

**ANALISIS KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOL 96%
DAUN TAHONGAI (*Kleinhovia hospita L.*) TERPURIFIKASI N-
HEKSANA DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

Oleh:
THEODORIKA NITA JULIET ILHAMI
211148201159

SKRIPSI

Untuk memenuhi salah satu syarat ujian
Guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi



**PROGRAM STUDI S-1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN DIRGAHAYU SAMARINDA
2025**

LEMBAR PENGESAHAN

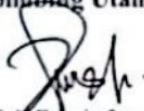
ANALISIS KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOL 96% DAUN TAHONGAI (*Kleinhovia hospita L.*) TERPURIFIKASI N- HEKSANA DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Dipersiapkan dan disusun oleh:

THEODORIKA NITA JULIET ILHAMI
211148201159

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 7 Mei 2025

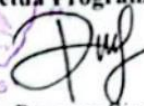
Pembimbing Utama



Nurillah Febria Leswana, S.Si., M.Sc.
NIDN: 0322.A4.28



Ketua Program Studi S-1 Farmasi



apt. Raymon Simanullang, M.Farm.
NIK: 0924.A4.18

Pembimbing Pendamping



Risny Oklyan, M.Farm.
NIK: -

Tim Penguji:

Ketua: Maria Elvina Tresia Butar Butar, M.Farm.



Anggota:

1. Raymon Simanullang, M. Farm.



2. Nurillah Febria Leswana, S.Si., M.Sc.



PEDOMAN PENGGUNAAN DAN PERBANYAKAN SKRIPSI

Skripsi sarjana yang terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda, dan terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada pengarang dengan mengikuti aturan HaKI yang berlaku di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda. Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh isi skripsi haruslah seizin Ketua Prodi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan Bahwa:

1. Karya tulis saya, skripsi ini, adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar sarjana, baik di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda maupun perguruan tinggi lain.
2. Karya tulis ini adalah murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan dari pihak lain, kecuali arahan Tim Pembimbing dan masukan Tim Penelaah/Tim Penguji.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidak benaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya ini, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Samarinda, 07 Mei 2025

Yang membuat pernyataan,

(Theodorika Nita Juliet Ilhami)

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN
PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN
AKADEMISI**

Sebagai civitas akademik Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda, saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Theodorika Nita Juliet Ilhami

NIM : 211148201159

Program Studi : S-1 Farmasi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui memberikan kepada Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda, Hak Bebas Royalti Noneksklusif (Non-exclusive Royalty Free Right) atas skripsi saya yang berjudul: " Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 96% Daun Tahongai (*Kleinhovia Hospital L.*)Terpurifikasi N-Heksana Dengan Spektrofotometri Uv-Visible." beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda berhak menyimpan mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentukpangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di: Samarinda

Pada tanggal: 07 Mei 2025

Yang menyatakan

(Theodorika Nita Juliet Ilhami)

KUTIPAN

Kutipan atau saduran baik
Sebagai ataupun seluruh Naskah,
harus menyebut nama Pengarang
dan sumber Aslinya,
yaitu Sekolah Tinggi
Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda

PERSEMBAHAN

Tuhan Yesus Kristus, Mama
(Kornelia Kruut)
Papa (Anderias), Nia, Lina dan
Rainsmile.

ABSTRAK

Tanaman tahongai (*Kleinhovia hospita* L.) telah lama dimanfaatkan masyarakat Dayak sebagai obat tradisional. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol daun tahongai sebelum dan sesudah purifikasi menggunakan N-Heksana. Ekstraksi dilakukan dengan maserasi menggunakan etanol 96%. Identifikasi kualitatif flavonoid menggunakan KLT menunjukkan adanya senyawa tersebut pada ekstrak etanol ($R_f = 0,64$) dan ekstrak terpurifikasi ($R_f = 0,76$). Penentuan kadar flavonoid total menggunakan spektrofotometri UV-Vis menunjukkan peningkatan kadar setelah purifikasi, dari 7,129% menjadi 10,49%. Metode analisis ini memiliki linearitas yang baik ($r^2 = 0,9979$), akurasi yang memuaskan (perolehan kembali ekstrak etanol: 85,23-107,37%; ekstrak terpurifikasi: 86,98-105,54%), dan presisi yang tinggi (RSD baku 10 ppm: 0,0009%). Batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) metode ini adalah 0,5430 ppm dan 1,8009 ppm, berturut-turut. Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa purifikasi dengan N-Heksana efektif dalam meningkatkan kadar flavonoid total ekstrak daun tahongai.

Kata Kunci: Daun Tahongai, Purifikasi, Flavonoid, Spektrofotometri UV-Vis.

ABSTRACT

Tahongai plant (Kleinhovia hospita L.) has long been used by Dayak people as a traditional medicine. This study aims to measure the total flavonoid content in ethanol extract of tahongai leaves before and after purification using N-Hexane. Extraction was carried out by maceration using 96% ethanol. Qualitative identification of flavonoids using TLC showed the presence of these compounds in ethanol extract ($R_f = 0.64$) and purified extract ($R_f = 0.76$). Determination of total flavonoid content using UV-Vis spectrophotometry showed an increase in content after purification, from 7.129% to 10.49%. This analysis method has good linearity ($r^2 = 0.9979$), satisfactory accuracy (ethanol extract recovery: 85.23-107.37%; purified extract: 86.98-105.54%), and high precision (RSD standard 10 ppm: 0.0009%). The limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) of this method were 0.5430 ppm and 1.8009 ppm, respectively. The results of this study indicate that purification with N-Hexane is effective in increasing the total flavonoid content of tahongai leaf extract.

Keywords: *Tahongai Leaf, Purification, Flavonoids, UV-Vis Spectrophotometry.*

KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur kita panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul **"ANALISIS KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOL 96% DAUN TAHONGAI (*Kleinhovia hospita L.*) TERPURIFIKASI N-HEKSANA DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VISIBLE"**

Penelitian dan penulisan skripsi ini akan dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pada jurusan Farmasi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dosen Pembimbing Ibu Nurillahi Febria Leswana, M.Sc. dan Ibu Risny Oklyan, M.Farm. atas bimbingan, nasihat, dukungan, serta pengorbanan yang diberikan. Pada kesempatan ini, tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar- besarnya kepada:

1. Ibu Ns. Andrea Theofrida Bone, S.Kep., MAN. Selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.
2. Bapak apt. Raymon Simanullang, M.Pharm selaku Ketua Program Studi S-1 Farmasi.
3. Ibu Nurillahi Febria Leswana, M.Sc. Sebagai dosen Pembimbing 1 yang telah memberikan bimbingan dan masukan dalam penyusunan Skripsi.
4. Ibu Risny Oklyan, M.Farm. Sebagai dosen Pembimbing II sekaligus pembimbing akademik yang telah meluangkan waktu untuk membimbing dan memberi masukan dalam penyusunan Skripsi.
5. Bapak/ibu karyawan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda
6. Keluarga terkasih, Bapak Remigius, Bapa Kuan, Bapak Yagung Balisi, Bapak Markus, Ibu Leni, Ibu Daila, Emanuel Ua dan Sthanis De.
7. Sahabat-sahabat seperjuangan yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang banyak membantu Penulis menyelesaikan skripsi ini.

Dalam penulisan skripsi ini masih banyak kesalahan dan kekurangan karena pengetahuan yang masih sangat terbatas. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati diharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang. Penulis berharap semoga skripsi ini akan bermanfaat bagi penulis sendiri juga pihak lain yang berkepentingan.

Samarinda, Mei 2025

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	ii
PEDOMAN PENGGUNAAN DAN PERBANYAKAN SKRIPSI	iv
LEMBAR PERNYATAAN	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMISI	vi
KUTIPAN	vii
PERSEMBAHAN	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Identifikasi Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.5 Hipotesis Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Uraian Tanaman.....	4
2.1.1 Klasifikasi.....	4
2.1.2 Morfologi.....	5
2.1.3 Kandungan Kimia.....	5
2.2 Flavonoid.....	6
2.3 Metode Ekstraksi.....	7
2.4 Ekstrak Terpurifikasi.....	8
2.5 Kromatografi Lapis Tipis.....	9
2.6 Spektrofotometri Uv-Visible.....	10
2.7 Metode Validasi.....	12
2.7.1 Linearitas.....	12

2.7.2	Akurasi	12
2.7.3	Presisi	13
2.7.4	Batas Deteksi (<i>Limit Of Detection</i> , LOD).....	14
2.7.5	Batas Kuantifikasi (<i>Limit Of Quantification</i> , LOQ).....	14
BAB III METODOLOGI PENELITIAN		16
3.1	Tempat Dan Waktu Penelitian	16
3.1.1	Tempat Penelitian	16
3.1.2	Waktu Penelitian.....	16
3.2	Alat Dan Bahan Penelitian	16
3.2.1	Alat	16
3.2.2	Bahan	16
3.3	Metode Penelitian.....	16
3.3.1	Jenis Penelitian	16
3.3.2	Definisi Operasional.....	17
3.3.3	Sampel.....	17
3.3.4	Teknik Pengumpulan Data	18
3.3.5	Variabel Penelitian.....	18
3.3.6	Teknik Analisis Data	18
3.4	Prosedur Penelitian.....	19
3.4.1	Teknik Pengambilan Sampel.....	19
3.4.2	Determinasi Identifikasi Tumbuhan.....	19
3.4.3	Ekstraksi	19
3.4.4	Purifikasi Ekstrak	20
3.4.5	Analisis Kualitatif.....	20
3.4.6	Analisis Kuantitatif.....	21
3.5	Uji Validasi Metode Analisis.....	23
3.5.1	Linearitas.....	23
3.5.2	Akurasi	23
3.5.3	Presisi	24
3.5.4	Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantifikasi (LOQ).....	24
3.6	Alur Penelitian	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		26
4.1	Determinasi	26
4.2	Ekstrak	26

4.3	Hasil Identifikasi Senyawa Flavonoid Secara Kualitatif.....	27
4.4	Hasil Analisis Kuantitatif Senyawa Flavonoid.....	31
4.5	Hasil Validasi Metode	35
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		39
5.1	Kesimpulan	39
5.2	Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA.....		40
LAMPIRAN.....		46

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 2.1 Rentang Maksimum Presisi Yang Diperbolehkan	14
Tabel 4.1 Hasil Rendemen Ekstrak.	28
Tabel 4.2 Hasil Uji Reaksi Warna	30
Tabel 4.3 Analisis Kualitatif KLT	31
Tabel 4.4 Kadar Flavonoid Ekstrak Purifikasi & Ekstrak Etanol.....	35
Tabel 4.5 Akurasi.....	37
Tabel 4.6 Presisi.....	38
Tabel 4.7 LOD & LOQ.....	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Daun Tahongai.....	4
Gambar 2.2 Struktur umum flavonoid.....	7
Gambar 2.3 Skema Spektroskopi Serapan UV-Vis.	12
Gambar 4.1 Reaksi Kimia Flavonoid dengan HCl dan Mg.....	29
Gambar 4.2 Reaksi Kimia Flavonoid dengan NaOH.	29
Gambar 4.3 Hasil KLT	32
Gambar 4.4 <i>Operating Time</i> Kuersetin.....	33
Gambar 4.5 Panjang Gelombang Baku Kuersetin.....	34
Gambar 4.6 Kurva Baku Kuersetin	35
Gambar 4.7 Reaksi Antara Kuersetin dan AlCl ₃	36
Gambar 4.8 Kurva Linearitas.	38

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan rumah bagi beragam tanaman tropis, diperkirakan berjumlah sekitar 30.000 spesies di seluruh kepulauan Indonesia, menjadikannya salah satu pusat distribusi berbagai tanaman tropis di dunia. Salah satu tanaman potensial tersebut dikenal dengan nama *Kleinhovia hospita* Linn. (Wahyuni *et al.*, 2017). Tanaman tahongai merupakan suatu tanaman yang tumbuh alami di pinggiran aliran sungai Indonesia, khususnya di Kalimantan. Tahongai merupakan tanaman obat yang biasa digunakan masyarakat Dayak dalam pengobatan tradisional. Tahongai memiliki berbagai khasiat yang dapat digunakan untuk menunjang kesehatan tubuh. Masyarakat Dayak percaya bahwa secara empiris penggunaan tanaman tahongai berkhasiat sebagai obat yang mampu mengobati berbagai penyakit seperti penyakit kuning, diabetes, hipertensi, dan kolesterol. Saat ini tahongai dibudidayakan oleh petani di Kalimantan Timur untuk diolah menjadi teh herbal (Najihudin *et al.*, 2019). Bagian tanaman tahongai yang paling banyak diteliti adalah daunnya. Daun tanaman tahongai mengandung senyawa aktif (fitokimia) yaitu alkaloid, tanin, fenol, flavonoid, terpenoid, steroid, saponin, poliketida, glikosida, *scopoliten*, kuersetin, rutin, kaemferol, kardenolin, bufadienol, dan antraknon (Saputra, 2021).

Senyawa flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik yang terbesar yang terdapat di alam. Flavonoid disebut bioflavonoid karena memiliki sifat antioksidan di dalam tubuh. Flavonoid merupakan senyawa polar sehingga larut dengan baik dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilformamida dan lain-lain (Arifin & Ibrahim, 2018). Etanol 96% digunakan sebagai pelarut karena mempunyai polaritas yang tinggi sehingga dapat mengestrak metabolit sekunder lebih banyak dibandingkan dengan etanol konsentrasi rendah (Wahyulianingsih *et al.*, 2016). Senyawa flavonoid memiliki aktivitas farmakologi sebagai ; modulator steroid-genesis, aktivitas nouroprotektif, antiinflamasi, imunoregulator, antibakteri, antikanker, antidiabetes, antioksidan, antivirus, aktivitas oestrogenik,

penyakit neurodegeneratif, inhibitor AchE dan BchE, dan hepatoprotektif (Khoirunnisa & Sumiwi, 2019). Senyawa flavonoid tidak tahan pemanasan dan mudah teroksidasi pada suhu yang tinggi. Senyawa flavonoid mengalami kerusakan pada suhu pemanasan 85°C dan senyawa fenol dapat mengalami degradasi pada suhu pemanasan 90°C selama 4 menit, sehingga pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi. Maserasi merupakan metode ekstraksi dengan proses perendaman simplisia dan tidak perlu pemanasan, sehingga tidak menurunkan kadar senyawa yang terkandung dalam sampel (Wahyulianingsih *et al.*, 2016). Pada penelitian Solihah (2018), daun tahongai mengandung fitokimia antara lain alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, triterpenoid dan steroid (Solihah, 2018). Hal tersebut sejalan dengan penelitian Leswana & Sianturi (2024), dimana hasil skrining fitokimia terhadap infusa daun tahongai positif mengandung fenol, flavonoid, saponin, tannin (Leswana & Sianturi 2024). Secara kuantitatif ekstrak etanol daun tahongai mengandung alkaloid 2,83%, flavonoid 19,78% dan saponin 14,23% dan mengandung flavonoid yang ditunjukkan adanya ikatan O-H, ikatan rangkap C=C dan ikatan C-H berdasarkan hasil analisis uji FTIR (Yunita *et al.*, 2019).

Peningkatan aktivitas bahan aktif senyawa alam dapat dilakukan dengan purifikasi. Purifikasi merupakan metode untuk mendapatkan komponen bahan alam murni dari komponen kimia lain yang tidak dibutuhkan dan kemurnian bahan harus 95-100% (Suryani *et al.*, 2017). Purifikasi ekstrak dilakukan untuk menghilangkan adanya zat ballast yang tidak menghasilkan efek terapi. Zat *ballast* merupakan senyawa pengotor yang terkandung dalam sampel seperti (klorofil, lemak, protein, resin, lilin dan senyawa nonpolar lainnya) yang dapat mengganggu suatu bahan alam dalam menghasilkan aktivitas biologinya (Sukmanastiti *et al.*, 2024). Pada penelitian Pratimasari (2023), didapatkan kadar flavonoid total yang lebih besar adalah ekstrak terpurifikasi daun umbi bit dibandingkan ekstrak etanol daun umbi bit (Pritamasari, 2023).

Berdasarkan latar belakang tersebut perlu dilakukan analisis kadar flavonoid total ekstrak etanol daun tahongai (*Kleinhovia hospita L.*) terpurifikasi N-Heksana dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

1.2 Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka identifikasi masalah dari penelitian ini, yaitu :

1. Apakah ekstrak etanol daun tahongai terpurifikasi N-Heksana mengandung senyawa flavonoid ?
2. Berapakah kadar flavonoid total ekstrak etanol terpurifikasi dan ekstrak etanol tidak terpurifikasi daun tahongai ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui apakah dalam ekstrak terpurifikasi daun tahongai mengandung senyawa flavonoid.
2. Untuk mengetahui kadar flavonoid total antara ekstrak etanol terpurifikasi dan ekstrak etanol tidak terpurifikasi daun tahongai.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritis :

Penelitian ini bermanfaat untuk menambah wawasan dan pengetahuan peneliti mengenai kadar total senyawa flavonoid ekstrak terpurifikasi daun tahongai

2. Manfaat praktis :

Memberikan informasi kepada para pembaca tentang kadar flavonoid yang terkandung dalam daun tahongai

1.5 Hipotesis Penelitian

H_0 : Ekstrak terpurifikasi daun tahongai tidak mengandung senyawa flavonoid.

H_1 : Ekstrak terpurifikasi daun tahongai mengandung senyawa flavonoid dengan kadar tertentu.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Uraian Tanaman

Kalimantan Timur memiliki sumber daya alam keanekaragaman hayati yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai produk pangan dan non pangan. Salah satu diantara keanekaragaman hayati hasil hutan non kayu adalah daun tanaman tahongai (*Kleinhovia hospita* L) (Saputra dan Sampepana, 2016). Tahongai adalah salah satu tumbuhan obat yang saat ini sedang mendapat perhatian masyarakat di Kalimantan Timur. Tumbuhan *K. hospita* termasuk dalam ordo Malvaceae dan famili *Sterculiaceae*.

2.1.1 Klasifikasi

Kerajaan	: Plantae
Subkerajaan	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermathophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Dillenidae
Ordo	: Malvales
Famili	: Malvaceae
Genus	: <i>Kleinhovia</i> L.
Spesies	: <i>Kleinhovia hospital</i> L.



Gambar 2.1 (Dokumentasi Pribadi)

2.1.2 Morfologi

Pohon tahongai berukuran pendek hingga sedang, tingginya antara 5-20 m. Pepagan berwarna kelabu, dengan ranting abu-abu kehijauan dan berambut jarang. Batang daun tahongai berukuran panjang 3-5 x 5-10 cm. Daun tahongai berbentuk hati lebar, berukuran 24-27 x 4,5 x 3-24 cm, dengan pangkal bertulang dengan daun menjari. Bunga tahongai dikumpulkan di ujung dahan, lebar, dan berambut halus, dan berambut halus serta daun berbentuk lonjong. Bunga tahongi mempunyai lima kelopak, ukuran 6-19 mm, warna merah jambu, dengan bulu luar seperti bintang. 5 kelopak, empat di antaranya bergerombol lebar, pangkal berbentuk kantung sepanjang 6 mm dan berwarna merah, kelopak kelima lebih pendek, bulat melintang, dan tepi terlipat ke dalam dan menyatu, berujung kuning. Pangkal bunga memanjang dengan androginofofor yang tipis, pangkalnya dikelilingi bunga berbentuk cangkir. Bentuk buah tahongai panjangnya sekitar 5 cm, berwarna merah muda kehijauan dan bulat. Biji tahongai berbentuk hampir bulat dengan diameter 1,5-2 mm dan berwarna hitam atau coklat tua. Buah tahongai berbentuk seperti pir, bertaju lima, panjang sekitar 2 cm, membuka menurut ruang, berwarna merah muda kehijauan dan menggantung. Biji tahongai berbentuk hampir bulat dengan diameter 1,5-2 mm, berwarna hitam atau coklat gelap (Paramita, 2016).

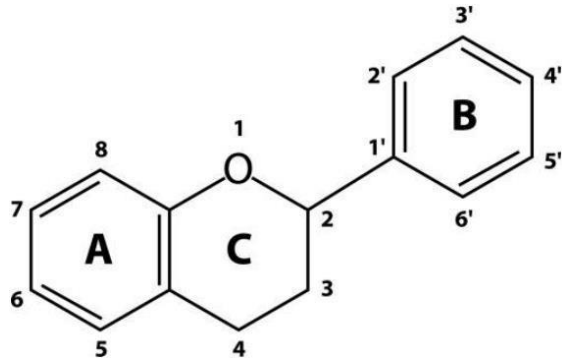
2.1.3 Kandungan Kimia

Kandungan senyawa kimia dalam daun tahongai adalah saponin, cardenolin, bufadienol dan antraknon (Raflizar & Sihombing, 2009) dan flavonoid (kuersetin dan rutin), alkaloid, steroid dan saponin (Yuliana *et al.*, 2013). Terdapat enam macam pentacyclic triterpenoid dan lima jenis steroid C29, berhasil diisolasi dari *K. hospita* (Mo *et al.*, 2014). Selain itu terdapat empat macam *cycloartane* triterpenoid alkaloid, yang berhasil diisolasi dari *K. hospita*, yaitu Kleinhospitines A, B, C dan D (Zhou *et al.*, 2013). Terdapat dua triterpenoid, 2,3-

dihidroksi-12-oleanen-28-olat dan 2-hidroksi-12-oleanen-28-olat yang berhasil diisolasi dari kulit batang dan akar *K. hospita* (Erwin *et al.*, 2010). Eleutherol dan kaempferol 3-O-B-Dglucoside telah berhasil diisolasi dari daun *K. hospita* (Arung *et al.*, 2012). Terdapat senyawa alkaloid quinolin yang tersubstitusi metoksi alilik benzen, berhasil diisolasi dari *K. hospita*. Penelitian lain menemukan adanya senyawa fenol dan alkaloid yang berhasil diisolasi dari *K. hospita* (Dini & Darminto, 2012). Terdapat senyawa golongan terpenoid turunan lupeol yang berhasil diisolasi dari kulit batang *K. hospita* (Dini, 2008). Penelitian lain menemukan adanya *4-hydroxy cinnamamide* yang berhasil diisolasi dari ekstrak etil asetat kulit akar *K. hospita*. Senyawa ini memiliki pola struktur fenilpropanoid (golongan fenolik), dengan demikian *K. hospita* termasuk tumbuhan yang mengandung senyawa fenol, sehingga spesies ini merupakan salah satu sumber senyawa kimia yang unik (Ilyas, 2014). Selain itu ditemukan beta sitosterol yang merupakan komponen utama dari ekstrak n-heksan kulit batang *K. hospita* (Pratama, 2013). Pada penelitian Yunita (2019), digunakan pelarut metanol 80% diperoleh hasil bahwa daun tahongai mengandung senyawa golongan alkaloid (positif uji wagner), flavonoid, dan saponin dengan kandungan masing-masing berturut-turut sebesar 2,83%, 19,78%, dan 14,23% dengan metode spektrofotometri uv-vis.

2.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan polifenol yang terdiri dari 15 atom karbon, dengan dua cincin aromatik (cincin A dan cincin B) yang terhubung melalui sebuah jembatan dengan tiga atom karbon (cincin C), seperti terlihat pada Gambar 2.2. Gugus hidroksil umumnya hadir pada posisi atom no 4, 5, dan 7. Gula sangat umum hadir terikat dengan flavonoid membentuk senyawa glikosida. Keberadaan gugus hidroksil dan gula meningkatkan polaritas dan kelarutan pada air. Sebaliknya, gugus lain seperti metil dan isopentil akan menurunkan polaritas dan kelarutan pada air.



Gambar 2.2. Struktur umum flavonoid (Nugroho, 2017).

Flavonoid diklasifikasikan sebagai flavon, flavanone, flavonol, katekin, flavanol, kalkon dan antosianin (Panche *et al.*, 2016). Pembagian kelompok flavonoid didasarkan pada perbedaan struktur terutama pada substitusi karbon pada gugus aromatik sentral dengan beragamnya aktivitas farmakologi yang ditimbulkan (Wang *et al.*, 2018).

Flavonoid merupakan suatu metabolit sekunder pada tumbuhan yang memiliki khasiat sebagai obat. Berbagai tanaman obat yang memiliki kandungan flavonoid telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, anti-virus, anti-bakteri, anti-alergi, anti-radang dan antikanker (Alzanando *et al.*, 2022).

2.3 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan senyawa aktif dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Mukhriani *et al.*, 2014). Proses ekstraksi bahan alam dipengaruhi oleh faktor internal dan eksternal. Adapun faktor eksternal terdiri dari faktor yaitu suhu, ukuran bahan, waktu ekstraksi, jenis pelarut, kondisi pengadukan. Faktor internal terdiri dari jenis senyawa aktif dalam bahan, komposisi kualitatif dan kuantitatif senyawa aktif (Wahyuningsih *et al.*, 2024).

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling sederhana. Meskipun demikian, metode ini masih secara luas digunakan karena beberapa

kelebihan seperti biaya yang murah, peralatan yang sederhana, serta tanpa perlakuan panas sehingga menjadi pilihan tepat untuk ekstraksi senyawa-senyawa yang tidak tahan panas (*termolabile*) (Nugroho, 2017).

Prosedur maserasi adalah dengan merendam bahan baku yang telah disiapkan (dikeringkan dan digiling) ke dalam pelarut yang sesuai pada suatu bejana dan ditempatkan pada suhu ruang dan ditunggu untuk beberapa waktu. Pengadukan secara kontinyu atau berkala juga dapat dilakukan untuk mempercepat proses ekstraksi. Proses ekstraksi dapat dihentikan jika telah diperoleh titik jenuh (*equilibrium*) antara konsentrasi senyawa metabolit pada larutan ekstrak dengan konsentrasi senyawa metabolit pada bahan. Setelah selesai maka larutan ekstrak dapat disaring dengan kertas saring untuk memisahkan dengan bahan asalnya. Untuk meningkatkan rendemen, maka prosedur di atas dapat diulangi hingga dua atau tiga kali dengan menggunakan sisa/ampas bahan hasil ekstraksi tahap pertama. Hal ini dimungkinkan karena pada ekstraksi tahap pertama, tepatnya pada saat titik *equilibrium* di mana kesetimbangan konsentrasi tercapai, masih ada sisa senyawa metabolit yang tertinggal pada bahan dan masih berpeluang untuk diambil kembali dalam rangka meningkatkan rendemen totalnya (Nugroho, 2017).

2.4 Ekstrak Terpurifikasi

Ekstrak terpurifikasi dibuat dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan dua pelarut yang saling bercampur yaitu N-Heksana dan etanol.

Proses purifikasi di hentikan hingga menghasilkan fase N-Heksana yang berwarna jernih. Fase etanol yang sudah terbebas dari komponen non polar selanjutnya disebut sebagai EPS. Purifikasi ekstrak adalah salah satu cara menghilangkan senyawa yang tidak diinginkan. Purifikasi ekstrak diharapkan akan meningkatkan khasiat senyawa aktif dalam ekstrak (Srijanto *et al.*, 2012).

Keuntungan proses purifikasi ekstrak yaitu hasil yang didapat dari ekstrak terpurifikasi lebih murni karena sudah terbebas dari zat ballast (pengotor), sehingga kandungan metabolit aktif dan jumlah kandungan senyawa aktif yang dihasilkan lebih tinggi (Luhurningtyas *et al.*, 2021). pada penelitian Wuryandari (2019), menunjukkan bahwa fraksinasi ekstrak

petroleum eter daun kelor dengan N-Heksana mampu meningkatkan kadar vitamin E.

2.5 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis adalah suatu analisis sederhana yang dapat digunakan untuk melakukan penengasan terhadap senyawa kimia yang terkandung pada tumbuhan disamping skrining fitokimia, dengan tujuan akhirnya mampu mengidentifikasi komponen-komponen dengan tujuan akhirnya mampu untuk mengidentifikasi komponen-komponen individual (Forestryana & Arnida, 2020). Prinsip kerja kromatografi lapis tipis adalah pemisahan sampel berdasarkan perbedaan kepolaran dari sampel dan pelarut fase gerak yang digunakan. Teknik KLT menggunakan fase diam dalam bentuk jel silika (atau alumina) dan fase geraknya bisa berupa air atau pelarut organik. Fase gerak merupakan pelarut atau campuran pelarut yang sesuai (Kurniawati, 2017).

Metode pemisahan pada kromatografi sangat tergantung dari jenis fase diam yang digunakan. Jenis fase diam yang digunakan menentukan interaksi yang terjadi antara analit dengan fase diam dan fase gerak. Metode pemisahan pada kromatografi lapis tipis pemisahannya berdasarkan pada polaritas. Dimana pemisahan berdasarkan polaritas yaitu senyawa-senyawanya terpisah karena perbedaan polaritas. Afinitas analit terhadap fase diam dan fase gerak tergantung kedekatan polaritas analit terhadap fase diam dan fase gerak. Analit yang mempunyai sifat polar maka memiliki afinitas tinggi dengan pelarut polar dan terhadap pelarut yang non polar maka afinitasnya menjadi rendah. Sebaliknya jika analit mempunyai sifat non polar maka memiliki afinitas tinggi dengan pelarut non polar dan terhadap pelarut yang polar maka afinitasnya menjadi rendah (L. Wulandari, 2011).

Deteksi Bercak Bercak pada pemisahan yang terjadi biasanya tidak berwarna biasanya disemprot supaya bercak terlihat jelas atau di lihat pada sinar uv. Identifikasi senyawa yang terpisah pada kromatografi menggunakan harga R_f (*Retardation factor*) yang menggambarkan jarak yang ditempuh suatu komponen terhadap jarak keseluruhan, yaitu jika bercak sudah berwarna lebih

mudah langsung dapat menghitung nilai Rf. Nilai Rf yang baik yaitu antara 0,2-0,8.

2.6 Spektrofotometri Uv-Visible

Spektrofotometer UV-VIS adalah salah satu metode instrumen yang paling sering diterapkan dalam analisis kimia untuk mendeteksi senyawa (padat/cair) berdasarkan absorbansi foton. Agar sampel dapat menyerap foton pada daerah UV-VIS (panjang gelombang foton 200 nm – 700 nm), biasanya sampel harus diperlakukan atau derivatisasi, misalnya penambahan reagen dalam pembentukan garam kompleks dan lain sebagainya. Unsur diidentifikasi melalui senyawa kompleksnya (Irawan, 2019).

Prinsip kerja dari spektrofotometri UV-Vis adalah saat radiasi atau cahaya putih ini dilewatkan melalui larutan berwarna maka dari radiasi yang memiliki panjang gelombang tertentu ini akan diserap secara selektif dan radiasi lainnya akan ditransmisikan. Absorbansi merupakan hasil perbandingan dari intensitas sinar yang diserap dengan intensitas sinar datang. Nilai absorbansi ini bergantung dengan kadar dari zat yang terdapat di dalamnya, jadi bila makin banyak dari jumlah kadar zat yang terkandung di sampel maka semakin banyak molekul yang akan mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu sehingga nilai absorbansi yang dihasilkan akan semakin besar (Gusnedi, 2013). Adapun yang melandasi pengukuran spektrofotometer ini dalam penggunaannya adalah hukum Lambert-Beer yaitu bila suatu Cahaya monokromatis dilewatkan melalui suatu media yang transparan, maka intensitas cahaya yang ditransmisikan sebanding dengan tebal dan kepekaan media larutan yang digunakan berdasarkan persamaan berikut 2.1. (Fatimah & Yanlinastuti, 2016).

$$A = \log I/I_0 \text{ atau } A = a.b.c \quad (2.1)$$

Dimana

- A = absorbansi
- a = koefisien serapan molar
- b = tebal media cuplikan yang dilewati sinar
- c = konsentrasi unsur dalam larutan cuplikan

I_0 = intensitas sinar mula-mula
 I = intensitas sinar yang diteruskan

$$Y = ax - b \quad (2.2)$$

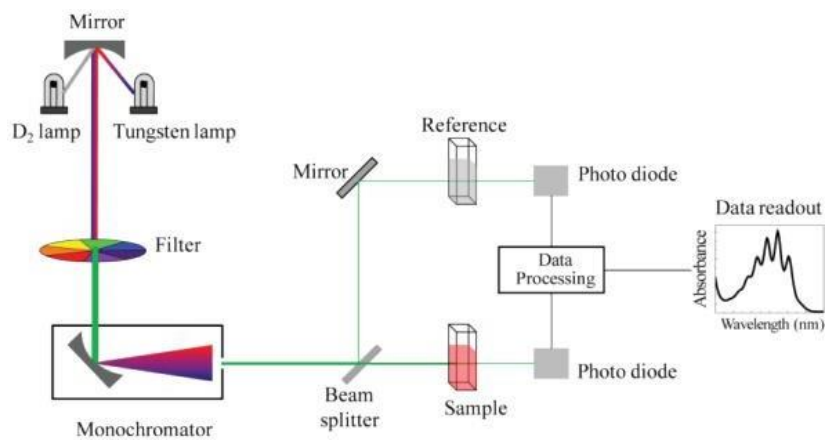
Dimana Y = absorbansi
 a = konstanta
 x = konsentrasi
 b = kemiringan/slope

Sedangkan untuk mengetahui besaran persentase kadar digunakan persamaan berikut 2.2 :

$$A = \frac{C \times F_p \times V \times 100\%}{B \times 10^6} \quad (2.3)$$

Dimana : A = persentase sampel terukur (%)
 C = konsentrasi yang diperoleh ($\mu\text{g/mL}$)
 F_p = faktor pengenceran
 V = volume pelarutan (mL)
 B = berat cuplikan (g)

Skema pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada (Gambar 2.2) :



Gambar 2.2 Skema Spektroskopi Serapan UV-Vis (Suhartati, 2017).

2.7 Metode Validasi

2.7.1 Linearitas

Linearitas adalah kemampuan untuk memperoleh hasil yang berbanding lurus dengan konsentrasi analit dalam sampel, di seluruh rentang yang ditentukan, yaitu interval antara kadar analit atas dan bawah. Linearitas dapat dievaluasi melalui kurva kalibrasi dengan 5 titik dalam rangkap tiga dalam rentang minimum 80 hingga 120% dari konsentrasi uji. Linearitas diperkirakan berdasarkan koefisien korelasi kurva linearitas, intersep y, kemiringan garis regresi, dan jumlah kuadrat residual. Penentuan linieritas dilakukan dengan mengukur absorbansi dari berbagai konsentrasi larutan standar pada panjang gelombang maksimum. Kemudian hasil absorbansi tersebut dianalisis dengan persamaan garis regresi linier lalu ditentukan koefisien korelasinya. Sehingga dari persamaan tersebut dapat ditentukan linieritasnya, kriteria linieritas yang baik yaitu $>0,999$ sehingga dapat digunakan untuk menghitung presisi dan akurasi (Eserian & Lombardo, 2015).

2.7.2 Akurasi

Akurasi adalah suatu parameter metode untuk mengukur seberapa dekat hasil uji terhadap nilai yang benar. Metode akurasi dalam penetapannya ditentukan dengan analit yang kemurniannya sudah diketahui, atau senyawa lain yang akurasinya telah ditetapkan. Metode akurasi dinyatakan sebagai persentase *recovery* dari penentuan jumlah analit yang ditambahkan dan jumlahnya sudah diketahui ke dalam sampel, atau sebagai selisih antara hasil rata-rata dengan hasil benar yang diterima bersama dengan batas kepercayaannya (Kemenkes, 2014). Metode analisis memiliki nilai akurasi yang baik ditunjukkan dengan persentase perolehan kembali (*recovery*) sebesar 80-110% (Puspitasari & Wulandari, 2017).

Ada dua metode untuk mengukur akurasi, yaitu:

1. Metode simulasi

Metode simulasi atau dikenal dengan spike-placebo recovery merupakan analisis jumlah analit senyawa murni yang ditambahkan kedalam plasebo (Harmita, 2004).

2. Metode adisi

Metode adisi yaitu pengukuran sejumlah analit tertentu yang akan diuji, yang ditambahkan kedalam sampel, lalu dicampur kemudian dianalisis kembali. Selanjutnya perbedaan dari kedua hasil uji dibagi dengan hasil yang sebenarnya (Harmita, 2004).

2.7.3 Presisi

Presisi merupakan derajat kedekatan hasil pengujian ketika prosedur diterapkan berulang kali pada beberapa sampel atau sampel yang homogen. Presisi dapat dinyatakan sebagai koefisien variasi (CV) dari serangkaian pengukuran. Repeatability adalah pengukuran dimana metode analisis dilakukan dalam kondisi normal. Intermediate precision adalah pengukuran keberagaman yang dilakukan di laboratorium yang sama, pada hari yang berbeda, atau peralatan yang digunakan berbeda, atau oleh analisis yang berbeda. ICH merekomendasikan bahwa presisi repeatability dilakukan menggunakan minimal 9 penetapan, yaitu 3 konsentrasi dan 3 replikasi untuk masing-masing konsentrasi, atau menggunakan minimal 6 penetapan pada konsentrasi uji konsentrasi 100% (Kemenkes, 2014). Persyaratan parameter presisi dinyatakan dalam % RSD < 2% (Puspitasari & Wulandari, 2017).

Batas presisi yang dapat diterima ditunjukkan pada Tabel 2.1 (Eserian & Lombardo, 2015)

Tabel 2.1 Rentang Maksimum Presisi Yang Diperbolehkan

<i>Concentrati on of analyte (%)</i>	<i>Concentrati on of analyte (ppm)</i>	Concentrat ion with w/w units	Concentrat ion fraction	Horwitz- Thompson reproducibi lity value (RSD%)
100	-	1.000 g/g	1	2
1	10.000	10 mg/g	0.01	4
0.1	1000	1 mg/g	0.001	5.7
0.05	500	500 µg/g	0.0005	6
0.01	100	100 µg/g	0.0001	8
0.001	10	10 µg/g	0.00001	11
0.0001	1	1 µg/g	0.000001	16
0.00001	100 ppb	0.1 µg/g	0.000001	22
<0.00001	<100 ppb	<0.1µg/g	<1×10 ⁻⁷	22

2.7.4 Batas Deteksi (*Limit Of Detection, LOD*)

Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi. LOD merupakan batas uji yang secara spesifik menyatakan apakah analit di atas atau di bawah nilai tertentu. Definisi batas deteksi yang paling umum digunakan dalam kimia analisis adalah bahwa batas deteksi merupakan kadar analit yang memberikan respon sebesar respon blanko (y_b) ditambah dengan 3 simpangan baku blanko ($3S_b$) (Gandjar *et al.*, 2007).

2.7.5 Batas Kuantifikasi (*Limit Of Quantification, LOQ*)

Batas kuantifikasi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan. Sebagaimana LOD, LOQ juga diekspresikan sebagai

konsentrasi (dengan akurasi dan presisi juga dilaporkan). Jika konsentrasi LOQ menurun maka presisi juga menurun. Jika presisi tinggi dipersyaratkan, maka konsentrasi LOQ yang lebih tinggi harus dilaporkan (Gandjar *et al.*, 2007).

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat Dan Waktu Penelitian

3.1.1 Tempat Penelitian

Pengujian analisis senyawa flavonoid total pada ekstrak terpurifikasi daun tahongai (*Kleinhovia hospita L.*) dilakukan di Laboratorium Kimia Sekolah Tinggi Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

3.1.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan bulan Desember 2024 – April 2025.

3.2 Alat Dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian kali ini adalah *oven*, blender, ayakan no 40 mesh, timbangan analitik, toples kaca, batang pengaduk, cawan porselen, *waterbath*, *ratory evaporator*, seperangkat alat gelas ukur (Iwaki®), labu ukur (Iwaki®), erlenmeyer, tabung reaksi, dudukan tabung reaksi, corong kaca, corong pisah & dudukan corong pisah, *stopwach*, pipet tetes, pipet ukur, mangkok kecil, sendok & spatel, nampan, pipa kapiler, *chamber*, plat KLT (Merck®) dan seperangkat alat spektrofotometri UV-Vis (Labstac) (Merck®) .

3.2.2 Bahan

Ekstrak daun tahongai, *aluminium foil*, kertas saring, kloroform, aquadest, serbuk magnesium, HCl pekat, NaOH, etanol 96% (OneMed), etanol p.a, kertas saring, kalium asetat, AlCl₃ 10% dan senyawa kuersetin.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan menguji ekstrak etanol terpurifikasi daun tahongai secara kualitatif untuk mengetahui adanya kandungan flavonoid, serta dilakukan

pengujian secara kuantitatif untuk mengetahui kadar flavonoid total yang terkandung dalam daun tahongai.

3.3.2 Definisi Operasional

1. Daun Tahongai

Daun tahongai merupakan salah satu contoh kekayaan alam Indonesia yang memiliki potensi besar dalam bidang kesehatan, yang tumbuh di pinggiran aliran sungai Indonesia, khususnya di Kalimantan.

2. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman daun tahongai.

3. Purifikasi

Proses pemurnian ekstrak daun tahongai menggunakan pelarut n-heksan untuk menghilangkan senyawa lain yang tidak diinginkan.

4. Uji Kualitatif

Uji kualitatif merupakan metode untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada sampel ekstrak etanol terpurifikasi daun tahongai dengan melakukan uji fitokimia senyawa flavonoid dan KLT.

5. Uji Kuantitatif

Uji kuantitatif merupakan metode yang digunakan untuk mengidentifikasi kadar metabolit sekunder yang terkandung pada sampel ekstrak etanol terpurifikasi daun tahongai dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.3.3 Sampel

Sampel dalam penelitian ini menggunakan daun tahongai yang diperoleh di desa Belayan, Kecamatan Malinau Utara, Kab. Malinau, Provinsi Kalimantan Utara.

3.3.4 Teknik Pengumpulan Data

3.3.4.1 Data Primer

Data yang diperoleh dengan mengumpulkan daun tahongai yang akan di uji di laboratorium Kimia STIKES Dirgahayu Samarinda dengan metode spektrofotometer UV-Vis untuk menetapkan kadar senyawa flavonoid total.

3.3.4.2 Data Sekunder

Data sekunder diperoleh dari berbagai jurnal ilmiah, buku maupun literatur lain yang mendukung serta berkaitan dengan penelitian ini, sebagai acuan dalam rancangan penelitian.

3.3.5 Variabel Penelitian

3.3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol daun tahongai terpurifikasi.

3.3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar flavonoid total dalam sampel.

3.3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi, waktu ekstraksi, suhu dan panjang gelombang pengukuran.

3.3.6 Teknik Analisis Data

Hasil penelitian dengan uji kualitatif berupa tabel dan gambar dari pengamatan perubahan yang terjadi dalam mereaksikan sampel serta nilai Rf. Hasil penelitian uji kuantitatif berupa nilai absorbansi dari sampel. Kadar sampel akan diketahui melalui perhitungan kurva baku yang diperoleh dari nilai $y = bx + a$, dimana y merupakan nilai absorbansi dan x adalah kadar yang terukur.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Teknik Pengambilan Sampel

Karakteristik daun yang digunakan ialah daun yang tidak terlalu muda. Penyortiran segera dilakukan setelah sampel selesai dipetik. Pencucian bertujuan untuk menghilangkan kotoran dan mengurangi mikroba-mikroba yang menempel pada sampel. Pencucian dilakukan dengan menggunakan air mengalir agar kotoran yang menempel dapat tercuci bersih. Perajangan dilakukan untuk memperluas permukaan sampel sehingga lebih cepat kering tanpa pemanasan yang berlebih. Pengeringan sampel dilakukan dengan cara diangin-anginkan di bawah sinar matahari. Pengeringan dilakukan untuk mengeluarkan atau menghilangkan air dari sampel. Sampel yang telah kering merata kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender. Simplisia daun Tahongai yang telah halus disimpan dalam toples kaca, di tempat yang kering, tidak lembab, dan terhindar dari sinar matahari langsung.

3.4.2 Determinasi Identifikasi Tumbuhan

Daun Tahongai (*Kleinhovia hospita L*) dilakukan determinasi di Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan Tropis Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda. Hasil dari determinasi akan menyatakan bahwa spesies *Kleinhovia hospita L*. atau bukan.

3.4.3 Ekstraksi

Simplisia daun Tahongai ditimbang sebanyak 200 gr kedalam wadah kaca (toples). Etanol sebanyak 2000 ml ditambahkan kedalam wadah dan dimaserasi selama 3×24 jam dengan perbandingan (2:10). Ekstrak yang dihasilkan kemudian disaring untuk memisahkan filtrat dan residunya. Filtrat dipekatkan dengan menggunakan *waterbath* sehingga akan diperoleh ekstrak kental.

Ekstrak kental yang diperoleh dihitung persen (%) rendemennya dengan rumus 3.1.

$$\frac{\text{bobot ekstrak (g)}}{\text{bobot simplisia (g)}} \times 100\% \quad (3.1)$$

3.4.4 Purifikasi Ekstrak

Ekstrak kental ditimbang sebanyak 20 gr, dituangkan kedalam erlenmeyer kemudian di tambahkan aquades sebanyak 400 ml dan diaduk hingga ekstrak kental terlarut. Suspensi hasil pengenceran ekstrak kental dengan air panas kemudian dimasukkan kedalam corong pisah dan ditambahkan N-Heksana sebanyak 400 ml (perbandingan 1:1). Setelah itu lakukan penggojogan kurang lebih selama 1 menit, kemudian didiamkan dan di ambil lapisan bawahnya. Penambahan N-Heksana dilakukan sebanyak dua kali fraksinasi hingga diperoleh fraksi N-Heksana yang bening, kemudian dipekatkan sehingga diperoleh ekstrak kental.

3.4.5 Analisis Kualitatif

3.4.5.1 Uji Reaksi Warna

Sebanyak 5 gr ekstrak etanol daun tahongai diencerkan pada 5 ml aquadest (Sukmanastiti *et al.*, 2024).

1) Uji kualitatif flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl Pekat

Ambil 1 ml ekstrak etanol daun tahongai yang sudah di encerkan masukkan kedalam tabung reaksi, tambahkan serbuk Mg dan beberapa tetes HCl pekat. Positif terdapat flavonoid apabila terbentuk warna merah jingga.

2) Uji kualitatif flavonoid dengan HCl Pekat

Ambil 1 ml ekstrak etanol daun tahongai yang sudah di encerkan masukkan kedalam tabung reaksi, tambahkan beberapa tetes

HCl pekat kemudian panaskan selama 15 menit. Positif terdapat flavonoid apabila terbentuk warna merah.

3) Uji kualitatif dengan NaOH encer

Ambil 1 ml ekstrak etanol daun tahongai yang sudah di encerkan masukkan kedalam tabung reaksi, tambahkan NaOH encer sebanyak 2 tetes dan dikocok kuat. Positif terdapat flavonoid apabila terbentuk warna kuning hingga kuning kecoklatan.

3.4.5.2 Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak etanol dan ekstrak terpurifikasi daun tahongai ditotolkan pada jarak ± 1 cm dari tepi bawah plat dengan pipa kapiler kemudian dielusi dengan fase gerak berupa N-Heksana : etil asetat dibuat dalam perbandingan (8:2). Noda yang terbentuk diamati di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 dan 365 nm. Perhitungan nilai Rf ditunjukkan oleh persamaan 3.2 :

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang di tempuh zat}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}} \quad (3.2)$$

3.4.6 Analisis Kuantitatif

3.4.1.1 Pembuatan Larutan Induk (kuersetin 1000 ppm)

Kuersetin ditimbang sebanyak 100 mg, dilarutkan kuersetin dengan pelarut etanol p.a 10 ml dalam gelas kimia, beaker glass, kemudian dipindahkan kedalam labu ukur 100 ml, dilarutkan dengan pelarut etanol p.a sampai tanda batas.

3.4.1.2 Pembuatan Larutan Blanko

Larutan blanko digunakan untuk kalibrasi sebagai pembanding dalam analisis spektrofotometri. Larutan ini berisi etanol p.a sebanyak 1,5 ml, kalium asetat 1M 0,1 ml, AlCl₃ 10% 0,1 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, kemudian ditambahkan aquadest sampai tanda batas.

3.4.1.3 Penentuan *Operating Time* Kuersetin 10 ppm

Larutan standar (10 ppm) dipipet sebanyak 1 ml, masukkan dalam labu ukur 10 ml tambahkan 1,5 ml etanol p.a, 0,1 ml AlCl_3 10%, 0,1 ml kalium asetat, kemudian encerkan dengan aquades sampai tanda batas kemudian homogenkan. Absorbansi diukur selama 40 menit setiap 5 menit menggunakan panjang gelombang maksimum teoritis 428 nm sampai didapatkan absorbansi yang stabil.

3.4.1.4 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan standar (10 ppm) dimasukkan ke dalam kuvet di ukur absorbansi pada *range* gelombang 300-500 nm, ditentukan nilai panjang gelombang maksimum kuersetin.

3.4.1.5 Pembuatan Kurva Kalibrasi Seri

Seri larutan standar masing-masing konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10 ppm dipipet sebanyak 0,5 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan etanol p.a 1,5 ml, AlCl_3 10% 0,1 ml, kalium asetat 1M 0,1 ml dan ditambahkan aquades 2,8 ml, kocok sampai homogen. Larutan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit dan serapan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

3.4.1.6 Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Terpurifikasi Dan Ekstrak Etanol Daun Tahongai

Ekstrak terpurifikasi dan ekstrak etanol daun tahongai ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sebanyak 5 ml, dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml, tambahkan etanol p.a sampai tanda batas, dipipet 1 ml dimasukkan ke labu 10 ml ditambahkan etanol sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan sampel 100 ppm. Lalu larutan dengan konsentrasi 100 ppm dipipet sebanyak 0,5 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan etanol p.a 1,5 ml, AlCl_3 10% 0,1 ml, kalium asetat 1M 0,1 ml dan ditambahkan aquadest

2,8 ml, kemudian dikocok sampai homogen. Larutan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Serapan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Untuk menghitung persentase kadar digunakan persamaan berikut :

$$A = \frac{V \times C \times Fp}{B} \times 100\% \quad (3.3)$$

Dimana :
A = Kadar Flavonoid Total (%)
C = Kesetaraan Kuersetin (mg/L)
Fp = faktor pengenceran
V = volume pelarutan (mL)
B = berat cuplikan (mg)

3.5 Uji Validasi Metode Analisis

3.5.1 Linearitas

Linieritas dilakukan dengan cara membuat larutan baku kuersetin 100 ppm kemudian dibuat larutan baku kerja dengan konsentrasi 2; 4; 6; 8 dan 10 ppm lalu dipipet 1 ml kemudian ditambahkan 0,1 ml AlCl₃ 10%, 0,1 ml kalium asetat. Setelah itu diinkubasi selama 20 menit, absorbansi dari larutan pembanding diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Berdasarkan nilai koefisien kolerasi dapat diketahui linieritasnya baik atau tidak. Koefisien kolerasi dikatakan baik apabila $r \geq 0,99$ (Sukmawati *et al.*, 2018).

3.5.2 Akurasi

Masing-masing sampel ekstrak terpurifikasi dan ekstrak etanol daun tahongai dipipet 1 ml, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml. Kemudian ditambahkan kuersetin baku sebanyak 5; 10; dan 15 ppm, kemudian dianalisis dengan prosedur yang sama seperti pada sampel. Hasil dinyatakan dalam persen perolehan kembali (% *recovery*).

Persen perolehan kembali dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut 3.4 (Sukmawati *et al.*, 2018).

$$\% Recovery = \frac{\text{kadar sesungguhnya}}{\text{kadar teoritis}} 100\%$$

3.5.3 Presisi

Larutan kuersetin 100 ppm di pipet 1 mL dari larutan stok kemudian dimasukkan kedalam labu terukur 10 mL. Dipipet 1 mL dari konsentrasi 100 ppm hingga kadarnya 10 ppm. Kemudian larutan baku kuersetin dengan konsentrasi 10 ppm tersebut didiamkan selama waktu operating time kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Uji ketelitian ini dilakukan sebanyak 6 kali pengulangan. Uji presisi (keeksamaan) ditentukan dengan parameter RSD (Relative Standard Deviasi). Presisi dari metode pengujian ditentukan oleh rumus 3.4 (Eserian & Lombardo, 2015):

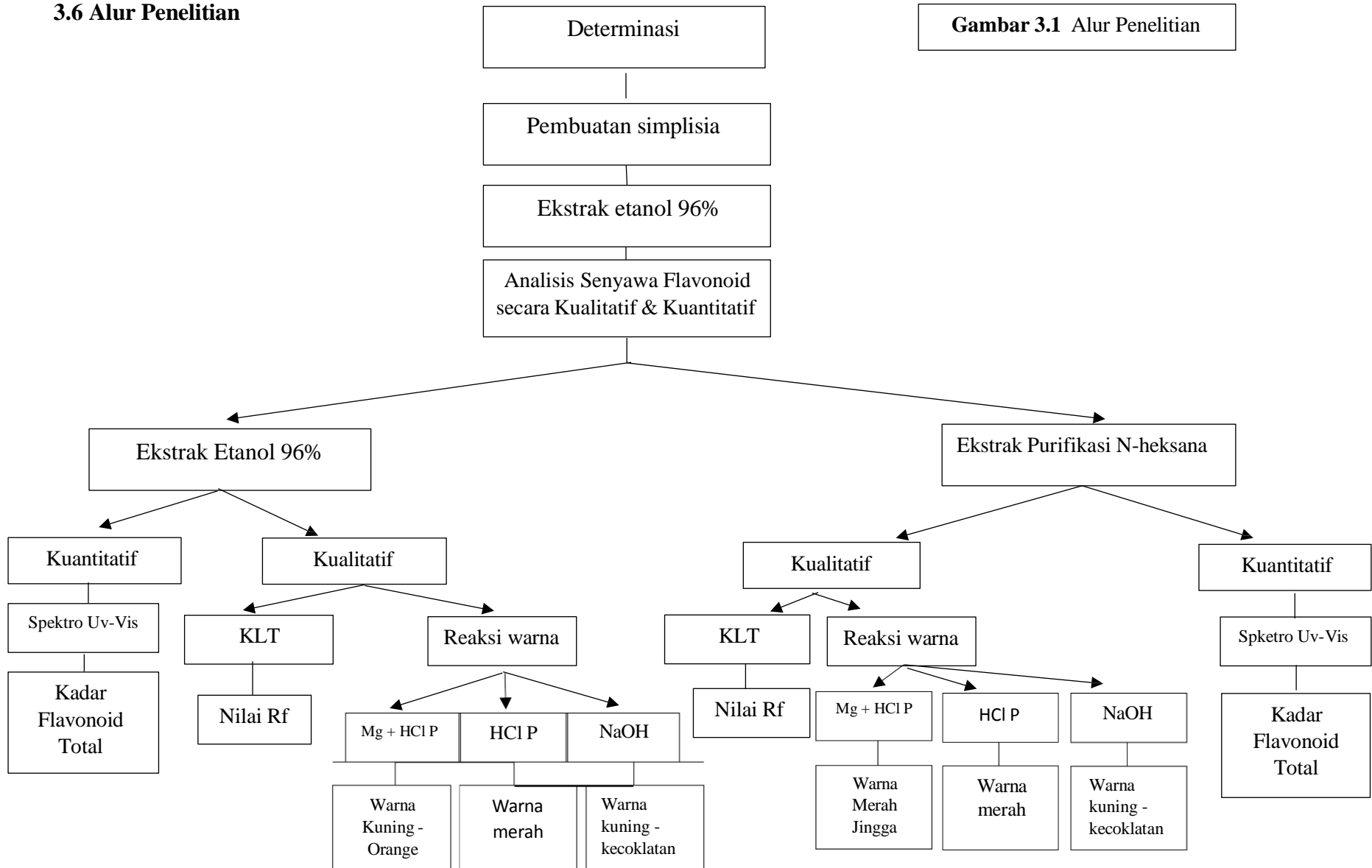
$$SD = \sqrt{\frac{\sum(X - \bar{X})^2}{n - 1}} \quad (3.5)$$
$$\% RSD = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\%$$

3.5.4 Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantifikasi (LOQ)

Limit Of Detection (LOD) dan *Limit Of Quantitation* (LOQ) dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linear dari kurva kalibrasi dengan membuat larutan baku kerja dengan konsentrasi 2; 4; 6; 8; dan 10 ppm lalu dipipet 1 mL kemudian ditambahkan 0,1 mL AlCl₃ 10% setelah itu diinkubasi selama 20 menit, absorbansi dari larutan pembanding diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Kemudian dihitung nilai LOD dan LOQ (Sukmawati *et al.*, 2018).

3.6 Alur Penelitian

Gambar 3.1 Alur Penelitian



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Determinasi

Tahap awal yang dilakukan dalam penelitian ini adalah determinasi tanaman. Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tahongai dan bagian tanaman yang diambil adalah daun. Daun tahongai diperoleh dari desa belayan Kabupaten Malinau pada bulan November 2024. Tujuan dari determinasi tanaman adalah untuk mengidentifikasi tanaman dan mengetahui kebenaran sampel yang akan digunakan dalam penelitian, sehingga kesalahan dalam pengambilan sampel yang digunakan dapat dihindari. Determinasi dilakukan untuk memastikan kebenaran tanaman yang akan digunakan (Wachidah, 2013). Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Konservasi Bio Diversitas Hutan Tropis Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda. Hasil determinasi menunjukkan bahwa daun tahongai (*Kleinhovia hospita* L.) masuk kedalam famili Sterculiaceae dan spesies *Kleinhovia hospita* L.

4.2 Ekstrak

Pembuatan ekstrak daun tahongai yang digunakan dalam penelitian ini yaitu dengan dilakukan sortasi basah untuk memilah yang masih bagus dan memisahkan bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisia kemudian daun tahongai dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan tanah dan kotoran yang masih melekat pada simplisia (Ahmad *et al.*, 2015). Selanjutnya dilakukan proses pengeringan bertujuan agar simplisia tidak mudah rusak. Proses pengeringan menggunakan sinar matahari dengan ditutup kain hitam dengan tujuan untuk mencegah penguapan berlebih. Kemudian dilakukan penyerbukan dengan tujuan untuk memperluas permukaan simplisia sehingga akan mempercepat proses penyarian (Kiswando, 2017).

Ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan cara merendam serbuk daun tahongai (*Kleinhovia hospita* L.) menggunakan pelarut etanol 96% dilakukan selama 3x24 jam dengan pengadukan sesekali setiap hari. Metode maserasi dipilih karena metode yang paling umum dan lebih sederhana, tidak memerlukan

peralatan khusus serta dapat dilakukan pada suhu ruang (Perawati dkk., 2022). Sehingga cocok digunakan untuk ekstraksi pada sampel daun tahongai agar kandungan senyawa flavonoid yang tidak tahan terhadap pemanasan tetap terjaga. Pengadukan selama proses maserasi bertujuan agar terjadinya kesetimbangan konsentrasi bahan yang diekstraksi lebih cepat di dalam cairan penyari (Tutik *et al.*, 2022). Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol 96% sebagai pelarut polar. Dalam hal penyarian, etanol memiliki kelebihan dibandingkan dengan air dan metanol. Senyawa kimia yang mampu disari dengan etanol lebih banyak dari pada penyari metanol dan air (Azizah & Salamah, 2013). Selain itu penggunaan etanol 96% sebagai pelarut karena etanol lebih mudah untuk masuk ke dalam membran sel sehingga dapat mengekstrak senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, saponin, terpenoid, dan fenol (Dewi *et al.*, 2021). Maserat yang diperoleh selanjutnya dipekatkan menggunakan evaporator untuk memperoleh ekstrak kental dan dihitung persen rendemennya, hasil rendemen yang diperoleh sebanyak 11,04%. Hasil rendemen dapat dilihat pada tabel 4.1 dibawah ini:

Tabel 4.1 Hasil Rendemen

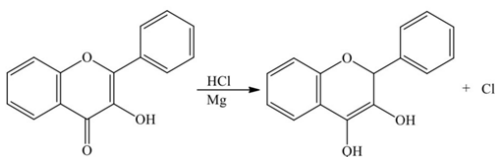
Berat Simplisia	Berat Ekstrak	%Rendemen
200 gr	22,08 gr	11,04%

4.3 Hasil Identifikasi Senyawa Flavonoid Secara Kualitatif

4.3.1 Uji Reaksi Warna

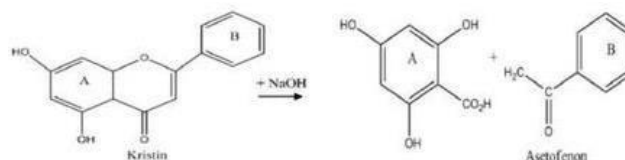
Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan cara Sebanyak 1 ml ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan sedikit bubuk logam magnesium serta beberapa tetes HCl pekat. Penambahan HCl pekat berguna untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya dan penambahan serbuk Mg menyebabkan tereduksinya senyawa flavonoid yang ada sehingga menimbulkan reaksi warna menjadi kuning-oranye yang merupakan ciri adanya flavonoid (Pratiwi, 2010). Reaksi yang terjadi antara flavonoid dan serbuk Mg dapat dilihat pada gambar 4.1.

Hasil uji kualitatif kandungan flavonoid pada ekstrak terpurifikasi daun tahongai dengan penambahan larutan HCl pekat menunjukkan hasil yang positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah. Secara teoritis, sampel yang mengandung flavonoid ketika dilakukan penambahan larutan HCl akan menimbulkan perubahan warna menjadi merah (Rahayu, 2015).



Gambar 4.1 Reaksi kimia Flavonoid dengan HCl dan Mg

Hasil uji kualitatif kandungan flavonoid pada ekstrak terpurifikasi daun tahongai dengan penambahan Larutan NaOH encer menunjukkan hasil yang positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning kecoklatan. Secara teoritis, sampel yang mengandung flavonoid ketika dilakukan penambahan larutan HCl akan menimbulkan perubahan warna menjadi kuning kecoklatan (Rahayu, 2015).



Gambar 4.2 Reaksi kimia Flavonoid dengan NaOH

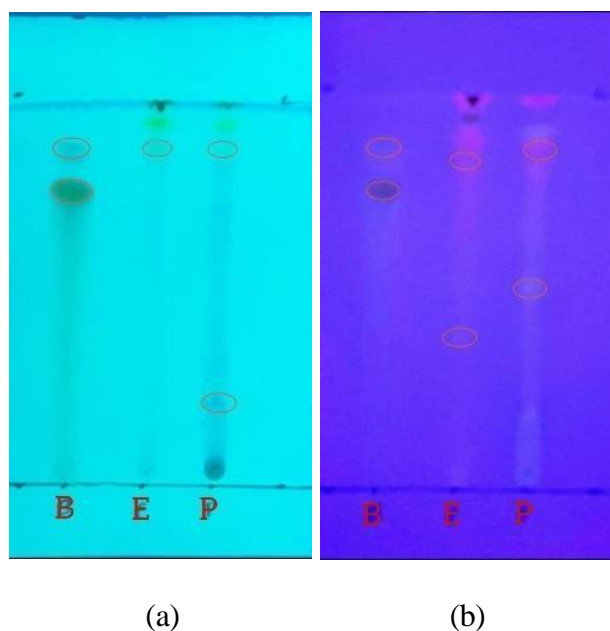
Hasil uji reaksi warna sampel dapat dilihat pada Tabel 4.2 dibawah ini:

Tabel 4.2 Hasil Uji Reaksi Warna

No	Pereaksi	Hasil Teoritis	Hasil Uji Ekstrak	Keterangan
1	Serbuk Mg dan HCl Pekat	Kuning-Orange	Kuning	Positif
2	HCl Pekat	Merah	Merah	Positif
3	NaOH encer	Kuning Kecoklatan	Kuning Kecoklatan	Positif

4.3.2 KLT

Pengujian kualitatif ekstrak daun tahongai dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT), dielusi menggunakan eluen N-Heksana : etil asetat dengan perbandingan 8:2. Eluen N-Heksana dan etil asetat memiliki sifat kepolaran yang berbeda. N-heksana adalah eluen yang bersifat non polar dan etil asetat bersifat polar. Lempeng kromatografi terlebih dahulu dipanaskan dengan suhu 100°C selama 30 menit di oven untuk menghilangkan molekul-molekul air dalam pusat serapan penjerap. Kemudian dilakukan penjumlahan fase gerak dalam chamber sagar uapnya memenuhi seluruh chamber sehingga fase gerak sebagai eluen bisa naik dengan baik untuk mendapatkan hasil kromatografi yang akurat. Hasil identifikasi KLT menunjukkan sampel positif mengandung senyawa flavonoid ditandai dengan spot/bercak berfluoresensi (memancarkan cahaya) kuning kehijauan dan merah pada UV 365 dan 254 dengan nilai Rf ekstrak etanol 96% yaitu 0,4 dan 0,64 sedangkan ekstrak purifikasi yaitu 0,6 dan 0,76. Ekstrak purifikasi lebih banyak mengandung flavonoid di bandingkan dengan ekstrak etanol 96% karena nilai Rf purifikasi dan nilai Rf baku terdapat kesamaan. Selisih nilai Rf sebesar $< 0,2$ antara sampel dan baku dalam KLT umumnya dianggap baik karena mengindikasikan bahwa kedua sampel memiliki karakteristik yang cukup mirip, sehingga dapat dikatakan bahwa daun tahongai mengandung flavonoid. Pada penelitian Forestryana & Arnida, (2020) menggunakan pelarut non polar N-Heksana : etil asetat dengan tingkat kepolaran yang berbeda diperoleh pemisahan yang baik dikarenakan noda memisah dengan jelas dengan semakin non polarnya sifat eluen (Forestryana & Arnida, 2020).



Gambar 4.3 Hasil KLT Ekstrak Etanol 96% dan Ekstrak Purifikasi daunm tahongai. (B) Baku; (E) Ekstrak Etanol 96%; (P) Purifikasi, (a. UV 254 dan b. UV 365.

Nilai Rf flavonoid menurut Rahayu *et al.*, (2015), adalah noda dengan nilai Rf antara 0,2 – 0,8 menunjukkan noda yang mengandung flavonoid. Hasil noda yang nampak pada UV 366 nm menunjukkan fluoresensi berwarna kemerahan menunjukkan bahwa mengandung senyawa flavonoid. Beberapa senyawa (flavonol, kalkan) akan berfluoresensi di bawah sinar UV 366 nm sedangkan senyawa lain (glikosida flavonol, antosianin, flavon) menyerap sinar dan tampak sebagai bercak gelap dengan latar belakang berfluoresensi. Glikosida flavon dan flavonol berfluoresensi hijau, flavonol kelihatan kuning pucat, katekin biru pucat, antosianin kelabu biru, kalkan dan auron merah. Nilai Rf sampel dapat dilihat pada Tabel 4.3.

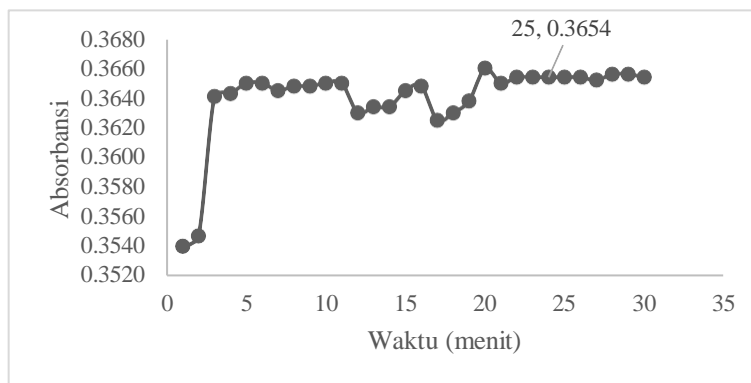
Tabel 4.3 Analisis Kualitatif KLT

Sampel	Rf	Warna bercak	Keterangan
Baku Quercetin	0,8	Hijau	Positif
Ekstrak etanol 96%	Rf 1 = 0,4 Rf 2 = 0,64	Hijau	Positif
Ekstrak Purifikasi	Rf 1 = 0,6 Rf 2 = 0,76	Hijau	Positif

4.4 Hasil Analisis Kuantitatif Senyawa Flavonoid

4.4.1 Penentuan Operating Time

Operating Time memiliki tujuan untuk mengetahui waktu pengukuran suatu senyawa yang diperoleh saat absorbansi paling stabil. *Operating time* dilakukan dengan mengukur antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan. Penetapan *operating time* perlu dilakukan untuk meminimalkan 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. Penentuan *operating time* menunjukkan hasil bahwa nilai absorbansi yang stabil dimulai dari menit ke-25, maka pengukuran absorbansi dilakukan pada menit ke-25, hal ini menunjukkan bahwa mulai menit ke-25 senyawa flavonoid telah habis bereaksi dengan pereaksi AlCl_3 yang ditandai dengan pembacaan nilai absorbansi yang stabil angka 0,3654.



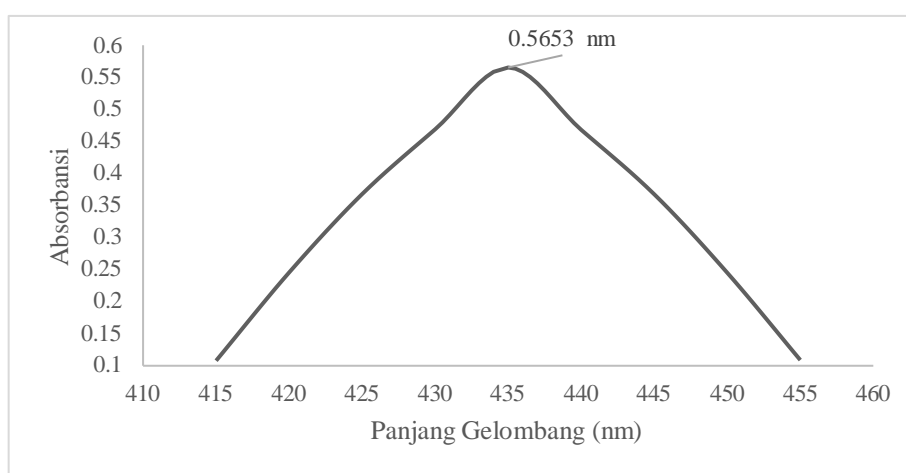
Gambar 4.4 *Operating Time* Kuersetin

4.4.2 Penentuan Panjang Gelombang

Penentuan panjang gelombang maksimum memiliki tujuan untuk menentukan panjang gelombang pengukuran dimana reaksi kompleks antara kuersetin dengan AlCl_3 memberikan absorbansi optimum. Penetapan panjang gelombang maksimum merupakan faktor penting dalam analisa kimia dengan

metode spektrofotometri. Pengukuran pada panjang gelombang maksimum akan memberikan perubahan absorbansi paling besar untuk setiap satuan kadar, sehingga jika akan dilakukan pengukuran ulang dan replikasi akan meminimalkan terjadinya kesalahan pengukuran.

Pada Gambar 4.5 panjang gelombang yang diperoleh sebesar 435 nm memiliki absorbansi sebesar 0,5653 untuk konsentrasi 10 ppm. Apabila panjang gelombang maksimum berbentuk lurus kurva dengan absorbansi linier maka hukum Lambert-Beer terpenuhi (Gandjar dan Rohman, 2012).



Gambar 4.5 Panjang Gelombang Baku Kuersetin

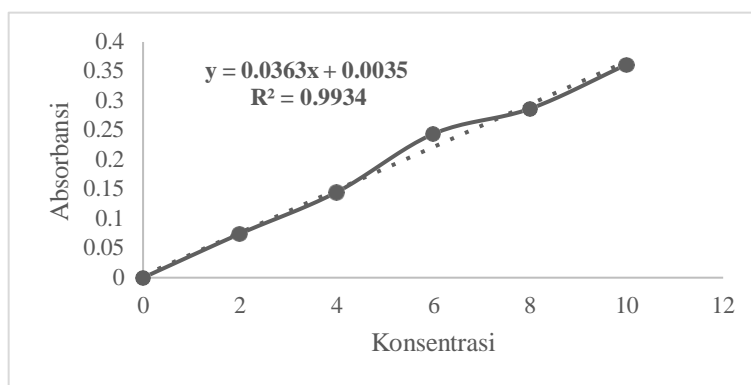
4.4.3 Hasil Kurva Baku Standar Kuersetin

Penentuan kurva baku bertujuan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi larutan dengan nilai absorbansinya sehingga konsentrasi sampel dapat diketahui. Apabila hukum Lambert-Beer terpenuhi maka kurva baku berupa garis lurus (Grace *et al.*, 2015). Pada penentuan kadar flavonoid total sampel daun tahongai (*Kleinhovia hospita L.*) menggunakan kuersetin sebagai larutan standar yang akan digunakan sebagai pembanding karena merupakan salah satu jenis flavonoid golongan flavanol yang didapatkan pada banyak jenis tanaman (Jatmiko & Mursiti, 2021).

Penetapan kadar flavonoid total dilakukan dengan menggunakan larutan standar kuersetin 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Ditambahkan dengan pereaksi AlCl_3 dan kalium asetat. AlCl_3 Pengukuran

absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum 435 nm. 2 ppm nilai absorbansinya (0,0826), 4 ppm nilai absorbansinya (0,1457), 6 ppm nilai absorbansinya (0,2272), 8 ppm nilai absorbansinya (0,2834), dan 10 ppm nilai absorbansinya (0,3652). Penentuan absorbansi larutan standar menunjukkan korelasi positif antara konsentrasi dan absorbansi, sesuai dengan hukum Lambert-Beer yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu zat dalam sampel, semakin besar pula nilai absorbansinya (Neldawati *et al.*, 2013).

Setelah mendapatkan nilai absorbansi dari deret konsentrasi dari larutan seri kueretin, dibuat kurva baku kueretin dengan tujuan agar mengetahui korelasi antara konsentrasi kueretin dan absorbansinya. Dari kurva kalibrasi diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y = 0,0363x + 0,0035$ dengan nilai koefisien korelasi (r) = 0,9934. Nilai r yang mendekati 1 menunjukkan kurva kalibrasi linier dan terdapat hubungan antara konsentrasi larutan kuarsetin dengan nilai serapan. Hasil pengukuran tersebut, dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin tinggi pula absorbansi yang diperoleh.

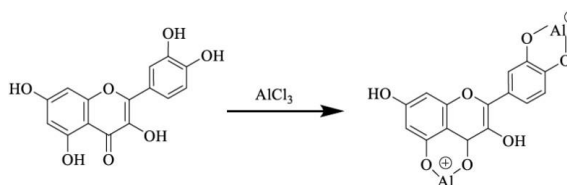


Gambar 4.6 Kurva Baku Kueretin

4.4.4 Penetapan Kadar Flavonoid Total Daun Tahongai

Pada penelitian ini kandungan flavonoid total ditentukan berdasarkan metode spektrofotometri UV-Vis. Perlakuan yang dilakukan untuk menentukan kadar flavonoid total pada sampel yaitu menambahkan $AlCl_3$ pada larutan

sampel, dapat dilihat pada Gambar 4.7 yaitu dengan terjadinya pembentukan kompleks antara AlCl_3 dengan gugus keton pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari golongan flavon dan flavonol (Sukmanastiti *et al.*, 2024). Penambahan kalium asetat berfungsi untuk menstabilkan senyawa kompleks yang terbentuk.



Gambar 4.7 Reaksi antara Kuersetin dan AlCl_3

Kemudian dilakukan pengukuran sampel dengan konsentrasi 100 ppm dengan perlakuan yang sama dengan deret konsentrasi larutan seri kuersetin. Pengukuran absorbansi dilakukan triplo (3 kali) replikasi. Setelah dilakukan pengukuran didapat data absorbansi sampel, kemudian data yang diperoleh dimasukkan ke dalam regresi linear $y = 0,0363x + 0,0035$ larutan standar kuersetin. Kemudian dihitung menggunakan rumus kadar flavonoid total sehingga diperoleh hasil rata-rata penetapan kadar flavonoid total dari ekstrak purifikasi daun tahongai (*Kleinhovia hospita* L) sebesar 10,49% dan ekstrak etanol sebesar 7,129%, seperti pada Tabel 4.4. Dalam penelitian ini kadar flavonoid total ekstrak etanol 96% lebih sedikit dibandingkan dengan ekstrak terpurifikasi disebabkan masih adanya zat pengotor yang terkandung dalam ekstrak etanol. Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Gultom, *et al.*, (2020) pada tanaman biji pinang (*Areca Catechu* L.) didapatkan hasil kandungan flavonoid tertinggi yaitu ekstrak purifikasi dibanding ekstrak kasar (etanol) (Gultom, *et al.*, 2020). Pada penelitian Wulandari *et al.*, (2023) hasil yang didapatkan yaitu kadar flavonoid pada ekstrak terpurifikasi daun trembesi (*Samanea saman* Jacq.) lebih tinggi di bandingkan ekstrak etanol 96% (Wulandari *et al.*, 2023).

Purifikasi merupakan suatu proses untuk menghilangkan senyawa atau zat pengotor yang tidak dibutuhkan, karena senyawa tersebut jarang digunakan serta menyebabkan hasil ekstraksi tidak stabil (Suryani, 2017).Keuntungan

proses purifikasi ekstrak yaitu hasil yang didapat dari ekstrak terpurifikasi lebih murni karena sudah terbebas dari zat *ballast* (pengotor), sehingga kandungan metabolit aktif dan jumlah kandungan senyawa aktif yang dihasilkan lebih tinggi (Luhurningtyas *et al.*, 2021). Pada penelitian proses purifikasi menggunakan N-Heksana, pelarut N-Heksana merupakan salah satu pelarut yang bersifat non polar, sehingga zat ballast akan ikut larut dengan N-Heksana (Budilaksono *et al.*, 2014).

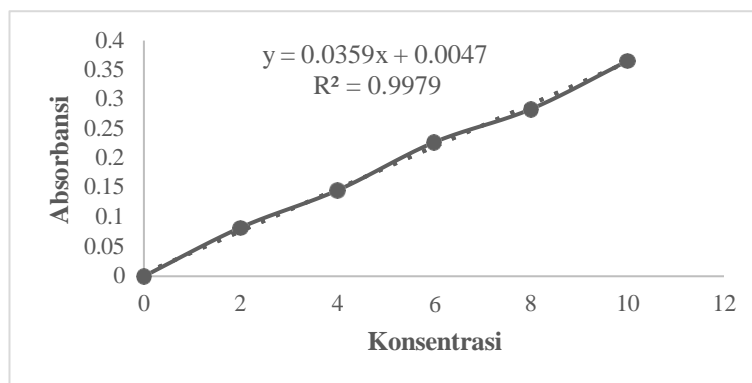
Tabel 4.4 Kadar Flavonoid Ekstrak Purifikasi & Ekstrak Etanol

Sampel	Replikasi	Absorbansi	C (ppm)	Kadar Flavonoid Total (%QE)	Rata-Rata Kadar Flavonoid Total (%QE)
Ekstrak Purifikasi	1	0.377	10,388	10,388	10,49
	2	0.383	10,555	10,555	
	3	0.382	10,527	10,527	
Ekstrak Etanol 96%	1	0.258	7,083	7,083	7,129
	2	0.260	7,138	7,138	
	3	0.261	7,166	7,166	

4.5 Hasil Validasi Metode

4.5.1 Linearitas

Uji linieritas dilakukan dengan cara membuat larutan deret standar pada variasi konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm yang diambil dari larutan induk biuret dengan konsentrasi 100 ppm. Penentuan linearitas ditentukan untuk mengetahui kemampuan suatu metode analisis dalam memperoleh hasil yang sesuai terhadap konsentrasi analit dalam sampel (Trisnawati *et al.*, 2021). Berdasarkan hasil pembuatan kurva kalibrasi dengan menggunakan metode spektrofotometri yang menghubungkan konsentrasi dengan absorbansi, diperoleh persamaan linear $y = 0.0359x + 0.0047$ dengan koefisien regresi $r = 0,9979$. Hal ini dikarenakan nilai r yang baik mendekati 1 maka kurva akan linier antara konsentrasi dengan absorbansi. Hasil kurva baku dapat dilihat pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8 Kurva Linearitas

4.5.2 Akurasi

Akurasi menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (% *recovery*). Akurasi dilakukan terhadap tiga konsentrasi standar berbeda, yaitu 5, 10, dan 15 ppm yang ditambahkan ke dalam sampel limbah cair, selanjutnya diukur menggunakan Spektrofotometri UV-Visible. Dalam metode penambahan baku pada penelitian yang pertama kali diukur adalah absorbansi dari ekstrak daun tahongai 100 ppm, kemudian diukur absorbansi pada masing-masing konsentrasi baku dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

Berdasarkan Tabel 4.5 menunjukkan hasil uji akurasi dari sampel ekstrak etanol dengan rata-rata *recovery* yaitu 85,235, 92,915, 107,374%. Sedangkan ekstrak purifikasi dengan rata-rata *recovery* yaitu 86,982, 91,319, 105,546. Persen perolehan kembali ini dapat diterima karena memenuhi syarat akurasi yaitu pada rentang rata-rata persen perolehan kembali 80-110% (WHO, 1992).

Tabel 4.5 Akurasi

Sampel	C Quercetin	Abs	C Terhitung (ppm)	% <i>recovery</i>	Rata- Rata % <i>recovery</i>
Sampel Ekstrak Etanol 96% (5.5116 ppm)	5	0.356	9.793	85.643	85.235
		0.355	9.771	85.197	
		0.354	9.754	84.863	
	10	0.536	14.799	92.878	92.915
		0.537	14.802	92.906	
		0.539	14.807	92.961	
	15	0.780	21.615	107.3593	107.374
		0.782	21.623	107.4153	
		0.781	21.618	107.3480	
Sampel Purifikasi (6.9316 ppm)	5	0.409	11.261	86.9638	86.982
		0.408	11.259	86.9081	
		0.410	11.267	87.0752	
	10	0.5806	16.041	91.2813	91.318
		0.5807	16.044	91.3092	
		0.5809	16.050	91.3649	
	15	0.821	22.740	105.515	105.546
		0.820	22.735	105.478	
		0.822	22.766	105.682	

4.5.3 Presisi

Pada uji presisi ditentukan dengan melakukan pengulangan sebanyak 6 kali pada konsentrasi 10 ppm. Presisi diukur sebagai standar deviasi (SD) dan koefisien variasi (KV). Dalam penelitian ini menetapkan keterulangan metode sebagai parameter presisinya. Keterulangan merupakan keseksamaan metode jika dilakukan berulang kali oleh analis yang sama pada kondisi yang sama dan interval waktu yang pendek.

Hasil pengujian presisi menunjukkan bahwa nilai dari hasil perhitungan simpangan baku dari data yang diperoleh dengan replikasi sebanyak 6 kali yaitu SD (*Standar Deviation*) sebesar 0,009 pada konsentrasi kadar analit 10 ppm dengan nilai RSD (*Relative Standar Deviation*) atau KV (Koefisien Variansi) adalah 0,089%. Berdasarkan hasil uji tersebut menunjukkan bahwa pengujian presisi dengan metode Spektrofotometri yang digunakan adalah baik dimana menurut Hermita (2004) metode dikatakan baik apabila presisi yang dihasilkan memenuhi persyaratan dengan $KV \leq 2\%$.

Tabel 4.6 Presisi

Average	SD	%RSD
10.520	0.009	0.089

4.5.4 LOD & LOQ

Nilai LOD dan LOQ diperoleh dari persamaan kurva kalibrasi, nilai LOD dan LOQ didapat dari nilai slope. Uji LOD dan LOQ ini digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu alat untuk mendeteksi analit yang akan dianalisis menggunakan alat tersebut. Limit deteksi dan limit kuantitasi ini tidak dapat dipisahkan satu sama lain dikarenakan diantara keduanya terdapat hubungan yang sangat kuat.

Limit of detection (LOD) adalah konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat di deteksi pada saat pengukuran. *Limit of quantification* (LOQ) adalah konsentrasi analit terkecil dalam sampel yang dapat memenuhi kriteria presisi dan akurasi (Kruve *et al*, 2015). Apabila konsentrasi analit berada di bawah LOD dan LOQ maka sinyal yang ditangkap sepenuhnya adalah *noise* (Hidayati, 2013). Berdasarkan Tabel 4.7, didapatkan nilai LOD sebesar 0,5430 ppm, menunjukkan bahwa metode ini mampu mendeteksi kadar dalam analit sebesar 0,5430 ppm. Nilai LOQ yang diperoleh 1,8009 ppm, ini menunjukkan bahwa nilai dari analit yang masih bisa di kuantifikasi secara presisi adalah di atas 1,8009 ppm nilai LOQ dikatakan baik karena nilai konsentrasi sampel yang di uji berada diatas dari nilai LOQ, sehingga dapat diterima dalam akurasi dan presisi.

Tabel 4.7 LOD & LOQ

LOD	LOQ
0.540	1.809

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak terpurifikasi daun tahongai menunjukkan hasil positif kandungan flavonoid melalui uji kualitatif dengan penambahan HCl pekat yang menghasilkan warna merah dan NaOH encer yang menghasilkan warna kuning kecoklatan. Analisis KLT pada ekstrak etanol dan purifikasi masing-masing memperlihatkan dua noda dengan nilai Rf 0,64 dan 0,76.
2. Kurva kalibrasi menghasilkan persamaan regresi linier dengan koefisien korelasi 0,9934. Pengukuran absorbansi stabil pada menit ke-25, menghasilkan kadar flavonoid total sebesar 10,49% pada ekstrak purifikasi dan 7,129% pada ekstrak etanol.

5.2 Saran

Pada penelitian berikutnya dapat dilakukan pengembangan sediaan farmasi (misalnya topikal, oral) atau produk kosmetik yang mengandung fraksi flavonoid daun tahongai.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, S., Harris, T., Limb, E., Kerry, S., Victor, C., Ekelund, U., Iliffe, S., Whincup, P., Beighton, C., Ussher, M., & Cook, D. G. (2015). Evaluation of reliability and validity of the General Practice Physical Activity Questionnaire (GPPAQ) in 60-74 year old primary care patients Service organization, utilization, and delivery of care. *BMC Family Practice*, *16*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12875-015-0324-8>
- Alzanando, R., Yusuf, M., & M.Si, T. (2022). Analisis Kadar Senyawa Alkaloid dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi Malahayati*, *5*(1), 108–120. <https://doi.org/10.33024/jfm.v5i1.7032>
- Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, *6*(1), 21–29. <https://doi.org/10.31629/zarah.v6i1.313>
- Arung, E. T., Kusuma, I. W., Kim, Y. U., Shimizu, K., & Kondo, R. (2012). Antioxidative compounds from leaves of Tahongai (*Klienhowia hospita*). *Journal of Wood Science*, *58*(1), 77–80. <https://doi.org/10.1007/s10086-011-1217-7>
- Azizah, B., & Salamah, N. (2013). Standarisasi Parameter Non Spesifik Dan Rimpang Kunyit Standardization of Non Specific Parameter and Comparative Levels of Curcumin Extract Ethanol and Extract of Purified Turmeric Rhizome. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, *3*(1), 21–30. <http://www.jogjapress.com/index.php/PHARMACIANA/article/view/1710/1021>
- Budilaksono, W., Wahdaningsih, S., & Fahrurroji, A. (2014). Uji Aktivitas AntioKsidan Fraksi N-HEKSANA Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus lemairei* Britton dan Rose) Menggunakan Metode DPPH (1,1-DIFENIL-2-PIKRILHIDRAZIL) ANTIOXIDANT ACTIVITY ASSAY OF N-HEXANE FRACTION OF RED DRAGON FRUIT (*Hylocereus lemairei* Britton). *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, *1*(1), 1–11.
- Dewi, C. I. D. Y., Ernawati, D. K., & Widhiartini, I. A. A. (2021). Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Terhadap Pertumbuhan Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *E-Jurnal Medika Udayana*, *10*(2), 79. <https://doi.org/10.24843/mu.2021.v10.i2.p15>
- Dini, I. (2006). Senyawa Terpenoid Turunan Lupeol dari Ekstrak Kloroform Kulit Batang Tumbuhan Paliasa (*Klienhowia hospita* Linn.). *Jurnal Chemica*, *9*(2), 26–29.

- Dini, I., & Darminto. (2012). Metode Isolasi Senyawa Bioaktif pada Tumbuhan Paliasa. *Jurnal Chemica*, 13(2), 11–16.
- Erwin, E., Noor, A., Soekamto, N. H., & Harlim, T. (2010). 6,6'-DIMETHOXY-4,4'-DIHYDROXY-3',2'-FURANO-ISOFILAVANE, A NEW COMPOUND FROM *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Degrabrata* K. (*Paliasa*). *Indonesian Journal of Chemistry*, 10(2), 215–218. <https://doi.org/10.22146/ijc.21463>
- Eserian, J. K., & Lombardo, M. (2015a). Method validation in pharmaceutical analysis: from theory to practical optimization. *INNOVATIONS in Pharmacy*, 6(1). <https://doi.org/10.24926/iip.v6i1.376>
- Eserian, J. K., & Lombardo, M. (2015b). Method validation in pharmaceutical analysis: from theory to practical optimization. *INNOVATIONS in Pharmacy*, 6(1), 5–7. <https://doi.org/10.24926/iip.v6i1.376>
- Fatimah, S., & Yanlinastuti. (2016). Pengaruh Konsentrasi Pelarut untuk Menentukan Paduan U-Zr dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Pusat Teknologi Bahan Nuklir*, 9(17), 22–33.
- Forestryana, D., & Arnida, A. (2020). Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Hydrolea Spinosa* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), 113. <https://doi.org/10.52434/jfb.v11i2.859>
- Grace, F.X., C, Darsika, K.V., Sownya, K., Suganya, and S, Shanmugranathan. (2015). Preparation and Evaluation of Herbal Peel of Mask, *American Journal of Pharm Tech Research*, (5):33-336.
- Gusnedi, R. (2013). Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Pillar of Physics*, 2, 76–83.
- Harmita. (2004). Petunjuk Pelaksanaan Validasi dan Cara Penggunaannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1(3), 117.
- Ibrahim, W., Mutia, R., Nurhayati, N., Nelwida, N., & Berliana, B. (2016). Penggunaan Kulit Nanas Fermentasi dalam Ransum yang Mengandung Gulma Berkhasiat Obat Terhadap Konsumsi Nutrient Ayam Broiler. *Jurnal Agripet*, 16(2), 76–82. <https://doi.org/10.17969/agripet.v16i2.4142>
- Ilyas, A. (2014). SENYAWA 4-HIDROKSI SINAMAMIDA DARI EKSTRAK ETIL ASETAT (EtOAc) KULIT AKAR PALIASA (*Kleinhovia hospita* Linn). *Teknosains*, 8(2), 152–160.
- Irawan, A. (2019). Kalibrasi Spektrofotometer Sebagai Penjaminan Mutu Hasil Pengukuran dalam Kegiatan Penelitian dan Pengujian. *Indonesian Journal of Laboratory*, 1(2), 1. <https://doi.org/10.22146/ijl.v1i2.44750>

- Jatmiko, M. P., & Mursiti, S. (2021). Isolation, Identification, and Activity Test of Flavonoid Compounds in Jamblang Leaves (*Syzygium cumini* L.) *Skeel* as Antioxidants. *Indonesia Journal of Chemical Science*, 10(2), 129–138. <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs>
- Khoirunnisa, I., & Sumiwi, S. A. (2019). Review Artikel: Peran Flavonoid Pada Berbagai Aktifitas Farmakologi. *Farmaka*, 17(2), 131–142.
- Kiswandono, A. A. (2017). SKRINING SENYAWA KIMIA DAN PENGARUH METODE MASERASI DAN REFLUKS PADA BIJI KELOR (*Moringa oleifera*, Lamk) TERHADAP RENDEMEN EKSTRAK YANG DIHASILKAN. *Jurnal Sains Natural*, 1(2), 126. <https://doi.org/10.31938/jsn.v1i2.21>
- Kruve A, Rebane R, Kipper K, Oldekop ML, Evard H, et al., 2015. Tutorial Review on Validation of Liquid Chromatography–Mass Spectrometry Methods: Part I. *Analytica Chimia Acta*. 2015; 870: 29-44.
- Kurniawati, A. D. (2017). Adelya Desi Kurniawati, STP., MP., M.Sc. Spektrofotometer UV-Vis. *Book*. <http://www.adelyadesi.lecture.ub.ac.id/files/2017/03/2.-KROMATOGRAFI.pdf>
- Leswana, N. F., & Sianturi, S. (2024). *Antioxidant Activity of Tahongai Leaves (Klenhovia hospital L.) Infusa Using DPPH Method Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Tahongai (Klenhovia hospital L.) Menggunakan Metode DPPH*. 13(1), 36–45.
- Luhurningtyas, F. P., Susilo, J., Yuswantina, R., Widhihastuti, E., & Ardiyansah, F. W. (2021). Aktivitas Imunomodulator dan Kandungan Fenol Ekstrak Terpurifikasi Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc. Var. Rubrum). *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 4(1), 51–59. <https://doi.org/10.35473/ijpnp.v4i1.974>
- Mo, J. X., Bai, Y., Liu, B., Zhou, C. X., Zou, L., & Gan, L. S. (2014). Two new cycloartane triterpenoids from *Kleinhovia hospita*. *Helvetica Chimica Acta*, 97(6), 887–894. <https://doi.org/10.1002/hlca.201300331>
- Najihudin, A., Rahmat, D., & Anwar, S. E. R. (2019). Formulation of Instant Granules From Ethanol Extract of Tangohai (*Kleinhovia hospita* L.) Leaves as an antioxidant. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 10(1), 91–112.
- Nugroho, A. (2017). Buku Ajar: Teknologi Bahan Alam. In *Lambung Mangkurat University Press* (Issue January 2017).
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>

- Paramita, S. (2016). TAHONGAI (*Kleinhovia hospita* L.): REVIEW SEBUAH TUMBUHAN OBAT DARI KALIMANTAN TIMUR. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, 9(1), 28–36. <https://doi.org/10.22435/toi.v9i1.6390.29-36>
- Pratama, A. (2010). Uji Aktivitas Senyawa Turunan Terpenoid, Steroid dan Fenolik dari Ekstrak Jaringan Kayu Batang Tumbuhan Ndokulo (*Kleinhovia hospita* L.) Terhadap Pertumbuhan Sel Kanker (Leukemia P-388). *Ditjen Dikti Kemdikbud RI*, 2, [cited 2018 Jan 1].1-4. <http://artikel.dikti.go.id/index>.
- Pratimasari, D., Puspitasari, D., & Anisa Mahanani, N. (2023). Uji Aktivitas Ekstrak Terpurifikasi Daun Umbi Bit (*Beta vulgaris*) Sebagai Antioksidan dan Penetapan Kadar Flavonoid Totalnya Activity Test Of The Purified Extract Bit Leaves (*Beta vulgaris*) as Antioxidant and Determination Of Total Flavonoid Content. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 20(2), 176–185. <https://doi.org/10.31001/jfi.v20i1.1430>
- Puspitasari, A. D., & Wulandari, R. L. (2017). Antioxidant activity, determination of total phenolic and flavonoid content of *Muntingia calabura* L. Extracts. *Pharmaciana*, 7(2), 147. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v7i2.7104>
- Raflizar, & Sihombing, M. (2009). Dekok daun paliasa sebagai obat radang hati akut. In *Jurnal ekologi kesehatan* (Vol. 8, Issue 2).
- Rahayu, S., Kurniasih, N., & Amalia, V. (2015). Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Limbah Kulit Bawang Merah sebagai Antioksidan Alami. *Al-Kimiya*, 2(1), 1–8. <https://doi.org/10.15575/ak.v2i1.345>
- Saputra, S. H. (2021). Fitokimia, aneka produk dan manfaat dari ekstrak daun tahongai (*Kleinhovia hospita* l.) phytochemicals, various products and benefits of tahongai leaf extract (*Kleinhovia hospita* l.). *Jurnal Riset Teknologi Industri*, 15(2), 446–453.
- Solihah, I., Charmila, O., Farmasi, P., & Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, F. (n.d.). *JURNAL PERMATA INDONESIA Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Tahongai (Kleinhovia hospita L.) Menggunakan Metode Rat Paw Edema*.
- Sukmanastiti, M., Desi, A., & Saputri, S. (2024). *Pengujian Kadar Senyawa Flavonoid Ekstrak Terpurifikasi Kulit Buah Naga Merah (Hylocereus polyrhizus) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis*. 7(1).
- Sukmawati, Sudewi, S., & Pontoh, J. (2018). Optimasi dan Validasi Metode Analisis Dalam Penentuan Kandungan Total Flavonoid Pada Ekstrak Daun Gedi Hijau (*Abelmoschus manihot* L.) Yang Diukur Dengan Spektrofotometer UV-VIS. *Pharmaccon*, 7(3), 32–41.

- Suryani, Putri, A. E. P., & Agustiyani, P. (2017). FORMULASI DAN UJI STABILITAS SEDIAAN GEL EKSTRAK TERPURIKASI DAUN PALIASA (*Kleinhovia hospita L.*) YANG BEREFEK ANTIOKSIDAN. *Pharmacon*, 6(3), 157–169.
- Trisnawati, N. N., Dewi, I. G. A. K. S. P., Suari, P. P. V., & Krimayanti, N. P. A. (2021). Validasi Metode Uji Merkuri Menggunakan Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry (Icpe) 9000. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*, 8(1), 24–28.
- Tutik, T., Putri, G. A. R., & Lisnawati, L. (2022). PERBANDINGAN METODE MASERASI, PERKOLASI DAN ULTRASONIK TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KULIT BAWANG MERAH (*Allium cepa L.*). *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*, 9(3), 913–923. <https://doi.org/10.33024/jikk.v9i3.5634>
- Wahyulianingsih, W., Handayani, S., & Malik, A. (2016). PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK DAUN CENGKEH (*Syzygium aromaticum (L.) Merr & Perry*). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(2), 188–193. <https://doi.org/10.33096/jffi.v3i2.221>
- Wahyuni, A. S., Prasetyo, B., Ervival, D., Zuhud, A. M., Program, M., Konservasi, S., Tropika, B., Dosen,), Konservasi, D., Hutani, S., Fakultas, E., & Ipb, K. (2017). Populasi dan pola distribusi tumbuhan Paliasa (*Kleinhovia hospita L.*) di Kecamatan Bontobahari. *Media Konservasi*, 22(1), 11–18.
- Wahyuningsih, S., & Dkk. (2024). *Buku Ekstraksi Bahan Alam Edisi 2024* (Issue March).
- Wang, T. yang, Li, Q., & Bi, K. shun. (2018). Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(1), 12–23. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2017.08.004>
- Wiranatha Yuliana; Widarsa, Tangking, G. (2013). Pemberian Ekstrak Methanol Daun Paliasa Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Hiperglikemik (Methanol Extract of Paliasa Leaves Decreases Blood Glucose Level Hyperglycemic Rats). *Jurnal Veteriner*, 14(Vol 14 No 4 (2013)), 495–500. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/article/view/7685>
- Wulandari, I. A., Nurmaulawati, R., & Susilowati, S. (2023). Uji Antioksidan Ekstrak Terpurifikasi Daun Trembesi (*Samanea saman (Jacq.) Merr*) dengan Metode DPPH (1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Mantra Bhakti*, 1(25), 17–23. <https://jurnal.stikes-bhm.ac.id/index.php/mb/article/view/561%0Ahttps://jurnal.stikes-bhm.ac.id/index.php/mb/article/download/561/347>
- Wulandari, L. (2011). Kromatografi Lapis Tipis. In *Taman Kampus Presindo*.

- Wuryandari, T., Sugihartini, N., & Kintoko, K. (2019). Emulgel Formulation of Purified Extract of Moringa (*Moringa oleifera* L.) Leaf. *Folia Medica Indonesiana*, 55(1), 17. <https://doi.org/10.20473/fmi.v55i1.12545>
- Yunita, Irwan, A., & Nurmasari, R. (2019). Skrining Fitokimia Daun Tumbuhan Katimaha (*Kleinhovia hospita* L.). *Sains Dan Terapan Kimia*, 3(2), 112–123. <https://ppjp.ulm.ac.id/journal/index.php/>
- Zhou, C. X., Zou, L., Gan, L. S., & Cao, Y. L. (2013). Kleinhospitines A-D, new cycloartane triterpenoid alkaloids from *kleinhovia hospita*. *Organic Letters*, 15(11), 2734–2737. <https://doi.org/10.1021/ol401066j>

LAMPIRAN 1

SURAT IZIN PENELITIAN



SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN DIRGAHAYU SAMARINDA
Jl. Pasundan No.21 Telp (0541) 748335, Fax.(0541) 748335
E-mail: stikesdirgahayusamarinda@gmail.com Website: www.stikesdirgahayusamarinda.ac.id
SAMARINDA - 75122 - KALIMANTAN TIMUR

Samarinda, 20 November 2024

Nomor : 20S/STIKDS-Far/XI/2024
Perihal : Surat Izin Melaksanakan Penelitian

Dengan Hormat,

Yang bertandatangan di bawah ini, Wakil Ketua I dan Ketua Program Studi Farmasi STIKES Dirgahayu Samarinda, menyatakan bahwa mahasiswa,

Nama : Theodorika Nita Juliet Ilhami
NIM : 211148201159
Program Studi/Institusi : Farmasi / STIKES Dirgahayu Samarinda
Judul Penelitian : Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 96% Daun Tahongai (*Kleinhovia hospita* L.) Terpurifikasi N-Heksana Dengan Metoda Spektrofotometri UV-Visible
Tempat Penelitian : Laboratorium Kimia dan Laboratorium Steril
Waktu Penelitian : November 2024-Maret 2025

Telah memenuhi kaidah akademik dan diizinkan untuk melakukan penelitian skripsi.

Wakil Ketua I


Ns. Gracia Heri Pertiwi, S.Kep., M.Kep., Ph.D.Ns.
NIK. 0778.A4.08

Program Studi


apt. J. Inat, Geografi, M.Sc.
NIK. 0419.A4.25

LAMPIRAN 2

DETERMINASI



KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS MULAWARMAN FAKULTAS KEHUTANAN
LABORATORIUM EKOLOGI DAN KONSERVASI BIODIVERSITAS HUTAN TROPIS
Alamat: kampus Unmul Gunung Kelua, Jl. Panajam Gd. B11 Lt.1 Samarinda 75123
Telp./Fax (0541) 7273726, Email: lab.ekobio@fahutan.unmul.ac.id

Samarinda, 21 November 2024

Nomor : 376/UN17.4.08/LL/2024
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Bpk/Ibu/Sdr(i). Theodorika Nita Juliet Ilhami (211148201159)

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda
di-

Tempat

Dengan Hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang saudara kirimkan ke "Herbarium Mulawarman", Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan Tropis Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda, adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Phyllum : Streptophyta
Class : Equisetopsida
Order : Malvales
Family : Malvaceae
Species : *Kleinhovia hospita* L.
Synonyms : *Cattimarus hospitus* (L.) Kuntze., *Grewia meyeniana* Walp.
Common name : Tahongai
Demikian, semoga berguna bagi saudara.

Tembusan:
Arsip

Prof. Dr. Ir. Paulus Matus, M.Sc
NIP.195504111984031001

LAMPIRAN 3
PROSES PENELITIAN



Penimbangan Sampel



Maserasi Sampel



Proses Purifikasi



Pengentalan Sampel Menggunakan
Rotary Evaporator



Pengentalan Sampel Menggunakan
Waterbath



Penimbangan Ekstrak

LAMPIRAN 4

HASIL PERHITUNGAN RENDEMEN

1. Berat ekstrak etanol 96% yang diperoleh = 22,08 gram




Berat serbuk simplisia yang digunakan = 200 gram

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yg diperoleh (gr)}}{\text{Bobot simplisia awal yg ditimbang (gr)}} \times 100\%$$

$$= \frac{22,08 \text{ grm}}{200 \text{ grm}} \times 100\%$$

$$= 11,04\%$$

LAMPIRAN 5
HASIL UJI REAKSI WARNA

NO	PERLAKUAN	HASIL
1	Uji kualitatif flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl Pekat	 <p style="text-align: center;">Positif</p>
2	Uji kualitatif flavonoid dengan HCl Pekat	 <p style="text-align: center;">Positif</p>
3	Uji kualitatif dengan NaOH encer	 <p style="text-align: center;">Positif</p>

LAMPIRAN 6
PERHITUNGAN KLT

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang di tempuh zat}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

Rf Ekstrak 1 = $\frac{2}{5} = 0,4$	Rf Purifikasi = $\frac{3}{5} = 0,6$	Rf Baku = $\frac{4}{5}$
Rf Ekstrak 2 = $\frac{3,2}{5} = 0,64$	Rf Purifikasi = $\frac{3,8}{5} = 0,76$	= 0,8

LAMPIRAN 7
ABSORBANSI OPERATING TIME

Time	ABS	Time	ABS	Time	ABS
1	0.3540	11	0.3650	21	0.3650
2	0.3547	12	0.3630	22	0.3654
3	0.3641	13	0.3634	23	0.3654
4	0.3643	14	0.3634	24	0.3654
5	0.3650	15	0.3645	25	0.3654
6	0.3650	16	0.3648	26	0.3654
7	0.3645	17	0.3625	27	0.3652
8	0.3648	18	0.3630	28	0.3656
9	0.3648	19	0.3638	29	0.3656
10	0.3650	20	0.3660	30	0.3654

LAMPIRAN 8
ABSORBANSI PANJANG GELOMBANG

NM	ABS	NM	ABS	NM	ABS	NM	ABS	NM	ABS
341	0.0528	361	0.0795	381	0.0836	401	0.0855	421	0.2655
342	0.0528	362	0.0801	382	0.0837	402	0.0857	422	0.2999
343	0.0678	363	0.0805	383	0.0839	403	0.0857	423	0.3317
344	0.0717	364	0.0810	384	0.0841	404	0.0858	424	0.3515
345	0.0717	365	0.0813	385	0.0843	405	0.0858	425	0.3678
346	0.0728	366	0.0813	386	0.0843	406	0.0859	426	0.3796
347	0.0736	367	0.0817	387	0.0844	407	0.0860	427	0.3997
348	0.0747	368	0.0818	388	0.0843	408	0.0865	428	0.4317
349	0.0747	369	0.0821	389	0.0845	409	0.0870	429	0.4505
350	0.0766	370	0.0822	390	0.0845	410	0.0873	430	0.4689
351	0.0769	371	0.0823	391	0.0846	411	0.0873	431	0.4867
352	0.0772	372	0.0827	392	0.0847	412	0.0974	432	0.5197
353	0.0776	373	0.0827	393	0.0848	413	0.0985	433	0.5396
354	0.0779	374	0.0830	394	0.0849	414	0.0998	434	0.5589
355	0.0781	375	0.0832	395	0.0849	415	0.1079	435	0.5653
356	0.0785	376	0.0834	396	0.0850	416	0.1189	436	0.5553
357	0.0788	377	0.0834	397	0.0852	417	0.1389	437	0.5381
358	0.0790	378	0.0832	398	0.0853	418	0.1695	438	0.5106
359	0.0795	379	0.0835	399	0.0854	419	0.2167	439	0.4889
360	0.0795	380	0.0835	400	0.0854	420	0.2455	440	0.4725

LAMPIRAN 9
ABSORBANSI BAKU KUERSETIN

Konsentrasi	Absorbansi	Rata-Rata Absorbansi
2	0.0826	0.0744
	0.0697	
	0.0709	
4	0.1457	0.1449
	0.1445	
	0.1445	
6	0.2428	0.2438
	0.2401	
	0.2486	
8	0.2875	0.2866
	0.2839	
	0.2824	
10	0.3601	0.3616
	0.3652	
	0.3694	

LAMPIRAN 10
PERHITUNGAN KADAR FLAVONOID

Perhitungan kadar Flavonoid pada ekstrak purifikasi

$$a = 0,003$$

$$b = 0,036$$

1. Replikasi 1

$$\text{Absorbansi} = 0,377$$

$$Y = 0,036x + 0,003$$

$$0,377 = 0,036x + 0,003$$

$$0,036x = 0,377 - 0,003$$

$$x = \frac{0,374}{0,036}$$

$$x = 10,388 \text{ ppm}$$

$$\text{Kadar dalam 10 ml} = \frac{0,01 \text{ L} \times 10,388 \text{ ppm} \times 10}{10 \text{ mg}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,0388}{0,01} \times 100\%$$

$$= 10,388 \%$$

2. Replikasi 2

$$\text{Absorbansi} = 0,383$$

$$Y = 0,036x + 0,003$$

$$0,383 = 0,036x + 0,003$$

$$0,036x = 0,383 - 0,003$$

$$x = \frac{0,38}{0,036}$$

$$x = 10,555 \text{ ppm}$$

$$\text{Kadar dalam 10 ml} = \frac{0,01 \text{ L} \times 10,555 \text{ ppm} \times 10}{10 \text{ mg}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,0555}{0,01} \times 100\%$$

$$= 10,555\%$$

3. Replikasi 3

$$\text{Absorbansi} = 0,382$$

$$Y = 0,036x + 0,003$$

$$0,382 = 0,036x + 0,003$$

$$0,036x = 0,382 - 0,003$$

$$x = \frac{0,379}{0,036}$$

$$x = 10,527 \text{ ppm}$$

$$\text{Kadar dalam 10 ml} = \frac{0,01 \text{ L} \times 10,527 \text{ ppm} \times 10}{10 \text{ mg}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,0527}{0,01} \times 100\%$$

$$= 10,527\%$$

$$\text{Rata-rata kadar flavonoid ekstrak purifikasi 96\%} = \frac{10,388+10,555+10,527}{3}$$

$$= 10,49\%$$

Perhitungan kadar flavonoid total pada ekstrak etanol 96%

1. Replikasi 1

$$\text{Absorbansi} = 0,258$$

$$Y = 0,036x + 0,003$$

$$0,258 = 0,036x + 0,003$$

$$0,036x = 0,258 - 0,003$$

$$x = \frac{0,255}{0,036}$$

$$x = 7,083 \text{ ppm}$$

$$\text{Kadar dalam 10 ml} = \frac{0,01 \text{ L} \times 7,083 \text{ ppm} \times 10}{10 \text{ mg}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,7083}{0,01} \times 100\%$$

$$= 7,083\%$$

2. Replikasi 2

$$\text{Absorbansi} = 0,260$$

$$Y = 0,036x + 0,003$$

$$0,260 = 0,036x + 0,003$$

$$0,036x = 0,260 - 0,003$$

$$x = \frac{0,257}{0,036}$$

$$x = 7,138 \text{ ppm}$$

$$\text{Kadar dalam 10 ml} = \frac{0,01 \text{ L} \times 7,138 \text{ ppm} \times 10}{10 \text{ mg}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,7138}{0,01} \times 100\%$$

$$= 7,138\%$$

3. Replikasi 3

$$\text{Absorbansi} = 0,261$$

$$Y = 0,036x + 0,003$$

$$0,261 = 0,036x + 0,003$$

$$0,036x = 0,261 - 0,003$$

$$x = \frac{0,258}{0,036}$$

$$x = 7,166 \text{ ppm}$$

$$\text{Kadar dalam 10 ml} = \frac{0,01 \text{ L} \times 7,166 \text{ ppm} \times 10}{10 \text{ mg}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,7166}{0,01} \times 100\%$$

$$= 7,166\%$$

$$\text{Rata-rata kadar flavonoid ekstrak etanol 96\%} = \frac{7,083+7,138+7,166}{3}$$

$$= 7,129\%$$

LAMPIRAN 11
ABSORBANSI LINEARITAS

Konsentrasi	Absorbansi	Rata-Rata Absorbansi
2	0.0826	0.0826
	0.0825	
	0.0826	
4	0.1456	0.1457
	0.1457	
	0.1459	
6	0.2271	0.2272
	0.2274	
	0.2272	
8	0.2832	0.2834
	0.2836	
	0.2835	
10	0.3652	0.3652
	0.3653	
	0.3652	

LAMPIRAN 12
PRESISI

Baku 10 ppm	Absorbansi	Konsentrasi ppm	Average	SD	%RSD
Replikasi 1	0.3823	10.5181	10.520	0.009	0.089
Replikasi 2	0.3821	10.5125			
Replikasi 3	0.3821	10.5125			
Replikasi 4	0.3822	10.5153			
Replikasi 5	0.3827	10.5292			
Replikasi 6	0.3829	10.5348			

$$\begin{aligned}
 \% \text{ RSD} &= \frac{SD}{rata-rata} \times 100\% \\
 &= \frac{0,009}{10,518} \times 100\% \\
 &= 0,089 \%
 \end{aligned}$$

LAMPIRAN 13
LOD & LOQ

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Rata-rata Absorbansi (yi)	yc	Yi-yc	(yi-yc)²
2	0.0826 0.0825 0.0826	0.0826	0.0765	0.0061	3.72×10^{-5}
4	0.1456 0.1457 0.1459	0.1457	0.1483	-0.0026	6.76×10^{-5}
6	0.2271 0.2274 0.2272	0.2272	0.2201	0.0071	5.04×10^{-5}
8	0.2832 0.2836 0.2835	0.2834	0.2919	-0.0085	7.23×10^{-5}
10	0.3652 0.3653 0.3652	0.3652	0.3637	0.0015	2.25×10^{-5}
				Jumlah	<u>0.0001689</u>
				SD	<u>0.0065</u>
				LOD	<u>0.5403</u>
				LOQ	<u>1.8099</u>

Tenorchemical 山东天健水处理科技有限公司

SHANDONG TENOR WATER TREATMENT TECHNOLOGY CO.,LTD

ADD: INDUSTRIAL ZONE, WEIFANG OCEANIC CHEMICAL DEVELOPMENT ZONE, CHINA

WEBSITE: WWW.TENORCHEMICAL.COM.CN

TEL:0086-0536-8209665 FAX: 0086-0536-8209165

EMAIL:cfren@tenorchem.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

PRODUCT NAME:	POLY ALUMINIUM CHLORIDE WHITE POWDE	INSPECTION STANDARD	GB/15892-2009
BATCH NO.	20240918	INSPECTION DATE:	2024-09-18
MANUFACTURE DATE:	20240918	EXPIRATION DATE:	2026-09-18
TESTING ITEM		INDEX	RESULT
Aluminum Oxide AL ₂ O ₃ Content		30.0%	30.1%
Basicity		40-60	43
PH value 1% aqueous solution		3.5-5.0	4.2
Water insoluble matter		0.5%MAX	0.47%
Fe Content		-----	-----
As Content		0.0005%MAX	0.0004%
Cd Content		0.0005%MAX	0.0005%
Pb Content		0.0005%MAX	0.0004%
Hg Content		0.00001%MAX	0.00001%

QUALITY: WE CAN ASSURE THE POLY ALUMINIUM CHLORIDE WHITE POWDER(SOLID), TECH. GRADE HAS REACHED A VERYHIGH QUALITY AFTER USING GB/15892-2009 TESTING METHOD.

ANALYSER: YUAN JINFENG CHECK OUT:CHENXIANGKUI



Certificate of Analysis

Product Name	Hydrochloric acid extrapure 25LT	Batch No	428190229AX
SAP Code	10770LL025	IR No	4281902
Grade	Extrapure	QC Ref. No	100874
CASR No.	7647-01-0	Manufacture Date	January 2024
Molecular Formula	HCl	Expiry Date	December 2028
Molecular Weight	36.46		

SR.NO.	TEST	RESULT	SPECIFICATION
1	Description	Clear colourless fuming liquid	Clear colourless fuming liquid.
2	Assay (acidimetric)	36.98%	35 - 38%
3	Specific gravity	1.18g	~ 1.18g
4	Residue on evaporation	0.003%	0.01% max
5	Free Chlorine (Cl)	Less than 0.0005%	0.0005% max
6	Iron (Fe)	Less than 0.0001%	0.0001% max
7	Heavy metal (as Pb)	Less than 0.0005%	0.0005% max
8	Sulphate (SO4)	Less than 0.02%	0.02% max
9	Colour (APHA)	Less than 10 Hazen	10 Hazen max

Remarks: THE CAPTIONED BATCH MATERIAL COMPLIES WITH THE PRESCRIBED QUALITY OF THE ABOVE SPECIFICATION.

FINAR provides this analytical report in good faith and to the best of its knowledge. It should not be substituted for the users own raw material quality control.

Tested By
(Chemist - Quality Control)

Approved By
(Head - Quality Control)

Computer Generated Report - Does not require Signature.

Certificate Of Analysis

Product name	N-Hexane		
Mol. Formula	C ₆ H ₁₄	lot no	HX2704205004
Mol. wt.	86.18g/mol	Cas no	110-54-3
Mfg. date	04-2023	Cat no	H004
Exp.date	04-2027	Storage condition	Store at RT

Sr.no.	Item test	units	Sepecification	Results
1	Appearance	-	Colorless liquid	Pass
2	Density	g/ml	0.659	Pass
3	Solubility	In water g/l	Very soluble in ethanol	Pass
4	Boiling point	°C	68	Pass
5	Flash point	°F	30	Pass
6	Assay	wt%	95-97%	95%
7	Free acid	wt%	0.005%max	0.001%
8	Water kf	Wt%	0.05% max	0.01%
9	Non volatile matter	wt%	0.001% max	0.0005%

Result : the above product Corresponds to Synthesis Grade

Reference or standard of product specification to Analar standard and ACS Specification

K.shalaby

Head QC

Otto Chemie Pvt. Ltd.

An ISO 9001 : 2015 & GMP Certified Company
Web : www.ottokemi.com Email : info@ottokemi.com

Sodium hydroxide, pellets, 98%

Product Code: S 2025

PROPERTIES	
CAS	1310-73-2
Synonyms	'Caustic soda'
Chemical Formula	NaOH
Molecular Weight	40.00
Grade	extra pure
Purity	98%
Packing	Bottle / Drum
Batch No.	0045
Mfg. Date	11-Jan-2022
Retest Date	11-Jan-2027

TEST	SPECIFICATIONS	RESULTS
Description	White deliquescent pellets.	White deliquescent pellets
Assay (Acidimetric)	98% w/w min	98.04% w/w
Carbonate (asNa ₂ CO ₃)	2% max	0.4%
Chloride (Cl)	0.1% max	< 0.1%
Sulphate (SO ₄)	0.05% max	< 0.05%
Silicate (SiO ₂)	0.05% max	< 0.05%
Potassium (K)	0.1% max	< 0.1%
Iron (Fe)	0.005% max	< 0.005%
Zinc (Zn)	0.02% max	< 0.02%

The product complies with the prescribed standards of quality

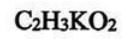


This document has been produced electronically and it is valid without signature.

The above particulars do not release the customer from the obligation to carry out an inspection of goods received. Not for medicinal use. Please test before use.

CERTIFICATE OF ANALYSIS

POTASSIUM ACETATE



Mr	: 98,14
Assay	: > 98%
Cl	: < 0,05%
SO ₄	: < 0,05%
Al	: < 0,005%
Ba	: < 0,005%



Certificate of Analysis

1.00983.2500 Ethanol absolute for analysis EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur
Batch I1174283

	Spec. Values		Batch Values	
Purity (GC)	≥ 99.9	%	99.9	%
Identity (IR)	conforms		conforms	
Appearance	conforms		conforms	
Color	≤ 10	Hazen	< 5	Hazen
Solubility in water	conforms		conforms	
Acidity or alkalinity	≤ 30	ppm	≤ 30	ppm
Titration acid	≤ 0.0002	meq/g	0.0001	meq/g
Titration base	≤ 0.0002	meq/g	< 0.0002	meq/g
Density (d 20 °C/20 °C)	0.790 - 0.793		0.791	
UV absorption	conforms		conforms	
Aldehydes (as Acetaldehyd)	≤ 0.001	%	≤ 0.001	%
Fusel oils	conforms		conforms	
Substances reducing potassium permanganate (as O)	≤ 0.0002	%	≤ 0.0002	%
Substances reducing permanganate (ACS)	conforms		conforms	
Carbonyl compounds (as CO)	≤ 0.003	%	≤ 0.003	%
Readily carbonizable substances	conforms		conforms	
Acetone, Isopropyl Alcohol (ACS)	conforms		conforms	
Acetone (GC)	≤ 0.001	%	< 0.001	%
Ethylmethylketone (GC)	≤ 0.02	%	< 0.01	%
Isoamyl alcohol (GC)	≤ 0.05	%	< 0.01	%
2-Propanol (GC)	≤ 0.01	%	< 0.01	%
Higher alcohols (GC)	≤ 0.01	%	< 0.01	%
Volatile impurities (GC) (Acetaldehyde and Acetal)	≤ 10	ppm	< 10	ppm
Volatile impurities (GC) (Benzene)	≤ 2	ppm	< 1	ppm
Volatile impurities (GC) (Methanol)	≤ 100	ppm	< 50	ppm
Volatile impurities (GC) (Total of other impurities)	≤ 300	ppm	< 100	ppm
Volatile impurities (GC) (disregard limit)	≤ 9	ppm	9	ppm
Chloride (Cl)	≤ 0.3	ppm	0.1	ppm
Nitrate (NO ₃)	≤ 0.3	ppm	< 0.1	ppm
Phosphate (PO ₄)	≤ 0.3	ppm	< 0.1	ppm
Sulfate (SO ₄)	≤ 0.3	ppm	< 0.1	ppm
Ag (Silver)	≤ 0.000002	%	≤ 0.000002	%
Al (Aluminium)	≤ 0.00005	%	≤ 0.00005	%
As (Arsenic)	≤ 0.000002	%	≤ 0.000002	%
Au (Gold)	≤ 0.000002	%	≤ 0.000002	%
Ba (Barium)	≤ 0.00001	%	≤ 0.00001	%
Be (Beryllium)	≤ 0.000002	%	≤ 0.000002	%
Bi (Bismuth)	≤ 0.000002	%	≤ 0.000002	%
Ca (Calcium)	≤ 0.00005	%	≤ 0.00005	%

Merck KGaA
Corporation with General Partners
Frankfurter Straße 250
64293 Darmstadt, Germany

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt,
Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and
Canada.

Page 1 of 2

Quercetin

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA
Website: www.sigmaaldrich.com
Email USA: techserv@stal.com
Outside USA: eurtechserv@stal.com

Certificate of Analysis

Product Name:
Quercetin - 299% (HPLC) solid

Product Number: Q4951
Batch Number: SLCJ0103
Brand: SIGMA
CAS Number: 117-39-5
Formula: C₁₅H₁₀O₇
Formula Weight: 302.24 g/mol
Quality Release Date: 10 DEC 2022

Test	Specification	Result
Appearance (Color) Yellow	Conforms	Conforms
Appearance (Form)	Powder	Powder
¹ H NMR Spectrum	Conforms to Structure	Conforms
Loss on Drying	≤ 4 %	3 %
Purity (HPLC)	≥ 95 %	97 %

Brian Dulle

Brian Dulle, Supervisor
Quality Assurance
St. Louis, Missouri US

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

Version Number: 1

Page 1 of 1