

Profil kadar metabolit sekunder: Steroid, alkaloid, dan tanin ekstrak daun bintangur (*Calophyllum soulattri*)

Hadi Kurniawan¹, Siti Nani Nurbaeti^{1*}, Hariyanto IH¹, Fajar Nugraha¹, Inarah Fajriaty¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Indonesia.

DOI: <https://doi.org/10.29303/sjp.v5i2.336>

Article Info

Received : 2023-10-15

Revised : 2024-09-20

Accepted : 2024-09-20

Abstract: Bintangur leaf is one of the potential plants to be developed into a standardized herbal medicine which has many benefits such as antioxidant, anti-inflammatory and antibacterial. The aim of this study is to determine the steroid, tannin, and alkaloids of bintangur leaf extract. Preparation of bintangur leaves was conducted by soxhletation extraction technique with 96% ethanol as solvent. Determination of tannin tannic acid equivalent, and alkaloid quinine equivalent was analyzed by UV-Vis spectrophotometry method. While the analysis of steroid content β -sitosterol equivalent using a TLC Scanner. The results of the analysis showed that steroid content was 11061,49 μ gBSE/g, alkaloid was 307,16 μ gQE/g, and tannin was 6,586 %w/w TAE.

Keywords: Bintangur Leaf; Steroid; Tannin; Alkaloid.

Citation: Kurniawan, H., Nurbaeti, S.N., Ih, H., Nugraha, F., & Fajriaty, I. (2024). Penetapan kadar metabolit sekunder: Steroid, alkaloid, dan tanin ekstrak daun bintangur (*Calophyllum soulattri*). *Sasambo Journal of Pharmacy*, 5(2), 83-90. doi: <https://doi.org/10.29303/sjp.v5i2.336>

Pendahuluan

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati diantaranya tanaman obat. Bintangur (*Calophyllum soulattri*) merupakan salah satu tanaman obat yang kaya akan manfaat, seperti antioksidan, antiinflamasi, dan antibakteri (Violet, 2018; Husni and Saputri, 2020). Hasil uji toksisitas yang dilakukan secara *in vitro* menunjukkan ekstrak daun bintangur tidak bersifat toksik dengan nilai LC_{50} sebesar 627,97 ppm dan 1.063,17 ppm untuk kulit batang bintangur (Septiana and Simanjuntak, 2017, 2018). Berdasarkan hasil uji toksisitas dan uji aktivitas maka tanaman bintangur berpotensi untuk dikembangkan menjadi obat tradisional. Syarat mutu simplisia dan ekstrak yang baik menurut farmakope herbal adalah dilakukan standarisasi. Dalam kefarmasian, standarisasi didefinisikan sebagai kumpulan parameter prosedur dan metode pengukuran. Hasilnya mencakup elemen-elemen yang terkait dengan paradigma mutu yang mencakup pemenuhan standar baik kimia, biologi, maupun farmasi, termasuk memastikan bahwa produk farmasi

tetap stabil. Standardisasi merupakan suatu upaya memastikan kualitas bahan baku tanaman dengan parameter spesifik maupun non-spesifik untuk menjamin bahwa produk akhir baik dalam bentuk obat, ekstrak, atau produk ekstrak, mempunyai nilai parameter yang konstan (Ulfah *et al.*, 2021). Karena lingkungan tempat tumbuh, seperti kondisi tanah, suhu, dan materi, sangat memengaruhi kualitas tumbuhan obat, standarisasi dilakukan untuk menjaga kestabilan dan keamanan ekstrak serta konsistensi kandungan senyawa aktifnya (Utami *et al.*, 2017; Ulfahet *et al.*, 2021). Oleh karena itu, penting untuk ditentukan kadar kandungan metabolit sekunder pada ekstrak bintangur seperti pada bagian daun sebagai bagian dari standarisasi ekstrak daun bintangur.

Metabolit sekunder adalah zat bioaktif yang terkandung pada tanaman obat yang juga dikorelasikan dengan kandungan kimia dalam tanaman yang memiliki efek. Ekstrak daun bintangur berdasarkan hasil skrining fitokimia memiliki kandungan metabolit sekunder dari kelompok flavonoid, steroid, triterpenoid, tanin, fenol, dan saponin (Hajimehdipoor and

Email: sitinaninurbaeti@pharm.untan.ac.id (*Corresponding Author)

Shekarchi, 2014; Fajriaty *et al.*, 2018; Violet, 2018). Namun identifikasi jumlah kandungan kimia seperti steroid, alkaloid, dan tanin pada ekstrak daun bintangur belum diketahui. Oleh karena itu, penting untuk dilakukan penetapan kadar senyawa tersebut pada ekstrak daun bintangur untuk melengkapi data standarisasi ekstrak daun bintangur. Penelitian memiliki tujuan untuk menetapkan kadar steroid, alkaloid, dan tanin pada ekstrak daun bintangur.

Metode

Alat dan Bahan

Penelitian ini digunakan alat-alat seperti alat gelas (Pyrex), seperangkat alat sokhlet berkesinambungan, corong pisah, refluks, cawan porselin, cawan petri, desikator, magnetik stirer, kertas saring, blender simplisia (Miyako), ayakan 18 mesh (Pharmalab), *hot plate* (Schott Instrument), *waterbath* (Memmert WNB 14), timbangan analitik (Precisa), *rotary evaporator* (Heldolph), oven (Memmert UP400), TLC Scanner, dan Spektrofotometer UV-Vis.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah plat KLT sikigel 60 F245, alumunium foil, aquades, daun bintangur (*Calophyllum soulattri*), etanol 96% (Merck), hijau bromocresol, biru tetrazolium, tetrametil amonium hidroksida, reagen Mayer, Dragendorrf, asam asetat, amonium hidroksida, asam sulfat, eter, asam tanat (sigma aldrich), quinine alkaloid pembanding (sigma aldrich), β -sitosterol (sigma aldrich), besi (III) amonium sulfat, kalium permanganat, indigo karmin, benzena, $FeCl_3$, HCl (Merck), Kloroform (Merck), NaOH, KOH.

Prosedur Kerja

Pembuatan Simplisia

Daun bintangur (*Calophyllum soulattri*) yang digunakan dalam penelitian ini telah dideterminasi di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Tanjungpura. Daun bintangur dikumpulkan dari Kabupaten Mandor, Provinsi Kalimantan Barat, Indonesia. Pengolahan sampel daun bintangur diawali dengan membersihkannya dari kotoran dan sisa tanah, lalu dicuci dengan air bersih dan mengalir. Setelah itu, dilakukan perajangan, kemudian pengeringan dengan cara dijemur secara tidak langsung di bawah sinar matahari dengan ditutup kain. Sortasi kembali dilakukan setelah dijemur untuk menghilangkan zat asing yang muncul selama pengeringan. Setelah dihaluskan dengan blender, simplisia kering digunakan untuk membuat ekstrak. Setelah itu, simplisia diayak dengan ayakan nomor 18 dan disimpan dalam wadah tertutup.

Pembuatan Ekstrak

Metode sokhletasi digunakan untuk mengekstraksi simplisia bintangur sebanyak 480 gram, yang melibatkan 77 siklus dengan pelarut etanol 96% sebanyak 4,75 liter. Sokhletasi dilakukan pada suhu 70°C sampai tetesan siklus jernih. Setelah sokhletasi selesai, *rotary evaporator* digunakan untuk mengevaporasi sampai terbentuk ekstrak kental lalu dimasukkan ke dalam mangkok dengan bobot 338,7 gram. Untuk menghasilkan ekstrak yang lebih kental, ekstrak diuapkan kembali menggunakan *waterbath*. Setelah diuapkan, ekstrak dibiarkan dalam suhu kamar selama satu hari dan dilapisi dengan plastik yang berlubang agar pelarut yang masih tersisa menguap. Hasil ekstrak dalam mangkok ditimbang dan hitung total rendemennya dengan menggunakan rumus perhitungan (1) (Fajriaty *et al.*, 2018).

$$\text{Rendemen} = \left(\frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Simplisia}} \right) \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

Penetapan Kadar Steroid

Sampel ekstrak ditimbang seksama sebanyak 500 mg lalu ditempatkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan etanol 1 mL lalu divortex hingga tercampur. Selanjutnya disonikasi selama 30 menit. Kemudian divortex dan disentrifuse hingga terjadi pemisahan fase. Diambil filtrat dan dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL. Etanol ditambahkan 1 mL ke residu, divortex, dan disentrifuse. Diambil ulang filtrat yang terbentuk. Langkah ini diulangi sebanyak tiga kali. Tara dengan etanol hingga tanda batas. Totolkan sebanyak 2 dan 5 μ l filtrat pada plat silikagel 60 F254, sertakan pembanding β -sitosterol. Selanjutnya dimasukkan plat ke dalam chamber dengan fase gerak toluene : etil asetat (80 : 20) yang telah jenuh. Elusikan hingga batas, angkat dan keringkan. Jika sudah kering, semprot plat dengan pereaksi *lieberman bucard*. Tahapan selanjutnya yaitu dilakukan pemanasan pada plat dengan suhu 110°C selama 2 menit. Hasil bercak yang muncul diamati lalu ditentukan luas area dengan *TLC Scanner* (Fasya *et al.*, 2020).

Penetapan Kadar Alkaloid

Standar Quinine ditimbang dengan seksama 10 mg. HCl 2N ditambahkan 5 mL kemudian dihomogenkan dan disaring. Cuci larutan menggunakan kloroform sebanyak 10 mL dalam corong pisah sebanyak tiga kali kemudian fase kloroform dibuang. Larutan dinetralkan dengan menambahkan NaOH 0,1 N. Setelah itu, ditambahkan larutan *Bromocresol Green* (BCG) dan Buffer Phospat masing-masing sebanyak 5 mL. Diekstraksi larutan tersebut dengan 5 mL kloroform, lalu diaduk menggunakan *magnetic stirrer* pada kecepatan 500 rpm selama 15 menit.

Proses ekstraksi diulangi sebanyak dua kali. Fase kloroform dikumpulkan kemudian dievaporasikan dengan gas nitrogen. Kloroform ditambahkan hingga volume 10 mL. Dibuat seri konsentrasi pada 400; 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125 ppm. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV Vis pada panjang gelombang maksimum 470 nm.

Sampel ekstrak masing-masing ditimbang seksama 100 mg dan dicampur dengan 5 mL larutan HCl 2N, kemudian digojog. Larutan dicuci dengan 10 mL kloroform dalam corong pisah sebanyak tiga kali, fase kloroform kemudian dibuang. Larutan dinetralkan dengan ditambahkan NaOH 0,1 N. Larutan BCG ditambahkan 5 mL dan Buffer Phosphat 5 mL. Setelah itu, larutan diekstraksi dengan 5 mL kloroform dan diaduk dengan *magnetic stirrer* selama 15 menit pada kecepatan 500 rpm. Ekstraksi diulangi sebanyak dua kali. Selanjutnya, fase kloroform dikumpulkan dan dievaporasikan dengan gas nitrogen hingga volume 5 mL. Serapan ekstrak diukur pada panjang gelombang 470 nm (Karim *et al.*, 2022).

Penetapan Kadar Tanin

Sampel uji ditimbang seksama 50 mg dan diekstraksi menggunakan dietil eter sebanyak 10 mL selama 20 jam, kemudian dilakukan penyaringan. Sisa pelarut dietil eter kemudian diuapkan dan ditambahkan aquadest hingga 10 mL. Sampel yang berupa larutan diambil sebanyak 1 mL dan ditambahkan dengan reagen *Folin Ciocalteu* 0,1 mL dan divortex, ditunggu 5 menit. Selanjutnya ditambahkan natrium karbonat 20% sebanyak 2 mL lalu divortex kembali, ditunggu 5 menit. Ditambahkan aquades hingga volume 10 mL, diencerkan 10 kali, dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Absorbansi sampel dideteksi pada panjang gelombang 760 nm. Pembuatan kurva baku standar dilakukan dengan ditimbang seksama standar *tannic acid* sebanyak 0,0100 g, ditambahkan sejumlah 10 mL reagen *Folin Ciocalteu* lalu divortex dan ditunggu selama 5 menit. Larutan standar selanjutnya ditambah dengan larutan natrium karbonat 20% sampai volume 100 mL, diencerkan sesuai seri konsentrasi kurva standar. Larutan dilakukan inkubasi dengan durasi 30 menit pada suhu kamar dan dibaca absorbansinya pada λ_{max} 760 nm (Basri *et al.*, 2023).

Analisa Data

Data analisis kadar alkaloid dan tanin yang diperoleh bersifat kuantitatif sedangkan analisis kadar steroid bersifat semikuantitatif, selanjutnya dianalisis dan disajikan dalam bentuk angka setelah dihitung menggunakan rumus tertentu dan disusun dalam suatu tabel. Data kurva baku disajikan dalam bentuk grafik setelah persamaan regresi linear dan nilai r dihitung menggunakan persamaan (2).

$$Y = bx + a \dots\dots\dots (2)$$

Keterangan:

y = absorbans (variabel terikat)

x = konsentrasi (variabel bebas)

a = *intercept*

b = slope

Adapun nilai x (kadar) yang diperoleh digunakan untuk menghitung kadar alkaloid dan tanin total dengan rumus (3).

$$\text{Kadar (mgQE/g)} = \left(\frac{C \times V \times Fp}{W} \right) \dots\dots\dots (3)$$

Keterangan:

C = Konsentrasi senyawa dalam larutan sampel (mg/mL)

V = Volume larutan sampel (mL)

Fp = Faktor pengenceran

W = Berat sampel (g)

Hasil dan Pembahasan

Pembuatan Simplisia

Daun bintangur disortasi basah untuk memisahkan zat asing atau pengotor pada daun. Sampel daun tersebut kemudian dibersihkan dengan dialiri air perlahan untuk menghilangkan berbagai kotoran yang dapat mengganggu proses ekstraksi, seperti tanah, partikel, atau pengotor lainnya. Sampel yang telah dicuci kemudian dipotong dengan ukuran kecil untuk meningkatkan luas permukaan tanaman sehingga mempercepat pengeringan, mempermudah proses penghalusan sampel dan meningkatkan proses ekstraksi (Anam and Agustini, 2014). Proses pengeringan daun bintangur dilakukan dengan cara dijemur dibawah cahaya matahari dengan ditutup kain untuk mengurangi kadar air agar tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri. Sampel disortasi kembali untuk memisahkan zat asing yang muncul saat proses pengeringan (Anam and Agustini, 2014). Daun yang telah disortasi lalu dilakukan penghalusan dengan blender. Tahapan selanjutnya yaitu pengayakan dengan mesh 60 agar diperoleh ukuran akhir yang seragam. Simplisia dibuat menjadi serbuk halus dengan tujuan untuk memaksimalkan proses penyarian senyawa pada proses ekstraksi daun bintangur karena luas permukaan bertambah besar akan menyebabkan kontak dengan pelarutnya semakin tinggi sehingga menaikkan efektivitas saat ekstraksi. Ukuran sampel yang semakin kecil maka akan semakin tipis lapisan antara sampel dan penyari yang berarti jarak yang ditempuh penyari untuk mencapai zat aktif lebih pendek. Serbuk simplisia yang diperoleh ditimbang dan disimpan dalam wadah tertutup rapat pada ruangan yang terhindar dari sinar matahari (Ulfah and Erny, 2021). Bobot simplisia yang diperoleh sebesar 480 g.

Pembuatan Ekstrak

Tanaman yang sudah dalam bentuk serbuk simplisia kemudian diekstraksi. Prosedur pembuatan ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini adalah sokhletasi. Metode sokhletasi dipakai karena dapat memperoleh hasil rendemen yang jumlahnya lebih tinggi jika dibandingkan dengan metode maserasi. Cara ini memakai pelarut dengan jumlah yang lebih sedikit, lama waktu yang dibutuhkan lebih singkat, dan proses ekstraksi sampel lebih sempurna karena dilakukan dengan cara berulang (Anam and Agustini, 2014). Perolehan rendemen dengan sokhletasi yang lebih besar dari maserasi telah dibuktikan dalam penelitian Puspitasari and Proyogo (2016) bahwa rendemen ekstrak dengan metode sokhletasi sebesar 28,92% sedangkan rendemen dari metode maserasi sebesar 26,58% (Puspitasari and Proyogo, 2016).

Ekstraksi simplisia bintangur sebanyak 480 gram menggunakan metode sokhletasi dengan total 77 siklus menggunakan pelarut etanol 4,75 L. Bobot simplisia dalam setiap 1 kali sokhlet yaitu sebesar 40 gram menggunakan etanol 400 mL dengan 5 siklus. Etanol 96% digunakan sebagai pelarut karena memiliki karakter lebih selektif, netral, tidak beracun, dan daya serapnya yang baik serta mampu menghentikan pertumbuhan kapang dan bakteri. Karena kadar airnya lebih rendah, temperatur yang dibutuhkan untuk tahapan pemekatan juga lebih kecil daripada etanol 70%, sehingga mengurangi risiko kehilangan senyawa aktif karena tahapan yang menggunakan suhu untuk pemanasan (Samodra, 2019). Hasil sokhletasi berupa ekstrak dengan tekstur cair sebanyak 2,82 L kemudian dilakukan pemekatan memakai alat *rotary evaporator* pada suhu 60°C kecepatan 180 rpm sampai terbentuk ekstrak dengan tekstur kental. Evaporasi atau pemekatan dilakukan untuk menguapkan pelarut ekstraksi tanpa menjadi kering sehingga meningkatkan konsentrasi zat terlarut dan hanya meninggalkan senyawa hasil. Adanya gaya sentrifugal dan friksional antara dinding labu dan cairan sampel membuat lapisan tipis pada dinding labu, yang memungkinkan pelarut tersebar di seluruh area labu sehingga membuat evaporation jadi menguntungkan (Rizal *et al.*, 2015). Ekstrak dengan tekstur kental hasil evaporasi sebanyak 264,2 gram kemudian dimasukkan ke dalam mangkok dengan bobot 210,2 gram. Ekstrak selanjutnya diuapkan kembali dengan perangkat modifikasi *waterbath* sehingga didapat ekstrak dengan tekstur lebih kental dari sebelumnya. Ekstrak yang telah diuapkan dibiarkan dalam suhu kamar selama 24 jam dan dilapisi plastik wrap berlubang agar pelarut yang masih terdapat pada ekstrak dapat menguap. Hasil ekstrak daun bintangur didapat bobot sebesar 474,2 gram.

Ekstrak daun bintangur dihitung rendemennya untuk mengetahui banyaknya metabolit sekunder yang

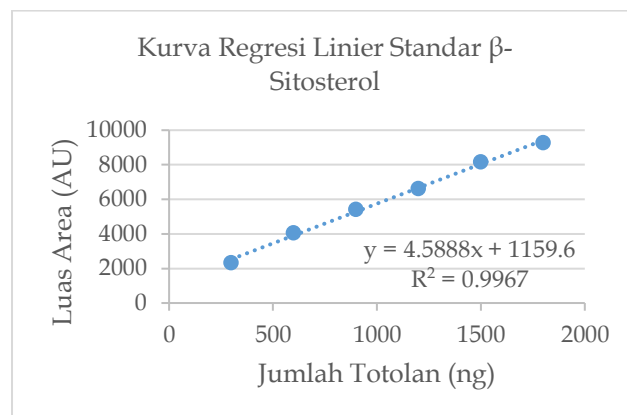
dihasilkan dari tahapan ekstraksi. Rendemen ekstrak dihitung menggunakan perbandingan antara berat ekstrak kering sebelumnya dengan jumlah serbuk simplisia yang digunakan pada tahap awal. Rendemen dihitung dengan memakai satuan persen (%) (Maryam *et al.*, 2020). Hasil rendemen yang didapatkan adalah 55%.

Tabel 1. Rendemen Hasil Ekstrak Sampel

Berat Simplisia (g)	Berat Ekstrak Tekstur Cair (L)	Berat Ekstrak Tekstur Kental (g)	Persentase Rendemen Ekstrak (%)
480	2,82	264	55

Penetapan Kadar Steroid

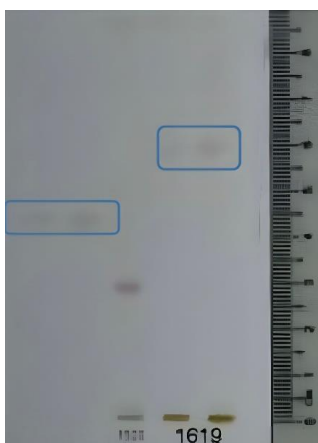
Penetapan kadar steroid dalam penelitian ini dianalisis dengan kromatografi lapis tipis (KLT). KLT merupakan teknik memisahkan senyawa yang bergantung pada interaksinya dengan plat tipis fase diam dan fase gerak (Octifani and Hernowo, 2020). Plat silikagel 60 F254 sebagai fase diam ini memiliki kemampuan berfluoresensi sangat baik pada sinar ultraviolet dengan panjang gelombang 254 nm, sehingga memudahkan dalam pengamatan bercak. Fase gerak pada analisis ini terdiri dari toluena : etil asetat (80 : 20). Fase gerak berfungsi untuk mengikat analit hingga batas elusi menghasilkan bercak (Agustin *et al.*, 2022). Fase gerak ini relatif nonpolar, sehingga dapat menahan senyawa polar di fase diam seperti silikagel dan membawa senyawa yang tidak terlalu polar naik terelusi (Husna and Mita, 2020). Teknik penetapan kadar yang digunakan dengan pendekatan teknik semikuantitatif. Senyawa standar yang digunakan dalam penelitian ini adalah β -sitosterol.



Gambar 1. Kurva Regresi Linier Standar β -Sitosterol

Persamaan regresi linier didapat dari kurva regresi standar β -sitosterol adalah $y = 4,5888x + 1159,6$ dengan nilai koefisien relasi (r) sebesar 0,998 (koefisien

determinasi r^2 sebesar 0,9667). Nilai koefisien korelasi ini dapat dikatakan baik karena memenuhi nilai koefisien relasi menurut SNI, yaitu $\geq 0,995$ (Kurniawan *et al.*, 2022). Standar β -sitosterol digunakan sebagai pembandingan untuk pengujian KLT sampel dengan volume totalan masing-masing sebanyak 2 dan 5 μl pada plat silikagel. Plat ditotolkan dengan sampel dan juga pembandingan lalu dimasukkan ke dalam chamber yang telah dijenuhkan dengan fase gerak untuk dilakukan elusi. Elusi merupakan kondisi ketika komponen senyawa terbawa oleh fase gerak (eluen) (Husna and Mita, 2020). Chamber yang dijenuhkan tersebut berfungsi untuk menyamakan tekanan uap dari fase gerak pemisahan senyawa dapat terlaksana dengan optimal (Dewi, 2018). Proses elusi dilakukan hingga batas atas. Jika sudah terelusi hingga batas atas, maka plat diangkat dan dikeringkan. Kemudian disemprotkan dengan pereaksi liebermen-bucard sebagai penampak bercak dan dioven dengan suhu 110°C dalam durasi 2 menit. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya bercak berwarna keunguan seperti **Gambar 2**.



Gambar 2. Hasil KLT

Senyawa steroid termasuk senyawa yang bersifat non-polar sehingga pada proses elusi, senyawa tersebut ikut bergerak bersama fase gerak yang digunakan. Penentuan luas area bercak dapat dilakukan menggunakan alat *TLC Scanner*. Luas area digunakan untuk menghitung kadar steroid dalam sampel dalam satuan nanogram. Data hasil *TLC Scanner* dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Kadar Steroid Ekuivalen β -Sitosterol (BSE)

Replikasi	Kadar ($\mu\text{g/g}$)	Rata-rata ($\mu\text{g/g}$)
1	11049,21	
2	10748,84	11061,49
3	11386,43	

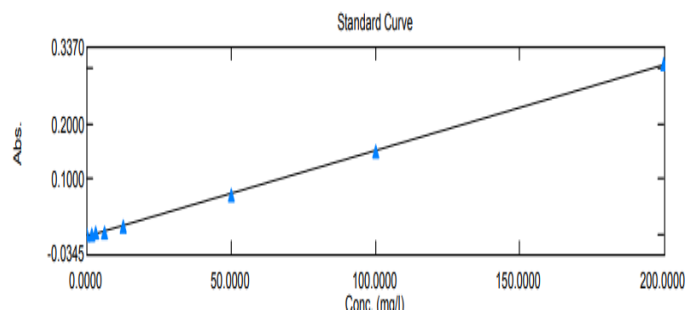
Penarikan senyawa steroid lebih efektif jika dilakukan dengan proses ekstraksi. Pelarut etanol 96%

yang dipakai pada saat ekstraksi dapat menjangkau dinding sel sampel sehingga mampu melakukan difusi dan menarik senyawa keluar (Yulianti *et al.*, 2021). Kadar yang didapatkan juga memenuhi nilai *Limit of Detection* (LOD). Nilai LOD merupakan batas deteksi terendah kadar analit dalam sampel (Kurniawan, Nugraha and Kurniawan, 2022). Nilai LOD dalam sampel yang didapatkan, yaitu $1,64 \mu\text{g/mL}$.

Penetapan Kadar Alkaloid

Pengukuran kadar alkaloid serbuk dan ekstrak daun bintangur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis yang merupakan alat untuk analisa secara kuantitatif yang dimanfaatkan dalam mengukur kandungan zat yang ada dalam sampel pada daerah ultraviolet-sinar yang memiliki panjang gelombang antara 200 - 700 nm. Hasil pengukuran berupa serapan (absorbansi) berbagai konsentrasi larutan standar maupun sampel berdasarkan hukum Lambert-Beer. Suatu kurva baku dibuat dengan menganalisis absorbansi tersebut. Panjang gelombang maksimum senyawa alkaloid yang didapatkan adalah 470 nm, dan kurva baku ditetapkan dengan larutan baku Quinine. Hasil pengukuran serapan membuktikan hubungan antara konsentrasi Quinine dan serapan yang dihasilkan berbanding lurus. Konsentrasi Quinine yang semakin tinggi dihasilkan dari absorbansi yang besar (Winahyu *et al.*, 2019).

Berdasarkan hasil absorbansi pada seri konsentrasi ditetapkan kurva standar Quinine dan diperoleh persamaan regresi linear yaitu $y = 0,00154318x - 0,00356890$ dimana y adalah serapan dan x sebagai konsentrasi sampel dengan nilai kuadrat koefisien korelasi (r^2) sebesar 0,99946 yang menunjukkan hubungan yang kuat antara absorbansi dan konsentrasi ekstrak. Nilai (r) yang dekat dengan 1 menunjukkan korelasi yang kuat antara dua variabel dengan kurva linear (Winahyu *et al.*, 2019). Kurva baku standar Quinine dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Kurva Regresi Linier Standar Baku

Kadar alkaloid total *Quinine Equivalent* (QE) ditetapkan dengan metode kompleks *bromocresol green* (BCG) secara spektrofotometri visible. Metode yang

digunakan pada penetapan kadar alkaloid ini memiliki prinsip yang didasarkan pada pembentukan kompleks antara alkaloid dengan reagen BCG sehingga akan menghasilkan senyawa warna kuning (Salamah et al., 2017). Ekstrak daun bintangur direaksikan dengan HCl untuk membentuk garam alkaloid. Selain itu, tujuan penambahan NaOH untuk membebaskan dari garam alkaloid sehingga akan mudah larut dalam pelarut organik. Buffer fosfat ditambahkan pada pH 4,7 bertujuan untuk memberikan hasil yang maksimal saat terjadi reaksi antara alkaloid dan BCG. Reaksi antar keduanya menghasilkan ikatan kompleks pasangan ion dan membentuk warna kuning. Tampak hasil pemisahan yang terdiri dari 2 lapisan terpisah dimana fase kloroform berada di lapisan bawah dan fase air di lapisan atas. Hal tersebut disebabkan oleh massa jenis kloroform lebih besar apabila dibandingkan dengan massa jenis air (Setyaningrum and Susanti, 2022).

Tabel 3. Kadar Alkaloid

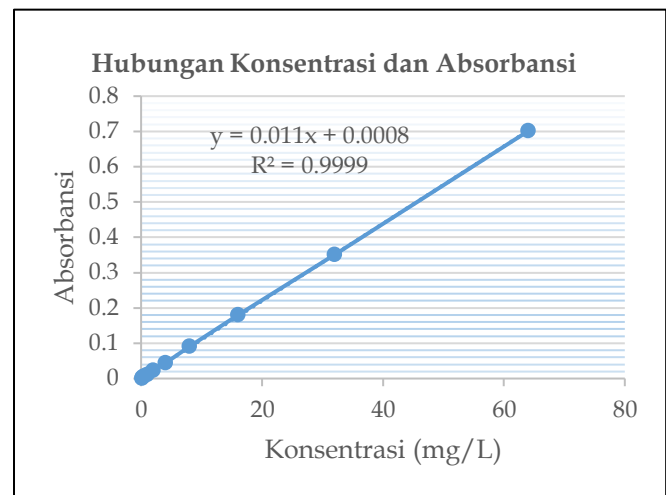
Replikasi	Kadar ($\mu\text{gQE/g}$)	Rata-rata ($\mu\text{gQE/g}$)	SD
1	329,49		
2	294,82	307,16	19,37
3	297,18		

Penetapan kadar total alkaloid diperoleh dari persamaan regresi kurva baku standar Quinine yaitu $y = 0,00154318x - 0,00356890$. Kadar total alkaloid dihitung dari persamaan regresi tersebut dengan 3 kali replikasi setelah dihitung kadar alkaloid total pada ekstrak daun bintangur. Kadar alkaloid ekstrak daun bintangur dapat dilihat pada **tabel 3**.

Penetapan Kadar Tanin

Tanin merupakan senyawa polifenol anorganik yang sangat kompleks dengan berat molekul tinggi dimana dapat dibedakan berdasarkan kemampuannya untuk mengikat dan mengendapkan protein. Tanin terdapat pada daun, akar, kayu, kulit kayu, buah dan pucuk tanaman. Tanin diketahui memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antikanker, dan antimikroba (Helen et al., 2015). Kandungan tanin dapat dianalisis secara kuantitatif dengan spektrofotometri UV-Vis menggunakan asam tanat sebagai standar dan didasarkan pada pembentukan senyawa berwarna biru menggunakan pereaksi Folin Ciocalteu. Reaktan ini mengoksidasi fenol yang menghasilkan senyawa kuinon dan membentuk kompleks molibdenum biru-tungsten yang dapat dideteksi dengan spektrofotometer UV-Vis. Jika konsentrasi senyawa fenolik meningkat, akan ada lebih banyak ion fenolik yang akan mereduksi pereaksi Folin-Ciocalteu. Jumlah kandungan tanin dalam sampel dinyatakan dalam g setara *tannic acid*

(TAE)/100 g sampel (%b/b TAE) (Warnasih and Hasanah, 2019).



Gambar 4. Kurva Regresi Linier Standar Baku

Kurva baku standar *tannic acid* dapat dilihat pada **gambar 4**. Adapun kadar tanin yang didapatkan pada ekstrak daun bintangur tertera pada **tabel 4**.

Tabel 4. Kadar Tanin

Replikasi	Kadar (%b/b) TAE	Rata-rata (%b/b) TAE
1	6,36	
2	6,89	6,586
3	6,51	

Tanin merupakan senyawa polar yang tahan terhadap pemanasan (Rusita and Lukito, 2019). Beberapa tanaman memiliki komponen bioaktif seperti antioksidan yang meningkat dengan kenaikan suhu antara 45 dan 100°C, tetapi dapat menurun jika suhu ekstraksi terus meningkat hingga 120°C (Azman et al., 2010). Tanin merupakan senyawa polar dan akan larut dengan baik pada pelarut polar. Penyimpanan ekstrak pada suhu kamar (27°C) yang terlalu lama juga dapat merusak tanin secara perlahan karena sifat tanin mudah teroksidasi dan warnanya akan menjadi lebih gelap jika terkena cahaya langsung atau dibiarkan di tempat terbuka. Kandungan tanin menurun seiring lama waktu penyimpanan pada suhu ruang (Warnasih and Hasanah, 2019).

Kesimpulan

Hasil kadar total metabolit sekunder dari ekstrak daun bintangur (*Calophyllum soulattri*), yaitu kadar steroid total 11061,49 $\mu\text{gBSE/g}$, kadar alkaloid total sebesar 307,16 $\mu\text{gQE/g}$, dan kadar tanin total 6,586 %b/b TAE.

Daftar Pustaka

- Agustin, R., Oktaviantari, D.E. and Feladita, N. (2022) 'Identifikasi Hidrokuinon Dalam Sabun Pemutih Pembersih Wajah Di Tiga Klinik Kecantikan Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis Dan Spektrofotometri UV-Vis', *Jurnal Analis Farmasi*, 6(1), pp. 95-101. Available at: <https://doi.org/10.33024/jaf.v6i2.2236>.
- Anam, C. and Agustini, T.W. (2014) 'Pengaruh Pelarut yang Berbeda pada Ekstraksi Spirulina Platensis Serbuk Sebagai Antioksidan Dengan Metode Soxhletasi', *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 3(4), pp. 106-112.
- Azman Abdul Rahim, M.S., Salihon, J. and Yusuf, M.M. (2010) 'Effect of Temperature and Time to the Antioxidant Activity in *Plecranthus amboinicus* Lour.', *American Journal of Applied Sciences*, 7(9), pp. 1195-1199. Available at: <https://doi.org/10.3844/ajassp.2010.1195.1199>.
- Basri, R., Abidin, Z. and Pratama, M. (2023) 'Penetapan Kadar Tanin Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis', *Makassar Natural Product Journal*, 1(3), pp. 125-137.
- Dewi, N.L.A. (2018) 'Pemisahan, Isolasi, dan Identifikasi Senyawa Saponin Dari Herba Pegagan (*Centella asiatica* L. Urban)', *Jurnal Farmasi Udayana*, p. 68. Available at: <https://doi.org/10.24843/JFU.2018.v07.i02.p05>.
- Fajriaty, I., Ih, H. and Setyaningrum, R. (2018) 'Skriming Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Dari Ekstrak Etanol Daun Bintangor (*Calophyllum soulattri* Burm. F.)', *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains*, 7(1), pp. 54-67.
- Fasya, A.G. et al. (2020) 'Aktivitas Antioksidan Isolat Steroid Hasil Kromatografi Lapis Tipis dari Fraksi n-Heksana *Hydrilla verticillata*', *ALCHEMY*, 8(1), pp. 23-34. Available at: <https://doi.org/10.18860/al.v8i1.9936>.
- Hajimehdipoor, H., Shahrestani, R. and Shekarchi, M. (2014) 'Investigating the Synergistic Antioxidant Effects of Some Flavonoid And Phenolic Compounds', *Research Journal of Pharmacognosy*, 1(3), pp. 35-40.
- Helen, L.R., Jyothilakshmi, M. and Latha, M.S. (2015) 'Isolation and Quantification of Tannins from the Root Bark of *Clerodendrum Infortunatum* linn. and Assessment of their Antioxidant Potential and Antiproliferative Effect on HCT-15 CELLS', *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 7(10), pp. 170-175.
- Husna, F. and Mita, S.R. (2020) 'Identifikasi Bahan Kimia Obat Dalam Obat Tradisional Stamina Pria Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis', *Farmaka*, 18(2), pp. 16-25.
- Husni, E., Dachriyanus, D. and Saputri, V.W. (2020) 'Penentuan Kadar Fenolat Total, Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri dari Ekstrak dan Fraksi Kulit Batang Bintangor (*Calophyllum soulattri* Burm. F.)', *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 7(1), p. 92. Available at: <https://doi.org/10.25077/jsfk.7.1.92-98.2020>.
- Karim, A., Adnan, J. and Irwanti (2022) 'Penentuan Kadar Alkaloid Total Ekstrak Etanol Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* L.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS', *Jurnal Farmasi Pelamonia* [Preprint].
- Kurniawan, E.N., Nugraha, F. and Kurniawan, H. (2022) 'Analysis of Hydroquinone Content in Whitening Cream by Spectrophotometry UV-Vis Method', *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 4(3), pp. 768-777.
- Maryam, F., Taebe, B. and Toding, D.P. (2020) 'Pengukuran Parameter Spesifik Dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Matoa (*Pometia pinnata* J.R & G.Forst)', *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 6(01), pp. 1-12. Available at: <https://doi.org/10.35311/jmpi.v6i01.39>.
- Octifani, L. and Hernowo, J.B. (no date) 'Perubahan Pola Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Daun dan Batang Teh (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) yang Menjadi Inang bagi 3 Benalu Berbeda', *Al-Kimia*, 8(2), pp. 104-112. <https://doi.org/10.24252/al-kimia.v8i2.14764>
- Puspitasari, A.D. and Proyogo, L.S. (2016) 'Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Sokletasi Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*)', *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 13(2), pp. 16-23.
- Rizal, S., Dewi, H. and Utomo, T.P. (2015) 'Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daging Dan Biji Buah Bintaro (*Cerbera*

- manghas L.)', *Jurnal Teknologi dan Industri Hasil Pertanian*, 20(1), pp. 51-64.
- Rusita, Y.D. and Lukito, P.I. (2019) 'Comparison of Tannin Concentration on Fresh and Dried Tea Leaf (*Camelia sinensis* L.) Extract Using UV-Visible Spectrophotometric Method', *Proceeding 1st International Conference of Health, Science & Technology*, pp. 7-9.
- Salamah, N., Rozak, M. and Al Abror, M. (2017) 'Pengaruh Metode Penyarian Terhadap Kadar Alkaloid Total Daun Jembirit (*Tabernaemontana sphaerocarpa*. BL) Dengan Metode Spektrofotometri Visibel', *Pharmaciana*, 7(1), pp. 113. Available at: <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v7i1.6330>.
- Samodra, G. (2019) 'Standardisasi Parameter Spesifik Dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Buah Asam Gelugur (*Garcinia atroviridis* Griff.)', 11(2), pp. 16-26.
- Septiana, E. and Simanjuntak, P. (2017) 'Aktivitas Antioksidan Dan Toksisitas Secara In Vitro Ekstrak Etanol Daun Dan Kulit Batang Bintangur (*Calophyllum rigidum* Miq.)', *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, 10(1), pp. 10-16. Available at: <https://doi.org/10.22435/toi.v10i1.7563.10-16>.
- Septiana, E. and Simanjuntak, P. (2018) 'Antioxidant Activity of Stem Bark Ethanolic Extracts of *Calophyllum pulcherrimum*, *C. soulattri*, and *C. teysmannii*', *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*, 29(2), pp. 59. Available at: <https://doi.org/10.21082/bullitro.v29n2.2018.59-68>.
- Setyaningrum, L. and Susanti, D.A. (2022) 'Penetapan Kadar Alkaloid Total Pada Ekstrak Heksan dan Etanol Biji Ketumbar (*Coriandrum sativum*)', *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 4(3), pp. 353-365.
- Ulfah, M., Kurniawan, R.C. and Erny, M. (2021) 'Standardisasi Parameter Non Spesifik Dan Spesifik Ekstrak Etanol Daun Jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels)', *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 17(2), p. 35. Available at: <https://doi.org/10.31942/jiffk.v17i2.4066>.
- Utami, Y. P., Umar, A. H., Syahrini, R., and Kadullah, I. (2017) 'Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.)', *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 2(1), pp. 32-39.
- Violet, V. (2018) 'Identifikasi Pemanfaatan Tradisional Dan Penapisan Senyawa Fitokimia Ekstrak Daun Bintangur (*Calophyllum soulatri* Burm F.)', *EnviroScientiae*, 14(1), p. 70. Available at: <https://doi.org/10.20527/es.v14i1.4896>.
- Warnasih, S. and Hasanah, U. (2019) 'Phytochemical Characterization and Tannin Stability Test from Kluwek (*Pangium edule* Reinw)', *Journal of Science Innovare*, 1(02), pp. 44-49. Available at: <https://doi.org/10.33751/jsi.v1i02.1000>.
- Winahyu, D.A., Retnaningsih, A. and Aprillia, M. (2019) 'Penetapan Kadar Flavonoid Pada Kulit Batang Kayu Raru', *Jurnal Analis Farmasi*, 4(1), pp. 29-36.
- Yulianti, W., Ayuningtiyas, G., Martini, R., and Resmeiliana, I. (2021) 'Pengaruh Metode Ekstraksi Dan Polaritas Pelarut Terhadap Kadar Fenolik Total Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.)', *Jurnal Sains Terapan*, 10(2), pp. 41-49. Available at: <https://doi.org/10.29244/jstsv.10.2.41-49>.