

**PENENTUAN KADAR ALKALOID TOTAL EKSTRAK
DAUN TAHONGAI (*Kleinhovia hospita* Linn) BERDASARKAN
PERBEDAAN KONSENTRASI ETANOL DENGAN METODE
SPEKTOFOTOMETRI UV-VIS**

Oleh
MARIA OCTAVIANA LIDA
211148201184

SKRIPSI

Untuk memenuhi salah satu syarat ujian
Gunak memperoleh gelar Sarjana Farmasi



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

LEMBAR PENGESAHAN

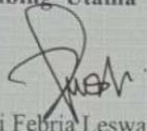
PENENTUAN KADAR ALKALOID TOTAL EKSTRAK DAUN TAHONGAI
(*Kleinhovia hospita* Linn) BERDASARKAN PERBEDAAN KONSENTRASI
ETANOL DENGAN METODE SPEKTOFOTOMETRI UV-VIS

Dipersiapkan dan disusun oleh:

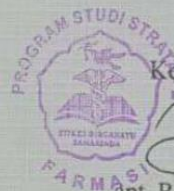
MARIA OCTAVIANA LIDA
211148201184

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 05 Mei 2025

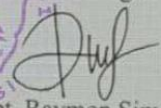
Pembimbing Utama



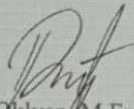
Nurillahi Febria Leswana, S.Si., M.Sc.
NIDN: 0322. A4.28



Mengetahui,
Ketua Program Studi S-1 Farmasi


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

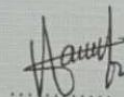
Pembimbing Pendamping



Risny Oklyan, M.Farm.
NIK: -

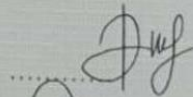
Tim Penguji:

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

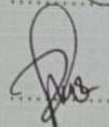


Anggota

1. apt. Raymon Simanullang, M.Pharm.



2. Nurillahi 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 S-1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya 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.

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

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

Nama : Maria Octaviana Lida

NIM 211148201184

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: "Penentuan Kadar Alkaloid Total Ekstrak Daun Tahongai (*Kleinhovia hospita* Linn) Berdasarkan Perbedaan Konsentrasi Etanol Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis " 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.

Samarinda, 05 Mei 2025

Yang membuat pernyataan,

(Maria Octaviana Lida)

PERSEMBAHAN

*Tuhan Yesus Kristus, Papa (Yosep Sado),
Mama (Paula Tuto Lejab) abang (Nowil & Obet),
serta adik tersayang (Daud & Petrus)*

ABSTRAK

Tumbuhan tahongai (*Kleinhovia hospita* Linn) berpotensi sebagai obat tradisional karena kaya akan metabolit sekunder. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi secara kualitatif dan kuantitatif, serta menentukan kadar total alkaloid dalam ekstrak daun tahongai. Ekstrak diperoleh melalui metode maserasi dengan variasi konsentrasi etanol (96%, 70%, dan 50%). Identifikasi kualitatif alkaloid menggunakan pereaksi Wagner, Mayer, Dragendorff, serta kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase gerak n-heksan : etil asetat (4:1). Penetapan kadar total alkaloid secara kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hasil uji kualitatif menunjukkan ekstrak etanol 96%, 70%, dan 50% positif mengandung alkaloid. Analisis KLT mengonfirmasi keberadaan alkaloid pada ekstrak etanol 96% (Rf 0,5384, noda ungu) dan 70% (Rf 0,3230, noda merah), namun tidak terdeteksi pada ekstrak etanol 50%. Secara kuantitatif, kadar alkaloid total tertinggi ditemukan pada ekstrak etanol 96% (2,45%), diikuti 70% (1,09%) dan 50% (0,65%). Validasi metode analisis menunjukkan hasil baik dan valid, meliputi linieritas (r^2 0,9972), akurasi (recovery 80-110%), serta presisi baik (% RSD 0,024%). Batas deteksi (LoD) 0,288317 dan batas kuantitasi (LoQ) 0,576634. Dapat disimpulkan, ekstrak daun tahongai dengan pelarut etanol 96% menghasilkan kadar alkaloid total tertinggi

Kata kunci : Daun tahongai, alkaloid, etanol, spektrofotometri UV-Vis

ABSTRACT

Tahongai plant (Kleinhovia hospita Linn) has the potential as a traditional medicine because it is rich in secondary metabolites. This study aims to qualitatively and quantitatively identify, and determine the total alkaloid content in tahongai leaf extract. The extract was obtained through the maceration method with variations in ethanol concentration (96%, 70%, and 50%). Qualitative identification of alkaloids using Wagner, Mayer, Dragendorff reagents, and thin layer chromatography (TLC) with n-hexane: ethyl acetate (4:1) as the mobile phase. Quantitative determination of total alkaloid content using UV-Vis spectrophotometry. Qualitative test results showed that ethanol extracts of 96%, 70%, and 50% were positive for alkaloids. TLC analysis confirmed the presence of alkaloids in ethanol extracts of 96% (Rf 0.5384, purple stain) and 70% (Rf 0.3230, red stain), but were not detected in ethanol extracts of 50%. Quantitatively, the highest total alkaloid content was found in 96% ethanol extract (2.45%), followed by 70% (1.09%) and 50% (0.65%). Validation of the analysis method showed good and valid results, including linearity (r^2 0.9972), accuracy (recovery 80-110%), and good precision (% RSD 0.024%). The limit of detection (LoD) was 0.288317 and the limit of quantitation (LoQ) was 0.576634. It can be concluded that tahongai leaf extract with 96% ethanol solvent produced the highest total alkaloid content.

Keywords: *Tahongai leaf, alkaloid, ethanol, 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 "**PENENTUAN KADAR ALKALOID TOTAL EKSTRAK DAUN TAHONGAI (*Kleinhovia hospita* Linn) BERDASARKAN PERBEDAAN KONSENTRASI ETANOL DENGAN METODE SPEKTOFOTOMETRI UV-VIS**"

Penulisan skripsi ini 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, nasehat, dukungan, serta pengorbanan yang diberikan. Pada kesempatan ini, tidak lupa penulis mengucapkan terimakasih 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 Risny Oklyan, M.Farm. Sebagai dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis.
4. Seluruh staf dosen staf administrasi serta karyawan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.
5. Keluarga terkasih, Papa, Mama, Kakak-kakak dan adik-adikku tersayang yang selalu mendoakan, memberi dukungan, serta memberi kasih sayang.
6. Sahabat-sahabat seperjuangan angkatan 2021 Rika, Vina, Lili, Santa serta teman-teman lainnya yang saling mendukung dan memberikan semangat.
7. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu. Terima kasih telah membantu penulis dalam 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 dan juga pihak lain yang berkepentingan.

Samarinda, 05 Mei 2025

Maria Octaviana Lida

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PEDOMAN PENGGUNAAN DAN PERBANYAKAN SKRIPSI	iii
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
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	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tahongai (<i>Kleinhovia hospita</i> L)	4
2.1.1 Definisi	4
2.1.2 Klasifikasi.....	4
2.1.2 Habitat Tanaman	5
2.1.3 Manfaat Tanaman.....	6
2.1.4 Golongan Senyawa Kimia Aktif.....	6
2.2 Kafein.....	7
2.3 Ekstraksi Maserasi.....	8
2.4 Validasi Metode	9
2.4.1 Linearitas	10
2.4.2 Akurasi	10
2.4.3 Presisi	11
2.4.4 Batas Deteksi (<i>Limit Of Detection, LOD</i>)	11
2.4.5 Batas kuantifikasi (<i>Limit of quantification, LOQ</i>)	12
2.5 Spektrofotometer UV-Vis.....	13

2.4.2 Prinsip kerja Spektrofotometri UV-Vis	13
2.4.3 Hukum Lambert Beer	15
2.5 Kromatografi Lapis Tipi (KLT).....	15
2.6 Kerangka Kosep	17
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	18
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	18
3.1.1 Tempat Penelitian.....	18
3.1.2 Waktu Penelitian	18
3.2 Alat dan Bahan	18
3.2.1 Alat.....	18
3.2.2 Bahan	18
3.3 Metode Penelitian.....	19
3.3.1 Jenis Penelitian.....	19
3.3.2 Variabel Penelitian	19
3.3.3 Definisi Oprasional	19
3.3.4 Sampel Penelitian.....	20
3.3.5 Teknik Pengumpulan Data.....	20
3.3.6 Teknik Analisis Data	20
3.4 Prosedur Kerja.....	20
3.4.1 Pengambilan Sampel.....	20
3.4.2 Determinasi Tumbuhan.....	21
3.4.3 Ekstraksi Sampel.....	21
3.5 Uji Kualitatif	21
3.5.1 Identifikasi Alkaloid.....	21
3.5.2 Identifikasi Alkaloid Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT). 22	
3.6 Analisis Kuantitatif.....	22
3.6.1 Pembuatan Larutan Baku Kafein	22
3.6.2 Penentuan <i>Operating Time</i>	22
3.6.5 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks}) Kafein 23	
3.6.6 Pembuatan Seri Kurva Baku Kafein	23
3.7 Validasi Metode.....	24
3.7.1 Penentuan Linearitas	24

3.7.2 Penentuan Akurasi	24
3.7.3 Penentuan Presisi	25
3.7.4 Penentuan LOD dan LOQ	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Determinasi	26
4.2 Ekstraksi	26
4.3 Hasil Kualitatif	27
4.3.1 Identifikasi Alkaloid	27
4.3.2 Identifikasi Alkaloid Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	29
4.4.1 Penentuan <i>Operating Time</i>	31
4.4.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	32
4.4.3 Hasil Penentuan Kurva Baku Standar	32
4.4.4 Penetapan Kadar Alkaloid Ekstrak Etanol 96, 70, dan 50%	33
4.5 Metode Validasi	34
4.5.1 Hasil Uji Linearitas	34
4.5.2 Akurasi	35
4.5.3 Presisi	36
4.5.4 Hasil Analisis LOD & LOQ	37
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	39
5.1 Kesimpulan	39
5.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Tanaman Tahongai.....	4
Gambar 2.2 Struktur Alkaloid Indol.....	7
Gambar 2.3 Struktur kimia kafein.....	8
Gambar 2.4 Pembacaan Spektrofotometri.....	15
Gambar 2.5 Cara Pengukuran Rf.....	17
Gambar 2.6 Kerangka Konsep.....	18
Gambar 4.1 Reaksi Uji Mayer.....	31
Gambar 4.2 Reaksi Uji Dragendroff.....	31
Gambar 4.3 Hasil Analisis KLT.....	32
Gambar 4.4 Grafik <i>Operating Time</i>	33
Gambar 4.5 Panjang Gelombang.....	34
Gambar 4.6 Kurva Baku Larutan Kafein.....	35
Gambar 4.7 Kurva Uji Linearitas.....	37

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 2.1 Metabolit skunder	6
Tabel 4.1 Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Daun Tahongai	29
Tabel 4.2 Hasil Pengujian Idetifikasi Alkaloid Daun Tahongai	30
Tabel 4.3 Hasil Analisis KLT	32
Tabel 4.4 Hasil Pengujian Kadar Alkaloid	35
Tabel 4.5 Hasil Pengujian Akurasi	38
Tabel 4.6 Hail Pengujian Presisi.....	38
Tabel 4.7 Hasil Pengujian LOD & LOQ	40

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber daya alam. Keanekaragaman hayati terdiri dari ribuan spesies tanaman. Bahan alam tersebut dapat menjadi suatu potensi yang sangat bermanfaat terhadap pengembangan industri farmasi di negeri ini. Saat ini pola hidup masyarakat dunia kembali banyak menggunakan bahan-bahan alam terutama di Indonesia sehingga banyak tumbuhan yang digunakan untuk pengobatan. Salah tumbuhan yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat adalah tanaman tahongai (Sholikhah, 2016).

Tahongai (*Kleinhovia hospita*) dikenal dengan nama kayu katimahar (mahar) adalah salah satu tumbuhan tropika Indonesia. Masyarakat Sulawesi Selatan sering menyebut tumbuhan ini dengan nama paliasa (Makasar). Di Jawa, dikenal dengan nama timoho. Masyarakat Kalimantan juga sudah mulai mengenal tumbuhan *Kleinhovia hospita* atau tahongai. Secara empiris, tahongai memiliki aktifitas antikanker, antidiabetes, dan antioksidan (Paramita, 2016). Selain itu, daun tahongai dipercaya masyarakat dapat mengobati berbagai penyakit seperti penyakit kuning, darah tinggi, kencing manis, dan kolesterol. Metabolit sekunder yang terkandung dalam daun tahongai yaitu alkaloid, saponin, dan flavonoid (Saputra, 2021). 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 *ourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) (Yunita dkk., 2019).

Alkaloid merupakan salah satu jenis senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam jaringan tumbuhan dan hewan yang bersifat alkali yang mengandung atom nitrogen (N) dengan struktur lingkaran yang heterosiklik atau aromatis (Hanani, 2015). Peran alkaloid secara farmakologis dapat mengobati diare, diabetes, malaria, dan antimikroba. Dalam menentukan kadar alkaloid dapat dilakukan dengan beberapa metode seperti gravimetri,

spektrodensitometri, dan spektrofotometri UV-Vis. Spektrofotometri UV-Vis memiliki keunggulan dalam hal kecepatan analisis dibanding metode konvensional lainnya, terutama untuk pengukuran kuantitatif suatu zat (Wahyuni & Marpaung, 2020).

Salah satu metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi maserasi. Maserasi adalah proses pemisahan senyawa dengan cara perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada temperatur ruangan. Metode ini memiliki beberapa kelebihan diantaranya alat dan proses yang digunakan sederhana, bahan yang diekstraksi tidak mengalami kerusakan pada senyawa aktif akibat pemanasan, biaya pelaksanaan relatif tidak tinggi, dan dapat mengekstraksi bahan alam yang tidak tahan pada suhu yang tinggi (Wahyuni & Marpaung, 2020).

Pada ekstraksi daun tahongai diperlukan pelarut dengan konsentrasi yang tepat. Secara umum pelarut yang sering digunakan dalam ekstraksi maserasi adalah etanol dengan banyak keunggulan seperti tidak toksik, mempunyai daya absorbansi yang baik, bersifat selektif dan dapat menarik berbagai senyawa aktif (Wahyuni & Marpaung, 2020). Dengan adanya perbedaan atau variasi konsentrasi pelarut etanol akan mempengaruhi nilai rendemen, aktifitas, dan kandungan suatu ekstrak. Pelarut etanol yang digunakan yaitu dengan konsentrasi 50%, 70%, dan 96% untuk menentukan kadar alkaloid total yang tersari dalam ekstrak daun tahongai dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

Konsentrasi pelarut etanol berpengaruh terhadap hasil ekstraksi bahan alam yang menggunakan metode maserasi (Agustina & Ismiyanti 2015). Hal tersebut sejalan dengan Wahyuni & Marpaung (2020) yang menunjukkan bahwa ekstrak akar kuning mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid dengan kadar dalam pelarut etanol 50% sebesar 0,6939%, dalam pelarut etanol 70% sebesar 0,6607%, dan dalam pelarut etanol 96% sebesar 0,7826%. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan alkaloid pada ekstrak akar kuning paling baik tersari dengan menggunakan etanol 96%. Etanol 96% memiliki komposisi campuran etanol yang lebih banyak dari air dengan perbandingan 24:1 (Wahyuni & Marpaung 2020).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penentuan kadar alkaloid total ekstrak daun tahongai (*Kleinhovia hospita* Linn) berdasarkan konsentrasi etanol dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

1.2 Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka identifikasi masalah dari penelitian ini, yaitu sebagai berikut:

1. Apakah daun tahongai (*Kleinhovia hospita*) mengandung senyawa golongan alkaloid?
2. Berapakah kadar alkaloid total yang diperoleh dari masing-masing ekstrak dengan variasi konsentrasi etanol ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui apakah ekstrak daun tahongai (*Kleinhovia hospita*) mengandung senyawa golongan alkaloid.
2. Mengetahui dengan adanya perbedaan konsentrasi pelarut etanol 50%, 70%, dan 96% dapat menentukan konsentrasi pelarut yang tepat.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Menambah wawasan dan pengetahuan bagi penelitian mengenai dengan adanya variasi konsentrasi pelarut etanol dapat menentukan konsentrasi pelarut yang tepat dan mengetahui adanya senyawa aktif yang tergolong alkaloid di dalam ekstrak daun tahongai.

2. Manfaat Praktis

Diharapkan menjadi suatu informasi ilmiah untuk pengembangan fitofarmaka berbasis tumbuhan tahongai.

1.5 Hipotesis

H₀ : Ekstrak etanol daun tahongai mengandung senyawa golongan alkaloid.

H₁ : Ekstrak etanol daun tahongai tidak mengandung senyawa golongan alkaloid.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tahongai (*Kleinhovia hospita* L)

2.1.1 Definisi

Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber daya alam. Keanekaragaman hayati terdiri dari spesies tanaman. Bahan alam tersebut dapat menjadi suatu potensi yang sangat bermanfaat terhadap perkembangan industri farmasi di negeri ini. Saat ini pola hidup masyarakat dunia kembali banyak menggunakan bahan-bahan alam terutama di Indonesia sehingga banyak tumbuhan yang digunakan untuk pengobatan. Salah satu tumbuhan yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat adalah daun tahongai (Clara & Alfarabi, 2019)

2.1.2 Klasifikasi

Kleinhovia hospita merupakan satu-satunya spesies dalam genus *Kleinhovia*. Klasifikasi *K. hospita* adalah sebagai berikut (Paramita, 2016).

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Malvales
Familia	: Sterculiaceae
Genus	: <i>Kleinhovia</i> L.
Spesies	: <i>Kleinhovia hospita</i> L



Gambar 2.1 Tanaman Tahongai (*Kleinhovia hospita* Linn)

2.1.3 Morfologi

Tanaman tahongai berukuran pendek hingga sedang, tingginya antara 5 sampai 20 meter. Kulit batang berwarna kelabu, dengan cabangnya berwarna abu-abu kehijauan dengan berambut jarang, dan secara morfologis tersusun atas akar, batang, daun, bunga, dan buah (Paramita, 2016).

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 tahongai 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 mudah kehijauan dan bulat. Biji tahongai berbentuk hampir bulat dengan diameter 1,5-2 mm dan berwarna hitam atau coklat tua (Paramita, 2016).

2.1.4 Habitat Tanaman

Tahongai dikenal dengan nama kayu katimahar (mahar) adalah salah satu tumbuhan tropika Indonesia. Masyarakat Sulawesi Selatan sering menyebutnya tumbuhan ini dengan nama palisa (Makassar). Di Jawa, dikenal dengan nama timoho. Masyarakat Kalimantan Timur juga sudah mulai mengenal tumbuhan *K. hospita* atau tahongai (Clara & Alfarabi, 2019)

Tumbuhan ini dikenal dengan berbagai nama di daerah lain Indonesia yaitu, katimoho, timoho, katimanga, timanga atau kayu tahun (Jawa); katimahar atau kimau (Melayu); tangkele atau tangkolo (Sunda), manjar (Lampung), katemaha (Madura), katimala (Bali), kadanga (Flores), klundang (Sumba); bintangar (Sulawesi Utara); ngededo atau ngaru (Maluku Utara); paliasa (Makassar); aju pali atau kauwasan (Bugis) (Clara & Alfarabi, 2019).

2.1.5 Manfaat Tanaman

Tanaman tahongai (*K.hospita*) merupakan salah satu jenis tanaman yang tersebar luas di Indonesia. Bagian tanaman tahongai yang umum digunakan yaitu daunnya. Tahongai dalam pengobatan tradisional dimanfaatkan sebagai obat sakit kepala, hipertensi, diabetes, dan gatal-gatal. Bioaktivitas yang dimiliki daun tahongai antara lain sebagai antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, antidiabete, dan antikanker (Magvirah dkk., 2020).

2.1.6 Golongan Senyawa Kimia Aktif

Tanaman tahongai merupakan suatu tumbuhan yang banyak dijumpai di negara beriklim tropis termasuk Indonesia. Tanaman tahongai terdiri dari batang, daun, bunga, buah, dan akar. Bagian tanaman yang umum digunakan, yaitu daunnya. Pada bagian daun tahongai memiliki kandungan metabolit sekunder, yaitu senyawa alkaloid, saponin, dan flavonoid yang memiliki manfaat sebagai antibakteri, antikanker, antioksidan, antidiabete dan antiinflamasi (Saputra, 2021).

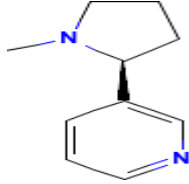
Tabel 2.1 Metabolit skunder Yunita (2019)

Metabolit Skunder	Hasil Uji	Keterangan
Alkaloid	Endapan berwarna coklat dengan pereaksi wagner	+
Flavonoid	Lapisan amil etanol berwarna merah coklat	+
Saponin	Terdapat busa dan terjadi perubahan warna dari hijau tua menjadi merah kehitaman	+

2.1.6.1 Alkaloid

Alkaloid merupakan kelompok metabolit sekunder terpenting yang ditemukan pada tumbuhan. Keberadaan alkaloid di alam tidak pernah berdiri sendiri. Golongan senyawa ini berupa campuran dari berupa beberapa alkaloid utama dan beberapa kecil. Definisi yang tepat dari istilah 'alkaloid' (mirip alkali) agak sulit karena tidak ada batas yang jelas antara alkaloid dan amina kompleks yang terjadi secara alami. Alkaloid khas yang berasal dari tumbuhan, senyawa ini bersifat basa, mengandung satu atau lebih atom nitrogen (biasanya dalam cincin heterosiklik) dan mereka biasanya memiliki aktivitas fisiologis yang pada manusia atau hewan

lainnya (Julianto, 2019). Alkaloid yang mempunyai rumus senyawa kimia $C_{10}H_{14}N_2$ dan rumus bangun 3-[(2S)-1-methylpyrrolidin-2-yl]pyridine. Struktur dasar senyawa alkaloid dapat dilihat pada Gambar 2.2



Gambar 2.2 Struktur Alkaloid Indol (NCBI, 2025)

Alkaloid dapat dihasilkan dari bahan alam seperti tanaman, hewan, bakteri maupun jamur, namun kandungan dan distribusi terbesar terdapat di dalam tanaman. Pada umumnya senyawa alkaloid terdapat dalam 2 bentuk, yaitu bentuk bebas/bentuk basa dan dalam bentuk garamnya. Alkaloid dalam bentuk basa akan mudah larut dalam pelarut organik seperti eter, kloroform, sedangkan senyawa alkaloid dalam bentuk garam lebih mudah larut dalam air. Alkaloid biasanya berasa pahit dan memiliki aktivitas farmakologis tertentu. Senyawa alkaloid akan bereaksi dengan pereaksi wagner (Iodine dalam KI) dan dragendorff' (Bismuth KI). Kegunaan alkaloid bagi tanaman adalah sebagai zat racun untuk melawan serangga maupun hewan herbivora, merupakan produk akhir reaksi detoksifikasi dalam metabolisme tanaman, regulasi faktor pertumbuhan, dan sebagai cadangan unsur (Hanifah dkk., 2024).

2.2 Kafein

Kafein adalah alkaloid putih yang mempunyai rumus senyawa kimia $C_8H_{10}N_4O_2$, dan rumus bangun 1,3,7-trimethylxanthine. Kafein mempunyai kemiripan struktur kimia dengan 3 senyawa alkaloid yaitu Xanthin, Theophylline, dan Theobromin. Komponen yang dikenal dalam kafein yaitu Xanthin. Bentuk fisik dari kafein berupa serbuk putih, berbentuk jarum mengkilap, biasanya menggumpal, tidak memiliki aroma, serta memiliki rasa yang pahit. Kafein memiliki kelarutan yaitu agak sukar larut dalam air dan dalam etanol, sukar larut dalam eter, dan mudah larut dalam kloroform (Latunra dkk., 2021).



Gambar 2.3 Struktur kimia kafein (NCBI, 2025)

Kafein mempunyai beberapa efek farmakologis yang dimanfaatkan secara klinis, diantaranya menstimulasi susunan saraf pusat, relaksasi otot polos terutama otot bronkus, serta stimulasi otot jantung. Berdasarkan efek farmakologis dari kafein tersebut, kafein yang disediakan dalam minuman ditentukan dengan jumlah yang sudah dibatasi, karena efek penggunaan kafein yang berlebihan dapat menyebabkan gugup, gelisah, tremor, mual, hipertensi, dan juga kejang. Konsumsi kafein juga menyebabkan kecanduan jika dikonsumsi dalam jumlah yang banyak dan secara rutin. Namun kecanduan kafein ini berbeda dengan kecanduan psikotropika ataupun narkotika, karena gejala kecanduan tersebut akan hilang dalam satu atau dua hari setelah konsumsi. Senyawa kafein ini terdapat pada teh, biji coklat, dan kopi (Maramis dkk., 2013).

2.2.1 Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi merupakan teknik pemisahan senyawa kimia yang bertujuan untuk memisahkan atau menarik satu atau lebih senyawa dari suatu sampel atau larutan asal menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstraksi secara umum dapat digolongkan menjadi dua yaitu ekstraksi padat cair dan ekstraksi cair-cair. 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 (Teti, 2014).

Maserasi adalah proses penarikan senyawa aktif pada simpisia yang dilakukan dengan cara merendam bahan dengan pelarut tertentu tanpa pemanasan dalam waktu tertentu dan sesekali dilakukan

pengadukan supaya senyawa aktif dalam simplisia dapat terlarut dengan sempurna (Chairunnisa dkk., 2019).

Prinsip maserasi yaitu penyari menembus dinding sel yang kemudian dapat melarutkan zat aktif didalam sel dan diluar sel dengan perbedaan konsentrasi tinggi. Kelebihan metode maserasi yaitu dapat digunakan untuk melarutkan senyawa yang tidak tahan terhadap panas sehingga senyawa tersebut dapat terhindar dari kerusakan, sedangkan kerugiannya menggunakan metoda maserasi adalah membutuhkan pelarut yang banyak (Mukhriani dkk., 2014).

Faktor lain yang perlu diperhatikan dalam proses ekstraksi yaitu waktu maserasi. Semakin lama waktu maserasi yang diberikan maka semakin lama kontak antara pelarut dengan bahan yang akan memperbanyak jumlah sel yang pecah dan bahan aktif yang terlarut (Chairunnisa dkk., 2019). Kondisi ini akan terus berlanjut hingga tercapai kondisi kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam bahan dengan konsentrasi senyawa pada pelarut. Yulianingtyas dan Kusmartono (2016), melaporkan bahwa hasil ekstrak flavonoid daun belimbing wuluh dengan waktu maserasi 24 jam menghasilkan rendemen yang paling rendah yaitu 6,210 %, sedangkan pada waktu maserasi 48 jam hasil rendemen ekstrak semakin meningkat yaitu 8,140 % (Yulianingtyas dan Kusmartono., 2016).

2.3 Validasi Metode

Validasi metode menurut *United States Pharmacopeia* (USP) dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis akurat, spesifik, reproduсібel, dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis. Suatu metode analisis harus divalidasi untuk melakukan verifikasi bahwa parameter-parameter kinerjanya cukup mampu untuk mengatasi problem analisis, karenanya suatu metode harus divalidasi, ketika:

1. Metode baru dikembangkan untuk mengatasi problem analisis tertentu
2. Metode yang sudah baku direvisi untuk menyesuaikan perkembangan atau karena munculnya suatu problem yang mengarahkan bahwa metode baku tersebut harus direvisi

3. Panjaminan mutu yang mengindikasikan bahwa metode baku telah berubah seiring dengan berjalannya waktu
4. Metode baku digunakan di laboratorium yang berbeda, dikerjakan oleh analis yang berbeda, atau dikerjakan dengan alat yang berbeda
5. Untuk mendemonstrasikan kesetaraan antar 2 metode, seperti antara metode baru dan metode baku (Abdul, 2017).

2.3.1 Linearitas

Pengujian linearitas adalah pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan metode analisis dalam memberikan respon proporsional atau linear terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Pengujian linearitas dilakukan dengan menggunakan minimal lima konsentrasi larutan standar. Hasil respon dari masing-masing konsentrasi kemudian diplotkan dalam kurva kalibrasi dengan sumbu X merupakan konsentrasi standar dan sumbu Y merupakan respon dari instrumen pengujian. Setelah terbentuk kurva, maka dilakukan penentuan nilai koefisien korelasi (r). Nilai koefisien korelasi yang mendekati satu dianggap menjadi bukti bahwa metode memiliki nilai linearitas yang baik (Beg, 2012).

2.3.2 Akurasi

Pengujian akurasi adalah pengujian yang dilakukan untuk mengetahui apakah metode analisis yang digunakan mampu menghasilkan nilai perolehan kembali (*recovery*) yang baik. Nilai perolehan kembali yang didapatkan akan menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Karena itu, akurasi merupakan parameter paling penting yang harus dipenuhi oleh suatu metode analisis (Araujo, 2009).

Dalam penentuan akurasi metode analisis, pengukuran sampel dilakukan dalam minimal tiga konsentrasi yang berbeda (tinggi, sedang, dan rendah) dimana pengukuran di masing-masing konsentrasi dilakukan minimal sebanyak 3 kali replikasi. Kriteria penerimaan dari pengujian akurasi adalah didapatkannya nilai perolehan kembali (*recovery*) sebesar 80-110% (Riyanto, 2017).

2.3.3 Presisi

Presisi suatu metode analisis, menunjukkan kedekatan hasil serangkaian pengukuran yang diperoleh dari pengujian berulang pada kondisi tertentu. Presisi dinyatakan dalam nilai simpangan baku relatif (SBR) dengan syarat penerimaannya adalah $SBR < 2\%$. Pengujian presisi metode analisis dapat dibagi menjadi tiga kategori, yaitu keterulangan (*repeatability*), ketertiruan (*reproducibility*) dan presisi antara (*intermediate precision*) (ICH, 2005).

Keterulangan menunjukkan nilai presisi suatu metode jika pengujian dilakukan berulang oleh satu analis pada kondisi yang sama dalam interval waktu yang pendek. Pengujian keterulangan dapat dilakukan dengan menggunakan minimal tiga konsentrasi sampel yang masing-masing diukur sebanyak tiga kali, atau dengan menggunakan satu konsentrasi (pada konsentrasi 100%) dengan enam kali replikasi. Presisi antara menunjukkan nilai presisi dari metode analisis ketika dilakukan pada kondisi atau lingkungan yang berbeda. Pengujian dilakukan dengan minimal terdapat dua perbedaan baik dengan menggunakan analisis yang berbeda, peralatan berbeda ataupun pada hari yang berbeda. Ketertiruan merupakan nilai presisi yang didapatkan dengan membandingkan hasil analisis yang didapatkan dari antar laboratorium yang berbeda (ICH, 2005).

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

Limit of detection (LOD) adalah konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat di deteksi pada saat pengukuran (Kruve, 2015). Terdapat beberapa pendekatan yang dapat digunakan dalam pengukuran nilai LOD diantaranya adalah dengan berdasarkan evaluasi visual, berdasarkan *signal to noise* dan berdasarkan standar deviasi respon dan nilai slope (ICH, 2005).

Pendekatan berdasarkan evaluasi visual dapat digunakan untuk metode analisis instrumental maupun non-instrumental. Pada pendekatan ini, nilai LOD ditentukan dengan menggunakan sampel yang telah diketahui konsentrasinya. Konsentrasi dari sampel diturunkan secara bertahap dan nilai LOD adalah nilai konsentrasi minimal dari analit yang dapat dideteksi (Peris-Vicente dkk., 2015).

Pendekatan *signal to noise* hanya dapat digunakan pada metode yang menunjukkan nilai *noise* atau gangguan dasar (Kruve dkk., 2015). Penentuan nilai LOD pada pendekatan ini dilakukan dengan membandingkan sinyal yang didapat dari pengukuran analit pada sampel konsentrasi rendah dengan sinyal dari placebo (*signal noise*). LOD adalah konsentrasi minimal yang memberikan nilai rasio 3:1 dengan sinyal *noise* (Peris-Vicente dkk., 2015).

Nilai LOD dari pendekatan berdasarkan standar deviasi respon dan nilai slope didapatkan dengan menggunakan rumus (ICH, 2005) pada persamaan 2.1

$$\text{LOD} = (3 \sigma) / S \quad (2.1)$$

Keterangan :

σ = nilai standar deviasi

S = slope dari kurva kalibrasi

2.3.5 Batas kuantifikasi (*Limit of quantification, LOQ*)

Limit of quantification (LOQ) adalah konsentrasi analit terkecil dalam sampel yang dapat memenuhi kriteria presisi dan akurasi (Kruve, 2015). Pengukuran nilai LOQ diantaranya adalah dengan berdasarkan evaluasi visual, berdasarkan *signal to noise* dan berdasarkan standar deviasi respon dan nilai slope (ICH, 2005).

Pada pendekatan evaluasi visual, nilai LOQ ditentukan dengan menggunakan sampel yang telah diketahui konsentrasinya. Konsentrasi sampel akan diturunkan secara bertahap dimana pada masing–masing konsentrasi pengukuran dilakukan sebanyak enam kali. Kemudian, hasil yang didapatkan di plot pada kurva dengan konsentrasi pada sumbu X dan nilai simpangan baku relative (SBR) pengukuran masing–masing konsentrasi pada sumbu Y. Nilai SBR cenderung akan meningkat dengan menurunnya konsentrasi. Nilai LOQ adalah konsentrasi terkecil dari analit yang masih dapat menghasilkan nilai SBR sesuai dengan persyaratan presisi (Peris-Vicente, 2015).

Metode penentuan nilai LOQ pada pendekatan *signal to noise* dilakukan dengan membandingkan sinyal dari pengukuran sampel yang

telah diketahui konsentrasinya dengan sinyal dari placebo (*signal noise*). LOQ adalah konsentrasi minimal yang memberikan nilai rasio 10:1 dengan signal noise (Peris-Vicente, 2015).

Nilai LOQ dari pendekatan berdasarkan standar deviasi respon dan nilai slope didapatkan dengan menggunakan rumus (ICH, 2005) pada persamaan 2.2

$$\text{LOQ} = (10 \sigma/S) \quad (2.2)$$

Keterangan :

σ = nilai standar deviasi

S = slope dari kurva kalibrasi

2.4 Spektrofotometer UV-Vis

2.4.1 Definisi

Spektrofotometri adalah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrofotometer menghasilkan cahaya dari spektrum panjang gelombang tertentu, dan fotometer adalah perangkat yang mengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi. Jadi Spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi relatif, jika energi ditransmisikan, direfleksikan atau dipancarkan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Keuntungan dari Spektrofotometer dengan fotometer adalah lebih banyak panjang gelombang cahaya putih yang dapat dideteksi melalui perangkat penyelesai seperti prisma, grating atau celah optis. Dalam sebuah fotometer, filter berbagai warna dengan spesifikasi melewati suatu rute pada panjang gelombang tertentu (Gandjar, 2007).

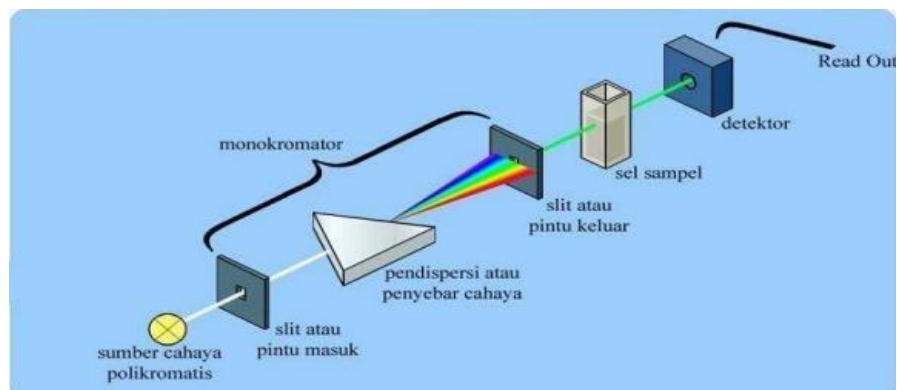
2.4.2 Prinsip kerja Spektrofotometri UV-Vis

Spektrum elektromagnetik dibagi menjadi beberapa daerah cahaya. Suatu wilayah akan diserap oleh atom atau molekul, dan panjang gelombang cahaya yang diserap dapat menunjukkan struktur senyawa yang diteliti. Spektrum elektromagnetik mencakup berbagai panjang gelombang dari sinar gamma gelombang pendek berenergi tinggi hingga pada panjang gelombang mikro.

Spektrum serapan di daerah ultraviolet dan tampak umumnya terdiri dari satu atau beberapa pita serapan lebar, dan semua molekul dapat

menyerap radiasi di daerah ultraviolet-tampak. Oleh karena itu, mereka mengandung elektron, baik yang digunakan bersama atau tidak, yang dapat tereksitasi ke tingkat yang lebih tinggi. Panjang gelombang pada waktu penyerapan terjadi tergantung pada sejauh mana elektron tereksitasi dalam molekul. Elektron dalam satu ikatan kovalen tunggal berhubungan erat, dan radiasi dengan energi tinggi, atau panjang gelombang pendek, diperlukan eksitasinya (Wunax, 2011).

Keuntungan utama metode spektrofotometri adalah bahwa metode ini memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana angka yang terbaca langsung dicatat oleh detector dan tercetak dalam bentuk angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan secara sederhana instrumen spektrofotometri yang disebut spektrofotometri terdiri dari :



Gambar 2.4 Pembacaan Spektrofotometer

Fungsi masing-masing bagian :

1. Sumber sinar polikromatis berfungsi sebagai sumber sinar polikromatis dengan berbagai macam rentang panjang gelombang.
2. Monokromator berfungsi sebagai penyeleksi panjang gelombang yaitu mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Pada gambar di atas disebut sebagai pendispersi atau penyebar cahaya. dengan adanya pendispersi hanya satu jenis cahaya atau cahaya dengan panjang gelombang tunggal yang mengenai sel sampel. Pada gambar di atas hanya cahaya hijau yang melewati pintu keluar. Proses dispersi atau penyebaran cahaya.

3. Sel sampel berfungsi sebagai tempat meletakkan sampel UV, VIS dan UV VIS menggunakan kuvet sebagai tempat sampel. Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa atau gelas.
4. Detektor berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik.
5. *Read out* merupakan suatu sistem baca yang menangkap besarnya isyarat listrik yang berasal dari detektor.

Adapun hal-hal yang harus diperhatikan dalam analisis spektrofotometri

1. Pada saat pengenceran, alat pengencer harus benar-benar bersih dan bebas dari segala kotoran
2. Alat harus benar-benar steril saat digunakan
3. Jumlah zat yang digunakan harus sesuai dengan yang ditetapkan.
4. Dalam penggunaan Spektrofotometri UV-Vis, sampel harus jernih dan tidak keruh.
5. Bila penggunaan Spektrofotometri UV-Vis, sampel harus berwarna (Putri, 2017).

2.4.3 Hukum Lambert Beer

Cahaya yang diserap diukur sebagai absorbansi (A), sedangkan cahaya yang dihamburkan diukur sebagai transmitansi (T), dinyatakan dengan hukum lambert-beer atau Hukum Beer, berbunyi (Suyono, 2013):

"Jumlah radiasi cahaya tampak (ultraviolet, inframerah, dan sebagainya) yang diserap atau duransmisikan oleh suatu larutan merupakan suatu fungsi eksponen dari konsentrasi zat dan tebal larutan"

Rumus yang diturunkan dari Hukum-Beer dapat dilihat pada persamaan berikut (Suhartati, 2013)

$$A = \log I_0/I = a \cdot b \cdot c \text{ (g/liter)} = \epsilon \cdot b \cdot c \text{ (mol/liter)} \quad (2.3)$$

2.5 Kromatografi Lapis Tipi (KLT)

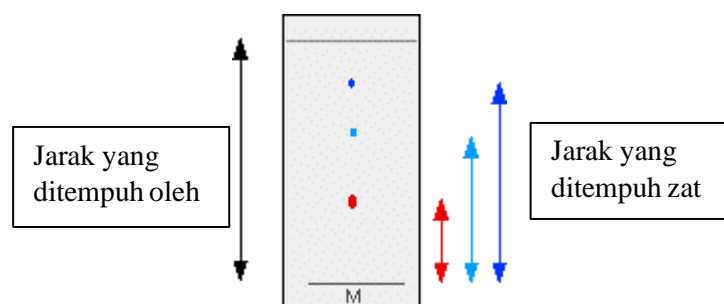
Kromatografi merupakan suatu teknik praktis yang sudah dikembangkan dari ketertarikan para ahli kimia dalam memiliki kemampuan untuk memisahkan suatu campuran senyawa menjadi komponen-komponennya dengan tujuan akhir mampu untuk

mengidentifikasi komponen-komponen individualnya. Dalam kromatografi, molekul dipisahkan dengan melarutkan campuran dalam fase gerak (misalnya *buffer*) dan melewatkannya melalui fase diam (misalnya manik-manik kromatografi). Mereka semua memiliki fase diam (padat atau cair) dan fase gerak (cairan atau gas) (Hermita,2014).

Fase gerak mengalir melalui fase diam dan membawa komponen-komponen campuran. kromatografi lapis tipis merupakan suatu analisis sederhana yang dapat digunakan untuk melakukan penegasan terhadap senyawa kimia yang terkandung pada tumbuhan disamping skrining fitokimia. Setelah menentukan noda pemisahan pada plat KLT maka dilakukan penentuan Rf yang dapat memberikan identitas senyawa yang terkandung (Forestryana dan Amida, 2020).

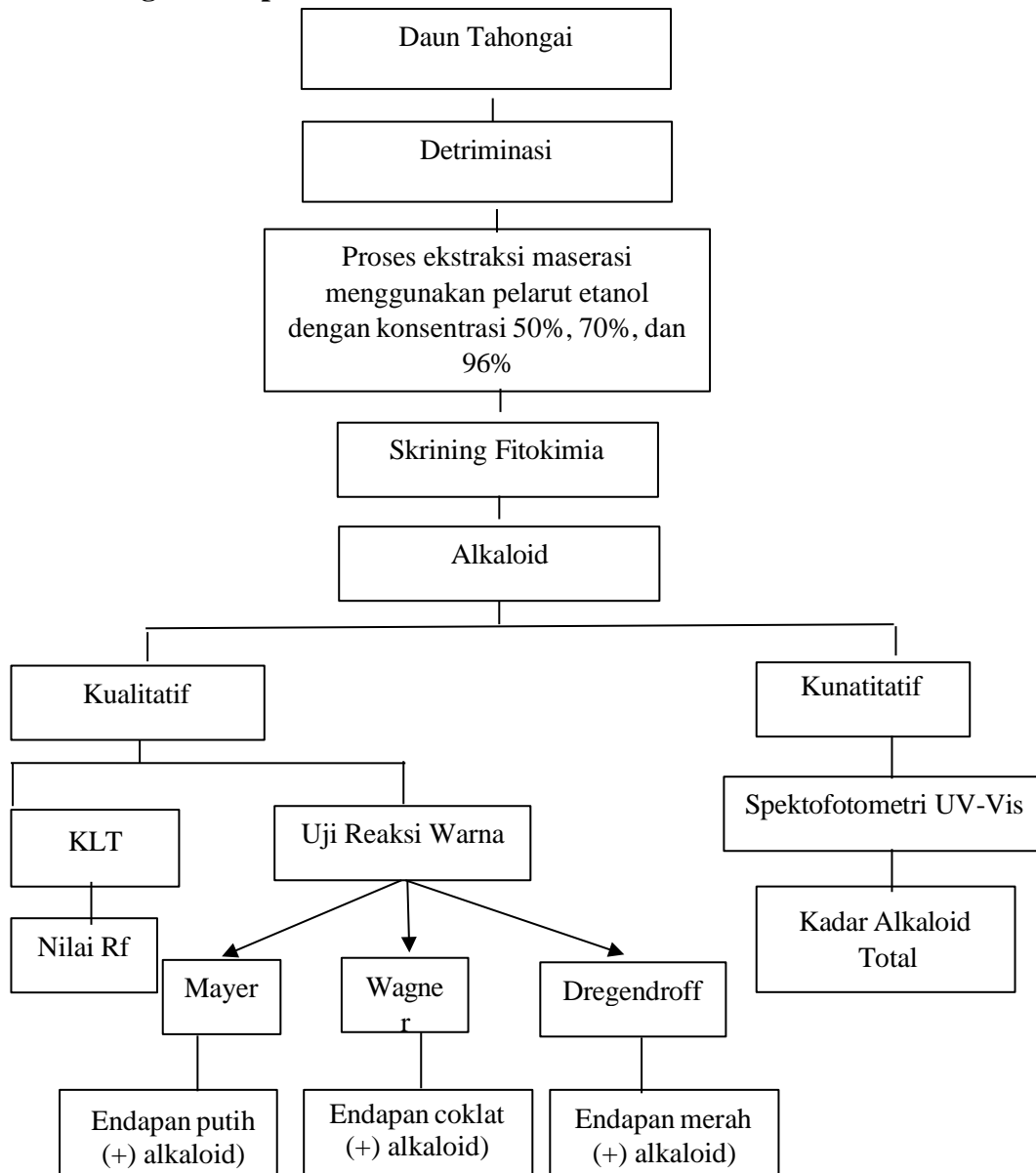
Proses pengembangannya sama dengan kromatografi kertas, dengan keunggulan aliran yang lebih cepat, pemisahan yang lebih baik, dan berbagai fase diam maupun fase gerak. Oleh karena kesederhanaan dan kecepatannya, KLT sering digunakan untuk memantau reaksi kimia dan menganalisis produk reaksi secara kualitatif, dan nilai Rf yang baik terletak antara 0,2-8 untuk memaksimalkan pemisahan (Rosamah, 2019).

Jarak yang ditempuh spot-spot pada permukaan plat diukur dan dengan menggunakan persamaan dapat dihitung besarnya nilai Rf, sebagai berikut:



Gambar 2.5 Cara Pengukuran Rf

2.6 Kerangka Kosep



BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

3.1.1 Tempat Penelitian

Pengujian analisis senyawa alkaloid total ekstrak daun tahongai berdasarkan perbedaan konsentrasi etanol di lakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

3.1.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan jangka waktu yang diperlukan mulai Januari - Maret 2025.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik seperangkat alat maserasi, *waterbath*, *rotary evaporator*, gelas ukur, gelas kimia, labu ukur, ayakan mesh no 40, cawan porselen, tabung reaksi, rak tabung reaksi, belender, pipet tetes, mikro pipet tetes, dan spektrofotometer UV-Vis (BEL Photonik UV-M15®).

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah etanol p.a (Merck), akuades, HCl, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, NaOH 2N, asam sitrat, Dapar fosfat (pH 4,7), *Bromocresol Green* (BCG), kloroform, kafein *pro analyst*, n-heksan, etil asetat, kertas saring, dan plat silika GF 254.

Bahan uji yang digunakan adalah daun tahongai (*Kleinhovia hospita*) yang diperoleh dari Desa Belayan Kecamatan Malinau Utara, Kabupaten Malinau, Provinsi Kalimantan Utara dan dideterminasi di Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan Tropis Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dilaboratorium dengan menguji adanya senyawa alkaloid pada ekstraksi etanol daun tahongai secara kualitatif dan dilakukan pengujian secara kuantitatif untuk mengetahui kadar alkaloid total yang terkandung dalam daun tahongai.

3.3.2 Variabel Penelitian

3.3.2.1 Variabel Bebas (*Independent Variable*)

Variabel bebas pada penelitian ini meliputi konsentrasi etanol 50%,70% dan 96% ekstrak daun tahongai (*Kleinhovia hospita*)

3.3.2.2 Variabel Terikat (*Dependent Variable*)

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi oleh adanya variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah adanya atau tidak ada kadar senyawa alkaloid ekstrak etanol 50%,70% dan 96% daun tahongai (*Kleinhovia hospita*)

3.3.2.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini antara lain adalah proses maserasi, waktu ekstraksi, suhu, dan panjang gelombang pengukuran.

3.3.3 Definisi Oprasional

3.3.3.1 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.

3.3.3.2 Alkaloid

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

3.3.3.3 Etanol

Etanol adalah jenis alkohol yang paling sering digunakan sebagai pelarut dalam proses maserasi.

3.3.3.4 Uji Kualitatif

Uji kualitatif merupakan metode untuk menganalisis apakah terdapat kandungan senyawa alkaloid pada daun tahongai dengan menggunakan kromatografi lapis tipis.

3.3.3.5 Uji kuantitatif

Uji kuantitatif merupakan metode untuk menganalisis kadar senyawa alkaloid yang terdapat di dalam daun tahongai dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

3.3.4 Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian menggunakan daun tahongai yang diperoleh dari Desa Belayan, Kecamatan Malinau Utara, Kabupaten Malinau, Provinsi Kalimantan utara.

3.3.5 Teknik Pengumpulan Data

3.3.5.1 Data Primer

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

3.3.5.2 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.

3.3.6 Teknik Analisis Data

Hasil penelitian dengan uji kualitatif berupa tabel dan gambar dari pengamatan perubahan yang terjadi dalam mereaksikan sampel. Hasil penelitian uji kuantitatif berupa nilai absorbansi dari sampel. Kadar sampel akan diketahui melalui perhitungan kurva baku.

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Pengambilan Sampel

Karakteristik daun yang digunakan ialah daun yang tidak terlalu muda juga tidak terlalu tua. Penyortiran segera dilakukan setelah sampel selesai

dipetik. Kemudian dicucian pencucian bertujuan untuk menghilangkan kotoran dan mengurangi mikroba-mikroba yang menempel pada sampel. Pencucian dilakukan dengan menggunakan air mengalir. Pengeringan sampel dilakukan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari dan ditutupi oleh kain hitam. 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 dan kedap udara. Simplisia disimpan di tempat yang kering, tidak lembab, dan terhindar dari sinar matahari langsung.

3.4.2 Determinasi Tumbuhan

Determinasi daun tahongai dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan Tropis Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda. Hasil dari detriminasi akan menunjukkan bahwa tanaman tersebut termasuk dalam famili Malvaceae dan spesies *Kleinhovia hospita* L. atau bukan.

3.4.3 Ekstraksi Sampel

Simplisia daun tahongai dibuat dengan 3 wadah, masing-masing wadah sebanyak 100 gram serbuk daun tahongai, kemudian tiga wadah tersebut ditambahkan pelarut etanol, masing-masing wadah berisi etanol 50%, 70%, dan 96% dengan masing-masing volume 1000 mL etanol hingga serbuk simplisia terendam dan dibiarkan selama 3 hari sesekali di gojok. Kemudian disaring dan diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan dihitung rendemen masing-masing konsentrasi ekstrak etanol (Marpaung & Romelan, 2018).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh (g)}}{\text{Bobot simplisia awal yang ditimbang (\%)}} \times 100\% \quad (3.1)$$

3.5 Uji Kualitatif

3.5.1 Identifikasi Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak ditambahkan 1 mL HCl 2 N dan 9 mL air aquades. Lalu dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan

dan disaring. Filtrat diambil 3 tetes, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer akan menghasilkan endapan putih atau kuning. Kemudian filtrat diambil 3 tetes, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Wagner menghasilkan endapan coklat-hitam. Selanjutnya filtrat diambil 3 tetes, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff menghasilkan endapan merah bata. Alkaloid dianggap positif apabila terbentuk endapan paling sedikit dua atau tiga dari percobaan di atas (Nurhayat *at al*, 2020).

3.5.2 Identifikasi Alkaloid Secara Kromotografi Lapis Tipis (KLT)

Pada pemisahan senyawa alkaloid pada KLT digunakan plat silika GF254 dengan ukuran plat 5 x 10 cm, kemudian plat KLT dipanaskan dalam oven dengan suhu 110°C dengan waktu 30 menit, kemudian ekstrak etanol 50%, 70%, dan 96% ditotol pada lempeng pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat dengan pipa kapiler kemudian dikeringkan. pada berbagai pembanding fase gerak yaitu eluen n-heksan : etil asetat (4:1). Setelah itu eluen dijenuhkan dalam chamber dengan menggunakan kertas saring. Selanjutnya plat KLT yang telah ditotol dengan ekstrak dimasukkan kedalam chamber dan kemudian dielusi. Pengamatan terhadap penampakan noda dilakukan dengan menggunakan sinar UV 254 nm, kemudian dihitung nilai Rf.

3.6 Analisis Kuantitatif

3.6.1 Pembuatan Larutan Baku Kafein

Sebanyak 100 mg kafein dilarutkan pada labu ukur 100 ml dengan aqudest panas. Selanjutnya dipipet sebanyak 5 ml larutan 1000 ppm dan masukan ke dalam labu ukur 50 ml sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Kemudian deret standar di buat dengan (Arwangga dkk, 2016).

3.6.2 Penentuan *Operating Time*

Diambil sebanyak 1 mL larutan induk kafein 100 ppm, kemudian ditambahkan 5 mL dapar fosfat dan 5 mL larutan BCG. Kemudian diekstraksi dengan 5 mL kloroform sebanyak 2 kali menggunakan corong pisah dan diambil fase kloroform. Fase kloroform dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian tambahkan kloroform sampai tanda batas dan kocok hingga homogen. Kemudian ditentukan waktu serapan yang stabil (Salamah dkk., 2017).

3.6.5 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks}) Kafein

Larutan induk kafein 100 ppm diambil sebanyak 1 mL, kemudian ditambahkan 5 mL dapar fosfat dan 5 mL larutan BCG. Kemudian diekstraksi dengan 5 mL kloroform sebanyak 2 kali menggunakan corong pisah dan diambil fase kloroform. Fase kloroform dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian tambahkan kloroform sampai tanda batas dan kocok hingga homogen. Kemudian diamkan selama waktu *operating time* yang diperoleh, setelah hasil panjang gelombang maksimum standar baku kafein diperoleh, panjang gelombang maksimum tersebut digunakan untuk mengukur serapan dari sampel ekstrak etanol daun tahongai.

3.6.6 Pembuatan Seri Kurva Baku Kafein

Kurva baku dibuat dengan menggunakan konsentrasi 1 ppm, 3 ppm, 6 ppm, 9 ppm dan 12 ppm dengan cara memipet larutan induk dengan kadar 100 ppm sebanyak 0,1 mL, 0,3 mL, 0,6 mL, 0,9 mL, dan 1,2 mL kemudian dipreparasi dengan 5 mL dapar fosfat pH 4,7 dan 5 mL larutan BCG dan diekstraksi dengan 5 mL kloroform sebanyak 2 kali menggunakan corong pisah. Diambil fase kloroform kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml tambahkan kloroform sampai tanda batas aduk hingga homogen. Kemudian didiamkan selama waktu *operating time* yang diperoleh. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Ayu., 2021).

3.6.7 Penentuan Kadar Alkaloid Total Ekstrak Daun Tahongai (Etanol 50%, 70%, 96%)

Sebanyak 2 ml ekstrak daun tahongai diambil masing-masing konsentrasi ekstrak. Lalu ditambahkan dapar fosfat dan larutan BCG 5 ml. Kemudian diekstraksi dengan kloroform sebanyak tiga kali menggunakan corong pisah. Diambil fase kloroform dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan kloroform sampai batas volume. Kemudian diukur absorbansi pada panjang gelombang 294 nm.

Membuat besaran persentase kadar digunakan persamaan 3.2

$$A = \frac{C \times Fp \times V \times 100\%}{B \times 10^2} \quad (3.2)$$

Keterangan :

A = Presentase sampel terukur (%)

C = konsentrasi yg diperoleh ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

Fp = volume pelarut (mL)

V = volume pelarut (mL)

B = berat cuplikan (g)

3.6.8 Analisis Data

Penentuan kadar alkaloid total dilakukan dengan mencari nilai regresi dan perhitungan koefisien variasi regresi linier. Setelah itu dilakukan perhitungan kadar alkaloid total ekstrak etanol daun tahongai dengan menggunakan rumus $y = bx + a$. Dari rumus tersebut maka akan diperoleh kadar alkaloid total dan nilai Standar Deviasi (SD).

3.7 Validasi Metode

3.7.1 Penentuan Linearitas

Linearitas diukur menggunakan variasi konsentrasi larutan baku kafein pada rentang 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm dengan cara memipet larutan baku kafein 100 sebanyak 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, dan 5 mL kemudian dipreparasi dengan 5 mL dapar fosfat pH 4,7 dan 5 mL larutan BCG dan diekstraksi dengan 5 mL kloroform sebanyak 2 kali menggunakan corong pisah. Diambil fase kloroform kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL tambahkan kloroform sampai tanda batas aduk hingga homogen. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dan pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Hasil yang didapatkan kemudian diolah menggunakan *microsoft excel* sehingga diperoleh kurva linier $y = ax + b$ dengan r^2 sebagai linearitas determinan

3.7.2 Penentuan Akurasi

Dibuat seri konsentrasi 10, 15 dan 20 ppm dari larutan induk kafein 100 ppm, kemudian ditambahkan 1 ml masing-masing ekstrak etanol 70,50 dan 96% dan 5 ml dapar fosfat 5 ml larutan BCG. Kemudian diekstraksi dengan 5 mL kloroform sebanyak 2 kali dan diambil fase kloroform. Fase kloroform dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian tambahkan

kloroform sampai tanda batas dan kocok hingga homogen. Uji akurasi dilakukan 3 kali pengulangan dan uji akurasi ini dapat diterima jika % *recovery* yang diperoleh berada dalam rentang 80-120 %. Rumus untuk akurasi ditunjukkan pada persamaan 3.3

$$\% Recovery = \frac{\text{Konsentrasi yg Diperoleh}}{\text{Konsentrasi Sesungguhnya}} \times 100\% \quad (3.3)$$

3.7.3 Penentuan Presisi

Diambil sebanyak 1 mL larutan induk kafein 100 ppm, kemudian ditambahkan 5 mL dapar fosfat dan 5 mL larutan BCG. Kemudian diekstraksi dengan 5 mL kloroform sebanyak 2 kali dan diambil fase kloroform. Fase kloroform dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian tambahkan kloroform sampai tanda batas dan kocok hingga homogen. Diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum, replikasi sebanyak 6 kali, kemudian dihitung nilai *relative standard deviation* dengan rumus pada Persamaan 3.4

$$\% RSD = \frac{\text{Standar Deviasi}}{\text{Rata-rata hasil pengujian}} \times 100\% \quad (3.4)$$

3.7.4 Penentuan LOD dan LOQ

LOD dan LOQ dihitung secara statistik melalui garis regresi linear dari kurva kalibrasi. Dengan membuat larutan baku dengan konsentrasi 1, 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm kemudian ditambahkan daparr fosfat 5 mL dan BCG 5 mL. Kemudian diekstraksi dengan 5 mL kloroform sebanyak 2 kali dan diambil fase kloroform. Fase kloroform dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian tambahkan kloroform sampai tanda batas dan kocok hingga homogen. Absorbansi dari larutan pembanding diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Setelah diukur absorbansi dari larutan baku kerja di cari persamaan regresi antara konsentrasi dengan absorbansi. Kemudian di hitung nilai LOD dan LOQ.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Determinasi

Penelitian ini menggunakan daun tahongai (*Kleinhovia hospita* Linn.) sebagai sampel yang diperoleh dari tanaman milik pribadi di daerah Malinau, Kalimantan Utara. Untuk menjamin keakuratan penelitian, sampel diidentifikasi di Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan Tropis Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda. Determinasi bertujuan untuk mengetahui kebenaran serta identitas tanaman agar menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan baku penelitian. Hasil identifikasi (sesuai surat nomor: 350/UNI13.4.08/LL/2024) hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman tersebut termasuk dalam famili Malvaceae, spesies *Kleinhovia hospita* Linn.

4.2 Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan merendam dan mengojok simplisia beberapa kali menggunakan masing konsentrasi pelarut 96%, 70%, dan 50% selama 3x24 jam. Metode ini memiliki beberapa kelebihan diantaranya alat dan proses yang digunakan sederhana, bahan yang diekstraksi tidak mengalami kerusakan pada senyawa aktif akibat pemanasan, biaya pelaksanaan relatif tidak tinggi, dan dapat mengekstraksi bahan alam yang tidak tahan pada suhu yang tinggi (Perwati dkk., 2022). Pengadukan dilakukan secara berulang agar mempercepat waktu larut dalam mengekstraksi dan terjadi keseimbangan antara pelarut di luar sel dan di dalam sel pada sampel. Penggunaan konsentrasi etanol 96%, 70% dan 50% sebagai pelarut penyaringan, dengan adanya variasi konsentrasi pelarut etanol diharapkan dapat menentukan konsentrasi pelarut yang tepat dalam menyari senyawa aktif yang tergolong alkaloid di dalam ekstrak daun tahongai (Sentat dkk., 2015). Hasil maserasi yang diperoleh selanjutnya dipisahkan menggunakan *evaporator* untuk memperoleh ekstrak kental kemudian dihitung persen rendemennya, hasil rendemen dapat dilihat pada tabel 4.1

Tabel 4.1 Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Daun Tahongai

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	Rendemen
Ekstrak etanol 96%	100 gr	11,09 gr	11,09%
Ekstrak etanol 70%	100 gr	12,62 gr	12,62%
Ekstrak etanol 50%	100 gr	15,16 gr	15,16%

Ekstraksi yang diperoleh kemudian dilakukan perhitungan rendemen yang merupakan perbandingan bobot ekstrak yang diperoleh terhadap bobot simplisia yang di ekstraksi. Rendemen ini memberikan gambaran tentang seberapa banyak senyawa aktif yang berhasil ditarik dari bahan tersebut. Semakin tinggi nilai rendemen, semakin banyak pula senyawa aktif yang berhasil diekstraksi. Hasil ekstraksi menunjukkan bahwa rendemen tertinggi diperoleh dari ekstrak etanol 50%, yaitu sebesar (15,16%). Sementara itu, ekstrak etanol 70% menghasilkan rendemen (12,62%), dan ekstrak etanol 96% (11,09%).

Rendemen tertinggi pada ekstrak etanol 50% mengindikasikan bahwa pelarut ini mampu mengekstrak lebih banyak jenis senyawa aktif dari daun tahongai. Etanol 50% adalah campuran dari etanol dan air dengan perbandingan 1:1. Air bersifat polar sehingga mampu menarik senyawa-senyawa polar, sedangkan etanol yang kurang polar, menarik senyawa dengan berbagai tingkat polaritas, seperti alkaloid, flavonoid, tanin, antrakuinon, terpenoid, dan saponin. Kemampuan pelarut untuk menarik senyawa aktif didasarkan pada prinsip "*like dissolves like*", yaitu senyawa hanya dapat larut dalam pelarut yang memiliki tingkat polaritas yang sama.

4.3 Hasil Kualitatif

4.3.1 Identifikasi Alkaloid

Ekstrak kental yang diperoleh dari hasil penguapan selanjutnya dilakukan uji identifikasi skrining fitokimia dengan 3 pereaksi warna yaitu wagner, mayer, dan dragendroff. Hasil identifikasi uji warna dilakukan

dengan 3 tabung reaksi yang berisi sampel menambahkan pereaksi yang berbeda sebanyak 3 tetes setiap tabung reaksi. Alkaloid dianggap positif apabila terbentuk endapan paling sedikit dua atau tiga dari percobaan yang dilakukan (Nurhayat dkk, 2020). Hasil yang diperoleh dari ketiga ekstrak daun tahongai pada table 4.2 dinyatakan positif mengandung alkaloid ditandai dengan adanya endapan pada setiap pereaksi yang digunakan.

Tabel 4.2 Hasil Pengujian Identifikasi Alkaloid Daun Tahongai

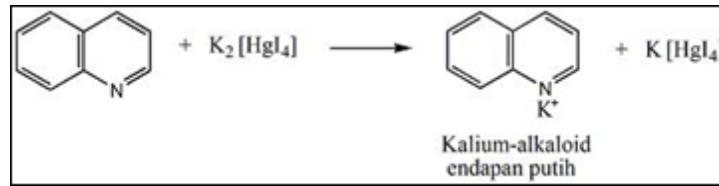
Sampel	Pereaksi	Hasil uji	Kesimpulan
Ekstrak Etanol 96%	Wagner	Endapan coklat	+
	Mayer	Endapan putih	+
	Dragendoff	Endapan merah bata	+
Ekstrak Etanol 70%	Wagner	Endapan coklat	+
	Mayer	Endapan kuning	+
	Dragendoff	Endapan merah bata	+
Ekstrak Etanol 50%	Wagner	Tidak terlihat adanya endapan	-
	Mayer	Endapan kuning	+
	Dragendoff	Endapan jingga kecoklatan	+

Keterangan :

- (+) : Mengandung alkaloid
- (-) : Tidak mengandung alkaloid

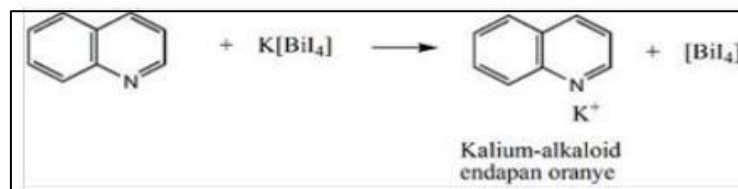
Uji wagner dengan pengambilan sampel sebanyak 3 tetes ditambahkan 2 tetes pereaksi wagner ditandai positif alkaloid terbentuknya endapan berwarna coklat. Endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Pada uji wagner ion logam K akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid hingga membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Marliana dkk., 2005).

Senyawa alkaloid pada uji mayer dilakukan dengan cara pengambilan ekstrak sebanyak 3 tetes ditambahkan wagner sebanyak 2 tetes dinyatakan positif ditandai terbentuknya endapan berwarna putih karena terjadi nitrogen alkaloid bereaksi dengan ion logam K dari kalium tetraiodomercurat (II) sehingga membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Marliana dkk., 2005).



Gambar 4.1 Reaksi Uji Mayer

Pada uji alkaloid pengambilan sampel ekstrak 3 tetes ditambahkan sebanyak 2 tetes pereaksi dragendroff positif alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan endapan jingga kecoklatan/merah bata. Endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Pada uji pereaksi dragendroff terjadi reaksi nitrogen yang digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam K hingga terbentuknya endapan warna jingga atau merah bata (Marliana dkk., 2005)



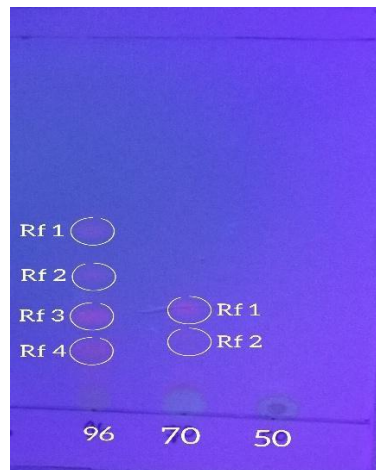
Gambar 4.2 Reaksi Uji Dragendroff

Berdasarkan literatur hasil tersebut positif mengandung alkaloid yang mana sampel ekstrak etanol daun tahongai mengandung senyawa alkaloid dengan ditandai dragendroff berubah menjadi endapan. Endapan jingga kecoklatan/merah bata, mayer berubah warna menjadi endapan putih dan wagner berubah warna adanya endapan coklat. Alkaloid dianggap positif apabila terbentuk endapan paling sedikit dua atau tiga dari percobaan yang dilakukan (Nurhayat 2020)

4.3.2 Identifikasi Alkaloid Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi alkaloid dalam ekstrak daun tahongai dilakukan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Metode ini dipilih karena lebih sederhana, mudah dilakukan, serta membutuhkan bahan yang lebih sedikit (Kumalasari dkk., 2018). KLT merupakan metode pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan distribusi antara fase diam dan fase gerak. Dalam pemisahan senyawa ini, digunakan plat silika gel GF₂₅₄ nm sebagai fase diam. Plat ini memiliki ikatan terkonjugasi dan bersifat polar, serta

mampu memancarkan cahaya dengan baik di bawah sinar UV. Sebagai fase gerak, menggunakan pelarut n-heksan : etil asetat dengan perbandingan (4:1). Pemilihan kedua pelarut ini bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran yang berbeda karena masing-masing pelarut memiliki kepolaran yang berbeda.



Gambar 4.3 Hasil Analisis KLT

Deteksi bercak dilakukan dengan menggunakan sinar UV 254 nm. Di bawah sinar UV 254 nm, lempeng KLT akan berfluoresensi, sementara sampel yang mengandung alkaloid akan tampak sebagai bercak berwarna gelap (AR dkk., 2019). Sebelum digunakan, plat KLT diaktifkan terlebih dahulu dengan cara dipanaskan dalam oven selama 30 menit pada suhu 110°C. Proses pemanasan ini bertujuan untuk menghilangkan kandungan air yang terdapat pada plat (Permadi, dkk., 2018).

Tabel 4.3 Hasil Analisis KLT

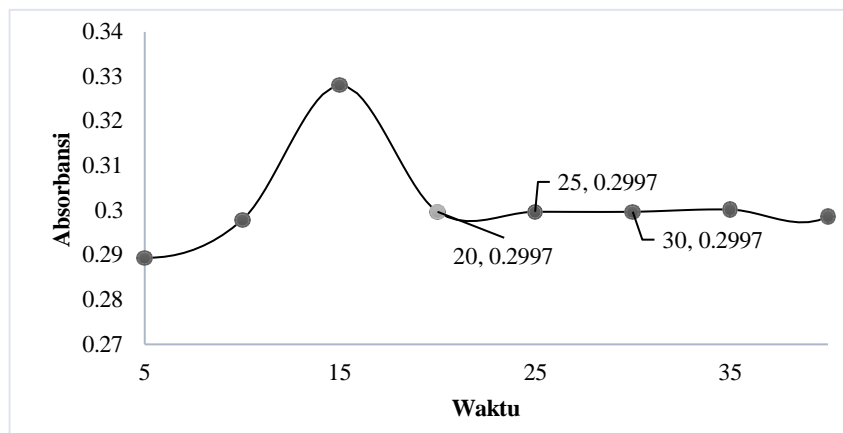
Sampel	Jarak Tempuh Eluen (cm)	Sinar UV 254	Nilai Rf
Ekstrak Etanol 96%	Rf 1 = 3,5	Ungu	0,538
	Rf 2 = 2,5	Ungu	0,385
	Rf 3 = 1,8	Merah	0,277
	Rf 4 = 1,3	Merah	0,2
Ekstrak Etanol 70%	Rf 1 = 2,1	Merah	0,323
	Rf 2 = 1,5	ungu	0,231
Ekstrak Etanol 50%	-	-	-

Hasil analisis KLT menunjukkan bahwa dua dari tiga variasi ekstrak etanol daun tahongai positif mengandung alkaloid. Secara spesifik, ekstrak etanol 96% memperlihatkan empat noda dengan nilai Rf berturut-turut 0,538 (ungu), 0,385 (ungu), 0,277 (merah), dan 0,2 (merah). Sementara itu, ekstrak etanol 70% menunjukkan dua noda dengan nilai Rf 0,323 (merah) dan 0,231 (ungu), alkaloid tidak terdeteksi pada ekstrak etanol 50%. Hal tersebut sejalan dengan Abdulkadir (2023), menunjukkan bahwa nilai Rf alkaloid yang umum berkisar antara 0,07-0,62 dan menghasilkan warna noda merah atau ungu pada KLT.

4.4 Hasil Uji Kuantitatif

4.4.1 Penentuan *Operating Time*

Penentuan *Operating Time* pada spektrofotometri UV dilakukan dengan cara mengamati absorbansi larutan kafein pada waktu-waktu tertentu hal ini bertujuan untuk mengetahui waktu pengukuran suatu senyawa yang diperoleh saat absorbansi paling stabil reaksi yang ditunjukkan dengan tidak adanya penurunan absorbansi.



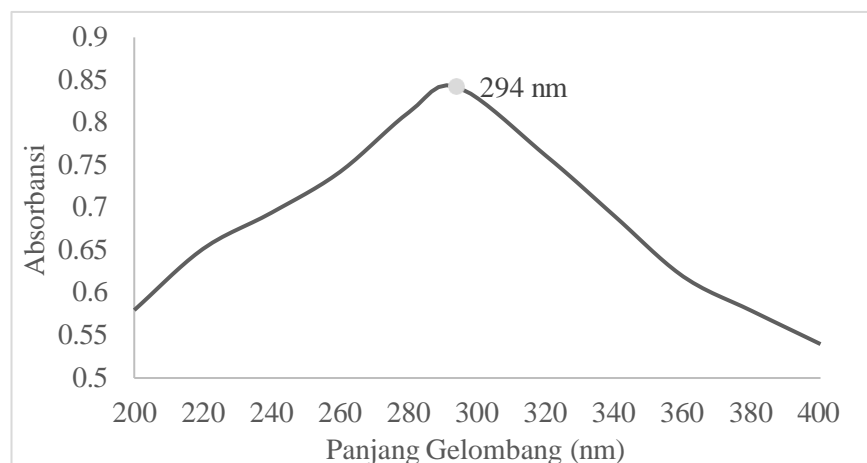
Gambar 4.4 Grafik *Operating Time*

Dari hasil grafik 4.4 di atas dapat diketahui bahwa kesetabilan dimulai pada menit ke-20 dan berlanjut hingga menit ke-30, maka pengukuran absorbansi dilakukan pada menit ke-20, hal ini menunjukkan bahwa pereaksi BCG telah habis bereaksi secara efektif dengan kafein, sehingga pembentukan kompleks tidak lagi signifikan dan absorbansi larutan menjadi stabil. Penetapan *operating time* perlu dilakukan untuk meminimalkan

terjadinya kesalahan pengukuran. Hal ini disebabkan karena senyawa-senyawa yang akan diukur absorbansinya dalam penelitian ini membutuhkan waktu agar reaksi yang terbentuk stabil. Bila pengukuran dilakukan sebelum waktu *operating time*, maka terdapat kemungkinan reaksi yang terbentuk belum sempurna.

4.4.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum kafein dicari pada serapan yang berkisaran 200-400 nm. Tujuan dari penetapan panjang gelombang maksimum adalah untuk mencapai kekuatan serapan maksimum dan untuk meminimalkan kesalahan pembacaan serapan seminimal mungkin (Wahyuni & Marapaung, 2020). Hasil penentuan panjang gelombang maksimum di peroleh pada Gambar 4.5



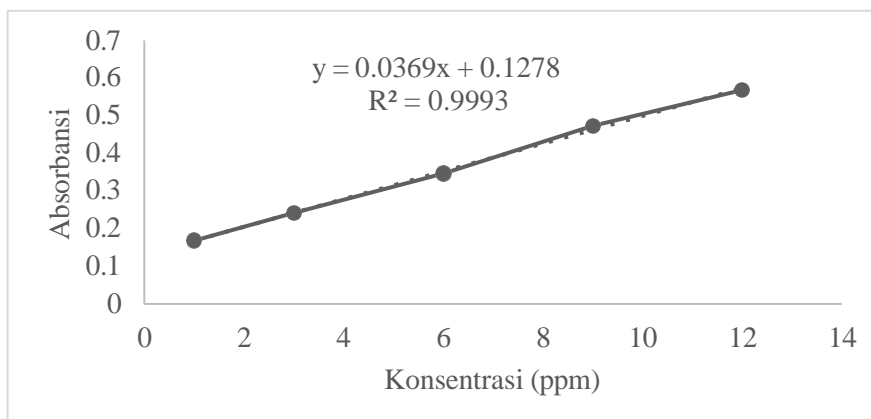
Gambar 4.5 Panjang Gelombang Kafein

Penentuan Panjang gelombang maksimum diperoleh pada panjang gelombang 294 nm dan absorbansi 0,8419. Hal ini telah sesuai dengan literatur bahwa panjang gelombang maksimum kafein berkisaran 200-400nm.

4.4.3 Hasil Penentuan Kurva Baku Standar

Analisis kurva standar bertujuan untuk menunjukkan besarnya konsentrasi sampel dalam larutan. Berdasarkan hasil yang diperoleh kemudian dibuat persamaan garis linear. Setelah didapatkan persamaan persamaan regresi linear, maka kadar kafein dalam ekstrak daun tahongai

dapat dihitung. Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi terhadap larutan baku kafein hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 4.6



Gambar 4.6 Kurva Baku Larutan Kafein

Kurva baku standar merupakan perbandingan antara konsentrasi dengan absorbansi yang dibuat dari larutan standar yang mengandung kafein. Kurva baku standar diperoleh dari kurva kalibrasi dengan 5 variasi konsentrasi yaitu 1, 3, 6, 9, 12 ppm sehingga didapat persamaan garis regresi linier adalah $y = 0.0369x + 0.1278$ dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0.9993.

4.4.4 Penetapan Kadar Alkaloid Ekstrak Etanol 96%, 70% dan 96%

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari perhitungan kadar alkaloid daun tahongai pada ekstrak etanol 96%, 70% dan 50% secara kuantitatif bisa dilihat pada tabel 4.4

Tabel 4.4 Hasil Pengujian Kadar Alkaloid

Sampel	Replikasi	Absorbansi	Konsentrasi (ppm)	Kadar Alkaloid (%b/b)	Rata-rata Kadar Alkaloid (%b/b)
Ekstrak Etanol 96%	1	0.218	2.455	2.45	2,45
	2	0.218	2.450	2.45	
	3	0.219	2.466	2.44	
Ekstrak Etanol 70%	1	0.168	1.081	1.08	1,09
	2	0.168	1.095	1.09	
	3	0.169	1.106	1.11	
Ekstrak Etanol 50%	1	0.143	0.401	0.4	0,65
	2	0.132	0.108	0.11	
	3	0.133	0.138	0.14	

Pengujian dilakukan dengan ditambahkan 5 ml buffer fosfat pH 4,7 dan 5 ml BCG, dengan ini alkaloid akan terjadi pembentukan oleh asam

lemah, sehingga dapat bereaksi dengan BCG dan menghasilkan senyawa kompleks. Kemudian diekstraksi dengan menggunakan kloroform sebanyak 2 kali agar hanya alkaloid yang akan dihasilkan pada larutan akhir. Pada penelitian ini, pengukuran kekuatan serapan sampel didapatkan hasil penetapan kadar alkaloid dari ekstrak daun tahongai dengan metode spektrofotometri UV-Vis yang telah disubsitusi kedalam persamaan regresi linear, dari persamaan tersebut digunakan untuk menghitung kadar alkaloid total.

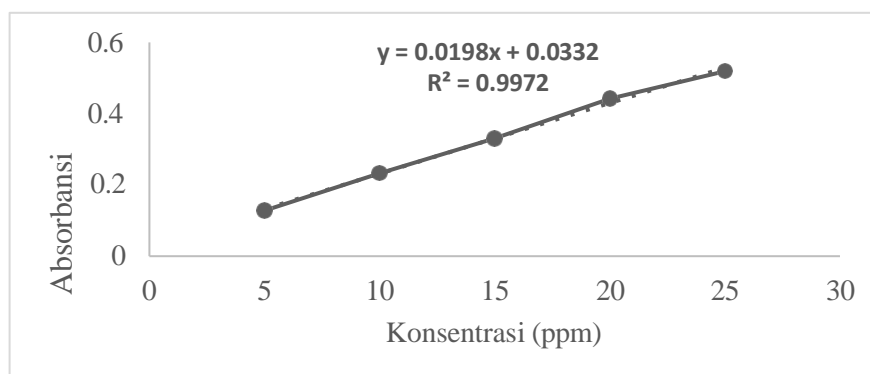
Kadar alkaloid total daun tahongai dilakukan sebanyak 3 kali replikasi untuk meningkatkan hasil ketelitian terhadap hasil yang diperoleh. Hasil uji kuantitatif menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun tahongai mengandung alkaloid dengan kadar tertinggi pada ekstrak 96% (2,45%), diikuti ekstrak 70% (1,09%), dan terendah pada ekstrak 50% (0,65%). Kadar alkaloid total tertinggi ekstrak daun tahongai terdapat pada ekstrak etanol 96% sebesar 2,45%. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan alkaloid pada ekstrak daun tahongai paling baik tersari dengan menggunakan etanol 96%. Etanol 96% memiliki komposisi campuran etanol yang lebih banyak dari air dengan perbandingan 24:1. Hal tersebut sejalan dengan Alfi (2024) yang menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih cina mengandung senyawa alkaloid dengan kadar dalam pelarut 96% sebesar 42,413% dan untuk pelarut etanol 70% yaitu 21,11%, dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa kadar etanol 96% lebih tinggi. Hal ini memperlihatkan bahwa etanol dengan sifat yang dapat mengikat berbagai senyawa aktif dengan tingkat kepolaran yang berbeda beda dapat menyari lebih banyak senyawa-senyawa alkaloid dan turunannya yang juga memiliki berbagai tingkat kepolaran dibandingkan dengan air yang hanya memiliki sifat polar (Syahputra dkk., 2023).

4.5 Metode Validasi

4.5.1 Hasil Uji Linearitas

Linieritas merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan metode analisis dalam memberikan respon proporsional atau linear terhadap konsentrasi analit dalam sampel yang dapat menunjukkan bahwa area analit dalam larutan sampel berada pada rentang tertentu

(Maghfiroh dkk., 2022). Uji linieritas ditetapkan dengan seri larutan baku yang terdiri dari minimal lima konsentrasi berbeda (Depkes RI, 2020).



Gambar 4.7 Kurva Uji Linearitas

Uji linearitas dilakukan 3 kali replikasi untuk meningkatkan ketelitian terhadap hasil yang diperoleh. Linieritas diukur dengan memperhatikan nilai r^2 yang diperoleh. Persamaan garis regresi linier yang didapatkan adalah $y = 0.0198x + 0.0332$ dengan nilai $r^2 = 0.9972$ pada rentang konsentrasi 5 ppm sampai 25 ppm. Suatu persamaan dikatakan linier jika nilai $r^2 \geq 0,98$. Hal ini menandakan adanya hubungan signifikan antara konsentrasi dengan absorbansi kafein baku karena memenuhi persyaratan yang ditentukan (Ayuni, 2022).

4.5.2 Hasil Uji Akurasi

Uji akurasi dilakukan untuk melihat ketelitian alat dan analisisnya dalam membuat konsentrasi larutan yang sesuai dengan kadar yang sebenarnya (Maghfiroh dkk., 2022). Pengujian ini dilakukan dengan *standard addition method* atau dengan penambahan standar adisi dengan 3 konsentrasi yang berbeda yaitu 10 ppm, 15 ppm dan 20 ppm dengan 3x replikasi pada masing-masing konsentrasi.

Hasil perolehan kembali (*recovery*) dari uji akurasi pada berbagai konsentrasi dan jenis ekstrak etanol menunjukkan hasil yang beragam. Untuk ekstrak 96% (10 ppm: 100.498%; 15 ppm: 96.449%; 20 ppm: 97.835%), ekstrak 70% (10 ppm: 84.639%; 15 ppm: 91.878%; 20 ppm: 84.459%), dan ekstrak etanol 50% (10 ppm: 81.924%; 15 ppm: 80.802%; 20 ppm: 80.653%). Hasil uji akurasi pada Tabel 4.5 memenuhi persyaratan,

kriteria penerimaan dari pengujian akurasi adalah didapatkannya nilai perolehan kembali (*recovery*) sebesar 80-110% (Riyanto, 2017).

Tabel 4.5 Hasil Pengujian Akurasi Ekstrak Etanol 96%, 70% dan 50%

Sampel	C (ppm)	Replikasi	Absorbansi	C Terhitung (ppm)	% Recovery	Rata-rata % Recovery
Ekstrak Etanol 96%	10	1	0.499	23.933	93.763	100.498
		2	0.514	24.696	101.392	
		3	0.524	25.191	106.340	
	15	1	0.597	28.964	96.048	96.449
		2	0.586	28.392	92.234	
		3	0.612	29.716	101.065	
	20	1	0.684	33.469	94.562	97.835
		2	0.692	33.871	96.572	
		3	0.715	35.031	102.371	
Ekstrak Etanol 70%	10	1	0.425	20.124	82.938	84.639
		2	0.426	20.155	83.247	
		3	0.435	20.603	87.732	
	15	1	0.512	24.572	84.948	91.878
		2	0.538	25.938	94.055	
		3	0.546	26.325	96.632	
	20	1	0.599	29.067	86.185	84.459
		2	0.589	28.593	83.814	
		3	0.588	28.505	83.376	
Ekstrak Etanol 50%	10	1	0.383	17.923	80.303	81.924
		2	0.384	17.984	80.927	
		3	0.391	18.345	84.536	
	15	1	0.462	21.995	80.687	80.802
		2	0.462	22.005	80.756	
		3	0.463	22.036	80.962	
	20	1	0.538	25.923	80.154	80.653
		2	0.543	26.165	81.366	
		3	0.539	25.979	80.438	

4.5.3 Presisi

Presisi merupakan parameter yang menyatakan tingkat kesesuaian (ketelitian) antara hasil pengujian sampel yang dilakukan berulang kali dari sampel yang sama pada kondisi tertentu.

Tabel 4.6 Hasil Pengujian Presisi

Standar Deviasi	RSD %
0.044	0.270

Presisi diukur dengan menggunakan perhitungan standar deviasi untuk menyatakan % standar deviasi relatif. Pada penelitian ini menggunakan enam kali replikasi 6 kali berturut-turut dilakukan konsentrasi 15 ppm kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga didapatkan nilai absorbansi sampel yang terukur kemudian dihitung nilai RSD sehingga didapatkan nilai absorbansi sampel yang diukur dan kemudian dihitung RSD (standar deviasi relatif) dan memberikan hasil seperti pada tabel 4.6

Metode spektrofotometri UV-Vis untuk penetapan kadar kafein dikatakan memiliki presisi yang baik apabila % RSD <2% (Riyanto, 2014). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa nilai % RSD 0,024%. Hal ini menunjukkan bahwa pengujian presisi memenuhi syarat karena karena kurang dari 2%.

4.5.4 Hasil Analisis LOD & LOQ

Penentuan uji *Limit of Detection* (LoD) ini merupakan jumlah terkecil dari analit dalam suatu sampel yang dapat dideteksi dan memberikan respon signifikan apabila dibandingkan dengan blanko, sedangkan *Limit of Quantitation* (LoQ) menunjukkan jumlah terkecil dari analit yang terkandung dalam sampel yang dapat dikuantifikasi secara presisi dan akurat (Hidayati, 2013).

Uji LoD dan LoQ ini digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu alat untuk mendeteksi analit yang akan dianalisis menggunakan alat tersebut. Apabila LoD dan LoQ yang dihasilkan hasilnya kecil maka deteksi alat tersebut masih bagus dan dapat memberikan hasil analisis analit yang sesuai. Limit deteksi dan limit kuantitasi ini tidak dapat dipisahkan satu sama lain dikarenakan diantara keduanya terdapat hubungan yang sangat kuat.

Penentuan batas deteksi (LoD) metode dalam penelitian ini disesuaikan dengan pedoman validasi yang ditulis oleh Bratinova (2009) yaitu menghitung standar deviasi dari respon blanko yang diukur dengan ketentuan 6 kali pengulangan atau lebih banyak ($n \geq 6$). Pengukuran batas deteksi (LoD) bertujuan untuk mengetahui batas kemampuan terkecil

instrumen dalam mengukur konsentrasi namun memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko yang digunakan, sedangkan batas kuantisasi (LoQ) merupakan batas terkecil analit yang mampu dideteksi oleh instrumen secara kuantitatif. Penentuan LoD dan LoQ dilaksanakan berdasarkan data kurva linieritas (Riyanto, 2014).

Tabel 4.7 Hasil Pengujian LOD & LOQ

LOD	LOQ
0.288317 ppm	0.576634 ppm

Berdasarkan Tabel 4.7 dapat diketahui bahwa kemampuan terkecil atau batas deteksi (LoD) dalam mendeteksi kafein adalah 0.288317 ppm, sedangkan batas kuantisasi (LoQ) yaitu 0.576634 ppm. Hasil pengukuran kafein dalam penelitian ini memberikan respon lebih tinggi dari pada nilai LoQ sehingga pembacaan dan pengukuran kafein dikategorikan valid atau akurat karena memenuhi persyaratan validasi metode analitik. Namun apabila hasil pengukuran lebih kecil dari nilai LoQ maka dapat dipastikan hasil tersebut bukan sebagai analit melainkan *noise* (Riyanto, 2014).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Hasil uji kualitatif berdasarkan skrining fitokimia ekstrak etanol daun tahongai dengan konsentrasi 96%, 70%, dan 50% memberikan hasil positif terhadap keberadaan alkaloid. Uji kualitatif menggunakan KLT ekstrak etanol 96% memperlihatkan empat noda dengan nilai Rf berturut-turut Rf 1 (0,538), Rf 2 (0,385), Rf 3 (0,277), dan Rf 4 (0,2). Sementara itu, ekstrak etanol 70% menunjukkan dua noda dengan nilai Rf 1 (0,323) dan Rf 2 (0,231), alkaloid tidak terdeteksi pada ekstrak etanol 50%.
2. Hasil uji kuantitatif menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun tahongai mengandung alkaloid dengan kadar tertinggi pada ekstrak 96% (2,45%), diikuti ekstrak 70% (1,09%), dan terendah pada ekstrak 50% (0,65%). Berdasarkan hasil penelitian ini, ekstrak daun tahongai dengan pelarut etanol 96% menunjukkan kadar alkaloid yang paling tinggi.

5.2 Saran

Bagi peneliti selanjutnya, disarankan untuk melakukan kajian lebih mendalam terkait pemanfaatan ekstrak etanol 96% daun tahongai dalam pengembangan sediaan farmasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdulkadir, W. S., Pakaya, M. S., Ramadhani, F. N., Uno, W. Z., & Salama, A. (2023). Analisis Kualitatif Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antioksidan Jamur Endofit Cangkang Bulu Babi (*Diadema setosum*). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(2).
- Alfi, T. F. (2024). D Determination Of Total Alkaloid Content Of Chinese Betel (*Peperomia pellucida*) Based On Differences In Ethanol Concentration Using Uv-Vis Spectrophotometry Method. *Journal Pharmaceutical Care and Sciences*, 5(1), 158-167.
- AR, N. I., Kadang, Y., & Permatasari, A. (2019). Uji identifikasi senyawa alkaloid ekstrak metanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk) dari Kab. Ende Nusa Tenggara Timur secara kromatografi lapis tipis. *Jurnal Farmasi Sandi Karsa*, 5(1), 52-56.
- Ayuni, B. F. (2022). Validasi Metode Analisis Kafein Pada Kopi Latte Dengan Spektrofotometri Uv-Vis. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*, 7(02), 155. <https://doi.org/10.23960/aec.v7i02.2022.p155-164>
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra L. (2019). Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin Effect of Temperature and Maseration Time on Characteristics of Bidara Leaf Extract (*Ziziphus mauritiana* L.) as Saponin Source. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), 551–560.
- Clara, T. G., & Alfarabi, M. (2019). Toksisitas Ekstrak Daun dan Kulit Batang Tahongai (*Kleinhovia hospita* L.) Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Canrea*, 2(1), 1–8.
- Ergina dkk., 2014, Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave Angustifolia*) yang Diekstraksim Dengan Pelarut Air dan Etanol, *Jurnal Akademika Kimia* Volume 3, No. 3, 2014 : 165-172, Pendidikan Kimia/FKIP, Universitas Taduloko : Palu.

- Hanani, E. (2015). Analisis Fitokimia. Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Hanifah, N., Daulay, A. S., Rahman, F., & Nasution, H. M. (2024). Penentuan Kadar Alkaloid Total Ektstrak Akar Bajakah (*Spatholobus Littoralis* Hassk) dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Journal of Pharmaceutical and Health Research*, 5(1), 73–81. <https://doi.org/10.47065/jharma.v5i1.4788>
- Hidayati, E.N. 2013.Perhitungan Metode Destruksi pada Analisis Pb dalam Rambut dengan AAS. Skripsi.Semarang: Universitas Negeri Semarang
- Julianto, T. S. (2019). Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (1st ed., Vol. 53, Issue 9). Universitas Islam Indonesia. <https://chemistry.uui.ac.id/Tatang/Fitokimia.pdf> (27/07/2021:15:41).
- Latunra, A. I., Johannes, E., Mulihardianti, B., & Sumule, O. (2021). Analisis kandungan kafein kopi (*Coffea arabica*) pada tingkat kematangan berbeda menggunakan spektrofotometer UV-Vis. *Jurnal Ilmu Dan Alama*, 12(1), 45–50. <https://journal.unhas.ac.id/index.php/jai2>
- Magvirah, T., Marwati, M., & Ardhani, F. (2020). Uji Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus Aureus* Menggunakan Ekstrak Daun Tahongai (*Kleinhovia hospita*L.). *Jurnal Peternakan Lingkungan Tropis*, 2(2), 41. <https://doi.org/10.30872/jpltrop.v2i2.3687>
- National Center for Biotechnology Information (2025). PubChem Compound Summary for CID 2519, Caffeine. Retrieved May 1, 2025 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Caffeine>.
- Nurhasanah, D., Ulvia, R., & Junita, F. (2024). The Effect of Ethanol Concentration Variations on The Total Phenolic And Flavonoid Levels of *Bauhinia purpurea* L. Leaf Extract. *Journal of Biotechnology and Natural Science*, 4(2), 81-90.
- 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>

- Perawati, S., Dila, I., dan Hartesi, B., 2022. Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Daun Semambu (*Clibadium surinamense* L.) dengan Metode BSLT. *Jurnal Katalisator*. 7(1): 102-114.
- Riyanto Ph.D (2014), *Validasi dan Verifikasi Metode Uji Sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi*, Deepublish, 2014
- 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.
- Sholikhah, E. N. (2016). Indonesian medicinal plants as sources of secondary metabolites for pharmaceutical industry. *Journal of Thee Medical Sciences (Berkala Ilmu Kedokteran)*, 48 (04), 226–239. <https://doi.org/10.19106/jmedsci004804201606>
- Wahyuni, S., & Marpaung, M. P. (2020). Penentuan kadar alkaloid total ekstrak akar kuning berdasarkan perbedaan konsentrasi etanol dengan metode spektrofotometri UV-Vis. *Dalton : Jurnal Pendidikan Kimia Dan Ilmu Kimia*, 3(2), 52–61. <https://doi.org/10.31602/dl.v3i2.3911>
- Yulianingtyas, A., & Kusmartono, B. (2016). Optimasi volume pelarut dan waktu maserasi pengambilan flavonoid daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Teknik Kimia*, 10(2), 61-67.
- Yunita, T., Putri Kusuma, A. W., Novita, S. E., & Sulistijono. (2019). Effect of Addition Tahongai Leaf Extract (*Kleinhovia hospita* Linn.) As Organic Inhibitor on 1040 AISI Steel. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 547(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/547/1/012006>.

LAMPIRAN 1
Hasil Perhitungan Rendemen

1. Berat ekstrak etanol 96% yang diperoleh = 11,26 gram

Berat serbuk simplisia yang digunakan = 100 grm

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot ekstrak yg diperoleh (gr)}}{\text{Bobot simplisia awal yg ditimbang (gr)}} \times 100\% \\ &= \frac{11,09 \text{ grm}}{100 \text{ grm}} \times 100\% \\ &= 11,09\%\end{aligned}$$

2. Berat ekstrak etanol 70% yang diperoleh = 12,62 gram

Berat serbuk simplisia yang digunakan = 100 grm

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot ekstrak yg diperoleh (gr)}}{\text{Bobot simplisia awal yg ditimbang (gr)}} \times 100\% \\ &= \frac{12,62 \text{ grm}}{100 \text{ grm}} \times 100\% \\ &= 12,62\%\end{aligned}$$

3. Berat ekstrak etanol 50% yang diperoleh = 15,16 gram

Berat serbuk simplisia yang digunakan = 100 grm

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Bobot ekstrak yg diperoleh (gr)}}{\text{Bobot simplisia awal yg ditimbang (gr)}} \times 100\% \\ &= \frac{15,16 \text{ grm}}{100 \text{ grm}} \times 100\% \\ &= 15,16\%\end{aligned}$$

LAMPIRAN 2

Perhitungan Nilai Rf

$$\text{Rumus nilai Rf} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh zat}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

1. Perhitungan Ekstrak Etanol 96% :

N-heksan : etil asetat (4:1)

$$\text{Rf 1 } \frac{3,5 \text{ cm}}{6,5 \text{ cm}} = 0,538$$

$$\text{Rf 2 } \frac{2,5 \text{ cm}}{6,5 \text{ cm}} = 0,385$$

$$\text{Rf 3 } \frac{1,8 \text{ cm}}{6,5 \text{ cm}} = 0,277$$

$$\text{Rf 4 } \frac{1,3 \text{ cm}}{6,5 \text{ cm}} = 0,2$$

2. Perhitungan Ekstrak Etanol 70% :

N-heksan : etil asetat (4:1)

$$\text{Rf 1 } \frac{2,1 \text{ cm}}{6,6 \text{ cm}} = 0,323$$

$$\text{Rf 2 } \frac{1,5 \text{ cm}}{6,6 \text{ cm}} = 0,231$$

LAMPIRAN 3

Perhitungan Kadar Alkaloid

1. Perhitungan kadar alkaloid pada ekstrak etanol 96%

$$a = 0,1278$$

$$b = 0,0369$$

Replikasi 1

$$\text{Absorbansi} = 0,2184$$

$$Y = 0,0369x + 0,1278$$

$$0,2184 = 0,0369x + 0,1278$$

$$0,0369x = 0,2184 - 0,1278$$

$$x = \frac{0,0906}{0,0369}$$

$$x = 2,4553 \text{ ppm } 0,0245$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar dalam 10 ml} &= \frac{2,4553 \text{ ppm} \times 0,01 \text{ L} \times 10}{10 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= \frac{0,2455}{10} \times 100\% \\ &= 2,45\% \text{ b/b} \end{aligned}$$

Replikasi 2

$$\text{Absorbansi} = 0,2182$$

$$Y = 0,0369x + 0,1278$$

$$0,2182 = 0,0369x + 0,1278$$

$$0,0369x = 0,2182 - 0,1278$$

$$x = \frac{0,0904}{0,0369}$$

$$x = 2,4499 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar dalam 10 ml} &= \frac{2,4499 \text{ ppm} \times 0,01 \text{ L} \times 10}{10 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= \frac{0,2445}{10} \times 100\% \\ &= 2,45\% \text{ b/b} \end{aligned}$$

Replikasi 3

$$\text{Absorbansi} = 0,2188$$

$$Y = 0,0369x + 0,1278$$

$$0,2188 = 0,0369x + 0,1278$$

$$0,0369x = 0,2188 - 0,1278$$

$$x = \frac{0,091}{0,0369}$$

$$x = 2,4661 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar dalam 10 ml} &= \frac{2,4661 \text{ ppm} \times 0,01 \text{ L} \times 10}{10 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= \frac{0,2445}{10} \times 100\% \\ &= 2,44\% \text{ b/b} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar alkaloid ekstrak etanol 96\%} &= \frac{2,45+2,45+2,44}{3} \\ &= 2,45\% \text{ b/b} \end{aligned}$$

2. Perhitungan kadar alkaloid total pada ekstrak etanol 70%

Replikasi 1

$$\text{Absorbansi} = 0,1677$$

$$Y = 0,0369x + 0,1278$$

$$0,1677 = 0,0369x + 0,1278$$

$$0,0369x = 0,1677 - 0,1278$$

$$x = \frac{0,0399}{0,0369}$$

$$x = 1,0813 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar dalam 10 ml} &= \frac{1,6233 \text{ ppm} \times 0,01 \text{ L} \times 10}{10 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= \frac{0,1081}{10} \times 100\% \\ &= 1,08\% \text{ b/b} \end{aligned}$$

Replikasi 2

$$\text{Absorbansi} = 0,1682$$

$$Y = 0,0369x + 0,1278$$

$$0,1682 = 0,0369x + 0,1278$$

$$0,0369x = 0,1682 - 0,1278$$

$$x = \frac{0,0404}{0,0369}$$

$$x = 1,0948 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar dalam 10 ml} &= \frac{1,0948 \text{ ppm} \times 0,01 \text{ L} \times 10}{10 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= \frac{0,1095}{10} \times 100\% \\ &= 1,09\% \text{ b/b} \end{aligned}$$

Replikasi 3

Absorbansi = 0,1686

$$Y = 0,0369x + 0,1278$$

$$0,1686 = 0,0369x + 0,1278$$

$$0,0369x = 0,1686 - 0,1278$$

$$x = \frac{0,0408}{0,0369}$$

$$x = 1,1057 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar dalam 10 ml} &= \frac{1,1057 \text{ ppm} \times 0,01 \text{ L} \times 10}{10 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= \frac{0,1106}{10} \times 100\% \\ &= 1,11\% \text{ b/b} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar alkaloid ekstrak etanol 50\%} &= \frac{1,08+1,09+1,11}{3} \\ &= 1,09\% \text{ b/b} \end{aligned}$$

3. Perhitungan kadar alkaloid total pada ekstrak etanol 50%

Replikasi 1

Absorbansi = 0,1426

$$Y = 0,0369x + 0,1278$$

$$0,1426 = 0,0369x + 0,1278$$

$$0,0369x = 0,1426 - 0,1278$$

$$x = \frac{0,0148}{0,0369}$$

$$x = 0,4010 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar dalam 10 ml} &= \frac{0,4010 \text{ ppm} \times 0,01 \text{ L} \times 10}{10 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= \frac{0,0401}{10} \times 100\% \\ &= 0,4\% \text{ b/b} \end{aligned}$$

Replikasi 2

Absorbansi = 0,1318

$$Y = 0,0369x + 0,1278$$

$$0,1318 = 0,0369x + 0,1278$$

$$0,0369x = 0,1318 - 0,1278$$

$$x = \frac{0,004}{0,0369}$$

$$x = 0,1084 \text{ ppm}$$

$$\text{Kadar dalam 10 ml} = \frac{0,1084 \text{ ppm} \times 0,01 \text{ L} \times 10}{10 \text{ mg}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,0108}{10} \times 100\%$$

$$= 0,11\% \text{ b/b}$$

Replikasi 3

$$\text{Absorbansi} = 0,1329$$

$$Y = 0,0369x + 0,1278$$

$$0,1329 = 0,0369x + 0,1278$$

$$0,0369x = 0,1329 - 0,1278$$

$$x = \frac{0,0051}{0,0369}$$

$$x = 0,1382 \text{ ppm}$$

$$\text{Kadar dalam 10 ml} = \frac{0,1382 \text{ ppm} \times 0,01 \text{ L} \times 10}{10 \text{ mg}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,0138}{10} \times 100\%$$











$$= 0,14\% \text{ b/b}$$

$$\text{Rata-rata kadar alkaloid ekstrak etanol 50\%} = \frac{0,4+0,11+0,14}{3}$$


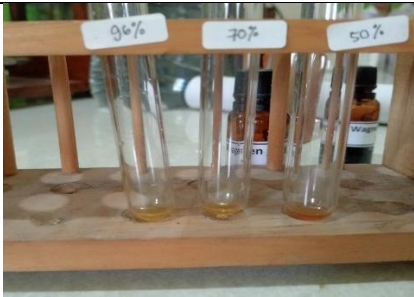

$$= 0,65\% \text{ b/b}$$

LAMPIRAN 4

Proses Pembuatan Ekstrak Etanol 96%, 70% dan 96%

Gambar	Gambar
 <p data-bbox="435 622 703 656">Pengeringan Sampel</p>	 <p data-bbox="946 622 1254 656">Penimbangan Simplisia</p>
 <p data-bbox="464 987 671 1021">Proses Maserasi</p>	 <p data-bbox="1002 987 1193 1021">Hasil Maserasi</p>
 <p data-bbox="403 1292 735 1326">Proses Rotary evaporator</p>	 <p data-bbox="991 1301 1209 1335">Proses waterbath</p>
 <p data-bbox="384 1686 754 1720">Proses Penimbangan Ekstrak</p>	 <p data-bbox="1002 1686 1198 1720">Hasil Ekstraksi</p>
	

LAMPIRAN 5
Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 96%, 70% dan 50%

Gambar	Pereaksi	Keterangan
	Mayer	<ul style="list-style-type: none"> ○ Ekstrak etanol 96% terlihat Endapan coklat (+) ○ Ekstrak etanol 70% terlihat endapan coklat (+) ○ Ekstrak etanol 50% terlihat endapan coklat (+)
	Wagner	<ul style="list-style-type: none"> ○ Ekstrak etanol 96% terlihat Endapan kuning (+) ○ Ekstrak etanol 70% terlihat Endapan putih (+) ○ Ekstrak etanol 50 Tidak terlihat adanya endapan (-)
	Dragendorff	<ul style="list-style-type: none"> ○ Ekstrak etanol 96% terlihat Endapan jingga kecoklatan (+) ○ Ekstrak etanol 70% terlihat Endapan jingga kecoklatan (+) ○ Ekstrak etanol 50% terlihat Endapan jingga kecoklatan (+)

LAMPIRAN 6
Hasil Uji

1. Lampiran tabel *Operating Time*

Menit	Absorbansi
0	0.2986
5	0.2894
10	0.2979
15	0.3281
20	0.2997
25	0.2997
30	0.2997
35	0.3002
40	0.2986
45	0.3216
50	0.2984
55	0.2998
60	0.2689

2. Lampiran Tabel Panjang Gelombang

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
200	0.5797
220	0.6515
240	0.6941
260	0.7421
280	0.8119
294	0.8419
320	0.7609
340	0.6901
360	0.6191
380	0.5787
400	0.5398

3. Lampiran Kurva Baku Standar

Konsentrasi	Absorbansi
1	0.1681
3	0.2422
6	0.3461
9	0.4732
12	0.5681

4. Lampiran Tabel Kurva Linearitas

Konsentrasi	Replikasi	Absorbansi	Rata rata Absorbansi
5	1	0.128	0.128
	2	0.128	
	3	0.128	
10	1	0.233	0.233
	2	0.233	
	3	0.233	
15	1	0.331	0.331
	2	0.331	
	3	0.331	
20	1	0.442	0.442
	2	0.442	
	3	0.442	
25	1	0.519	0.519
	2	0.519	
	3	0.519	


5. Lampiran Tabel Hasil Uji Presisi

Konsentrasi 15 ppm	Absorbansi	Konsentrasi	Rata-Rata	Standar Devisiasi	RSD (%)
Replikasi 1	0.356	16.308	16.309	0.044	0.270
Replikasi 2	0.356	16.293			
Replikasi 3	0.357	16.338			
Replikasi 4	0.355	16.232			
Replikasi 5	0.357	16.359			
Replikasi 6	0.356	16.323			

6. Lampiran Tabel Hasil LOD & LOQ

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	yc	yi-yc	(yi-yc) ²
5	0.128	0.051	0.0017	2.89 x 10 ⁻⁶
10	0.233	0.096	0.0013	1.69 x 10 ⁻⁶
15	0.331	0.187	-0.0005	0.00000025
20	0.442	0.278	-0.0043	1.849 x 10 ⁻⁵
25	0.519	0.369	-0.0011	1.21 x 10 ⁻⁵
			∑	7.615 x 10 ⁻⁵
			SD	0.004363
			LOD	0.288317
			LOQ	0.576634

LAMPIRAN 7
Surat Izin Melaksanakan 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 : Maria Octaviana Lida
NIM : 211148201184
Program Studi/Institusi : Farmasi / STIKES Dirgahayu Samarinda
Judul Penelitian : Penentuan Kadar Alkaloid Total Ekstrak Daun Tahongai (*Kleinhovia hospital* Linn) Berdasarkan Perbedaan Konsentrasi Etanol 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 Hermi Pertiwi, S.Kep., M.Kep., Ph.D.Ns.
NIK. 0778.A4.08


Ketua Program Studi
Apt. Winati Geografi, M.Sc.
NIK. 0419.A4.25

LAMPIRAN 8

Hasil Determinasi Daun Tahongai



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

Kepada Yth.
Bpk/Ibu/Sdr(i). Maria Octaviana Lida (211148201184)

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 9



Certificate of Analysis

1.02445.2500 Chloroform for analysis EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur
Batch K56007745

	Spec. Values		Batch Values	
Purity (GC)	99.0 - 99.4	%	99.2	%
Assay (according to ACS)	≥ 99.8	%	99.9	%
Identity (IR)	conforms		conforms	
Appearance	clear		clear	
Color	≤ 10	Hazen	< 5	Hazen
Free acid (as HCl)	≤ 0.0002	%	< 0.0001	%
Density (d 20 °C/20 °C)	1.475 - 1.481		1.481	
Boiling point	60 - 62	°C	61	°C
Acid and chloride	conforms		conforms	
Chloride (Cl)	≤ 0.00002	%	≤ 0.00002	%
Free chlorine	≤ 0.00003	%	≤ 0.00003	%
Carbonyl compounds (as CO)	≤ 0.005	%	≤ 0.005	%
Readily carbonizable substances	conforms		conforms	
Ethanol (GC)	0.6 - 1.0	%	0.8	%
Dichloromethane (GC)	≤ 0.01	%	< 0.01	%
Carbon tetrachloride (GC)	≤ 0.01	%	< 0.01	%
Tetrachloroethylene (GC)	≤ 0.01	%	< 0.01	%
Trichloroethylene (GC)	≤ 0.01	%	< 0.01	%
Related substances (GC)	≤ 0.7	%	< 0.7	%
Aldehydes and ketones (as C ₂ H ₄ O)	≤ 0.001	%	≤ 0.001	%
Suitability for determination with dithizone	conforms		conforms	
Al (Aluminium)	≤ 0.00005	%	≤ 0.00005	%
B (Boron)	≤ 0.000002	%	≤ 0.000002	%
Ba (Barium)	≤ 0.00001	%	≤ 0.00001	%
Ca (Calcium)	≤ 0.00005	%	≤ 0.00005	%
Cd (Cadmium)	≤ 0.000005	%	≤ 0.000005	%
Co (Cobalt)	≤ 0.000002	%	≤ 0.000002	%
Cr (Chromium)	≤ 0.000002	%	≤ 0.000002	%
Cu (Copper)	≤ 0.000002	%	≤ 0.000002	%
Fe (Iron)	≤ 0.00002	%	≤ 0.00002	%
Mg (Magnesium)	≤ 0.00001	%	≤ 0.00001	%
Mn (Manganese)	≤ 0.000002	%	≤ 0.000002	%
Mo (Molybdenum)	≤ 0.000002	%	≤ 0.000002	%
Ni (Nickel)	≤ 0.000002	%	≤ 0.000002	%
Pb (Lead)	≤ 0.000005	%	≤ 0.000005	%
Sn (Tin)	≤ 0.00001	%	≤ 0.00001	%
Zn (Zinc)	≤ 0.00001	%	≤ 0.00001	%
Evaporation residue	≤ 0.001	%	< 0.001	%
Water	≤ 0.01	%	< 0.01	%

Stabilized with 0,6-1,0% Ethanol

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

LAMPIRAN 10

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product: Citric Acid Monohydrate Mesh Size: 8-40

ITEM	UNIT	Quality Standards	Analysis Results
Description	---	Colorless Crystals or White Crystalline Powders	Pass
Identification	---	Pass Test	Pass
Appearance of Solution	---	Pass Test	Pass
Assay	%	99.5~101.0	99.78
Sulphate	PPM	≤150	<10
Oxalate	PPM	≤100	<30
Heavy Metal (as Pb)	PPM	≤5	< 2
Barium	---	Pass	Pass
Calcium	PPM	≤200	<20
Iron	PPM	≤10	< 5
Chloride	PPM	≤50	<15
Sulphated Ash	%	≤0.05	0.022
Moisture	%	≤8.8	8.4649
Readily Carbonisable Substances	---	Less than Standard	Pass
Lead	PPM	≤0.5	<0.5
As	PPM	≤1	<0.5
Mercury	PPM	≤1	<0.5
Aluminum	PPM	≤0.2	<0.2
Bacteria Endotoxin	IU/ mg	≤0.5	<0.5
Organic Volatile Impurities	---	Pass	Pass
Tridodecylamine	PPM	≤0.1	<0.1
Ultraviolet Absorbance	---	Pass	Pass
Conclusion: The product is in conformity with BP/USP/FCC/E330.			

LAMPIRAN 11



CSPC INNOVATION PHARMACEUTICAL CO., LTD.

CERTIFICATE OF PRODUCT ANALYSIS

No. : REC-ZL-G6114(01)

Product: <u>Caffeine (Anhydrous)</u>		Batch No. : <u>1032207706</u>	Quantity: <u>10000 kg</u>
Analysis Standard: <u>BP2020, EP10.0, USP2021, FCC12</u>		Analysis Date: <u>2022.07.02</u>	Report Date: <u>2022.07.12</u>
Manu. Date: <u>2022.07</u>		Retest Date: <u>2027.06</u>	
Analysis Contents	Analysis Standards	Analysis Results	
【Characters】			
Appearance	White crystalline powder or silky, white crystals	White crystalline powder	
Solubility	Sparingly soluble in water, freely soluble in boiling water, slightly soluble in ethanol (96percent). It dissolves in concentrated solutions of alkali benzoates or salicylates. It sublimes readily	Pass	
【Identification】 (USP/FCC)			
*A. Infrared Absorption	Conforms to the USP Caffeine RS	Pass	
B. The retention time of caffeine peak	Corresponds to the Standard preparation obtained in the Assay	Pass	
【Tests】			
Appearance of solution (BP/EP)	Clear, colourless	Pass	
Sulphates (BP/EP)	≤500ppm	<500ppm	
Residue on ignition (BP/EP)	≤0.1%	0.03%	
Loss on drying (BP/EP)	≤0.5%	0.05%	
Organic impurities (USP)			
-Individual impurities	≤0.1%	<0.1%	
-Total impurities	≤0.1%	<0.1%	
*Related substances (BP/EP)			
-Each impurity A, B, C, D, E, F	≤0.10%	<0.10%	
-Unspecified impurities	≤0.10%	<0.10%	
-Total impurities	≤0.10%	<0.10%	
*Acidity (BP/EP)	Not more than 0.2ml of 0.01M sodium hydroxide	<0.2ml	
*Lead (FCC)	≤0.5ppm	<1mg/kg	
*Other Alkaloids (FCC)	No precipitate is formed	Pass	
*Melting Range (FCC)	235~237.5 °C	Pass	
*Readily Carbonizable Substances (FCC)	Passes Test	Pass	
【Assay】 (USP)	98.5%~101.0%	100.1%	
Mesh	≥95% through 40 mesh	Pass	
*Heavy Metals	≤10ppm	<10ppm	
*Microbiological			
Total Account Of Aerobic Bacteria	≤1000cfu/g	Pass	
Yeast & Mold	≤100cfu/g	Pass	
E. coli	Negative	Pass	
Coliforms	<10cfu/g	Pass	
Salmonella	Negative/10g	Pass	
Staphylococcus aureus	Negative/1g	Pass	
<div style="text-align: right; margin-right: 50px;">  </div>			
Conclusion: The above product conforms to BP2020, EP10.0, USP2021, FCC12 requirement on Caffeine Remark: "*" means this item is spot test.			

Chief of Quality Analysis Dept: 周子奇 Rechecker: 张红军 Reporter: 王娟

Address: No.62 Zhangju Road, Luancheng County, Shi Jiazhuang City, Hebei Province, China