

**PENGARUH BEBERAPA METODE PENGERINGAN TERHADAP KADAR FLAVONOID TOTAL  
HERBA SAMBILOTO ( *Andrographis paniculata* )**

**Arif Dwi Utomo, Wiranti Sri Rahayu, Binar Asrining Dhiani**

Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto  
wiranti\_ump@yahoo.com

**ABSTRAK**

Sambiloto merupakan tanaman yang sejak dahulu digunakan sebagai obat tradisional karena khasiatnya yang sangat banyak diantaranya adalah perangsang daya kekebalan tubuh. Telah dilakukan pengeringan terhadap tanaman sambiloto dengan beberapa metode. Penelitian bertujuan untuk mengetahui apakah metode atau cara pengeringan dapat mempengaruhi kadar flavonoid total pada ekstrak herba sambiloto (*Andrographis paniculata*). Ekstraksi herba sambiloto menggunakan metode sokletasi dan uji kadar flavonoid total ekstrak herba sambiloto dilakukan dengan menggunakan metode KLT Densitometri. Hasil data KLT Densitometri menunjukkan bahwa kadar flavonoid total herba sambiloto dengan pengeringan sinar matahari langsung sebesar 24%, pengeringan dengan kain hitam 33,3% dan pengeringan dengan oven sebesar 29%.

**Kata Kunci:** *Andrographis paniculata, Flavonoid, KLT Densitometri.*

**ABSTRACT**

*Sambiloto is a plant which has been used as a traditional medicine since a long ago, because of activity as immunomodulator. It has been done the research of drying of sambiloto plant by some methods. This research was aimed to know whether the method of drying of sambiloto plant can influence the content of total flavonoid in extract sambiloto herb ( Andrographis paniculata ). The extraction of sambiloto herb was used by soxhletation method and the content total of flavonoid extract sambiloto herb were determined using by TLC Densitometry. The result of TLC Densitometry data showed that the content of total flavonoid sambiloto herb by direct sunlight drying was about 24%, by black cloth was about 29% and by oven was about 33,3%.*

**Keywords:** *Andrographis paniculata, flavonoid, TLC Densitometry.*

## Pendahuluan

Sambiloto merupakan tanaman yang sejak dahulu digunakan sebagai obat tradisional karena khasiatnya yang sangat banyak diantaranya adalah perangsang daya kekebalan tubuh. Diketahui bahwa banyak senyawa penting yang berperan terhadap khasiat sambiloto tersebut diantaranya adalah senyawa flavonoid (Dalimartha, 1999 ). Tanaman sambiloto dapat dibuat simplisia, simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan (Depkes, 1985).

Pengeringan adalah proses pengeluaran air atau pemisahan air dalam jumlah yang relatif kecil dari bahan dengan menggunakan energi panas (Rachmawan, 2001). Pada pembuatan simplisia akan melewati tahap pengeringan, yang bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan dicegah penurunan mutu atau perusakan simplisia. Air yang masih tersisa dalam simplisia pada kadar

tertentu dapat merupakan media pertumbuhan kapang dan jasad renik lainnya. Enzim tertentu dalam sel, masih dapat bekerja, menguraikan senyawa aktif sesaat setelah sel mati dan selama bahan simplisia tersebut masih mengandung kadar air tertentu. Pengeringan simplisia dapat dilakukan dengan pengeringan alamiah dan pengeringan buatan. Pengeringan alamiah dapat dikelompokkan menjadi pengeringan dengan sinar matahari langsung dan sinar matahari tidak langsung, yaitu dengan menutup kain hitam diatas bahan yang akan dikeringkan. Sedangkan pengeringan buatan dapat menggunakan lemari pengering atau oven (Depkes, 1985).

Proses biologi simplisia dapat dipengaruhi oleh suhu dan oksigen atau aliran udara yang ada pada proses pengeringan, telah diteliti bahwa ada penurunan kadar flavonoid karena pengaruh variasi temperatur pada saat pengeringan dan juga karena adanya proses memasak ( Green, 2004). Untuk itu pada kesempatan ini dilakukan penelitian terhadap pengaruh beberapa metode pengeringan terhadap kadar flavonoid total herba sambiloto dan menetapkan kadar flavonoid total menggunakan KLT- Densitometri.

## Metode Penelitian

### Tempat Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto dan Laboratorium Kimia Analisis Instrumental UGM.

### Bahan dan Alat

Bahan uji yang digunakan untuk penetapan kadar flavonid total adalah herba sambiloto. Tanaman tersebut di peroleh dari Desa Gumiwang, Kecamatan Kejobong, Kabupaten Purbalingga. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol teknis 96% (BRATACO), etanol 96% pro analisis (MERCK), rutin, selulosa, asam asetat pro analisis (MERCK), aquades.

Alat yang digunakan adalah Oven (Memmert), nampan, kain hitam, termometer (Yenaco), timbangan analitik (Shimadzu), penyari Soxhlet, kompor listrik, bejana KLT, lampu UV 254 dan 366 nm, mikropipet, kaca penutup, alat-alat gelas yang dipakai laboratorium, seperangkat alat densitometri (Shimadzu).

### Cara Kerja

#### Pengeringan dengan Oven

Tanaman sambiloto yang diambil dari kebun kemudian dicuci agar bersih dari kotoran terutama

tanah, setelah dicuci kemudian dimasukkan ke lemari pengering sampai kering (bobot konstan) dan kadar air kurang dari 10 %.

#### Pengeringan dengan Sinar Matahari Langsung

Tanaman sambiloto yang diambil dari kebun kemudian dicuci agar bersih dari kotoran terutama tanah, setelah dicuci kemudian dijemur dengan bantuan matahari langsung sampai kering (bobot konstan) dan kadar air kurang dari 10 %.

#### Pengeringan dengan Sinar Matahari Tidak Langsung

Tanaman sambiloto yang diambil dari kebun kemudian dicuci agar bersih dari kotoran terutama tanah, setelah dicuci kemudian dijemur dengan bantuan matahari tidak langsung, yaitu dengan menutup kain hitam di atas bahan yang akan dikeringkan sampai kering (bobot konstan) dan kadar air kurang dari 10 %.

#### Ekstraksi Herba Sambiloto

Herba sambiloto yang sudah kering kemudian dibuat serbuk menggunakan blender. Setelah semua herba sambiloto diserbuk ditimbang sebanyak 20 gram, dimasukkan ke dalam penyari Soxhlet 500ml, tambahkan pelarut teknis etanol 96%

sebanyak 160 ml. Penyarian dilakukan 14-15 sirkulasi atau sampai jernih. Larutan disaring dengan kertas saring, kemudian filtrat yang diperoleh diuapkan dengan waterbath sampai diperoleh ekstrak kental.

#### Persiapan Larutan

#### Pembuatan fase gerak

Pembuatan fase gerak asam asetat: air (50: 50), yaitu mengambil asam asetat pro analisis 30ml dan air (aquabides) 30ml, campur baik-baik dalam bejana. Dipakai setelah didiamkan selama 12 jam.

#### Pembuatan larutan stok

Pembuatan larutan stok 0,1% (b/v), yaitu 0,1 gram rutin pembanding dilarutkan dalam 100 ml etanol 96% pro analisis.

#### Pembuatan Kurva Baku

Larutan stok konsentrasi 0,1% dipipet sebanyak 1, 2, 3, 4, 5 dan 6ml dan diencerkan hingga 10ml sehingga diperoleh seri konsentrasi 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05 dan 0,06%.

Seri konsentrasi ditotolkan sebanyak 2 $\mu$ l secara berjajar pada lempeng selulosa dengan ukuran 10x10 cm dan jarak elusianya 7cm, elusi dilakukan dengan fase gerak asam asetat, air (50: 50). Diukur dengan

densitometer sehingga diperoleh hubungan antara kadar dan luas area.

#### Penentuan Kadar Flavonoid Total

Sampel ekstrak kental dari masing-masing pengeringan ditimbang sebanyak 0,1 gram dan dilarutkan dalam 100 ml etanol pro analisis 96%. Sampel ekstrak ditotolkan dengan mikropipet sebanyak 2 $\mu$ l pada lempeng KLT selulosa dengan ukuran 10x10 cm dan jarak elusinya 7 cm. Lempeng KLT dielusi dengan fase gerak asam asetat, air (50: 50), selanjutnya lempeng KLT diuji dengan densitometri pada panjang gelombang maksimum 327 nm. Kadar flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak herba sambiloto dihitung dengan menggunakan kurva baku rutin yang telah diketahui.

Validasi, Linieritas, Akurasi, Presisi dan LOD-LOQ.

#### a. Linieritas

Dibuat seri konsentrasi 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05 dan 0,06 % dari larutan baku rutin, ditotolkan sebanyak 2,0  $\mu$ l masing-masing konsentrasi ke lempeng KLT. Hasil luas area digunakan untuk membuat kurva baku dan persamaan regresi linier, koefisien kolerasi (r), kemiringan (slope) dan nilai intersep.

#### b. Akurasi

Sampel ekstrak ditimbang sebanyak 1 gram, ditambahkan etanol pro analisis sampai 10 ml. Ambil larutan sampel dari ekstrak herba sambiloto dengan pengeringan matahari secara langsung, secara tidak langsung dan dengan pengeringan oven masing-masing 3 ml kemudian tambahkan etanol pro analisis sampai 10 ml sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak 0,3%. Kemudian masing-masing totolkan sebanyak 2 $\mu$ l pada lempeng KLT secara berjajar. Hitung nilai perolehan kembali.

c. Presisi

Larutan baku dengan konsentraasi 0,02% ditotolkan sebanyak 2 $\mu$ l pada lempeng KLT secara berjajar sebanyak 6 totolan. Hasil nilai SD, RSD dan ketelitian alat.

d. LOD-LOQ

Batas deteksi dan batas kuantitasi dihitung secara statistik melalui persamaan regresi linier dari kurva baku. Perhitungan tersebut dilakukan dengan cara memasukkan absorbansi larutan stok hasil pengukuran kedalam persamaan regresi linier yang diperoleh.

Analisis Data

Analisis data menggunakan metode anava satu jalan, karena hanya

ada satu faktor yang diperhatikan dalam penelitian ini yaitu faktor pengeringan, sehingga desainnya disebut desain satu faktor. Dimana variabel bebasnya adalah pengeringan dan variabel tergantungnya adalah kadar flavonoid total herba sambiloto.

### Hasil dan Pembahasan

#### Determinasi

Determinasi dilakukan dilaboratorium Taksonomi Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman untuk menghindari terjadinya kekeliruan terhadap tanaman yang digunakan dalam penelitian ini. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman adalah jenis *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Ness (Sambiloto).

#### Pengeringan dan ekstraksi

Pengeringan dilakukan dengan sinar matahari langsung, ditutup kain hitam, dan oven dengan berat herba sambiloto basah masing-masing 150 gram dan diperoleh herba sambiloto kering yaitu pengeringan dengan sinar matahari langsung sebesar 70 gram, kain hitam 74 gram dan oven 78 gram. Setelah diekstraksi dengan metode sokletasi masing-masing diperoleh ekstrak kental yang berwarna hijau kehitaman dengan bobot dan

rendemen sebesar 4,31 (21,42%), 4,28 (21,27%) dan 4,04 gram (20,06%) masing-masing ekstrak dengan pengeringan sinar matahari langsung, sinar matahari tidak langsung dan oven. Pemeriksaan flavonoid secara kualitatif

Pemeriksaan flavonoid secara kualitatif dilakukan untuk mengetahui apakah dalam ekstrak tersebut terdapat senyawa flavonoid dengan cara menguapkan amonia ke lempeng KLT kemudian dilihat pada sinar tampak (Harbone, 1987:70). Dari data tersebut dapat dipastikan bahwa semua sampel mengandung flavonid. Penetapan kadar flavonoid total herba sambiloto dengan KLT Densitometri

#### Hasil Uji Linieritas

Uji linieritas merupakan pengujian untuk menentukan kemampuan metode analisis yang memberikan respon secara langsung antara pengukuran dengan konsentrasi. Uji linieritas dilakukan dengan

menggunakan enam seri kadar larutan baku yaitu 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05 dan 0,06%.

Data tersebut di peroleh persamaan  $Y = 1283350,71x - 3509,11$  dengan koefisien korelasi  $r = 0,981$ . Data ini menunjukkan bahwa uji ini memenuhi syarat karena harga  $r$  hitung lebih besar dari  $r$  tabel yaitu 0,811 dengan taraf kepercayaan 95%.

Persamaan kurva baku ini kemudian digunakan untuk menghitung kadar flavonoid total herba sambiloto dengan menggunakan persamaan  $Y = bx + a$  dan dilanjutkan dengan anava satu arah.

#### Hasil Uji Akurasi (Kecermatan)

Kecermatan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan (Harminta, 2004). Dari penelitian ini nilai

**Tabel 2** Pemeriksaan flavonoid secara kualitatif dengan KLT

Metode	Warna bercak (uap ammonia)	Ket.
SML	Kuning	+
SMTL	Kuning	+
Oven	Kuning	+

perolehan kembali atau akurasi tidak dapat digunakan karena kromatogram yang diperoleh tidak jelas, hal ini terjadi karena penotolan sampel pada lempeng KLT kurang benar yaitu ukuran bercak lebih dari 2 mm. Kesalahan sistematik merupakan kesalahan yang mempunyai nilai definitif (nilai tertentu) (Ibnu Gholib dan Abdul Rohman, 2007).

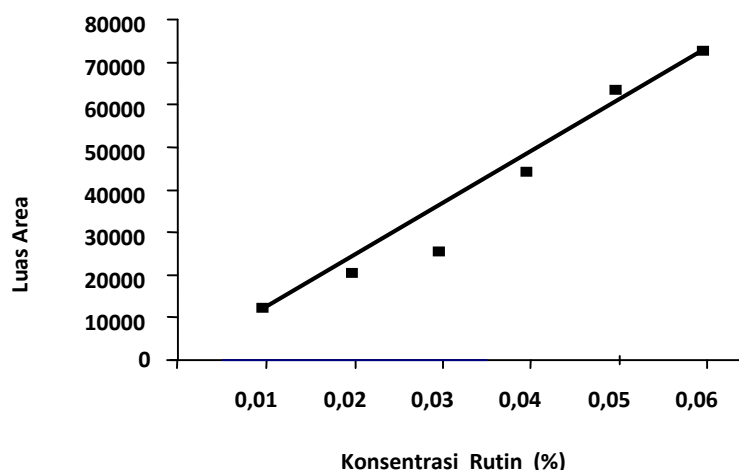
Hasil Uji Keseksamaan (Presisi)

Keseksamaan merupakan ukuran nilai kedekatan hasil uji

seseorang dengan metode replikasi berulang-ulang dari sampel yang homogen, kriteria ketelitian diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif atau koefisien relatif atau koefisien variasi 1-2 %. Akan tetapi kriteria sangat fleksibel tergantung pada konsentrasi analit yang diperiksa, jumlah sampel dan kondisi laboratorium sehingga RSD 5-10 % masih dapat diterima ( Snyder, *et al.*, 1997: 61).

**Tabel 3** Hasil KLT Densitometri untuk Uji Linieritas

Konsentrasi ( % )	Luas area	Hasil
0,01	13908,75	a = - 3509,11
0,02	22226,82	b = 1283350.71
0,03	27161,91	r = 0,981
0,04	45768,43	
0,05	65062,48	
0,06	74320,60	



**Gambar 1.** Kurva baku dari nilai serapan terhadap nilai konsentrasi baku rutin dalam pelarut

**Tabel 4** Perhitungan Presisi

Replikasi	Konsentrasi uji presisi %	Luas area	Kadar %
1	0,0206	19395,77	0,018
2	0,0204	19017,55	0,017
3	0,0203	29380,99	0,026
4	0,0210	30151,73	0,026
5	0,0211	20065,13	0,018
6	0,0205	21943,11	0,020
SD		5095,26	0,111
KV / RSD		21,84%	88,8%
Ketelitian Alat		99,78%	99,11%

Uji terhadap parameter keseksamaan atau presisi dilakukan dengan menotolkan rutin konsentrasi 0,02 % pada lempeng KLT dengan enam kali replikasi. Uji presisi pada larutan baku rutin diperoleh KV / RSD sebesar 21,844 % hasil tersebut menunjukkan bahwa pada percobaan ini tidak memenuhi standar validasi karena lebih besar dari nilai standar yaitu  $\leq 2$  %. Hal ini terjadi karena pada waktu penotolan sampel ke lempeng KLT tidak tepat pada satu titik sehingga ukuran bercak melebar lebih dari 2 mm. Karena diameter penotolan bercak tidak boleh lebih dari 2 mm (Ibnu Gholib dan Abdul Rohman, 2007). Ketelitian alat diperoleh sebesar 99,78% .

Kesalahan acak atau disebut juga kesalahan yang tidak tergantung (*indeterminate error*) merupakan

kesalahan yang nilainya tidak dapat diramalkan dan tidak ada aturan yang mengaturnya serta nilainya berfluktuasi (Ibnu Gholib dan Abdul Rohman, 2007).

Perolehan kadar flavonoid dari yang terendah sampai yang tertinggi yaitu metode pengeringan dengan sinar matahari langsung, metode pengeringan dengan oven, metode pengeringan kain hitam.

Pengeringan dengan kain hitam memiliki kadar flavonoid yang paling tinggi karena simplisia tidak terkena sinar matahari secara langsung sehingga kandungan aktif dalam simplisia tidak rusak dan juga memiliki sirkulasi udara yang bagus sehingga mengoptimalkan proses pengeringan. Telah diteliti bahwa ada penurunan kadar flavonoid karena pengaruh variasi temperatur pada saat pengeringan dan juga karena



**Tabel 5.** Kadar Flavonoid Total Herba Sambiloto dengan Beberapa Metode Pengeringan

Replikasi	SML		SMTL		Oven		Hasil
	Abs	Kadar (%)	Abs	Kadar (%)	Abs	Kadar (%)	
1	2577,48	23,5	5635,62	35,5	5661,55	35,5	F hitung = 2,971
2	3455,10	27	5976,61	37	3357,07	26,5	F tabel = 4,46
3	1970,13	21,5	3503,31	27,5	2894,99	25	
Rata2		24		33,3		29	

adanya proses memasak (Green,2004). Pengeringan dengan sinar matahari langsung memiliki kadar flavonoid sedikit karena adanya sinar matahari yang langsung mengenai simplisia dimungkinkan sinar matahari tersebut merusak flavonoid, pengeringan dengan oven juga memiliki kadar lebih sedikit karena pengeringan pada oven memiliki sirkulasi udara yang kurang baik dan ini merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi proses pengeringan (Depkes, 1985 : 13-14). Suhu penyimpanan dan lama penyimpanan dapat mempengaruhi jumlah kueresetin tetapi hal ini tidak dapat dijelaskan secara pasti (Patil *et.al.*, 1995).

#### Analisis Data

Analisis data menggunakan metode anava satu jalan, karena hanya ada satu faktor yang diperhatikan dalam penelitian ini yaitu faktor pengeringan, dari hasil perhitungan tersebut

diperoleh F hitung sebesar 2,971 dan F tabel 5,14.

Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara beberapa metode pengeringan (pengeringan dengan sinar matahari langsung, kain hitam dan dengan oven) terhadap kadar flavonoid total herba sambiloto pada taraf kepercayaan 95 % karena nilai F hitung lebih kecil dari F tabel.

#### Kesimpulan

Dari penelitian diatas dapat disimpulkan bahwa metode validasi yang diperoleh belum memenuhi syarat ( hasil uji akurasi dan presisi).

Perolehan kadar flavonoid total dari yang terendah sampai yang tertinggi yaitu metode pengeringan dengan sinar matahari langsung 24%,metode pengeringan dengan oven 29%, metode pengeringan kain hitam 33%.

**Daftar Pustaka**

- Backer, C.A.R.C, & Van Der Brink, Bakkhuizen. 1965. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Vol. II. Wolters Nordhroof N.V. Groningen The Netherlands.
- Dalimartha, S. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, Jilid I. Jalkarta: Trubus Agriwijaya. Hal 120-125.
- Depkes RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Depkes RI. Jakarta
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama, Depkes. RI. Jakarta. Hal: 2
- Ganjar. I. G., Abdul Rohman. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*, Yogyakarta; Pustaka Pelajar
- Green,R.J.2004.<http://www.lib.ncsu.edu/theses/available/etd-11242004-075813/unrestricted/edt.pdf>. diakses tanggal 6 mei 2008.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soedir. Edisi kedua ITB: Bandung.
- Harminta, 2004. *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*. Majalah Ilmu Kefarmasian. Vol. I, No. 3. p 117-134.
- Markham, T.R. 1982. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid* (Terjemahan) Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Munson, J. W, 1991, *Analisis Farmasi*, bagian b,. Diterjemahkan oleh harjana,.Surabaya : Airlangga University Press, Hal 134,135,136,137.
- Mulja H.Dr. dan Suharman Drs. *Analisis Instrumental*. Penerbit Airlangga University Press: Surabaya. Hal 231-232
- Patil, B., Pike, L., and Yoo, K. 1995. *Variation in the queresetin content in different colored onions*. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 120: 909-913
- Rachmawan, Orbin. Dr., Ir., MS, 2001. <http://202.152.31.170/modul/pertanian/pengendalianmutu/pengeringan, pendinginan dan pengemasan komoditas pertanian.pdf>. diakses tanggal 19 April 2008
- Robinson. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Penerbit ITB : Bandung.

- Sastrohamidjojo, H, 2002. *Spektroskopi*,  
Yogyakarta: Liberty, Hal: 27,  
28,32.
- Snyder, L. R, Joseph, K., and Joseph, G.,  
1997. *Practical HPLC Methode  
Development* 2 nd edition. New  
York: John and Wiley and Sons. P.  
689
- Stahl, E, 1985, *Analisis Obat Secara  
Kromatografi dan Mikroskopi  
(Terjemahan Kosasih  
Padmawinata)* Bandung : ITB,  
Hal: 3
- Suganda, A.G., 2002. Standarisasi  
Simplisia Ekstrak dan Produk  
Obat Bahan Alam : Makalah,  
Simposium Standarisasi Jamu dan  
Fitofarmaka, Kongres  
Perhimpunan Peneliti Bahan  
Alam XII, Bandung, Indonesia.