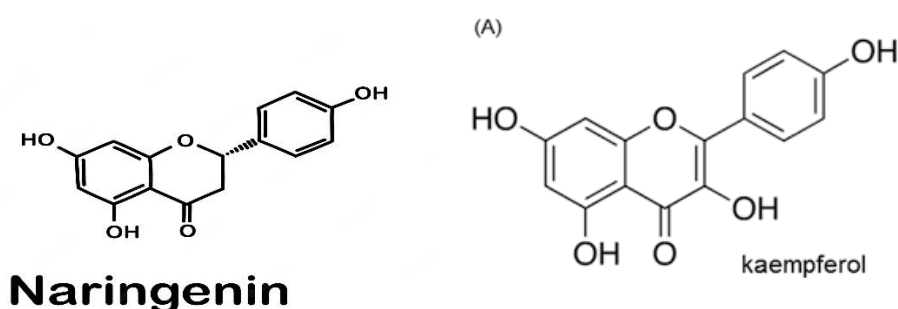
Menurut Sentra informasi IPTEK (2009), buah senduduk berwarna ungu kemerahan dan diduga mengandung antosianin. Buah senduduk dapat dijadikan sebagai sumber pewarna alami.

Buah senduduk bisa dikonsumsi, mengandung antioksidan yang tinggi karena tingginya antosianin (zat berwarna ungu). Daun senduduk muda bisa ditambahkan pada rebusan daun papaya untuk menghilangkan rasa pahit pada daun papaya. Ekstrak senduduk dapat digunakan untuk zat analgetik sebagai penghilang rasa sakit, peluruh kemih, menghilangkan pembengkakan serta menghentikan pendarahan (Wijayakusuma, 1994).

2.2 Tinjauan Kimia

Dalam tumbuhan senduduk (*Melastoma malabathricum* L) yang telah diketahui kandungan senyawa metabolit sekunder antara lain adalah saponin, flavonoid, tanin, glikosida dan steroid/triterpenoid. Golongan dari flavonoid menunjukkan adanya aktivitas mengurangi atau menurunkan kadar kolesterol dan sebagai anti mikroba, berfungsi juga sebagai antiinflamasi, anti alergi dan antioksidan. Golongan dari saponin memiliki efek sebagai antifungi dan memiliki kemampuan sebagai antiseptik yang berfungsi membunuh dan mencegah pertumbuhan mikroorganisme. Senyawa tanin dimanfaatkan sebagai adstringen yang dapat menghentikan eksudat dan sebagai antidiare, menghentikan pendarahan, mencegah peradangan, antidotum keracunan logam berat (Hanani, 2015 ; Ramadhani dan Octarya, 2017).

Menurut penelitian yang telah dilaporkan Sirat dkk (2010) bahwa ekstrak metanol dari bunga senduduk (*Melastoma malabathricum* L) menghasilkan kaempferol-3-O-(2'',6''-di-O-p-trans-coumaroyl) dan ekstrak etil asetatnya menghasilkan senyawa naringenin. Kedua senyawa ditemukan aktif dalam menghambat pertumbuhan sel MCF-7 dengan nilai IC50 sebesar 0,28 µmol/L dan 1,3 µmol/L. Struktur dari senyawa hasil isolasi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Senyawa hasil isolasi dari senduduk *Melastoma malabathricum* L

2.3 Tinjauan Farmakologi

Tumbuhan senduduk (*Melastoma malabathricum* L) ini berkhasiat sebagai antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, antikanker, antihepatotoksik, antidiabetes, dan antiseptik yang berfungsi membunuh atau mencegah pertumbuhan mikroorganisme. Sebagai astringen yang dapat menyebabkan penutupan pori-pori kulit, memperkeras kulit, menghentikan eksudat dan pendarahan yang ringan (Ema dan Arsa, 2016).

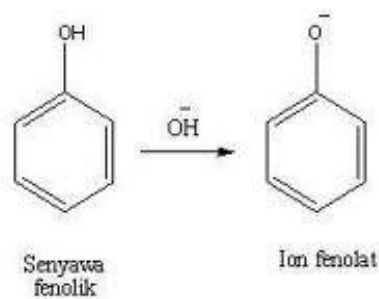
2.4 Senyawa Fenolik

2.4.1 Definisi Senyawa Fenolik

Senyawa fenolik adalah suatu senyawa yang memiliki sebuah cincin aromatik dengan satu atau lebih dari satu gugus hidroksi, senyawa fenol meliputi aneka ragam

senyawa yang berasal dari tumbuhan yang memiliki ciri yang sama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau lebih gugus hidroksil (Harbone, 1987).

Pada senyawa fenolik terdapat satu atau lebih cincin aromatik dengan satu atau lebih dari satu gugus hidroksil. Fenolat ini tersebar luas pada makanan nabati (buah, sayuran, sereal, zaitun, kacang, coklat, dan lainnya) dan minuman (teh, kopi, bir, anggur, dan lainnya), dan sebagian berperan pada karakteristik organoleptik dari makanan nabati (Dai dan Mumper, 2010).



Gambar 3. Struktur fenol

2.4.2 Klasifikasi Senyawa Fenolik

Klasifikasi dari senyawa fenolik dibagi menjadi dua yaitu, fenol sederhana dan polifenol berdasarkan jumlah dari gugus fenol dalam molekul (Soto-Vaca dkk, 2012).

Terdapat lebih dari 8000 jenis senyawa yang termasuk dalam golongan senyawa fenolik. Banyaknya variasi gugus yang tersubstitusi pada kerangka utama fenol menyebabkan kelompok fenolik memiliki banyak sekali anggota. Karena banyaknya senyawa kimia yang tergolong sebagai senyawa fenolik, berbagai cara klasifikasi dilakukan oleh banyak ilmuwan.

a. Senyawa fenolik sederhana

Secara umum senyawa fenolik sederhana memiliki sifat bakterisidal, antiseptic dan antihelminitik. Senyawa dari kelompok ini merupakan hasil substitusi gugus fenol. Substitusi tersebut bisa berupa dua gugus atau satu gugus dalam posisi orto, meta, para. Contoh senyawa fenolik sederhana yang tersubstitusi oleh dua dan satu gugus hidroksil berturut-turut adalah floroglukinol dan resorcinol. Contoh senyawa fenol sederhana lainnya adalah p-kresol, 3-etilfenol, 3,4-dimetilfenol, dan hidrokarbon.

b. Asam fenolat dan senyawa yang berhubungan lainnya (aldehid)

Senyawa fenolik dari golongan asam fenolat adalah fenol yang tersubstitusi oleh gugus karboksil. Contoh asam fenolat adalah asam galat. Asam galat merupakan trifenol yang biasa terdapat di daun teh dalam bentuk teresterifikasi Bersama dengan katekin. Selain gugus karboksil, gugus lainnya seperti aldehid juga dapat tersubstitusi di gugus fenol contoh senyawa dari jenis ini adalah vanillin (Heni, 2020).

2.4.3 Khasiat Senyawa Fenolik

Senyawa fenolik bekerja sebagai aseptor radikal bebas dan pemutus rantai ikatan. Fenolat mengganggu oksidasi lipid dan molekul lainnya secara cepat dengan mendonorkan atom hidrogen pada senyawa radikal (Dai dan Mumper, 2010). Pencegahan penyakit oleh senyawa fenolat juga dapat melalui mekanisme yang

berbeda dari fungsi antioksidan, seperti melalui sinyal selular, ekspresi gen, dan modulasi aktivitas enzimatis (Milenkovic dkk., 2011).

Senyawa fenolik seperti asam fenolat dan flavonoid memiliki aktivitas antioksidan, antitrombotik, antiarterogenik, anti-inflamasi, antikarsinogenik, dan antimutagenik (Alpinar dkk., 2009). Dalam tubuh senyawa fenolat kaya akan manfaat biologis antara lain sebagai antioksidan, antiinflamasi, antimikrob, antifungi, dan mencegah terjadinya tumor (Prior, 2003).

2.5.4 Metode Penetapan Kadar

Follin-Ciocalteu

Metode *Folin-Ciocalteu* (F-C) telah banyak digunakan untuk menentukan kadar fenol total. Mulanya metode F-C ini dikembangkan untuk penentuan kolorimetri tirosin, asam amino non-esensial fenolik. Setelah itu, metode ini telah digunakan untuk penentuan beberapa senyawa termasuk fenolik tanaman, obat-obatan, vitamin C dan konstituen lainnya dalam berbagai sampel mulai dari ekstrak tanaman hingga produk urin dan madu (Attard, 2013).

Uji penentuan kadar fenolik total dengan menggunakan pereaksi *Folin-Ciocalteu* (F-C) (molibdotungsto-fosfotungstat) bereaksi dengan senyawa fenolat menghasilkan warna biru yang dapat diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 760 nm. Warna biru yang dihasilkan pada larutan disebabkan karena logam molibdenum (Mo(VI)) pada senyawa kompleks pereaksi tereduksi menjadi Mo(V) dengan adanya donor elektron oleh antioksidan. Sebagai larutan baku

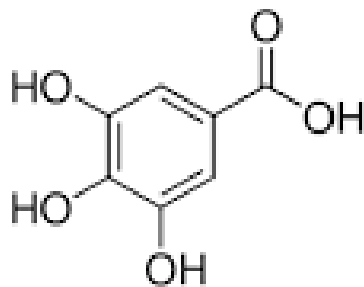
standar biasa digunakan asam galat atau asam kafeat. Asam galat digunakan sebagai baku standar dalam menghitung kadar fenolik total, sehingga hasil yang didapatkan menggunakan satuan mg ekuivalen asam galat per g ekstrak (Berker dkk., 2013; Vázquez dkk, 2015).

Dibandingkan dengan metode pengujian kapasitas antioksidan dan fenolat total lainnya, metode F-C mempunyai beberapa kelebihan seperti sederhana, cepat, dan akurat, serta absorpsi dari kromofor berada di panjang gelombang yang tinggi sehingga dapat mengurangi pengganggu dari matriks sampel (Sánchez-Rangel dkk., 2013).

Asam Galat

Asam galat (asam 3,4,5-trihidroksibenzoat) merupakan senyawa fenolik yang bukan tergolong dalam flavonoid. Gugus fungsi dalam struktur asam galat yang bertanggung jawab memberikan aktivitas antioksidan adalah 3 gugus hidroksil (Lopez dkk, 2003).

Asam galat (Gambar 3) sering digunakan dalam banyak penelitian terkait penetapan kandungan fenolat total sebagai ekuivalen terhadap kandungan fenolat total bahan tumbuhan yang diuji (Javanmardi, Stushnoff, Locke, dan Vivanco, 2003). Asam galat banyak digunakan sebagai standar fenol karena banyak terdapat dalam matriks makanan (Pereira dkk, 2018).



Gambar 4. Struktur Asam Galat

2.4.5 Contoh Senyawa Fenolik Aktif

Contoh senyawa fenolik adalah asam fenolik, flavonoid, tanin terkondensasi, kumarin dan alkil resorsinol. Senyawa fenolik dalam tanaman terdapat dalam bentuk glikosida atau esternya (Proesto dkk.,2006). Golongan yang terbanyak dari senyawa fenolik adalah flavonoid (Markham, 1988).

2.5 Spektrofotometer UV-vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah pengukuran suatu 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. Spektrum UV-Vis mempunyai bentuk yang lebar dan hanya sedikit informasi tentang struktur yang bisa didapatkan dari spektrum ini. Tetapi spektrum ini 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 (Dachriyanus, 2004).

Spektroskopi didefinisikan sebagai interaksi antara radiasi elektromagnetik (REM) dengan sampel. Jika panjang gelombang REM yang digunakan bersesuaian dengan panjang gelombang ultraviolet-visibel maka disebut dengan spektroskopi ultraviolet visibel atau biasa disingkat UV-Vis (Gandjar dan Rohman, 2012 :60).

Sinar Ultraviolet ini memiliki panjang gelombang antara 200-400 nm, sementara sinar tampak memiliki panjang gelombang 400-800 nm (Dachriyanus, 2004).

Faktor-faktor yang mempengaruhi penyerapan UV-Vis yaitu meliputi:

1. Adanya gugus-gugus penyerap (Kromofor)

Gugus kromofor adalah gugus fungsi yang menyerap atau mengabsorpsi radiasi elektromagnetik di daerah panjang gelombang ultraviolet dan daerah cahaya tampak.

2. Pengaruh pelarut yang digunakan untuk melarutkan sampel

3. Pengaruh suhu

4. Ion-ion anorganik

5. Pengaruh pH (Gandjar dan Rohman, 2012: 70-79),

1. Instrumentasi Spektrofotometri UV-Visibel

Untuk mendapatkan hasil pengukuran yang optimum, setiap komponen dari instrumen yang dipakai harus berfungsi dengan baik. Komponen-komponen spektrofotometri UV-Vis meliputi sumber sinar, monokromator, dan sistem optik,

- a. Sebagai sumber sinar, lampu deuterium atau lampu hidrogen untuk pengukuran UV dan lampu tungsten digunakan untuk daerah visibel gelombang dilewatkan pada sampel sebagai scan instrumen melewati spektrum.
- b. Monokromator digunakan untuk mendispersikan sinar kedalam komponen komponen Panjang gelombangnya yang selanjutnya akan dipilih oleh celah (slit). Monokromator berputar sedemikian rupa sehingga kisaran Panjang gelombang dilewatkan pada sampel sebagai scan instrumen melewati spektrum.
- c. Optik-optik; dapat didesain untuk memecah sumber sinar sehingga sumber sinar melewati 2 kompartemen, dan sebagai mana dalam spektrofotometer berkas ganda (double beam), suatu larutan blanko dapat digunakan dalam satu kompartemen untuk mengoreksi pembacaan atau spektrum sampel. Yang paling sering digunakan sebagai blanko dalam spektrofotometri adalah semua pelarut yang digunakan untuk melarutkan sampel atau pereaksi.
- d. Detektor adalah peranan detektor penerima yang memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang.
- e. Suatu amplifier (penguat) dan rangkaian yang berkaitan yang membuat isyarat listrik dapat diamati.
- f. Sistem pembacaan yang memperlihatkan besarnya isyarat listrik (Rohman, 2007 dan Sirait, 2009).

2. Analisa Secara Spektrofotometri

Ada beberapa hal yang harus diperhatikan dalam analisis dengan spektrofotometri UV-Vis terutama untuk senyawa yang semula tidak berwarna yang akan dianalisis dengan spektrofotometri visibel karena senyawa tersebut harus diubah terlebih dahulu menjadi senyawa yang berwarna. Berikut adalah tahapan-tahapan yang harus diperhatikan :

a. Pembentukan molekul yang dapat menyerap UV-Vis

Perlu dilakukan jika senyawa yang dianalisis tidak menyerap pada daerah tersebut. Cara yang digunakan adalah dengan merubah menjadi senyawa lain atau direaksikan dengan pereaksi tertentu.

b. Waktu operasional

Cara ini biasa digunakan untuk pengukuran hasil reaksi atau pembentukan warna. Tujuannya adalah untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil.

c. Pemilihan panjang gelombang

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang memiliki absorbansi yang maksimal. Untuk memilih panjang gelombang maksimal, dilakukan dengan membuat kurva.

d. Pembuatan kurva baku

Dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi. Masing-masing absorbansi larutan dengan berbagai konsentrasi diukur yang merupakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi

3. Hukum Lambert-Beer

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 :

$$A = \epsilon bc$$

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

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 :

a Sinar yang digunakan dianggap monokromatis

b. Penyerapan terjadi dalam suatu volume yang mempunyai penampang luas yang sama

- c. Senyawa yang menyerap dalam larutan tersebut tidak tergantung pada yang lain dalam larutan tersebut
- d. Tidak terjadi peristiwa fluoresensi atau fosforisensi
- c. Indeks bias tidak tergantung pada konsentrasi larutan (Gandjar dan Rohman, 2012: 92-93).

BAB III. METODA PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan selama $\pm$ 5 bulan di Laboratorium Penelitian Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia dan di Laboratorium LLDIKTI Wilayah X.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Vis, sperangkat alat rotary evaporator, timbangan digital tipe ABJ 220-4M, beaker glass, pipet ukur, tabung reaksi, labu ukur, pipet tetes, vial, erlemeyer, corong pisah, penangas air, krus, cawan porselen, blender, plat tetes, kertas saring, spatel, alumunium foil, dan seperangkat alat gelas lainnya.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah tanaman senduduk *Melastoma malabthricum L* (daun, bunga, buah dan akar) , metanol, etanol 96%, reagen Folin-ciocalteu, natrium karbonat, reagen FeCl₃, asam galat, kloroform, aquadest, HCL encer,

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah tanaman *Melastoma malabathricum L* bagian daun, bunga, buah dan akar yang diperoleh dari Muaralabuah, Solok Selatan,

Sumatera Barat. Sampel yang diambil adalah sampel segar sebanyak 2 kg untuk setiap bagian tanaman.

3.3.2 Identifikasi Tumbuhan

Identifikasi tumbuhan dilakukan untuk memastikan jenis tanaman yang digunakan untuk penelitian. Sampel *Melastoma malabathricum L* diidentifikasi di Herbarium Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Andalas, Padang Sumatera Barat.

3.3.3 Penyiapan Sampel

Bagian daun, bunga, buah dan akar tanaman *Melastoma malabathricum L* sebanyak 2 kg dibersihkan dengan air mengalir untuk menghilangkan pengotor dan kemudian ditiriskan. Lalu keringkan tanaman *Melastoma malabathricum L* dengan cara di angin-anginkan terlindung dari sinar matahari selama kurang lebih 4 hari. Tanaman yang telah kering dihaluskan menggunakan blender lalu ditimbang.

3.3.4 Pembuatan Ekstrak

Serbuk dari setiap bagian (daun, bunga, buah dan akar) tanaman *Melastoma malabathricum L* dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Masing-masing bagian tanaman yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam botol maserasi atau bejana berwarna gelap yang berbeda, masukkan pelarut etanol 96% hingga ia terendam. Biarkan di tempat gelap selama 3x24 jam, dengan sesekali dilakukan pengadukan. Pisahkan hasil maserasi dengan penyaring menggunakan kertas saring. Ampas hasil pemisahan di maserasi kembali dengan pelarut etanol 96% , selama

3x24 jam dan sesekali dilakukan pengadukan, dilakukan sampai tiga kali pengulangan. Kemudian maserat hasil pemisahan digabungkan kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga didapat ekstrak kental. Lalu lakukan perhitungan rendemen dengan rumus :

$$\text{Rendemen \%} = \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat sampel kering}} \times 100\%$$

3.3.5 Evaluasi Sampel

3.3.5.1 Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Asam (Kemenkes RI, 2017)

Kadar abu total yang didapatkan ditimbang dalam cawan lalu ditambahkan 25 ml HCL encer P (10%) lalu dididihkan selama 5 menit dan ditutup. Abu yang tidak larut asam dikumpulkan dan saring dengan kertas saring bebas abu. Lalu cuci dengan air panas, pijarkan dalam krus hingga bobot tetap pada suhu 800°C selama ± 25 menit. Kadar abu yang tidak larut asam dihitung terhadap berat bahan uji dinyatakan dalam % b/b. Kadar abu tidak larut asam dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Abu tidak Larut Asam \%} = \frac{\text{Berat abu tidak larut asam (gr)}}{\text{Berat awal sampel (gr)}} \times 100\%$$

3.3.5.2 Identifikasi Senyawa Fenolat

Ekstrak etanol bagian tanaman daun, bunga, buah dan akar sebanyak 0,10 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu tambahkan 5 ml kloroform dan 5 ml aquadest. Kemudian kocok kuat dan diamkan sebentar sampai terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan atas (air) dan lapisan bagian bawah (kloroform). Pipet bagian lapisan air

ke dalam plat tetes, kemudian tambah FeCl_3 . Jika terbentuk warna hijau kehitaman berarti menunjukkan adanya senyawa fenolat.

3.3.6 Pembuatan Larutan

3.3.6.1 Pembuatan Larutan Induk Asam Galat (500 $\mu\text{g/ml}$) (Waterhouse, 1999)

Timbang asam galat sebanyak 12,5 mg, kemudian tambahkan 0,5 ml metanol, cukupkan dengan aquadest ke dalam labu ukur 25 ml sampai tanda batas.

3.3.6.2 Pembuatan Larutan Natrium Karbonat 1 M (Waterhouse, 1999)

Timbang natrium karbonat sebanyak 10,6 g kemudian larutkan dengan aquadest steril ke dalam labu ukur 100 ml sampai tanda batas.

3.3.6.3 Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Sampel

Timbang 12,5 mg ekstrak dari setiap bagian tanaman (daun, bunga, dan buah), kemudian larutkan masing-masing dengan 0,5 ml metanol ke dalam labu ukur 25 ml, dicukupkan dengan aquadest sehingga didapatkan konsentrasi 500 $\mu\text{g/ml}$

Timbang 25 mg ekstrak dari setiap bagian tanaman (akar), kemudian larutkan masing-masing dengan 0,5 ml metanol ke dalam labu ukur 25 ml, dicukupkan dengan aquadest sehingga didapatkan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$.

3.3.7 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat dengan Folin-Ciocalteu (Purmorad dkk, 2006)

Panjang gelombang serapan maksimum didapatkan melalui pengukuran absorban dari larutan standar asam galat 500 $\mu\text{g/ml}$ kemudian dipipet sebanyak 1,8

ml dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml lalu encerkan dengan metanol : aquadest (1:1) sampai tanda batas, diperoleh konsentrasi 80 µg/ml. Dari konsentrasi 80 µg/ml di pipet 0,5 ml lalu tambahkan Folin-Ciocalteu sebanyak 5 ml (diencerkan (1:10) dengan aquadest). Kemudian tambahkan 4 ml larutan natrium karbonat 1 M kocok hingga homogen. Biarkan pada suhu kamar selama 15 menit dan ukur panjang gelombang serapan maksimum dengan Spektrofotometer UV-Vis.

3.3.8 Penentuan Kurva Kalibrasi Asam Galat (Mosquira dkk, 2007)

Dari larutan induk asam galat 500 µg/ml dibuat seri dengan konsentrasi 40, 60, 80, 100, 120 µg/ml. Lalu dipipet ke dalam labu ukur 10 ml masing-masing sebanyak 0,8; 1,2; 1,6; 2 dan 2,4 ml diencerkan dengan metanol:aquades (1:1) sampai tanda batas. Dari setiap larutan dipipet 0,5 ml kemudian dicampur dengan 5 ml reagen *Folin-Ciocalteu* (diencerkan 1:10 aquadest) tambahkan 4 ml larutan natrium karbonat 1 M. Diamkan selama 15 menit lalu ukur pada panjang gelombang serapan maksimum (λ).

3.3.9 Penetapan Kadar Fenolat Total Sampel dengan Metoda *Folin-Ciocalteu* (Pourmorad dkk, 2006)

Pipet 0,5 larutan ekstrak sampel lalu tambahkan 5 ml *Folin-Ciocalteu* (diencerkan 1:10 aquades), kemudian tambahkan 4 ml larutan natrium karbonat 1 M, lalu kocok hingga homogen, biarkan pada suhu kamar selama 15 menit. Ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum. Dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan

3.3.10 Analisis Data

Data yang dikumpulkan adalah data primer yang diperoleh dari absorbansi setiap larutan pembanding asam galat, dibuat dengan kurva kalibrasi dan didapatkan persamaan regresi linear. Untuk menentukan kadar fenolat total dihitung dengan memasukkan kedalam persamaan regresi linear $y = a + bx$, y disini adalah absorbansi dan x adalah konsentrasi. Kemudian dimasukkan ke dalam rumus :

$$\text{Fenolik total} = \frac{C \times V \times Fp}{Bs}$$

Keterangan :

C = Konsentrasi larutan sampel

V = Volume larutan sampel

Fp = Faktor pengenceran

Bs = Berat sampel

3.3.11 Perhitungan Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantisasi (BK)

Setelah kurva kalibrasi asam galat didapatkan, kemudian hitung nilai batas deteksi dan batas kuantisasi. Perhitungan BD dan BK dilakukan secara statistic melalui persamaan regresi linier dengan konsentrasi, dimana respon instrument berhubungan linier dengan konsentrasi. Kemudian dimasukkan ke rumus BD dan BK

$$BD = \frac{3 \times SB}{B} \quad BK = \frac{10 \times SB}{B}$$

Keterangan : SD = Simpangan baku

B = Slope

DAFTAR PUSTAKA

- Alpinar, K., Özyürek, M., Kolak, U., Güçlü, K., Aras, Ç., Altun, M., Çelik, S. E., Berker, K. I., Bektaşoğlu, B., & Apak, R. (2009). Antioxidant capacities of some food plants wildy grown in ayvalik of Turkey. *Food Science and Technology Research*, 15(1), 59–64. <https://doi.org/10.3136/fstr.15.59>
- Alnajar ZAA, MA Abdulla, HM Ali, MA Alshawsh dan AHA Hadi. 2012. Acute toxicity vealuation. Antibacterial, antioxidant and immunomodulatory effect of Melastoma malabtahricum. *Molecules*.
- Andriani D, Murtisiwi L. 2018. Penetapan kadar fenolik total ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L) dengan spektrofotometri uv-vis. *Cendekia Jurnal of Pharmacy*. Vol 2, No 1. 2018;32-36.
- Attard, E. 2013. A rapid microtitre plate FolinCiocalteu method for the assessment of polyphenols. *Central European Journal of Biology*. 8(1): 48-53. DOI: 10.2478/s11535-012-0107-3
- Ayuchecaria N, Saputera MMA, Niah R. 2020. Penetapan kadar fenolik total ekstrak batang bajakah tampala (*Spatholobus littoralis* hassk) menggnakan spektrofotometri uv-visible. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 2020;3(1):132-141.
- Berker, K. I., F. A. O. Olgun, D. Ozyurt, B. Demirata, dan R. Apak. 2013. Modified Folin–Ciocalteu Antioxidant Capacity Assay for Measuring Lipophilic Antioxidants. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 61: 4783–4791. DOI: [dx.doi.org/10.1021/jf400249k](https://doi.org/10.1021/jf400249k)
- Dai J, Mumper RJ. *Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties*. *Molecules*. 2010.
- Dachriyanus., 2004, *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektrofotometri*, hal 1-37, Andalas University Press, Padang.
- Dalimartha, S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid I. Jakarta : Trubus Agriwidya. Hal : 143-147.

- Ema, R.S., dan Arsa N,L.S., 2016. Skrining Senyawa Sitotoksik Dari Ekstrak Daun, Bunga, Buah, Batang dan Akar Pada Tumbuhan Senduduk (*Melastoma malabathricum* L) Terhadap Larva *Artemia Salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Bioassay. ISSN : 2087-5045, *Scientia* Vol.2, Pp.65–72
- Erdi, A.S. 2022. Penentuan kadar fenolat total dan aktifitas antioksidan dari ekstrak bunga senduduk (*Melastoma malabathricum* L.). Skripsi. Padang: Universitas Perintis Indonesia.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A., 2012. Analisis Obat Secara Spektrofotometri dan Kromatografi. Yogyakarta : Pustaka Pelajar
- Hanani, E. 2015. *Analisis Fitokimia*. Jakarta:EGC.
- Harbone, JB. 1987. *Metode Fitokimia Terbitan Kedua*. Bandung: Penerbit ITB.
- Heni, Eka. 2020. Penentuan kadar Fenolat Total Ekstrak etanol daun, batang, dan akar tutup bumi (*Elephantopus mollis* Kunth) secara spektrofotometer UV-Vis. *Skripsi*. Padang: Universitas Perintis Indonesia
- Hidayah HA, Sukarsa, Nurmalasari N. 2012. Studi kasus pemanfaatan tumbuhan sebagai obat-obatan tradisional oleh masyarakat Adat Kampung Naga di Kabupaten Tasikmalaya. *Biosfera* (29) : 141-150.
- Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., dan Vivanco, J.M., 2003, Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Iranian *Ocimum* Accessions, *Food Chemistry*, 83, 547-550.
- Joffry, S. M., Yob, N. J., Rofiee, M. S., Affandi, M. M. R., Suhaili, Z., Othman, F., dan Zakaria, Z. A. 2012. *Melastoma malabathricum* (L.) Smith Ethnomedicinal Uses, Chemical Constituents, and Pharmacological Properties: *a Review. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Vol. 2012, ID 258434
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi II. Jakarta : Kementrian Kesehatan RI.

- Latief Abdul. 2012. *Obat Tradisional*. 134-136. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Markham, KR. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavanoid*. Bandung: Penerbit ITB. Hal 58-60.
- Milenkovic, D., C. Deval, C. Dubray, A. Mazur, dan C. Morand. 2011. Hesperidin displays relevant role in the nutrigenomic effect of orange juice on blood leukocytes in human volunteers: a randomized controlled cross-over study. *PloS one*. 6(11): 1- 9.
- Mosquira O.M., Correa Y.M., BuitragoD.C., N. J., 2007 Antioksidant activity of twenty five plants from Colombian biodiversity, *MemInstOswaldo Cruz*.
- Nawawi A, Astary A, Roni A. 2018. Uji aktivitas antioksidan, penetapan kadar fenolik danflavanoid total ekstrak etanol dari daun, batang, dan kulit batang karamunting (*Melastoma malabathricum* L). *Sainstech Farma*. Vol 11 No 1.
- Pambayun R, Gardijito M, Sudarmidji S dan Kuswanto KR. 2007. Kandungan fenol dan sifat antibakteri dari berbagai jenis ekstrak produk gambir. *Majalah Farmasi Indonesia*. 18(3), 141-146
- Pereira, G. A., H. S. Arruda, dan G. M. Pastore. 2018. Modification and validation of Folin-Ciocalteu assay for faster and safer analysis of total phenolic content in food samples. *Brazilian Journal of Food Research*. 9(1): 125-140
- Pourmorad F, Hosseinimehr SJ, & Shahabimajd N. 2006. Antioksidant activity, phenol and flavonoid contets of some selected Oranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. 5 (June), 1142-1145.
- Pramana, D. 2013. *Isolasi Zat Warna (Antosianin) Alami dari Buah Senduduk Bulu (Melastoma Malabathricum L) dengan Metode Ekstraksi Padat-Cair (Leaching)*. Laporan Akhir DIII Teknik Kimia pada Politeknik Negeri Sriwijaya.
- Prior, R,L. 2003. *Fruit and Vegetable in the Prevention of Cellular Oxidative Damage*. *Am J Clin Nutr*;2003; 78,570.

- Proestos C, Sereli D, dan Komaitis M. 2006. Determination of Phenolic Compounds in Aromatic Plants by RP-HPLC and GC-MS. *J. Food Sci.* 95, 44-52.
- Ramadhani, R dan Z, Octarya. 2017. Pemanfaatan Ekstrak buah Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) sebagai Alternatif Indikator Alami Titrasi Asam Basa dan Implementasinya dalam Praktikum di Sekolah. *Jurnal Pendidikan Kimia dan Terapan.* 1(1):57-64.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. ITB: Bandung
- Yoshiki Y, Kudo & Oktobo K, 1998. Relationship Between Chemical Structure and Biological Activities of Triterpenoid Saponin from soybean, (Review) *Bioscience Biotechnology and Biochemistry.* 62. 2291-2292.
- Sánchez-Rangel, J. C., J. Benavides, J. B. Heredia, L. Cisneros-Zevallos, dan D. A. Jacobo-Velázquez. 2013. *The Folin–Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination.* *Analytical Methods.* 5: 5990–5999. DOI: 10.1039/c3ay41125g
- Sapitri A, Lara N, dan Sitorus P. 2020. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) terhadap *escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pembelajaran dan Biologi Nukleus.* Vol 6 (2). Universitas Sari Mutiara : Medan.
- Sarker, S. D. 2007. *Chemistry for Pharmacy Students General. Organic and Natural Product Chemistry.* Willey& Sons, London.
- Sirat HM, Susanti D, Ahmad F, Takayama H, Kitajima M. 2010. Amides, triterpene and flavonoids from the leaves of *melastoma malabathricum* L. *J Nat Med* 2010. 64(4):492-495.
- Sitorus P, Lara N, Sapitri A. 2020. Antibacterial activity of ethanol extract of Senduduk (*Melastoma malabathricum* L) against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pembelajaran dan Biologi Nukleus.* Vol 6 (2): 139-152.
- Soto -Vaca, A., A. Gutierrez, J. N. Losso, Z. Xu, dan J. W. Finley. 2012. Evolution of Phenolic Compounds from Color and Flavor Problems to Health Benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 60(27): 6658 –6677. doi: 10.1021/jf300861c

Starr, F., K. Starr and L. Loope. 2003. *Melastoma candidum* Asian Melastomataceae. Laporan Penelitian. United States Geological Survey Biological Resources Division Haleakala Field Station, Maui, Hawaii.

Susanty and Bachmid F. 2016. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan refluks terhadap kadar fenolik dari ekstrak tongkol jagung (*Zea mays* L.). *Konversi* Vol 5 No 2. Universitas Muhammadiyah Jakarta.

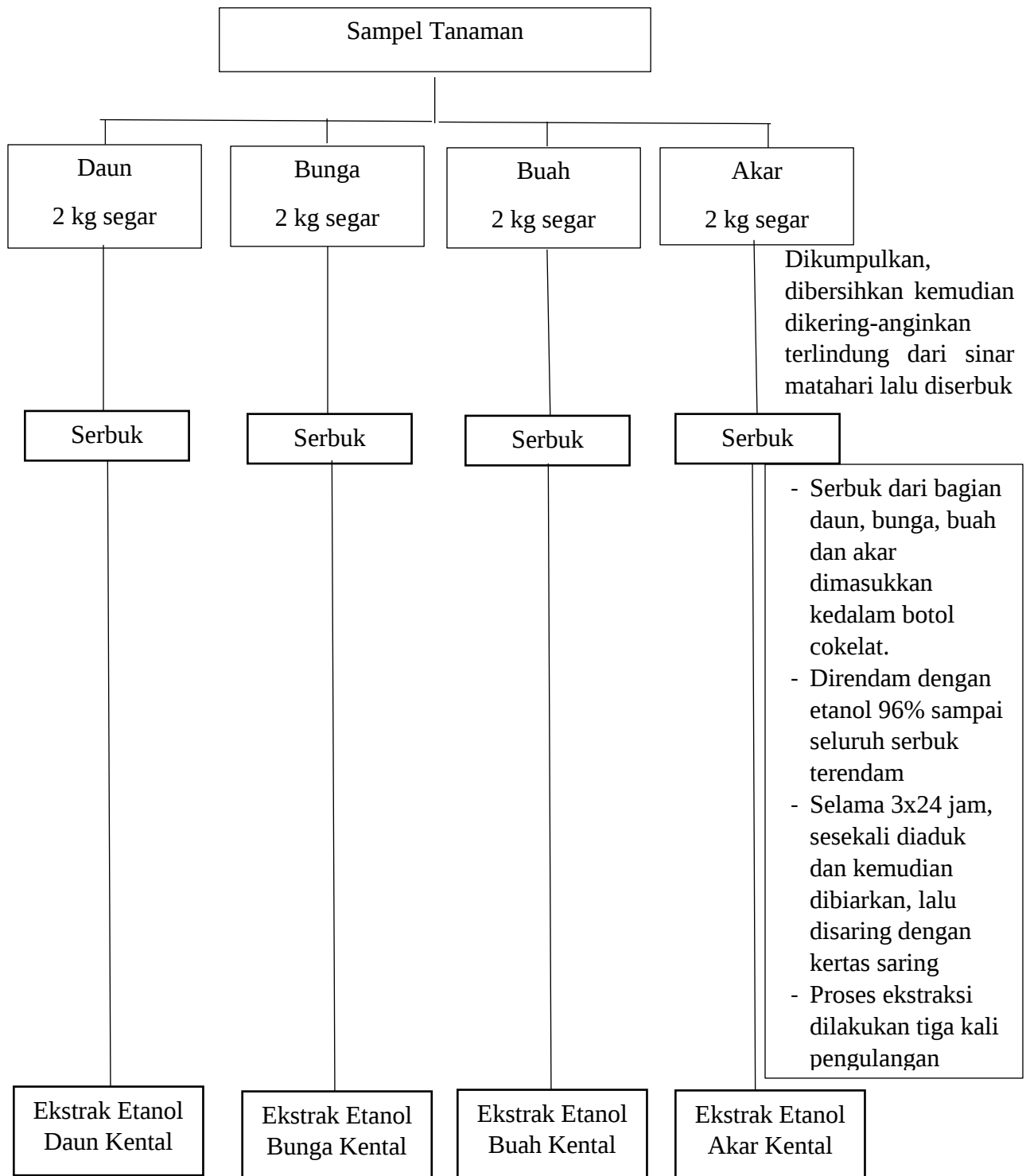
Vázquez, C. V., M. G. V. Rojas, C. A. Ramírez, J. L. Chávez -Servín , T. García - Gasca, dan F . Martínez. 2015. Total phenolic compounds in milk from different species. Design of an extraction technique for quantification using the Folin–Ciocalteu method. *Food Chemistry*. 176:480–486. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.12.050

Waterhouse A. 1999. Folin-Ciocalteu Micro Method For Total Phenol in Wine. Departemen of Viticulture & Technology, University of California: Davis

Wenderstey, V.N, Wewengkang D.S, Abdullah S.S. 2021. Aktivitas antimikroba dari ekstrak dan fraksi ascidian *Herdmania momus* dari perairan pulau bangka likupang terhadap pertumbuhan mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* dan *Candida albicans*. *Pharmakon* Vol 10 Nomor 1. Universitas Sam Ratulangi. Manado.

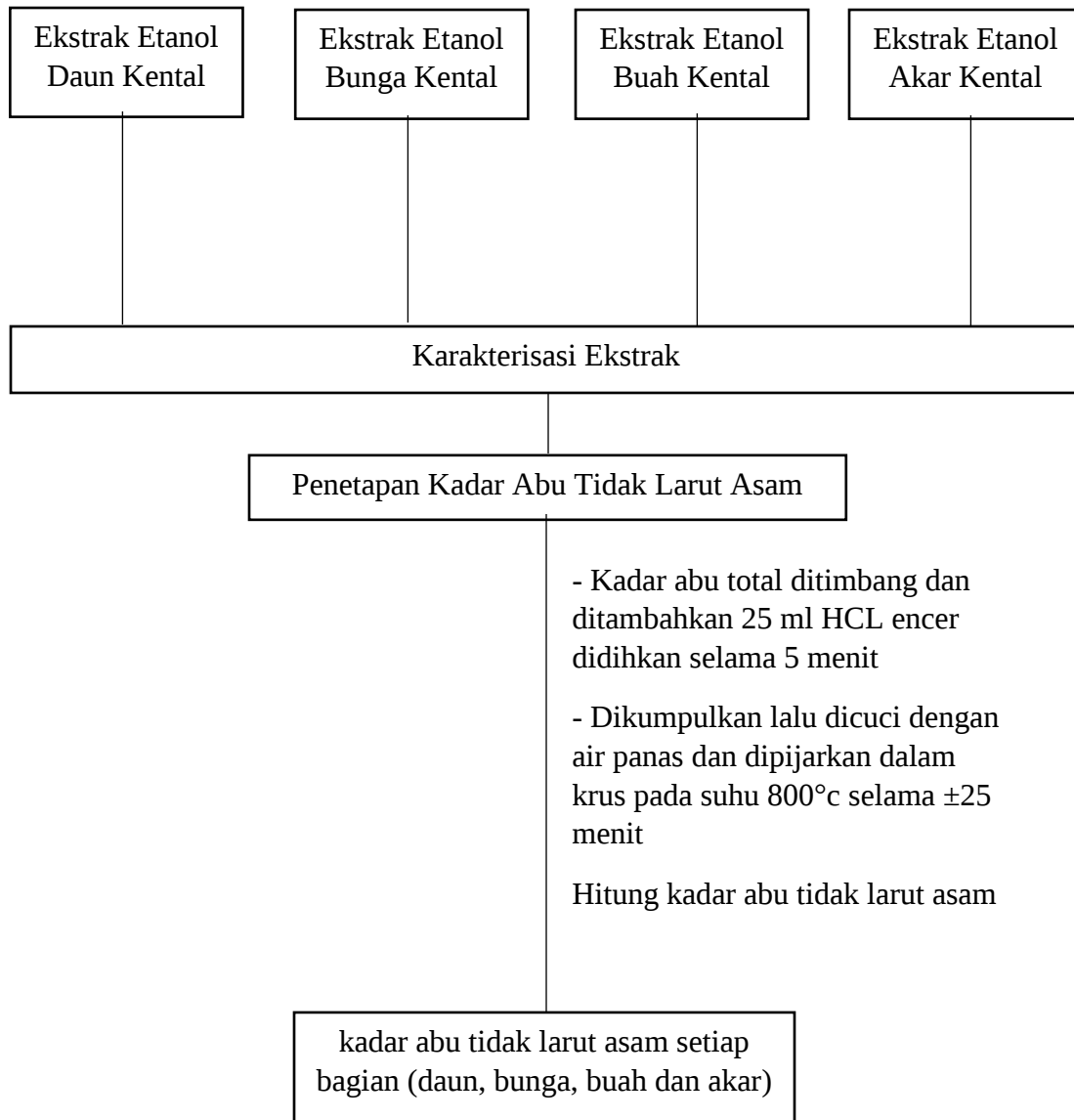
Wijayakusuma, H.M Hembing (1994). *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Jakarta: Pustaka Kartini. hlm. 123–124.

Lampiran III. Prosedur Kerja Pembuatan Ekstrak



Gambar 6. Skema kerja Ekstrak Daun, Bunga, Buah dan Akar *Melastoma malabathricum L*

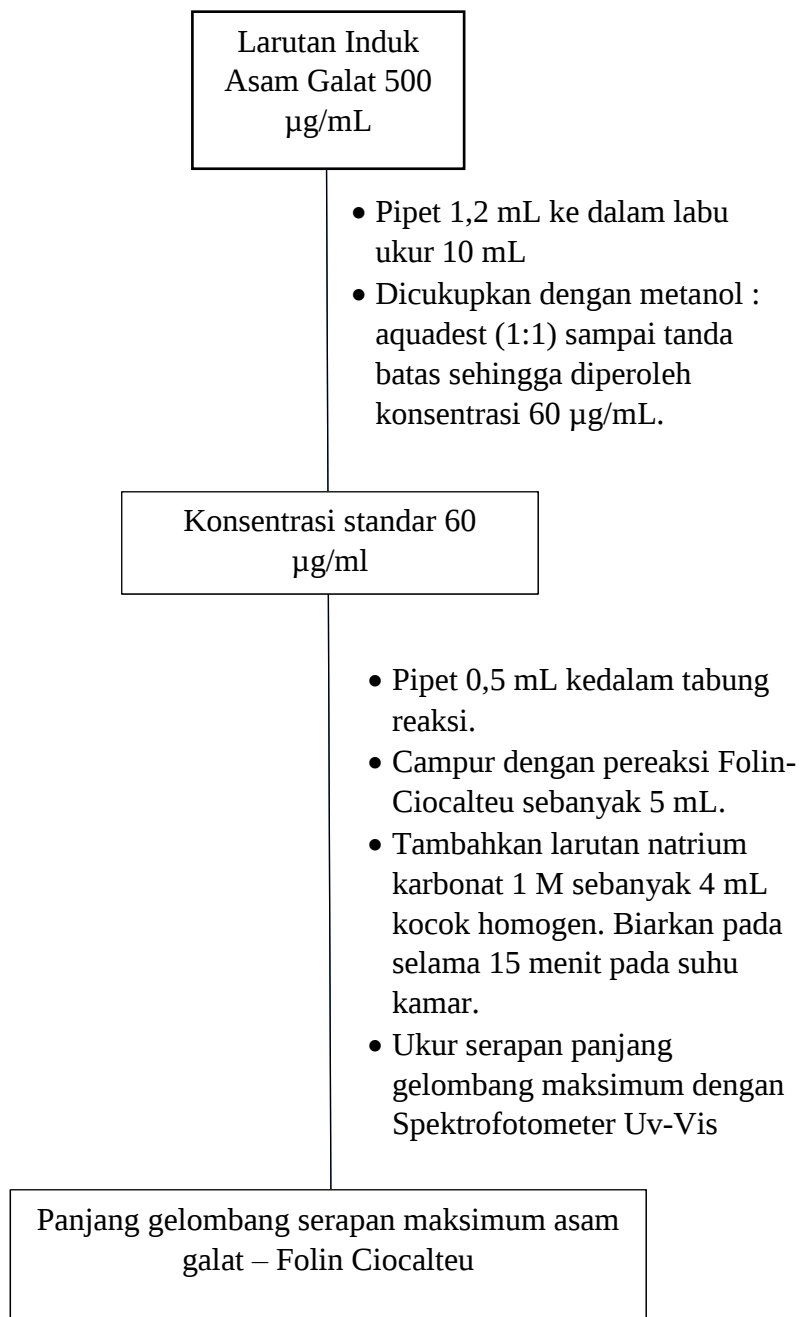
Lampiran IV. Prosedur Kerja Penentuan Kadar Abu Tidak Larut Asam



Gambar 7. Skema kerja Penentuan Kadar Abu Tidak Larut Asam tumbuhan Senduduk (*Melastoma malabathricum* L)

Lampiran V. Prosedur Kerja Penentuan Panjang Gelombang Serapan

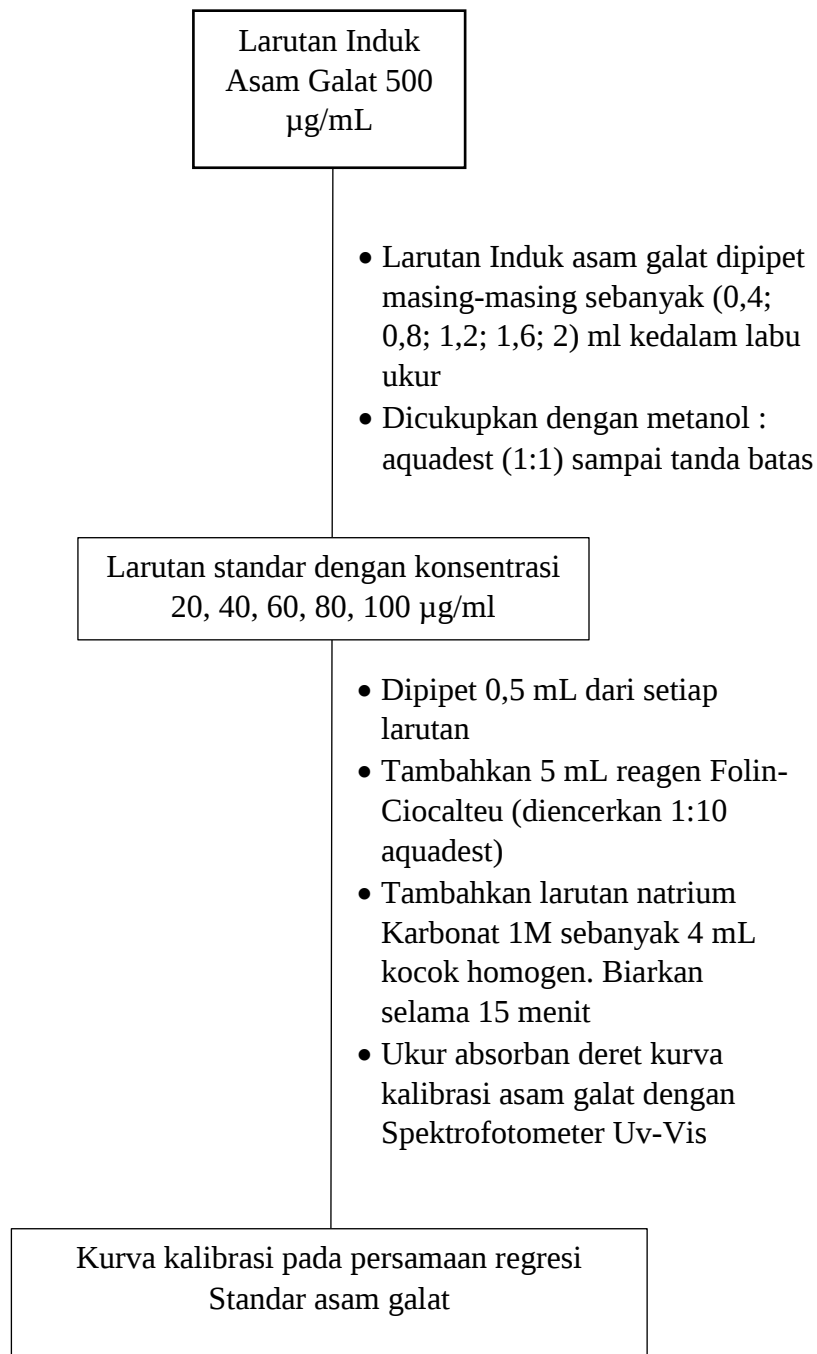
Maksimum Asam Galat



Gambar 8. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat

Lampiran VI. Prosedur Kerja Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam galat – Folin

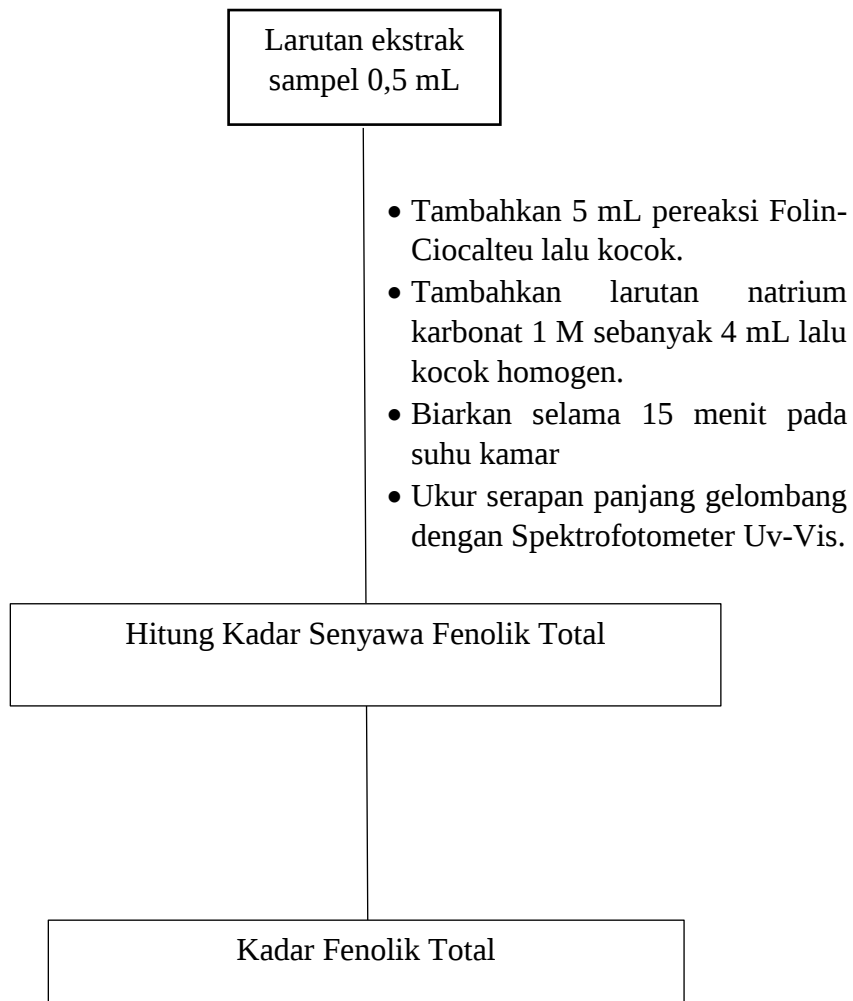
Ciocalteu



Gambar 9. Skema Kerja Kurva Kalibrasi Asam Galat

Lampiran VII. Prosedur Kerja Penentuan Kadar Fenolik Total Dari Ekstrak

Sampel



Gambar 10. Skema Kerja Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Daun, Bunga, Buah dan Akar (*Melastoma malabathricum* L).

