

**PENGARUH LAMA PROSES HIDROLISIS
TERHADAP KADAR TANIN DAN AKTIVITAS
ASTRIGENSIA DARI DAUN SENDUDUK
(*Melastoma malabathricum. L*)**

PROPOSAL



Oleh :

PUTI MELANI WULANDARI

NIM : 1804116

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI FAKULTAS
FARMASI UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2022**

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Melastoma malabathricum atau yang dikenal dengan daun senduduk merupakan tumbuhan yang banyak tersebar di wilayah Sumatera Barat. Tanaman ini umumnya tumbuh liar tanpa peralatan khusus. Senduduk diklaim memiliki berbagai nilai obat menurut kepercayaan tradisional masyarakat/suku. Penggunaan tradisional dari Bagian *M. malabathricum*, seperti daunnya dikunyah, ditumbuk, dan dioleskan pada luka atau dicincang halus dan diperas untuk dioleskan sarinya pada luka untuk menghentikan pendarahan. Menurut Sharma dkk, daunnya juga dapat digunakan untuk mencegah bekas luka karena cacar, mengobati disentri, diare, dan wasir. Daun senduduk dilaporkan memiliki kandungan kimia berupa glikosida, flavonoid, saponin, tanin, steroida/triterpenoida (Sunilson, 2008).

Tanin secara umum didefinisikan sebagai senyawa polifenol yang memiliki berat molekul cukup tinggi (lebih dari 1000 g/mol) dan dapat membentuk kompleks dengan protein. Struktursenyawa tanin terdiri dari cincin benzena (C6) yang berikatan dengan gugus hidroksil (-OH). Berdasarkan strukturnya, tanin dibedakan menjadi dua kelas yaitu tanin terkondensasi (condensed tannins) dan tanin terhidrolisiskan (hydrolysable tannins) (Hagerman, 2002). Tanin memiliki beragam bioaktivitas seperti astringen, anti diare, anti inflamasi, antibakteri, antioksidan, antikarsinogenik dan memiliki efek penyembuhan luka

secara alami dan melindungi kulit (Malangngi, 2012: 5). Tanin sangat bermanfaat untuk membantu memperbaiki warna dan tekstur kulit, sehingga bisa menjadi salah satu bahan terbaik yang dapat digunakan untuk membantu menjaga kulit karena memiliki beberapa alasan salah satunya yaitu tanin mengandung sifat astrigensia yang dapat mengecilkan pori-pori dan mengontrol produksi minyak secara berlebihan pada kulit. Astringent merupakan salah satu kosmetik untuk membersihkan dan menyegarkan wajah. Kosmetik ini sejenis dengan toner yang digunakan pada tahapan akhir pembersihan wajah (Robinson, 1995).

Penelitian yang dilakukan oleh Da-HeeSON, dkk (2014) tentang Efek Penghambatan Reduktase dan Aktivitas Astringen Ekstrak Kulit Apel Hijau pada Keratinosit Manusia dan Sel Fibroblas, dimana aktivitas astrigensia dapat ditentukan secara instrumental menggunakan spektrofotometer (Mulja, 1995). Teknik ini menggunakan sumber radiasi sinar tampak dengan memakai instrument spektrofotometer (Mulja, 1995). Spektrofotometer merupakan pengukuran energi cahaya oleh suatu sistem kimia pada panjang gelombang tertentu (Roth,1985).

Berdasarkan hal tersebut peneliti tertarik untuk melakukan pengaruh lama proses hidrolis terhadap kadar tanin dan aktivitas astrigensia ekstrak daun senduduk. Analisis kuantitatif dengan Spektrofotometer yang diukur pada panjang gelombang serapan maksimum dari Tanin. Spektrofotometer dipilih karena memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana angka yang terbaca langsung

dicatat oleh detektor dan tercetak dalam bentuk angka digital atau pun grafik yang sudah diregresikan (Seniati,2019).

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah lama waktu proses hidrolisis berpengaruh terhadap kadar tanin dalam ekstrak daun tananam senduduk (*Melastoma malabathricum.L*)
2. Apakah lama waktu proses hidrolisis berpengaruh terhadap aktivitas adstringensia dari ekstrak daun senduduk (*Melastoma malabathricum.L*)

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh lama proses hidrolisis kadar tanin menggunakan asam tanat
2. Untuk mengetahui aktivitas adstringensia yang dihasilkan oleh daun tanaman senduduk (*Melastoma malabathricum.L*)

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi yang terdapat dari kandungan kadar tanat dan adstringensia.
2. Menjadi sumber informasi bagi masyarakat tentang potensi daun senduduk sebagai bahan-bahan obat atau kosmetik.

1.5 Hipotesa

H₀ : Lama proses hidrolisis tidak mempengaruhi kadar tanin dalam ekstrak daun senduduk (*Melastoma malabathricum.L*)

H₁ : Lama proses hidrolisis tidak mempengaruhi kadar tanin dalam ekstrak daun senduduk (*Melastoma malabathricum.L*)

H₀ : Lama proses tidak mempengaruhi aktivitas adstringensia dari tanaman daun senduduk (*Melastoma malabathricum.L*)

H1 : Lama proses mempengaruhi aktivitas adstringensia dari tanaman daun senduduk (*Melastoma malabathricum.L*)

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Senduduk (*Melastoma Malabathricum L.*)

2.1.1 Klasifikasi tumbuhan

Kingdom	: Plantae
Devisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospremae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Myrtales
Famili	: Melastomataceae
Genus	: Melastoma
Spesies	: <i>Melastoma Malabathricum L.</i>

2.1.2 Morfologi dan distribusi



Gambar 1. (*Herbarium Medanese, 2017*).

Tumbuhan senduduk (*Melastoma malabathricum L.*) tumbuh liar pada tempat-tempat yang mendapat cukup sinar matahari, seperti di lereng gunung, lapangan yang tidak terlalu gersang, atau di daerah objek wisata sebagai tanaman hias dan dapat tumbuh sampai ketinggian 1.650 m di atas permukaan air

laut. Tumbuhan ini merupakan jenis yang mudah ditemui di areal terbuka dan terkadang tumbuh menutupi tepian hutan bahkan menjadi gulma. Tumbuhan ini juga menyukai tempat yang lembab dan tanah yang mempunyai kandungan humus yang tinggi. Senduduk dengan nama latin *Melastoma Malabathricum* L. Di klasifikasikan ke dalam divisi Spermatophyta, kelas Dicotyledoneae, ordo Myrtales, famili Melastomaceae, genus *Melastoma*, dan spesies *Melastoma Malabathricum* L. Tumbuhan ini berkembangbiak melalui dua cara yaitu biji benih dan keratan batang. Batangnya biasanya mempunyai ketinggian kurang dari satu meter. Tumbuhan ini mempunyai ketahanan yang tinggi terhadap keadaan kering dan bisa hidup selama 6 bulan dalam keadaan kemarau terik (Liana I, 2018).

Senduduk termasuk tanaman perdu tinggi 0,5- 4m. Cabang yang mudah bersisik. Daun bertangkai, berhadapan, memanjang, atau bulat telur memanjang dengan ujung runcing bertulang daun 3,2 - 20 x 1-8 cm, ketua belah sisi berbulu. Bunga bersama-sama 5-18, pada ujung dan di ketiak daun yang tertinggi, berbilang 5-(4-6). Daun pelindung bersisik, langsing 5 x 2 mm, tidak menutupi kuncup. Daun mahkota bulat telur terbalik, panjang 2-3 cm, ungu merah, jarang putih. Benang sari 10-(8-12), memanjang dari penghubung sari di bawah ruang sari pada benang sari yang panjang 6-16 mm, pada yang pendek 2-7 mm. Bakal buah beruang 5-(4-6), dihubungkan oleh bingkai terhadap tabung kelopak.

Senduduk dapat tumbuh di Padang rumput semak hutan kecil (Van steenis, 1975).

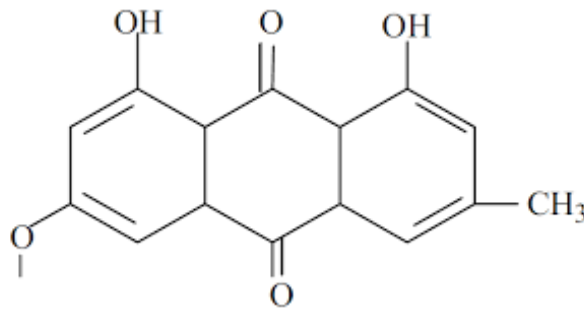
2.1.3 Nama Daerah Senduduk

Nama daerah tumbuhan ini di Sumatera adalah senduduk, sedangkan di Jawa dikenal dengan nama senggani, sengganen, kluruk, harendong, dan kemanden (Depkes RI, 1995).

2.1.4 Kandungan kimia

Senduduk mengandung senyawa glikosida, flavonoida, saponin, tanin, steroida/triterpenoida.

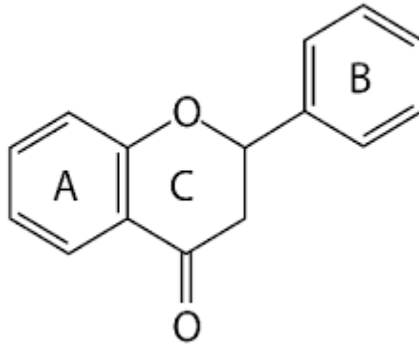
a. Glikosida



Gambar 2. Glikosida (Faravani, 2009)

Glikosida merupakan senyawa yang jika dihidrolisis menghasilkan satu atau lebih gula. Bagian bukan gula disebut aglikon dan bagian gula disebut glikon. (Gholib D, 2009). Umumnya glikosida pada tumbuhan dapat dihidrolisis dengan menggunakan larutan asam atau penambahan enzim, sehingga bagian gula dan bukan gula terpisah (Nissa, 2018).

b. Flavonoid



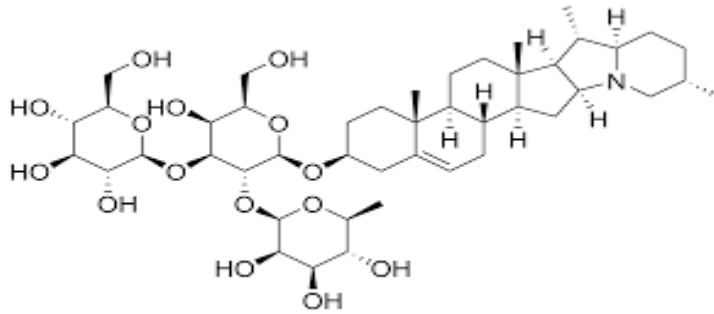
Gambar 3. Flavonoid (Simanjuntak, 2008)

Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan, terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoida (flavonoida tanpa gula terikat) terdapat dalam berbagai bentuk struktur (Zakaria, 2006). Flavonoid dapat berfungsi sebagai antimikroba, antivirus, antioksidan, antihipertensi, merangsang pembentukan estrogen dan mengobati gangguan fungsi hati ((Zakaria, 2006)).

Efek farmakologis pada senyawa flavonoid yang berperan dalam proses penyembuhan luka seperti antibakteri, antimikroba, antiinflamasi, antioksidan, antibiotik, antikarsinogenik, dan melindungi pembuluh darah. Mekanisme kerja antimikroba pada flavonoid dengan cara menghancurkan protein sel bakteri yang mengkontaminasi luka sehingga dapat meminimalisir atau menghindari terjadinya infeksi. Flavonoid juga dapat berperan langsung sebagai antibiotik dengan cara mengganggu metabolisme mikroorganisme pada aktivitas

transpeptidase peptidoglikan sehingga pembentukan dinding sel mikroorganisme akan terganggu dan sel mengalami lisis (Irawati, 2018).

c .Saponin

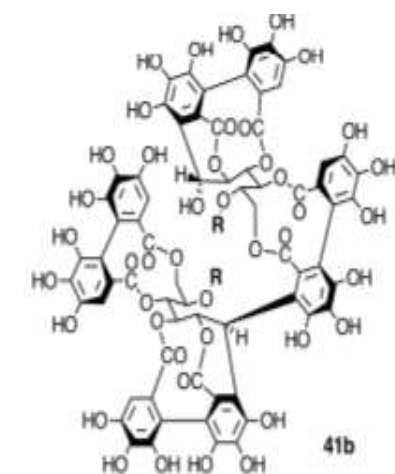


Gambar 4. Saponin (Faravani, 2009)

Saponin merupakan senyawa aktif permukaan, bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis sel darah (Simanjuntak, 2008). Efek farmakologis dari senyawa saponin seperti antibakteri, antiseptik, antijamur, dan juga merangsang pembentukan kolagen. Mekanisme kerja senyawa saponin sebagai antibakteri dengan cara merusak membran sitoplasma pada sel bakteri penyebab terjadinya infeksi, sehingga bakteri tersebut akan mati. Menurut Fatimatuazzahroh, senyawa saponin diduga mampu merangsang pembentukan kolagen (struktur protein) yang berperan dalam proses penyembuhan luka, menstimulasi pembentukan pembuluh darah, serta mempunyai kemampuan meningkatkan proses angiogenesis dengan memicu pelepasan Vascular Endothelial Growth Factor

(VEGF) yang berperan penting dalam pembentukan kembali pembuluh darah (Simanjuntak, 2008).

d. Tanin



spesies Melastomataceae.

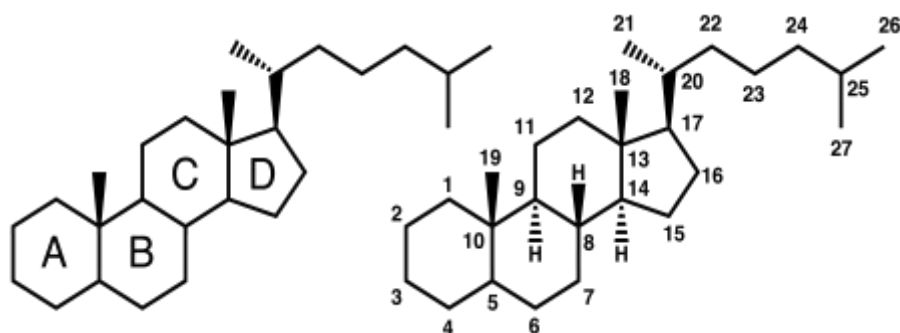
Gambar 5. Struktur tanin (Jourdes, 2013)

Tanin dalam tumbuhan dianggap memiliki fungsi utama sebagai penolak hewan pemakan tumbuhan karena rasanya yang sepat. Dalam industri, tanin digunakan untuk mengubah kulit hewan yang mentah menjadi siap pakai karena kemampuannya membentuk ikatan silang yang stabil dengan protein dan dalam bidang farmasi digunakan sebagai adstringen, antioksidan serta dapat menghambat pertumbuhan tumor (Lohézic-Le Dévéhat, 2002).

Senyawa tanin memiliki efek farmakologis seperti antibakteri, antiinflamasi, antimikroba, dan astringen yang dapat menyembuhkan luka. Efek antibakteri ini diduga karena kemampuan tanin untuk berikatan dengan dinding sel bakteri,

sehingga akan menginaktifkan kemampuan menempel bakteri tersebut pada inang, mendenaturasi protein, mengganggu aktivitas enzimatis, serta menurunkan tegangan permukaan. Penurunan tegangan permukaan tersebut akan meningkatkan permeabilitas dan penurunan ion kalsium yang akan menghambat pertumbuhan sel dan mengakibatkan sel bakteri mati. Hal tersebut akan membantu dalam proses penyembuhan luka pada kulit terutama yang disebabkan oleh infeksi bakteri (Suryaningsih, 2010).

e. Steroid/Triterpenoida



Gambar 6. Steroid (Simanjuntak, 2008)

Steroid adalah senyawa triterpenoida yang kerangka dasarnya system cincin siklopentanoperhidropenantren. Senyawa ini tersebar luas dalam dan mempunyai fungsi biologis yang sangat penting misalnya untuk antiinflamasi (Faravani, 2009).

Triterpenoida adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprene dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik, yaitu skualena.

Senyawa ini tidak berwarna, berbentuk kristal. Senyawa ini merupakan komponen aktif dalam tumbuhan obat yang telah digunakan untuk penyakit diabetes, gangguan menstruasi, beberapa senyawa triterpenoida menunjukkan aktivitas antibakteri atau antivirus (Faravani, 2009).

2.1.5 Khasiat Tradisional Daun Senduduk

Senduduk merupakan tumbuhan yang masuk ke dalam famili Melastomataceae. Daun senduduk banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional, tumbuhan ini berkhasiat dalam obat tradisional melayu asli, biasanya digunakan untuk mengobati penyakit sawan. Jika dalam keadaan darurat saat perjalanan buah senduduk yang sudah masak berwarna ungu dapat dijadikan sebagai makanan ringan karena rasanya yang manis. Selain itu buah dari senduduk juga dapat dimanfaatkan menjadi obat bisul dan mengobati luka (Sunilson, 2008).

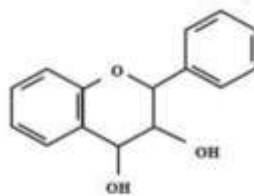
2.1.6 Tinjauan farmakologi

Senduduk diklaim memiliki nilai obat, yang didukung terutama oleh penggunaan tanaman tradisional Melayu dan India dalam pengobatan sejumlah penyakit seperti yang dijelaskan sebelumnya. Secara ilmiah, *M.malabathricum*, disiapkan sebagai ekstrak menggunakan berbagai jenis pelarut dan diuji menggunakan berbagai in vitro dan in vivo model uji, menunjukkan berbagai potensi farmakologis yang memerlukan studi mendalam. Tanaman, terlepas dari bagian yang digunakan,

telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri, antivirus, antiparasit, antioksidan, sitotoksisitas, antikoagulan, penghambat faktor pengaktif trombosit, penyembuhan luka, antiulkus, antidiare, antiinflamasi, antinosiseptif, dan aktivitas antipiretik (Sunilson, 2008).

2.2 Tanin

2.2.1 Identifikasi tanin



Gambar 7. Struktur Inti Tanin (Jourdes, 2013)

Istilah “tanin” mulai digunakan sejak tahun 1976 oleh Seguin ketika diketahui dalam suatu ekstrak tanaman mengandung senyawa yang dapat bereaksi dengan protein. Tanin merupakan suatu senyawa polifenol yang tersebar luas dalam tumbuhan, dan pada beberapa tanaman terdapat terutama dalam jaringan kayu seperti kulit batang, dan jaringan lain, yaitu daun dan buah. Beberapa pustaka mengelompokkan tanin dalam senyawa golongan fenol. Tanin berbentuk amorf yang mengakibatkan terjadinya koloid dalam air, memiliki rasa sepat, dengan protein membentuk endapan yang menghambat kerja enzim proteolitik, dan dapat digunakan dalam industri sebagai penyamak kulit hewan. Bobot molekul tanin biasanya diatas 1000, sedangkan yang

memiliki bobot molekul dibawah 1000 sering disebut “pseudotanin” (contohnya, asam galat, katekin, asam klorogenat).

Ada dua jenis tanin dalam dunia tumbuhan, yaitu tanin terhidrolisis dan terkondensasi yang sering disebut kelompok proantosianidin. Sifat tanin sebagai astringen dapat dimanfaatkan sebagai antidiare, menghentikan perdarahan, dan mencegah peradangan terutama pada mukosa mulut, seta digunakan sebagai antidotum pada keracunan logam berat dan alkaloid. Tanin juga digunakan sebagai antiseptik karena adanya gugus fenol. Dalam ayurveda, tanaman yang mengandung banyak tanin digunakan untuk berbagai penyakit, antara lain leukorrhea (leukorea), rhinorhea (rinorea) dan diare, serta sering dikombinasikan dengan tanaman lain. Tanin dapat diekstraksi menggunakan air, alkohol, atau aseton, dan dapat ditentukan dengan adanya gugus fenol atau karboksilat. Larutan tanin mengendap dengan penambahan logam berat, alkaloid, dan gelatin (protein).

Pada analisis kuantitatif harus diperhatikan adanya senyawa fenol lain yang dapat mengganggu penetapan kadar tanin. Cara titrimetri dapat digunakan untuk menentukan kadar tanin total dalam simplisia, serta cara lain dengan menggunakan spektrofotometer. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metanol, etanol, air atau campuran dari keduanya (Hanani, 2014).

2.1.2 Klasifikasi tanin

Klasifikasi Tanin	R1	R2	R3
Epigallocatechin	OH	H	OH
Gallocatechin	H	OH	OH
Epigallocatechin 3-O-gallate	O-Gal	H	OH
Catechin	H	OH	H
Epicatechin	OH	H	H

Tabel 2. Klasifikasi dari tanin (Hagerman, 2002)

2.1.3 Penentuan kadar tanin

a. Penentuan kadar tanin dengan spektrofotometer UV-Vis

Penetapan kadar tanin dengan metode spektrofotometri didasarkan atas reaksi pembentukan warna yaitu reduksi ion ferri menjadi ion ferro oleh senyawa tanin dan polifenolik lainnya, diikuti oleh pembentukan kompleks Ferrisianida dan ion Ferro. Warna yang terbentuk diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 720 nm (Muhtady, 1999).

Karakteristik dari senyawa tanin yaitu untuk tanin jenis katekin diukur pada panjang gelombang 270 nm dan 450 nm, untuk protokatein diukur pada panjang gelombang 258 nm, 290 nm, dan 438 nm dan untuk epikafein diukur pada panjang gelombang 266 nm (Giurginca et Al., 2007).

b. Penentuan kadar tanin dengan HPLC

HPLC mulai dikembangkan pada akhir tahun 1960-an dan awal tahun 1970-an. HPLC termasuk metode analisis terbaru yaitu suatu teknik kromatografi dengan fase gerak cairan dan fase diamnya cairan atau padat. HPLC memiliki banyak kelebihan dibanding teknik kromatografi yang lain, diantaranya mampu memisahkan molekul dalam campuran mudah melaksanakannya, kecepatan analisis dan kepekaan tinggi, dapat dihindari terjadinya dekomposisi bahan yang dianalisis, resolusi yang baik, dapat digunakan bermacam-macam detektor, kolom dapat digunakan kembali, dapat dilakukan sampel recovery. HPLC merupakan metode yang tidak destruktif dan dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif (Putra, 2004).

2.3 Astringent

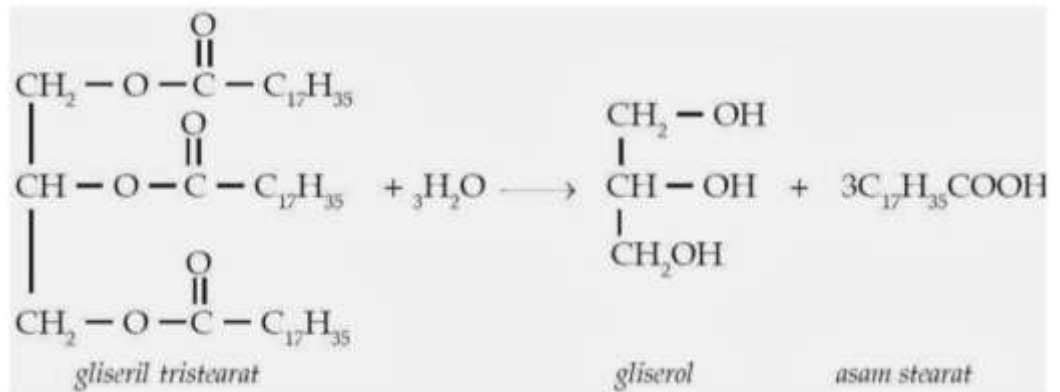
Astringent adalah zat senyawa kimia yang cenderung dapat mengerutkan atau menyusutkan jaringan tubuh. Kata astringent diambil dari bahasa Latin *astingere*, yang berarti “cepat mengikat”. Astringent juga ditemukan pada buah-buahan yang biasanya membuat mulut terasa kering saat dimakan, seperti witch hazel, lemon, delima, kesemek, kulit pisang, dan sebagainya (Tranggono, 2007).

Menurut Kamus Besar Bahasa Indonesia, astringent adalah zat yang menyebabkan pengerutan jaringan sehingga dapat mengurangi sekresi (dipakai sebagai obat luar untuk merawat kulit). Astringent merupakan salah satu kosmetik untuk membersihkan dan

menyegarkan wajah. Astringent adalah larutan yang berfungsi mengecilkan pori-pori dan menghambat produksi minyak secara berlebih pada kulit. Kosmetik ini sejenis dengan toner yang digunakan pada tahapan akhir pembersihan wajah. Walaupun astringent sejenis dengan toner namun tingkat kandungan alkohol pada astringent lebih tinggi. Jenis alkohol yang digunakan adalah Specially Denatured (SD) Alcohol atau alkohol berjenis khusus yang berbahan dasar alami (Primadiati, 2001).

2.4 Hidrolisis

Hidrolisa merupakan pengikatan gugus hidroksil (-OH) oleh suatu senyawa. Gugus -OH dapat diperoleh dari air. Hidrolisis dapat digolongkan menjadi hidrolisis murni, hidrolisis katalis asam, hidrolisis katalis basa, gabungan alkali dengan air dan hidrolisis dengan katalis enzim. Berdasarkan fase reaksi hidrolisis dikelompokkan menjadi hidrolisis fase cair dan fase uap. Hidrolisa minyak nabati dapat dilakukan pada tekanan rendah akan tetapi reaksinya berlangsung lambat sehingga diperlukan katalisator, misalnya H_2SO_4 . Katalisator tidak diperlukan, jika hidrolisis dilakukan pada tekanan sangat tinggi yaitu 700 psia dan 485oF dan konversi yang dicapai > 90%. Pada proses hidrolisis, air memecah gugus alkil dalam trigliserida minyak menjadi asam lemak dan gliserol (Anggawijaya, 2016). Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut :



Gambar 8. Reaksi Hidrolisis

2.5 Spektrofotometri

2.5.1 Klasifikasi Spektrofotometri

Spektrofotometri sesuai dengan namanya adalah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spectrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi. Jadi spektrofotometer digunakan untuk mengukur energy relatif jika energy tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi panjang gelombang. Kelebihan spektrofotometer dengan fotometer adalah panjang gelombang dari sinar putih dapat lebih di deteksi dan cara ini diperoleh dengan alat pengurai seperti prisma, grating atau celah optis. Pada fotometer filter dari berbagai warna yang mempunyai spesifikasi melewatkan trayek pada panjang gelombang tertentu (Gandjar,2007).

2.4.2 Jenis Spektrofotometri UV-Vis

Ada dua jenis Spektrofotometri UV-Vis, yaitu

Spektrofotometri berkas tunggal dan Spektrofotometri berkas rangkap. Pertama yaitu spektrofotometri berkas tunggal, memiliki spesifikasi sebagai berikut: celah keluar sinar monokromatis hanya satu, wadah atau kuvet yang dapat dilalui sinar hanya satu, pada setiap perubahan panjang gelombang alat harus dinolkan. Yang kedua yaitu Spektrofotometri berkas rangkap memiliki spesifikasi sebagai berikut : celah keluar sinar monokromatis ada dua, sinar melalui dua wadah atau kuvet sekaligus, alat cukup satu kali dinolkan dengan cara mengisi kedua kuvet dengan larutan blanko (Harmita, 2004).

Panjang gelombang cahaya UV dan tampak jauh lebih pendek dari pada panjang gelombang radiasi infra merah. Satuan yang akan digunakan untuk memeriksa panjang gelombang ini adalah nanometer ($1 \text{ nm} = 10^{-7} \text{ cm}$). Spektrum nampak terentang dari sekitar 400 nm (ungu) ke 750 nm (merah), sedangkan spektrum ultraviolet berjangka dari 100 ke 400 nm (Fessenden, 1984). Setiap senyawa dalam sampel memiliki tingkatan tenaga yang spesifik. Bila cahaya yang mengenai cuplikan, maka elektron-elektron pada tingkatan dasar akan dieksitasi ke tingkatan tereksitasi, dan sebagian energi cahaya yang sesuai diserap dengan panjang gelombang ini. Elektron yang tereksitasikan melepaskan tenaga melalui proses radiasi panas dan akan kembali pada tingkatan dasar lagi. Perbedaan energi antara tingkat dasar dengan tingkat tereksitasi yang

spesifik untuk tiap-tiap bahan atau senyawa menyebabkan frekuensi yang diserap juga berbeda-beda (Sastrohamidjojo, 2001).

Sinar radiasi UV-Vis adalah panjang gelombang antara 180-380 nm untuk UV dan panjang gelombang 380-780 nm untuk visible. Cahaya yang dapat dilihat oleh manusia disebut cahaya tampak/visibel. Biasanya cahaya terlihat merupakan campuran dari cahaya yang mempunyai berbagai panjang gelombang dari 400 nm hingga 750 nm, seperti pada tabel 2.

Tabel 2. warna dan warna komplementer (Underwood, 2001).

Tabel 3. warna dan warna komplementer (Underwood, 2001).

Panjang Gelombang (nm)	Warna	Warna Komplementer
400-435	Violet (ungu)	Hijau kekuningan
450-480	Biru	Kuning
480-490	Biru kehijauan	Jingga
490-500	Hijau kebiruan	Merah
500-560	Hijau	Ungu kemerahan
560-580	Hijau kekuningan	Ungu
580-595	Jingga	Biru kehijauan
595-610	Merah	Hijau kebiruan
610-750	Ungu kemerahan	Hijau

2.4.3 Hukum Lambert-Beer

Hukum Lambert-Beer (*Beer's law*) adalah hubungan linearitas antara absorban dengan konsentrasi larutan analit (Gandjar & Rohman, 2015), yaitu:

$$A = (I_0 / I_t) = abc$$

Keterangan :

I_0 : Intensitas sinar datang

I_t : Intensitas sinar yang diteruskan

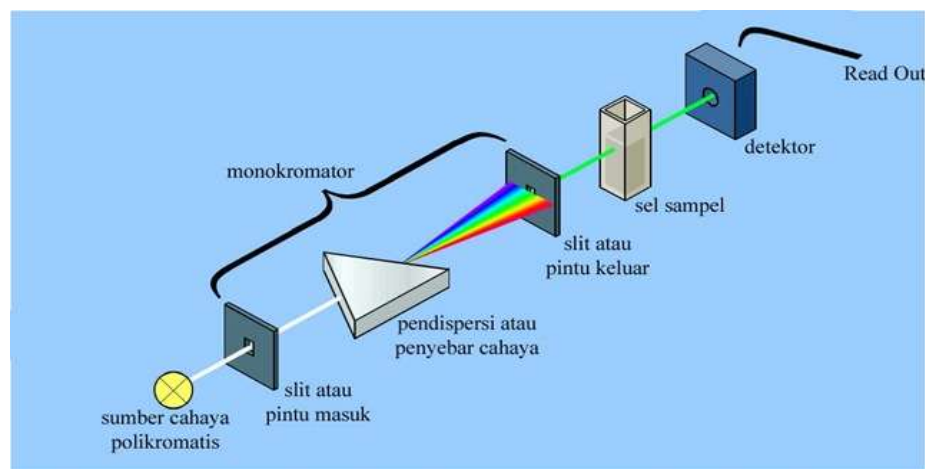
a : Absorptivitas

b : Panjang sel/kuvet

c : Konsentrasi

A : Absorban

2.4.3 Bagian-bagian Spektrofotometer UV-Visibel



Gambar 9. Skema Alat Spektrofotometer UV – Vis (Watsom, 2007)

1. Sumber Cahaya

Untuk mendapatkan pengukuran absorban yang cocok, sumber cahaya hendaknya menghasilkan sinar dengan kekuatan yang cukup kontinu dan merata pada panjang gelombang dan stabil selama waktu yang diperlukan.

2. Monokromator

Digunakan untuk menghamburkan cahaya ke dalam panjang gelombang unsur-unsurnya, yang diseleksi lebih lanjut dengan celah monokromator berotasi sehingga rentang panjang gelombang dilewatkan melalui sampel.

3. Kuvet

Kuvet atau bejana tempat larutan dibuat sedemikian rupa sehingga dapat meneruskan sinar yang digunakan dan dinding sel yang akan ditentukan harus tegak lurus terhadap cahaya yang masuk, kuvet digunakan untuk sinar tampak yang biasanya terbuat dari kaca atau plastik, sedangkan ultraviolet digunakan kuarsa.

4. Detektor

Detektor yaitu suatu alat yang dapat merubah energi sinar menjadi listrik dengan menyerap energi foton sinar yang jatuh dirubah menjadi besaran yang dapat diukur.

5. Alat Baca (Rekorder)

Rekorder adalah suatu alat untuk membaca isyarat dari detektor. Untuk menganalisa kimia secara spektrofotometri pengaruh berkurangnya intensitas sinar yang disebabkan oleh pemantulan pada dinding kuvet dapat dihilangkan dengan pemakaian sel pembanding yang disebut blanko.

2.4.4 Prinsip Kerja Spektrofotometri UV-Vis

Cahaya yang berasal dari lampu deuterium maupun

lampu tungsten yang bersifat polikromatis akan diteruskan melalui celah menuju ke monokromator pada spektrofotometer dan filter cahaya pada fotometer. Monokromator kemudian akan mengubah cahaya polikromatis (banyak) menjadi cahaya monokromatis (tunggal). Berkas-berkas cahaya dengan panjang tertentu kemudian akan dilewatkan pada sampel yang mengandung suatu zat dalam konsentrasi tertentu. Oleh karena itu, terdapat cahaya yang diserap (diabsorpsi) dan ada pula cahaya yang dilewatkan. Cahaya yang dilewatkan ini kemudian diterima oleh detektor. Detektor kemudian akan menghitung cahaya yang diterima dan mengetahui cahaya yang diserap oleh sampel. Cahaya yang diserap sebanding dengan konsentrasi zat yang terkandung dalam sampel sehingga akan diketahui konsentrasi zat dalam sampel secara kuantitatif (Muharni, 2009).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium kimia farmasi Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia ± 3 bulan dimulai dari bulan Juni.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis, rotary evaporator, beaker glass, pipet ukur, tabung reaksi, labu ukur, vial, pipet tetes, tabung reaksi, corong, plat tetes, blender, timbangan analitik, alumunium foil, bola hisap, kertas saring whatman no 42, dan spatel.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah daun *mellastoma malabathrium L.*, N heksan, HCl, metanol, Folin-ciocalteu, DMSO, FeCl₃, asam tanat , dan aquadest.

3.3 Prosedur Penelitian dan Cara Kerja

3.3.1 Pengambilan Sampel

Tumbuhan Senduduk diambil di daerah Lubuk Minturun, Padang Sumatera Barat. Bagian yang digunakan untuk penelitian ini adalah daunnya.

3.3.2 Identifikasi Sampel

Tumbuhan senduduk terlebih dahulu diidentifikasi di Herbarium Universitas Andalas dengan menyerahkan spesimen tanaman. Tujuan identifikasi adalah untuk memastikan peneliti telah mengambil tumbuhan dengan spesies yang tepat.

3.3.2 Ekstraksi *mellastoma malabathrium* L.

Daun senduduk. dipisahkan dari batangnya dan diambil sebanyak 2 kg, lalu tanaman dicuci dengan air mengalir dan kemudian dikering anginkan selama $\pm$ 5 hari. Tanaman yang telah kering dijadikan serbuk dan kemudian ditimbang. Serbuk daun senduduk dihilangkan fraksi bagian non polarnya menggunakan pelarut n-heksan dengan metode soxhletasi, perbandingan jumlah serbuk dengan pelarut n-heksan adalah 1 : 3 (serbuk : pelarut). Ekstraksi dilakukan hingga tetesan terakhir dari pelarut sampai tidak berwarna lagi. Prosedur ini digunakan untuk menghilangkan zat-zat non polar dari tanaman seperti lemak, minyak, dan lilin.

Ampas hasil sisa ekstraksi dengan n-heksan di ekstraksi menggunakan metanol dengan metode maserasi dalam wadah botol coklat. Proses maserasi dilakukan dengan penggulungan sebanyak 3 kali 48 jam (Sampai rendemen terakhir tidak berwarna lagi). Lalu hasil maserasi disaring hingga diperoleh filtrat, semua filtrat hasil maserasi diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C putaran 95 rpm hingga diperoleh ekstrak kental metanol.

Untuk pengujian selanjutnya, ekstrak metanol dibagi menjadi beberapa bagian sesuai prosedur hidrolisis berikut ini :

a. Ekstrak A (tanpa hidrolisis)

Ekstrak metanol ditimbang sebanyak 3 gram, kemudian diencerkan dengan aquadest 25 ml

b. Ekstrak B

Ekstrak metanol ditimbang sebanyak 3 gram, kemudian dilarutkan dalam 25 ml HCL 2N, kemudian dipanaskan sambil diaduk pada suhu 60°C selama 1 jam dengan Hot Plate Magnetic Stirrer.

c. Ekstrak C

Ekstrak metanol ditimbang sebanyak 3 gram, kemudian dilarutkan dalam 25 ml HCL 2N, kemudian dipanaskan sambil diaduk pada suhu 60°C selama 3 jam dengan Hot Plate Magnetic Stirrer.

d. Ekstrak D

Ekstrak metanol ditimbang sebanyak 3 gram, kemudian dilarutkan dalam 25 ml HCL 2N, kemudian dipanaskan sambil diaduk pada suhu 60°C selama 5 jam dengan Hot Plate Magnetic Stirrer.

Fraksi kental etil asetat dari masing-masing ekstrak diberi nama sebagai berikut:

1. Ekstrak A : fraksi tanpa hidrolisis (FTH)
2. Ekstrak B : fraksi hidrolisis B (FHB)
3. Ekstrak C : fraksi hidrolisis C (FHC)
4. Ekstrak D : fraksi hidrolisis D (FHD)

Masing-masing fraksi diatas dilakukan analisis lanjutan.

3.4 Evaluasi Sampel

3.4.1 Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis dilakukan dengan cara mengamati bentuk, warna, dan bau dari ekstrak atau fraksi.

3.4.2 Penentuan % Rendemen

Persentase rendemen dari sampel dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut : (Departemen Kesehatan RI, 2000) :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Bobot ekstrak dan fraksi(g)}}{\text{bobot serbuk kering(g)}} \times 100 \%$$

3.4.3 Identifikasi Senyawa Tanin

Ekstrak ditambah FeCl₃ akan memberikan endapan biru-hitam pada tanin terhidrolisis dan memberikan endapan hitam kehijauan pada tanin terkondensasi (Tyler dkk, 1976).

3.5 Pembuatan Larutan

3.5.1 Pembuatan Larutan Natrium Karbonat (Sam Sulastri dkk, 2016)

Natrium karbonat ditimbang sebanyak 5 g kemudian larutkan dengan aquadest hingga 50 ml.

3.5.2 Pembuatan Larutan Induk Asam Tanat 500 ppm (Cunnif, 1996)

Sebanyak 12,5 mg asam tanat dimasukkan kedalam labu ukur 25 ml dilarutkan dengan 0,5 ml metanol p.a kemudian ditambahkan aquadest sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi larutan 500 ppm.

3.6 Penentuan Tanin Total

3.6.1 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum asam Tanat -Folin-Ciocalteu (Pourmonad, dkk 2006)

Larutan induk asam tanat 500 ppm dipipet sebanyak 2 ml kedalam labu ukur 25 ml. lalu encerkan metanol : aquadest (1:1) sampai tanda batas sehingga didapatkan konsentrasi 40 ppm. Lalu sebanyak 0,5 ml larutan asam tanat 40 ppm dipipet kemudian dicampurkan pereaksi Folin-Ceucalteu sebanyak 5 ml, dan ditambah 4 ml natrium karbonat. Kocok homogen, diamkan selama 15 menit kemudian diukur panjang gelombang serapan maksimum dengan spektrofotometer Uv-vis.

3.6.2 Pembuatan Deret Konsentrasi Standar dan Kurva Kalibrasi

Dari larutan induk asam tanat 500 ppm dipipet (0,2;0,4;0,6;0,8 dan 1 ml) kemudian diencerkan dengan metanol aquadest (1:1) dalam labu ukur 10 ml samapi tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi (10;20;30;40;dan 50 ppm) kemudian masing-masing konsentrasi dipipet 0,5 ml lalu dicampurkan dengan 5 ml Folin-Ceucalteu dan ditambah 4 ml natrium karbonat. Diamkan selama 15 menit kemudian diukur absorban pada panjang gelombang serapan maksimum dengan spektrofotometer Uv-Vis.

3.6.3 Pembuatan Larutan Uji

Sebanyak 10 mg ekstraksi A, B, C, dan D dilarutkan

dengan 0,5 metanol p.a kemudian tambahkan dengan aquadest sampai folum pada labu ukur 10 ml sehingga didapat konsentrasi 1000 ppm.

3.6.4 Penetapan Kadar Tanin Total Larutan Uji

Dipipet 0,5 ml larutan sampel yang telah dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm. lalu tambahkan 2 ml Folin-Ceucalteu dan tambahkan 4 ml natrium karbonat dikocok sampai homogen, biarkan pada suhu kamar selama 15 menit, hingga terbentuk warna biru, lalu diukur serapannya dengan Spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang maksimum.

Hitung kadar tanin total dengan menggunakan rumus persamaan regresi linear menggunakan hukum lambert-beer yaitu $y = a + bx$, dimana y adalah absorbansi dan x adalah konsentrasi.

Dimasukkan ke dalam rumus yaitu :

$$KFT = \frac{c \times V}{\text{bobot sampel uji}} \times 100 \% \text{ b/b}$$

Keterangan :

KFT : kadar tanin total

c : konsentrasi

V : volume

Nilai tanin total dinyatakan dalam % b/b

3.7 Penentuan aktivitas astrigensia

Aktivitas zat astrigensia dilakukan dengan metode spektrofotometri Uv-Vis. Sebanyak 1 ppm dari hemoglobin dalam buffer fosfat (Ph 6,8) dicampurkan dengan ekstrak fraksi A,B,C dan D (1 ppm) 1 : 1 kemudian

diaduk kuat, campuran disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Setelah disentrifugasi dilakukan pengukuran absorbansi dibaca pada 407 nm dengan spektrofotometer.

3.8 analisis Data

3.8.1 Perhitungan % Aktivitas Astringensia

Besarnya persentase aktivitas astringensia di ukur dengan

rumus :

$$\% \text{ astringensia} = \frac{\text{serapan kontrol} - \text{serapan sampel}}{\text{serapan kontrol}} \times 100 \%$$

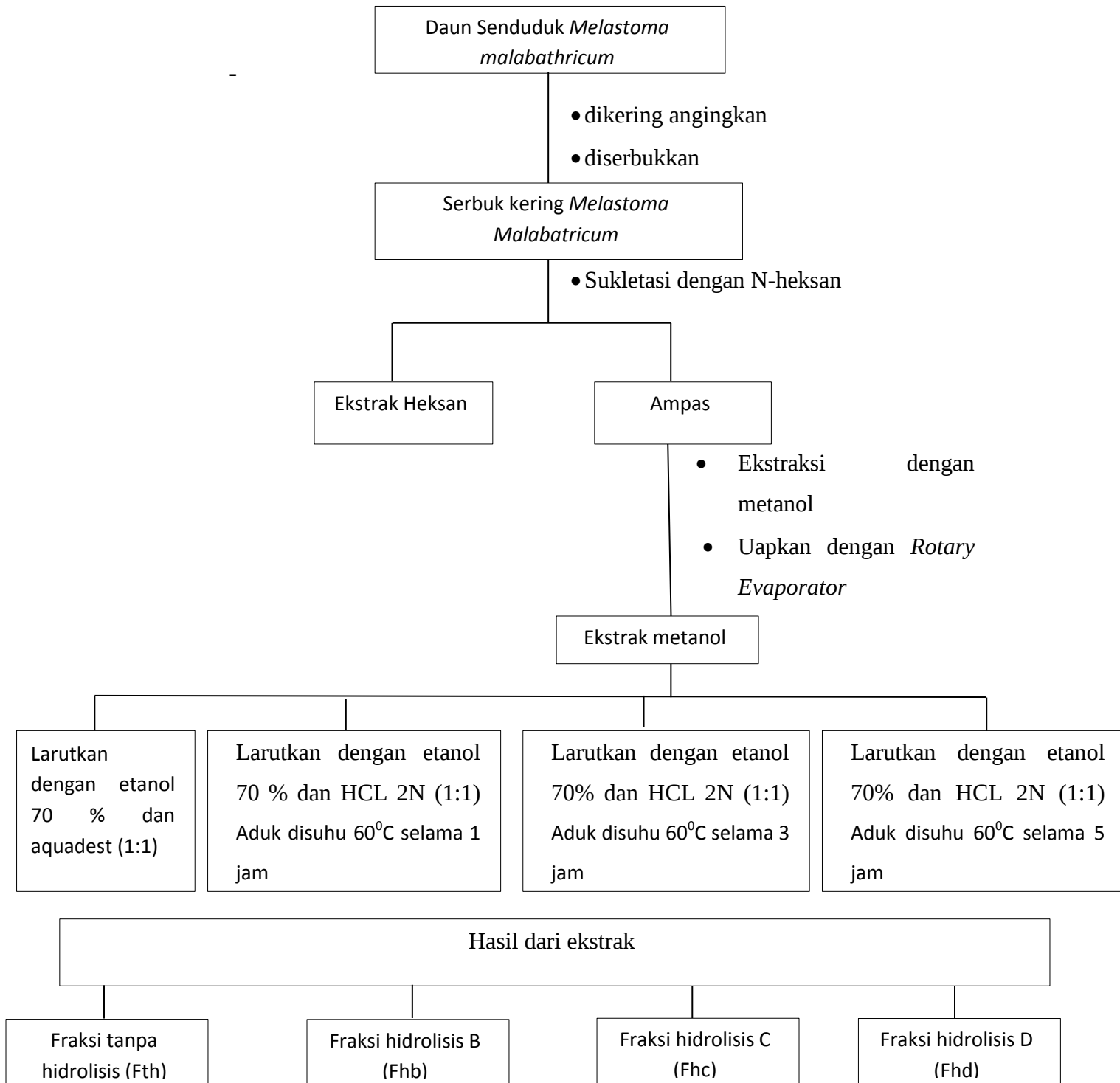
Keterangan:

Serapan Kontrol : Asam tanat

Serapan sampel : Serapan absorban sampel

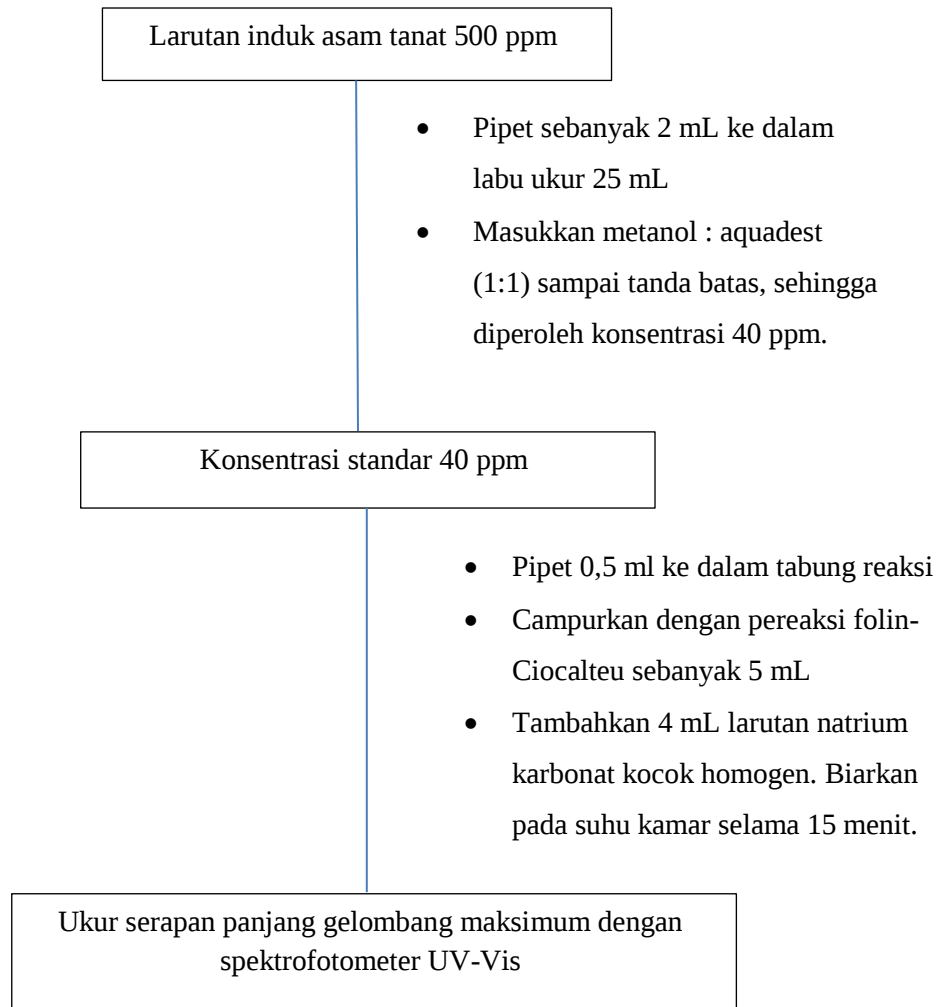
Semakin besar % aktivitas yang dihasilkan maka semakin signifikan pula hasil astringensia yang dihasilkan.

Lampiran 1. Skema kerja Ekstraksi hidrolisis ekstrak *Melastoma malabathricum*



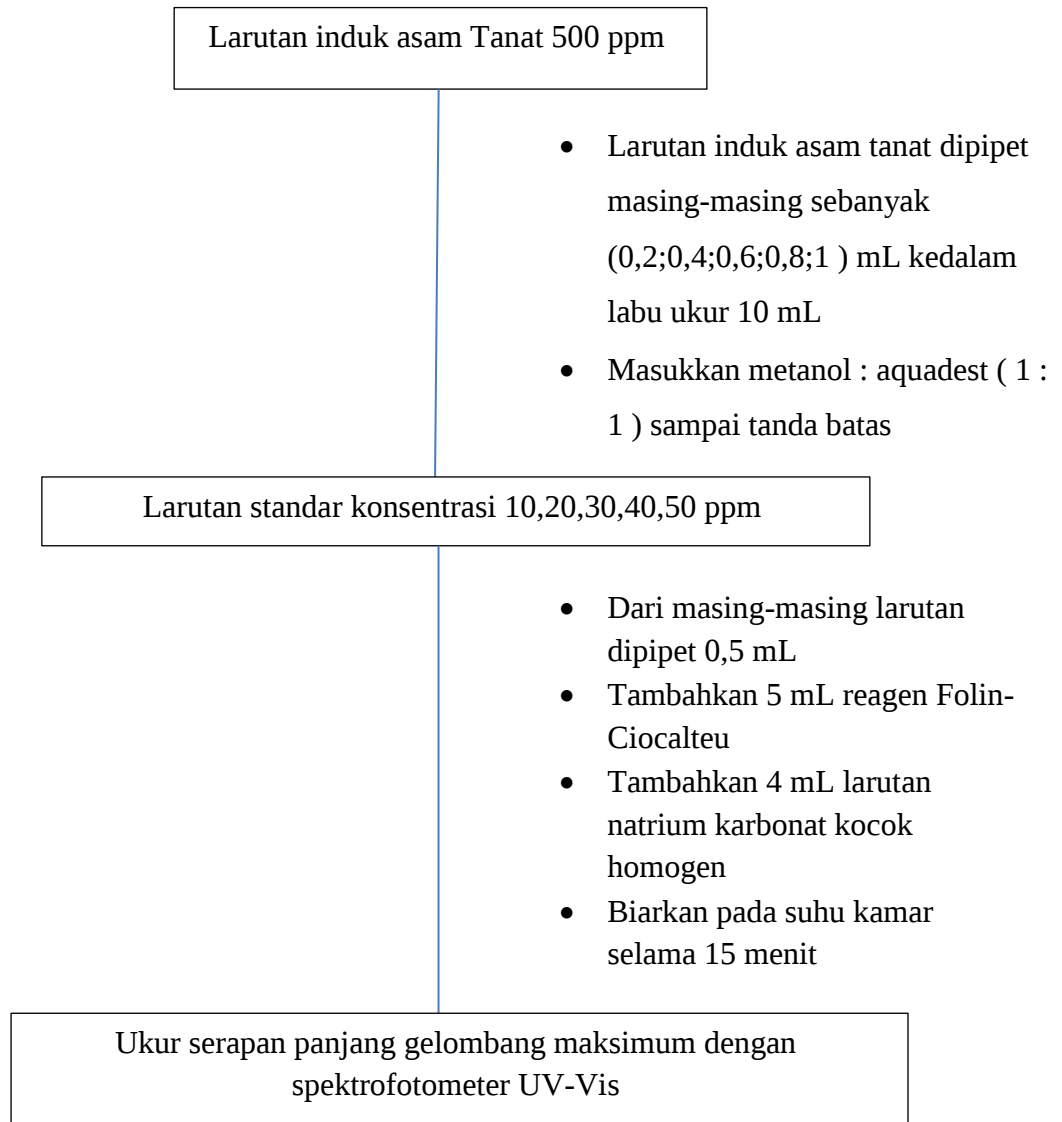
Gambar 8. Skema prosedur kerja ekstraksi dan fraksinasi

Lampiran 2. Skema Kerja Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam tanat



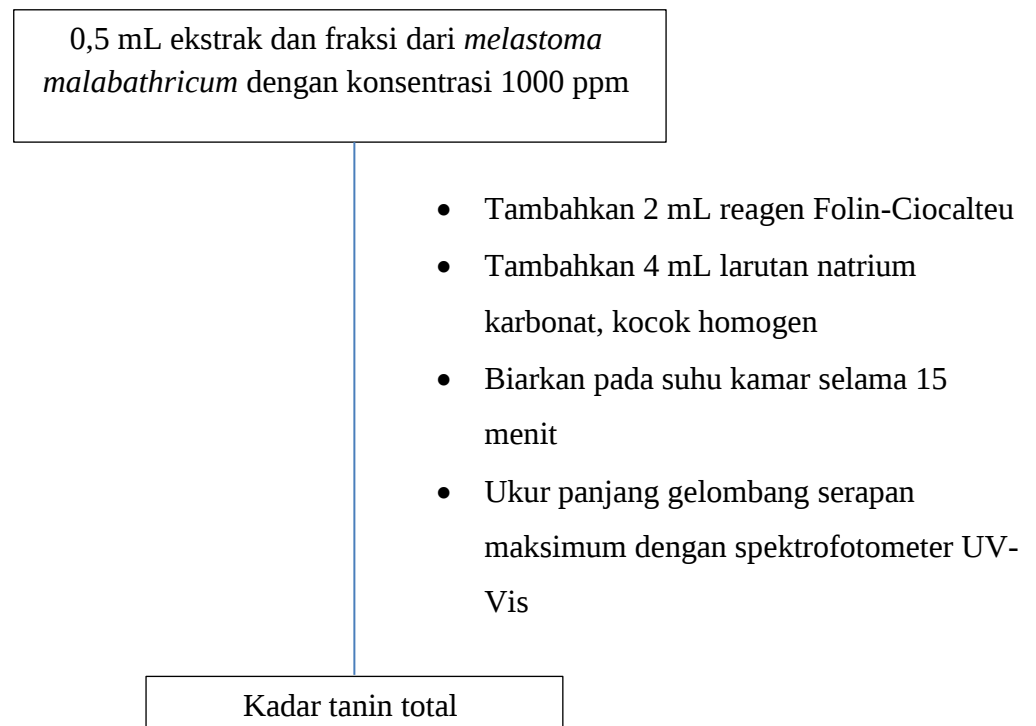
Gambar 9. Skema kerja penentuan panjang gelombang serapan maksimum asam tanat

Lampiran 3. Skema Kerja Kurva Kalibrasi Asam Tanat



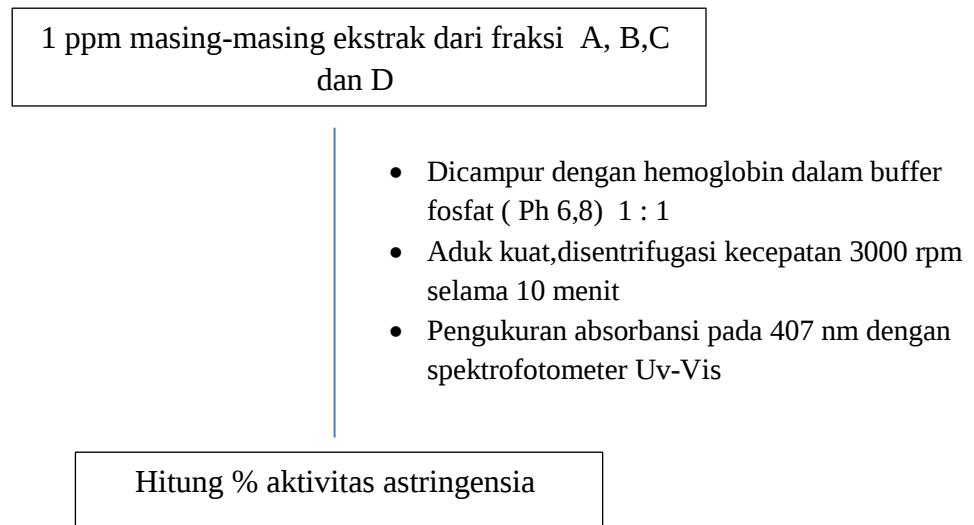
Gambar 10. Skema kerja kurva kalibrasi asam tanat

Lampiran 4. Skema kerja kadar tanin total dari *Melastoma malabathricum*



Gambar 11. Skema kerja penentuan kadar tanin total dari *Melastoma malabathricum L*

Lampiran 5. Skema kerja penentuan aktivitas astringensia dari ekstrak A,B.C dan fraksi D



Gambar 12. Skema uji aktivitas astringensia

DAFTAR PUSTAKA

- Aldea, E., Giurginca, M., Miculescu, F., Demetrescu, I. 2007. Infrared and ESEM technique in supporting Ti and Ti-Al-V alloy behaviour in Afnor and Tanni-Zucchi solutions. *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, 9(11): 3396 – 3399.
- AJ Sunilson, J. James, J. Thomas, P. Jayaraj, R. Varatharajan, dan M. Muthappan, “*Aktivitas antibakteri dan penyembuhan luka dari Melastoma malabathricum* Air terjun,” *Jurnal Penyakit Menular Afrika*, vol. 2, hlm. 68–73, 2008.
- Departemen Kesehatan RI, 1995, *Farmakope Indonesia Edisi IV*, 551, 713. Jakarta.
- F. Lohézic-Le Dévéhat, A. Bakhtiar, C. Bézin, M. Amoros, dan J. Boustie, “*Aktivitas antivirus dan sitotoksik dari beberapa tanaman Indonesia*,” *fitoterapi*, vol. 73, tidak. 5, hlm. 400–405, 2002.
- Fessenden, R. J., and Fessenden, J. S., 1984, “*Kimia Organik 2*”, Terjemahan: A. H. Pujatmaka, Erlangga, Jakarta
- Gandjar, I. G. dan Rohman, A. 2015, *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Gandjar, I.G.dan Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Gholib D. Uji daya hambat daun senggani (*Melastoma malabathricum* L.) terhadap *Trichophyton mentagrophytes* dan *Candida albicans* [inhibition potential of *Melastoma malabathricum* L.) leaves against *trichophyton mentagrophytes* and *Candida albicans*]. *Berita Biologi*. 2009; 9(5): 523-524
- Hagerman, A. E., (2002), *Tannin Handbook*. Department of Chemistry and Biochemistry, Miami University.
- Hanani E. *Analisis Fitokimia*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2014.
- Harmita. (2004). *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*. Majalah Ilmu Kefarmasian, Dep. Farmasi. FMIPA-UI, Jakarta.
- Irawati, LD. Uji efektivitas ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* W.) terhadap penyembuhan luka sayat tikus putih (*Rattus norvegicus*)

- dimanfaatkan sebagai sumber belajar biologi [Skripsi]: Universitas Muhammadiyah Malang. 2018: 23-25
- Jourdes, M.; Pouysegu, L.; Defieux, D.; Teissedre, P.-L.; Quideau, S. *Tanin Terhidrolisis: Galotanin dan Ellagitanin*. 2013.
- Liana I. Aktivitas antimikroba fraksi dari ekstrak metanol daun senggani (*Melastoma candidum* d. Don) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium* serta profil kromatografi lapis tipis fraksi teraktif [Skripsi]: Universitas Sebelas Maret ; 2018: 22
- M. Faravani, *Biologi Populasi Rhododendron Selat (Melastoma malabathricum L.)*, Ph.D. tesis, Universitas Malaya, Kuala Lumpur, Malaysia, 2009.
- M. Simanjuntak, *Ekstraksi dan fraksinasi komponen ekstrak daun tumbuhan senduduk (Melastoma malabathricum) serta pengujian efek sediaan krim terhadap penyembuhan luka bakar*, MS thesis, Universitas Sumatera Utara, Sumatera, Indonesia, 2008.
- Muharni, M., Supriyatna, S., Bahti, H. H., & Dachriyanus, D. (2009). Phenolic compound from the stem bark of manggis hutan (*Garcinia bancana* Miq.) and their antioxidant activity. *Indonesian Journal of Chemistry*, 9(2), 321-327.
- Mulja, M., dan Suharman. *Analisis Instrumental*. Surabaya: Airlangga University Press, 1995. Hal 26-48
- Nissa A P. Aktivitas antimikroba ekstrak segar tumbuhan sikaduduak (*Melastoma malabathricum* Linn.). *Jurnal Metamorfosa*. 2018; 5(2): 166
- Primadiati, Rachmi. (2001). *Kecantikan, Kosmetika & Estetika*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Putra, Effendy D. L. (2004). *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Dalam Bidang Farmasi*. Jurusan Farmasi Fakultas Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara, Medan.
- S. Mohandoss dan P. Ravindran, "Flavonoid dari *Melastoma malabathricum*," *fitoterapi*, vol. 64, tidak. 3, hlm. 277–278, 1993.
- Sastrohamidjojo, Hardjono. 2001. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty.
- Seniati, Seniati, Marbiah Marbiah, and Andi Irham. "Pengukuran kepadatan bakteri *Vibrio harveyi* secara cepat dengan menggunakan spektrofotometer." *Agrokompleks* 19.2 (2019): 12-19.

- Sunilson, J. James, J. Thomas, P. Jayaraj, R. Varatharajan, dan M. Muthappan, "Aktivitas antibakteri dan penyembuhan luka dari *Melastoma malabathricum* Air terjun," *Jurnal Penyakit Menular Afrika*, vol. 2, hlm. 68–73, 2008
- Suryaningsih AE, Mulyani S, Retnaningtyas E, *et al.* Aktivitas Antibakteri Senyawa Aktif Daun Senggani (*Melastoma candidum* D.Don) Terhadap *Bacillus Licheniformis*. *Semin Nas Pendidik Biol FKIP UNS*. 2010: 129-136
- Tranggono, Retno I.S. (2007). *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Undermood dan day, J.R, 2001. *Analisis Kimia Kuantitatif*, Terjemahan Sopyan Lis,. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Van Steenis C.G.G.J., 1975, *Flora untuk Sekolah di Indonesia*, PT. Paramita, Jakarta Pusat.
- Watson, D. G. 2007. *Analisis Farmasi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- ZA Zakaria, MNRNS Raden, G. Hanan Kumar *et al.*, "Sifat antinociceptive, anti-inflamasi dan antipiretik dari ekstrak air daun *Melastoma malabathricum* pada hewan percobaan," *Jurnal Fisiologi dan Farmakologi Kanada*, vol. 84, tidak. 12, hlm. 1291–1299, 2006.