BAB IV
PEMBAHASAN

A. Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*)

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sambiloto (*Andrographis paniculata*), yang diekstraksi menggunakan metode remaserasi dengan pelarut etanol 95%. Hasil perhitungan rendeman ekstrak etanol daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

Tabel 2. Hasil Perhitungan Rendemen

Sampel	Simplisia (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)
Ekstrak etanol daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*)	200	29,87	14,93

(Sumber : data primer, 2025)

Berdasarkan tabel 2 (dua), ekstraksi daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) menggunakan metode remaserasi dengan pelarut etanol 95% menghasilkan bobot ekstrak sebesar 29,87 g dari 200 g serbuk simplisia. Dari hasil tersebut diperoleh rendemen sebesar 14,93%.

Rendemen sebesar 14,93% dapat dikategorikan baik, karena proses ekstraksi menggunakan etanol yang bersifat polar dan efektif melarutkan senyawa fenolik seperti tanin, flavonoid, dan glikosida. Selain itu, beberapa faktor seperti jenis pelarut, suhu, durasi ekstraksi, serta ukuran partikel simplisia turut memengaruhi hasil akhir rendemen (Arel, *et al*., 2023).

Rendemen ekstrak sambiloto (*Andrographis paniculata*) tidak boleh kurang dari 9,6%. Batasan ini penting untuk memastikan kualitas dan standarisasi ekstrak, sekaligus menjamin konsistensi kandungan senyawa aktif

di dalamnya . Penelitian yang dilakukan oleh Evelina Nahor menggunakan metode maserasi menghasilkan rendemen ekstrak sebesar 21%, yang menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai rendemen, semakin besar jumlah ekstrak yang diperoleh (Nahor *et al*., 2020). Sementara itu, Anugrah Riska Pradana melaporkan bahwa rendemen ekstrak herba rumput akar wangi bervariasi tergantung pada konsentrasi pelarut yang digunakan, yaitu sebesar 17,77% dengan etanol 70% dan 12,59% dengan etanol 95% (Pradana *et al*., 2023).

B. Indentifikasi Kandungan Kimia Ekstrak etanol daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*)

Ekstrak etanol daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) selanjutnya dilakukan identifikasi kandungan kimia untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu sampel. Hasil identifikasi dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

Tabel 3. Indentifikasi Kandungan Kimia

Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	*Mayer*	(-)
	Dragendroff	(+)
Flavonoid	Hcl pekat + serbuk magnesium	(+)
Tanin	FeCl3 1%	(+)

(Sumber : data primer, 2025)

Keterangan : (+) Positif; (-) Negatif

Berdasarkan tabel 3 (tiga), indentifikasi kandungan kimia ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*), mengandung tanin, flavonoid, dan alkaloid menggunakan perekasi *Dragendorff* ditunjukkan dari reaksi positif.

Ekstrak etanol 95% daun sambiloto (*Andrographis paniculata*). menunjukkan reaksi positif dengan pereaksi *Dragendorff* ditandai oleh terbentuknya endapan jingga yang mengindikasikan keberadaan alkaloid. Endapan ini merupakan kalium-alkaloid (Safutri *et al*., 2024). Reagen Mayer dapat menunjukkan reaksi negatif, yang mungkin disebabkan oleh kesalahan teknis dalam proses pengujian atau adanya kontaminasi pada bahan, sehingga menghambat deteksi alkaloid. Sebaliknya, reaksi positif terhadap alkaloid dengan reagen Mayer ditandai dengan munculnya endapan berwarna putih kekuningan.

Penelitian yang dilakukan oleh susilo menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) mengandung flavonoid (Susilo, Akbar, & Pratinaningsih, 2018), uji dengan serbuk magnesium (Mg) dan asam klorida (HCl) menghasilkan perubahan warna dari hijau ke jingga, Mg berfungsi membentuk kompleks dengan gugus karbonil flavonoid, dan HCl membentuk garam flavylium merah jingga (Pratiwi *et al*.,2023).

Tanin terdeteksi secara kualitatif pada ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang menggunakan pelarut etanol, sebagaimana ditunjukkan oleh hasil uji positif dengan penambahan larutan $FeCl_3$ (feriklorida). Reaksi positif ini ditandai dengan terbentuknya warna biru kehitaman yang khas, yang merupakan indikasi kuat adanya senyawa tanin dalam ekstrak tersebut. Perubahan warna tersebut terjadi akibat terbentuknya kompleks antara tanin dan ion Fe^{3+} dari $FeCl_3$. Tanin, yang termasuk golongan senyawa polifenol, memiliki gugus hidroksil fenolik yang dapat berinteraksi

dengan ion logam seperti Fe^{3+}, membentuk senyawa kompleks berwarna gelap (Halimu, *et al.*, 2020).

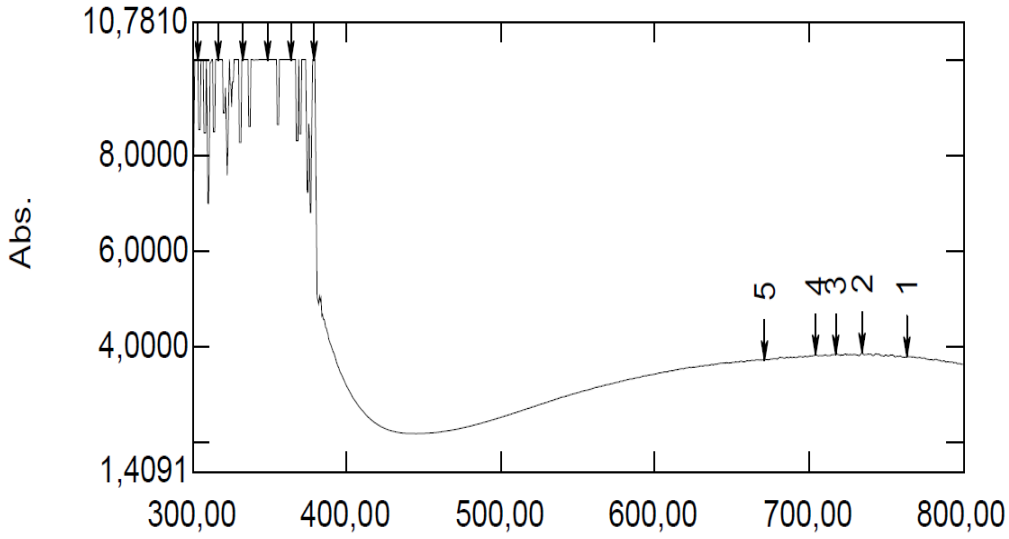
C. Pengujian Kadar Tanin

1. Panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum (λ maks) bertujuan untuk memperoleh nilai absorbansi tertinggi dari suatu senyawa, sehingga analisis menggunakan spektrofotometri menjadi lebih akurat dan sensitif. Pengukuran pada panjang gelombang maksimum (λ maks) memungkinkan penerapan hukum Lambert-Beer secara optimal, karena pada titik ini hubungan antara konsentrasi dan absorbansi berada pada tingkat linearitas tertinggi. Selain itu, λ maks juga dapat berfungsi sebagai penanda khas yang membantu dalam mengidentifikasi senyawa tertentu dalam suatu campuran (Skoog, *et al.*, 2014). Penentuan Panjang gelombang maksimum asam galat dilakukan dengan cara mengukur pada Panjang gelombang 300-800 nm. Hasil pengukuran Panjang gelombang maksimum larutan asam galat berada pada Panjang gelombang 764 nm (lihat pada gambar 4).

Asam galat digunakan sebagai pembanding karena memiliki reaktivitas tinggi terhadap reagen Folin Ciocalteu, sehingga menghasilkan data yang andal. Asam galat adalah senyawa fenolik alami yang stabil. Panjang gelombang maksimum asam galat yang didapat dari Dewi Nofita sebesar 765 nm (Nofita *et al*., 2020) dan Wahyu Bagio Leksono sebesar 725 nm (Leksono *et al*.,2018).

Penentuan waktu operasional penting untuk memastikan bahwa analit bereaksi sempurna dengan reagen dan mencapai absorbansi maksimum yang stabil saat pengukuran. Pengukuran pada panjang gelombang 764 nm setiap 5 menit menunjukkan bahwa absorbansi mencapai plateau antara menit ke-90 hingga ke-110. Oleh karena itu, pengukuran absorbansi sebaiknya dilakukan dalam rentang waktu 90–110 menit (Susilo *et al*., 2018).



Gambar 4. Lamda maksimal

2. Penentuan kurva kalibrasi

Tabel 4. Hasil Penentuan Kurva Kalibrasi Asam Galat

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Persamaan Regresi
1 ppm	0,1525	a= 0,109197, b=0,0600700 y = 0,109197 x + 0,0600700 r^2 = 0,99186
2 ppm	0,2780	
3 ppm	0,3980	
4 ppm	0,5180	
5 ppm	0,6187	
6 ppm	0,6884	

(Sumber : data primer, 2025)

Berdasarkan tabel 4 (empat), enam tingkat konsentrasi yang berbeda disiapkan untuk menghasilkan kurva kalibrasi, yaitu 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, dan 6 ppm dengan nilai penyerapan masing-masing 0,1525, 0,2780, 0,3980, 0,5180, 0,6187, serta 0,6884. Kurva kalibrasi ini penting untuk mendapatkan persamaan regresi linier yang akan digunakan untuk menghitung kadar tanin dalam daun sambiloto (*Andrographis paniculata*).

Persamaan regresi yang diperoleh dalam penelitian ini adalah y = 0,109197x + 0,0600700 (lihat Tabel 4), dengan nilai koefisien determinasi (r^2) sebesar 0,99186. Hasil absorbansi yang diperoleh tergolong baik, karena hampir seluruh rentang konsentrasi, mulai dari yang terendah hingga tertinggi, menunjukkan nilai serapan antara 0,2 hingga 0,8. Selain itu, nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,99186 mengindikasikan hubungan linear yang sangat kuat, mendekati nilai ideal yaitu 1. Mengacu pada Hukum Lambert-Beer, kurva akan membentuk garis lurus jika absorbansi berada dalam rentang tersebut. Hal ini juga tampak pada Lampiran 13 yang menampilkan kurva standar dari asam galat (Listiana *et al*., 2022).

Elly Mulyani dan tim dalam penelitiannya menggunakan larutan standar asam galat dengan konsentrasi bertingkat, yaitu 1 hingga 7 ppm, serta panjang gelombang maksimum sebesar 765 nm. Hasil analisis menunjukkan hubungan linear yang sangat kuat dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9981 dan persamaan regresi yang diperoleh adalah **y =** 0,1093x – 0,0094 (Mulyani *et al*., 2022). Di sisi lain, penelitian yang dilakukan oleh Yuska Noviyanty dan koleganya, meskipun menggunakan konsentrasi dan panjang gelombang yang sama, menghasilkan persamaan regresi y = 0,0453x + 0,113 dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9884 (Noviyanty *et al*., 2020). Perbandingan ini menunjukkan bahwa meskipun parameter pengukuran serupa digunakan, perbedaan nilai regresi tetap terjadi, yang kemungkinan dipengaruhi oleh variasi dalam kondisi eksperimental atau perbedaan tingkat kemurnian bahan yang digunakan.

3. Penentuan kadar tanin

Tabel 5. Hasil Pengukuran Kadar Tanin

Bobot ekstrak (mg)	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Rata-rata Absorbansi	Hasil nilai regresi (µg/ml)	Kadar Tanin (% b/b *GAE*)
50 mg	100 ppm	0,2440 0,2224 0,2484	0,238	1,63	1,63
	200 ppm	0,4671 0,3605 0,4509	0,426	3,35	1,67
	300 ppm	0,5009 0,3569 0,3969	0,418	3,27	1,08

(Sumber : data primer, 2025)

Berdasarkan tabel 5 (lima), ektrak dengan bobot 50 mg dibuat dalam konsentrasi berbeda yaitu 100 ppm, 200 ppm dan 300 ppm dengan tiga kali replikasi menghasilkan rata-rata nilai absorbansi berturut-turut 0,238, 0,426, dan 0,418. Setelah dilakukan perhitungan mendapatkan kadar tanin untuk kosentrasi100 ppm sebesar 1,63%, 200 ppm sebesar 1,67%, dan 300 ppm sebesar 1,08% (bisa dilihat pada lampiran 14).

Penentuan kadar tanin dengan metode spektrofotometri menggunakan reagen *Folin-Ciocalteu* melibatkan pembentukan kompleks *molibdenum tungsten* biru. Reaksi ini terjadi ketika gugus hidroksil pada senyawa fenolik, yang merupakan bagian dari tanin, bereaksi dengan reagen tersebut. Kompleks yang terbentuk kemudian dideteksi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum (λmaks) 764 nm. Reaksi ini hanya berlangsung dalam suasana basa, oleh karena itu ditambahkan Natrium karbonat. Penambahan natrium karbonat (Na_2CO_3) dalam penetapan kadar tanin menggunakan reagen *Folin-Ciocalteu* bertujuan untuk menciptakan suasana basa, yang merupakan kondisi penting agar reaksi dapat berlangsung. Dalam suasana basa, gugus hidroksil pada senyawa fenolik dalam tanin akan terionisasi menjadi anion fenolat yang lebih reaktif terhadap reagen *Folin-Ciocalteu*. Reaksi ini menghasilkan kompleks *molibdenum-tungsten* berwarna biru yang kemudian dapat dideteksi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum. Tanpa keberadaan Na_2CO_3, reaksi tersebut tidak akan berlangsung secara optimal (Day *et al*., 1980).

Berdasarkan literatur, kandungan tanin dapat berkisar antara 0,2 hingga 25%, tergantung pada jenis tanaman, waktu panen, habitat tanaman, dan metode ekstraksi (Buckner, Lafrenie, & Dénommée, 2016). Dengan demikian, kadar tanin 100 ppm 1,63%, 200 ppm 1,67%, dan 300 ppm 1,08. Nilai ini menunjukkan bahwa daun sambiloto mengandung tanin dalam jumlah yang terdeteksi secara kuantitatif oleh spektrofotometer UV-Vis, yang dapat menjadi dasar untuk penelitian lebih lanjut mengenai potensi aktivitas biologisnya, seperti antioksidan, antidiare, antimikroba, dan astringen. Penentuan kadar tanin ini penting sebagai bagian dari proses standarisasi ekstrak tanaman obat, terutama untuk memastikan mutu dan konsistensi bahan baku alam dalam formulasi sediaan fitofarmaka (Lisan, 2015).

Penelitian yang dilakukan oleh Yuska Noviyanty mengungkapkan bahwa ekstrak daun biduri yang diperoleh dengan menggunakan etanol 96% sebagai pelarut memiliki kandungan tanin yang berbeda-beda, yakni 1,16 µg/ml pada konsentrasi 100 ppm, 3,53 µg/ml di 200 ppm, dan 7,12 µg/ml pada 300 ppm (Noviyanty *et al.* , 2020). Sementara itu, ekstrak daun pagoda menunjukkan kandungan tanin sebesar 4,143% pada konsentrasi 15 ppm, 5,543% pada 20 ppm, dan 7,66% pada 30 ppm berdasarkan metode spektrofotometri (Mulyani *et al*., 2022).