

**STANDARISASI EKSTRAK ETANOLIK
KANGKUNG DARAT (*Ipomoea reptans* Poir.) BERDASARKAN
PADA PARAMETER SPESIFIK DAN NONSPESIFIK**

SKRIPSI



Oleh :

ENDAH NURROHWINTA DJUWARNO

08613180

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
MEI 2012**

**STANDARDISASI EKSTRAK ETANOLIK
KANGKUNG DARAT (*Ipomoea reptans* Poir.) BERDASARKAN
PADA PARAMETER SPESIFIK DAN NONSPESIFIK**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.)

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia



Oleh :

ENDAH NURROHWINTA DJUWARNO

08613180

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
JUNI 2012**

SKRIPSI

**STANDARDISASI EKSTRAK ETANOLIK
KANGKUNG DARAT (*Ipomoea reptans* Poir.) BERDASARKAN
PADA PARAMETER SPESIFIK DAN NONSPESIFIK**

Oleh :

ENDAH NURROHWINTA DJUWARNO
08613180

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal: 06 Juni 2012

Penguji

1. M. Hatta Prabowo, M.Si., Apt. _____
2. Joko Tri Wibowo, M.Sc., Apt. _____
3. Dr. rer. nat. Nanang Fakhruddin, SF., M.Si., Apt. _____
4. Dr. Abdul Rohman, M.Si., Apt. _____

SKRIPSI

STANDARDISASI EKSTRAK ETANOLIK
KANGKUNG DARAT (*Ipomoea reptans* Poir.) BERDASARKAN
PADA PARAMETER SPESIFIK DAN NONSPESIFIK

Oleh :

ENDAH NURROHWINTA DJUWARNO

08613180

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal: 06 Juni 2012

Penguji

1. M. Hatta Prabowo, M.Si., Apt.

2. Joko Tri Wibowo, M.Sc., Apt.

3. Dr. rer. nat. Nanang Fakhruddin, SF., M.Si., Apt.

4. Dr. Abdul Rohman, M.Si., Apt.

Mengetahui

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia

Yandi Syukri, M.Si., Apt.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya, juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 06 Juni 2012

Penulis,

Endah Nurrohwinta Djuwarno

HALAMAN PERSEMBAHAN

Untuk kedua orang tua :

Drs. Djuwarno

(almh.) Dra. Ainsah Hunowu, M.H.

Guru-guru, keluarga, dan sahabat.

Adik tercinta :

Arif Rahman Wicaksono Djuwarno

E.N.D.

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Dengan menyebut nama Allah S.W.T. Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, serta syukur Alhamdulillah atas segala rahmat dan anugerah-Nya yang telah memberi ilmu, kekuatan dan kesempatan sehingga akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Standardisasi Ekstrak Etanolik Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir.) Berdasarkan pada Parameter Spesifik dan Nonspesifik”. Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar sarjana (S1) di Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

Dalam pelaksanaan dan penyusunan skripsi ini tentunya tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Untuk itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Drs. Djuwarno dan (Almh.) Ibu Dra. Ainsah Hunowu M.H. sebagai kedua orangtua yang selalu mendukung penuh pendidikan anaknya-anaknya. Serta Adik tercinta Arif Rahman Wicaksono Djuwarno.
2. Bapak M. Hatta Prabowo, M.Si., Apt. dan Bapak Joko Tri Wibowo, M.Sc., Apt., selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan banyak waktu untuk memberikan bimbingan, masukan, solusi, dan dorongan selama pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Ibu Dra. Suparmi, M.Si. Apt., selaku dosen pembimbing akademik yang senantiasa mendukung, memotivasi dan memberikan solusi, Bapak Hady Anshori T S.Si., Apt., selaku dosen yang telah bersedia untuk menerima konsultasi, Pak Riyanto, Mas Bibit, Mas Hartanto, Mas Kuswandi, Mas Yusuf, Mas Cecep Sya'bana, Mba Giwang, dan Mba Diyah selaku staf laboratorium, yang telah memberikan bantuan dan kerjasama yang baik selama pelaksanaan penelitian.
4. Sahabat seperjuangan Tarias Rahayu, Liputri Sartika Ningrum, Syifa R. Taqorina, Ginna Zabrina, Wisma Putri Ningtyas, serta Pondok Asyifa, atas

waktu, tenaga, pikiran, semangat, kerjasama dan semuanya yang telah kalian berikan.

5. Teman, keluarga yang telah mendoakan serta semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

Penulis berdoa semoga Allah S.W.T. membalas dengan kebaikan dan keberkahan. Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun dari semua pihak. Akhirnya besar harapan penulis semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat dan dapat dipergunakan oleh berbagai pihak yang berkepentingan serta dapat memberikan sumbangan bagi kemajuan keilmuan farmasi. Amin.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Yogyakarta, Juni 2012

Penulis,

Endah Nurrohinta Djuwarno

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN PEMBIMBING	ii
HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR PERSAMAAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI	xv
<i>ABSTRACT</i>	xvi
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II. STUDI PUSTAKA	
A. Tinjauan Pustaka	5
1. Kangkung Darat	5
2. Standardisasi	6
3. Metode Ekstraksi.....	8
4. Spektrofotometri Serapan Atom	9
5. Kromatografi	12
6. Antioksidan	15
7. Karotenoid.....	15
B. Keterangan Empirik	17

BAB III. METODE PENELITIAN	
A. Alat dan Bahan	18
B. Cara Penelitian	19
1. Pengambilan dan Determinasi Sampel.....	19
2. Ekstraksi Sampel	19
3. Parameter Spesifik	20
a. Deskripsi Tanaman	20
b. Organoleptik	20
c. Pola Kromatogram dan Pengukuran Kadar Senyawa Marker	20
4. Parameter Nonspesifik	20
a. Bobot Jenis	20
b. Kadar Air	21
c. Kadar Abu	21
d. Cemarkan Logam	22
e. Cemarkan Mikroba.....	23
f. Cemarkan Kapang dan Khamir.....	24
g. Uji Perkiraan Angka Koliform.....	24
h. Uji Sisa Pelarut Etanol	25
C. Analisis Hasil	27
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Determinasi Tanaman	28
B. Preparasi Sampel	28
C. Ekstraksi Sampel	29
D. Parameter Spesifik	30
E. Parameter Nonspesifik.....	34
F. Hasil Standardisasi.....	40
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	42
B. Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Kangkung Darat (<i>Ipomoea reptans</i> Poir)	5
Gambar 2. Komponen Spektrofotometri Serapan Atom	12
Gambar 3. Kandungan Karotenoid di dalam <i>Ipomoea aquatica</i>	16
Gambar 4. Skema Penelitian	26
Gambar 5. Ekstrak Kangkung Darat (<i>Ipomoea reptans</i> Poir)	30
Gambar 6. Tumbuhan Kangkung Darat (<i>Ipomoea reptans</i> Poir)	31
Gambar 7. Hasil Elusi Kromatografi	33
Gambar 8. Kurva Baku β -karoten	33
Gambar 9. Kurva Baku Timbal (Pb)	36
Gambar 10. Kurva Baku Kadmium (Cd).....	37

DAFTAR TABEL

Tabel I.	Persyaratan Parameter Nonspesifik	8
Tabel II.	Hasil Pengamatan Uji Organoleptik	31
Tabel III.	Hasil Perhitungan Bobot Jenis	34
Tabel IV.	Hasil Pengukuran kadar Air	35
Tabel V.	Hasil Perhitungan Kadar Abu Total	35
Tabel VI.	Hasil perhitungan Kadar Abu tidak Larut Asam	36
Tabel VII.	Kadar Timbal (Pb) dalam Ekstrak	37
Tabel VIII.	Kadar Kadmium (Cd) dalam Ekstrak	38
Tabel IX.	Hasil Penetapan Angka Cemar Mikroba	38
Tabel X.	Hasil Uji Perkiraan Koliform	39
Tabel XI.	Hasil Pengamatan Penetapan Angka Kapang dan Khamir	40
Tabel XII.	Hasil Standardisasi Ekstrak Etanol Kangkung Darat	41

DAFTAR PERSAMAAN

Persamaan 1. Perhitungan Nilai Rf	13
Persamaan 2. Perhitungan Bobot Jenis	21
Persamaan 3. Perhitungan Kadar Abu	22
Persamaan 4. Perhitungan Jumlah Koloni	23

DAFTAR SINGKATAN

AAS	= <i>Atomic Absorbs Spectrophotometry</i>
ASE	= <i>Accelerated Solvent Extraction</i>
AUC	= <i>Area Under Curve</i>
BGLB	= <i>Brilliant Green Lactose Bile</i>
BPOM	= Badan Pengawasan Obat dan Makanan
Cd	= Kadmium
CDA	= <i>Czapek Dox Agar</i>
GC-MS	= <i>Gas Chromatography Mass Spectrometry</i>
GSH-Px	= <i>Glutation Peroxidase</i>
KG	= Kromatografi Gas
KGC	= Kromatografi Gas Cair
KGP	= Kromatografi Gas Padat
KLT	= Kromatografi Lapis Tipis
LAF	= <i>Laminar Air Flow</i>
LOD	= <i>Limit Of Detection</i>
LOQ	= <i>Limit Of Quantity</i>
MAE	= <i>Microwave-Assisted Extraction</i>
NaCl	= Natrium Klorida
OHT	= Obat Herbal Terstandar
Pb	= Timbal
PCA	= <i>Plate Count Agar</i>
PLE	= <i>Pressurized Liquid Extraction</i>
Ppm	= <i>Part Per Million</i>
Rf	= Faktor Retardasi Solut
SSA	= Spektrofotometri Serapan Atom
SD	= Standar Deviasi
SFE	= <i>Supercritical Fluid Extraction</i>
SM	= Spektrometri Massa
SOD	= Superoksida Dismutase
ND	= <i>Not Detected</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Surat Keterangan Determinasi	47
Lampiran 2.	Kunci Determinasi Tanaman Kangkung Darat	48
Lampiran 3.	Perhitungan Hasil Rendemen	50
Lampiran 4.	Perhitungan pembuatan larutan standar β -karoten	51
Lampiran 5.	Hasil KLT Densitometri	52
Lampiran 6.	Perhitungan Kadar β -karoten	55
Lampiran 7.	Gambaran titik akhir titrasi Karl Fischer	57
Lampiran 8.	Perhitungan Pembuatan Larutan Baku	61
Lampiran 9.	Perhitungan LOD dan LOQ Timbal (Pb) dan Kadmium (Cd) ekstrak.....	63
Lampiran10.	Hasil Penetapan Angka Cemar Mikroba.....	64
Lampiran11.	Hasil Uji Perkiraan Angka Koliform	66
Lampiran12.	Hasil Uji Cemar Kapang dan Khamir	67
Lampiran13.	Hasil Kromatografi Gas dan Spektrometri Massa	68

**STANDARDISASI EKSTRAK ETANOLIK
KANGKUNG DARAT (*Ipomoea reptans* Poir) BERDASARKAN
PADA PARAMETER SPESIFIK DAN NONSPESIFIK**

INTISARI

Standardisasi ekstrak dilakukan untuk menjamin keseragaman khasiat dan meningkatkan nilai ekonomi terhadap suatu herbal. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai parameter spesifik dan nonspesifik standardisasi ekstrak kangkung darat dan mengetahui bahwa standardisasi ekstrak kangkung darat memenuhi standar yang ditetapkan BPOM atau acuan lainnya. Pengambilan sampel dilakukan pada usia kangkung darat $\pm 25-30$ hari setelah penanaman. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Pada ekstrak pekat dilakukan pengujian parameter spesifik yang terdiri dari uji organoleptik, pola kromatografi, kadar senyawa marker dan parameter nonspesifik yang terdiri dari uji bobot jenis, uji kadar air, uji kadar abu total, uji kadar abu tidak larut asam, uji cemaran logam, uji cemaran mikroba, uji cemaran kapang dan khamir, perkiraan angka koliform, dan uji sisa pelarut (etanol). Hasil standardisasi ekstrak menunjukkan bahwa rata-rata kadar air ekstrak $16,45 \pm 0,05\%$, bobot jenis ekstrak $1,133 \pm 0,004$ g/ml, kadar abu total $5,97 \pm 0,13\%$, kadar abu tidak larut asam $5,44 \pm 0,79\%$. Tidak terdapat cemaran logam timbal (Pb) dan kadmium (Cd), tidak terdapat sisa pelarut etanol di dalam ekstrak, serta angka cemaran mikroba, angka kapang dan khamir, serta angka koliform di dalam ekstrak di bawah standar batas maksimal yang ditetapkan BPOM. Hasil kromatogram menunjukkan nilai Rf β -karoten adalah 0,92 yang merupakan persamaan nilai Rf dengan standar β -karoten. Kadar β -karoten di dalam ekstrak sebesar $2,43 \pm 0,65$ % (b/v).

Kata kunci : standardisasi ekstrak, kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir), parameter spesifik, non spesifik.

**STANDARDIZATION ETHANOLIC EXTRACT
OF *Ipomoea reptans* Poir BASED ON
THE SPECIFIC AND NONSPECIFIC PARAMETERS**

ABSTRACT

Ipomoea reptans Poir is the one of herbal medicine that has antihyperglycemic activity. Extract of *Ipomoea reptans* Poir must be standardized to ensure the uniformity of efficacy and also to increase the economic value of herbal medicine. The purpose of this study is to determine the values of specific and nonspecific standardization parameter and to compare the extract parameters with the guidance from BPOM and other references. Sampling has been done at \pm 25-30 days of age. Extraction performed by maceration method using 96% of ethanol. After extraction, the extract is measured by specific and nonspecific parameters. The specific parameters consist of organoleptic test, chromatographic patterns, and measurement of marker compound. The nonspecific parameters consist of density test, moisture content test, total ash content test, acid insoluble ash content test, metal contamination test, microbial contamination test, mold and yeast contamination test, estimated the numbers of coliform contamination test, and the remaining solvent test (ethanol). The result of standardization showed that the water content is $16,45 \pm 0,05\%$, the density is $1,133 \pm 0,004$ g/mL, total ash is $5,97 \pm 0,13\%$, acid insoluble ash is $5,44 \pm 0,79\%$, there is no metal contamination of lead (Pb) and cadmium (Cd), there is no residual solvent in the ethanol extract, and microbial contamination rates both total plate count, mold and yeast number, and the number of coliform in the extract are under the maximum standards set by BPOM. The results of the chromatogram pattern showed that Rf value of the β -carotene was 0,92. which the equation with β -carotene. The average of β -carotene content in extracts was $2,43 \pm 0,65\%$ (w/v).

Keywords : standardization of extract, (*Ipomoea reptans* Poir), specific, nonspecific parameters.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Saat ini penggunaan obat herbal banyak diminati oleh masyarakat. Isu tentang *back to nature* sekarang sedang banyak dilirik masyarakat. Masyarakat beranggapan bahwa penggunaan obat herbal pasti aman dan tidak memiliki efek samping. Di samping itu banyak anggapan bahwa penggunaan obat herbal yang berlebihan tidak akan memberikan dampak yang berbahaya sebab obat herbal merupakan obat alami yang tidak berasal dari bahan kimia. Anggapan masyarakat yang seperti ini perlu diluruskan bahwa obat herbal juga memiliki kandungan kimia yang nantinya berefek farmakologi atau berkhasiat pada tubuh. Seperti layaknya obat sintesis, kandungan kimia yang terkandung dalam ekstrak obat herbal perlu mendapatkan standardisasi agar memiliki mutu yang terukur sehingga menjamin keamanan dan efikasinya pada masyarakat¹.

Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM) menggolongkan bahan obat alam menjadi tiga kategori yaitu obat tradisional empirik atau jamu, obat herbal terstandar (OHT), dan fitofarmaka. Kriteria jamu adalah aman sesuai persyaratan yang telah ditetapkan, belum pernah dilakukan standardisasi, dan klaim khasiat jamu dibuktikan dengan data empirik. Kriteria obat herbal terstandar (OHT) adalah aman, sesuai dengan persyaratan yang ditetapkan, telah dilakukan standardisasi terhadap bahan baku yang digunakan dalam produk jadi, dan pembuktian khasiat OHT adalah secara praklinik. Kriteria fitofarmaka adalah aman, sesuai dengan persyaratan yang ditetapkan, telah dilakukan standardisasi terhadap bahan baku yang digunakan dalam produk jadi, dan pembuktian khasiat fitofarmaka adalah secara praklinik dan klinik. Sebagai upaya peningkatan kualitas obat tradisional menjadi bentuk fitofarmaka, suatu ekstrak herbal perlu distandardisasi menjadi obat herbal terstandar (OHT) sebelum menjadi fitofarmaka².

standardisasi adalah serangkaian parameter, pengukuran unsur- unsur terkait paradigma mutu yang memenuhi syarat standar. Paradigma mutu kefarmasian memenuhi syarat standar kimia, biologi, dan farmasi, termasuk jaminan stabilitas sebagai produk farmasi³. Objek standardisasi adalah ekstrak tumbuhan yang diperoleh dari penyarian pelarut tertentu⁴. Alasan standardisasi bahan baku/ obat herbal adalah karena berbagai tanaman memiliki berbagai jenis kandungan kimia yang nantinya dapat berefek farmakologis pada tubuh¹. Arti penting standardisasi adalah menjamin keseragaman khasiat melalui pemastian kadar senyawa aktif melalui analisis kuantitatif metabolit sekunder, menjamin aspek keamanan, stabilitas ekstrak, dan meningkatkan nilai ekonomi ekstrak melalui berbagai analisis untuk menentukan batas minimal kadar air, cemaran mikroba, dan zat tertentu. Selain itu pentingnya standardisasi ekstrak pada uji klinik yaitu penentuan dosis senyawa marker agar menjaga senyawa-senyawa tersebut konsisten terukur pada tiap perlakuan¹.

Hasil penelitian Helminawati, (2011) kangkung darat dapat berefek sebagai antihiperqlikemia⁵. Kangkung memiliki kandungan karbohidrat, lemak, vitamin C, vitamin E, vitamin A, abu, asam amino, beberapa mineral, gula dan lainnya⁶. Senyawa yang bersifat sebagai antioksidan seperti vitamin A, C, E, enzim superoksid dismutase, karotenoid, dan kofaktor lainnya dapat mencegah adanya radikal bebas yang berefek terhadap kerusakan organel sel dan enzim, peningkatan lipid peroksidase, dan resistensi reseptor insulin⁶. Resistensi reseptor insulin erat kaitannya dengan etiologi hiperqlikemia. Berdasarkan sebuah literatur menyatakan bahwa tanaman kangkung memiliki aktifitas menurunkan kadar gula darah oleh senyawa antioksidan karotenoid, vitamin C, dan vitamin E^{7,8}. Kangkung darat sebagai obat herbal perlu distandardisasi sebelum diuji efikasi dan keamanannya. Standardisasi ekstrak perlu dilakukan agar jika terbukti efikasi dan keamanan ekstrak kangkung darat yang sudah terstandardisasi akan mempermudah penjaminan keajegan kualitas ekstrak kangkung darat.

Tahun 2000 Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM) mulai menggagas standardisasi ekstrak herbal. Ketersediaan standar obat herbal ataupun ekstrak di Indonesia masih sangat minim khususnya untuk tanaman kangkung. Data terkait standardisasi ekstrak kangkung darat belum tersedia di BPOM sebab

kangkung baru dikenal sebagai tanaman sayur dan belum banyak yang mengetahui khasiat kangkung. Sehingga penelitian ini perlu dilakukan untuk dapat melengkapi data standardisasi ekstrak herbal khususnya kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir).

B. Perumusan Masalah

1. Bagaimana nilai parameter spesifik dan nonspesifik standarisasi ekstrak kangkung darat ?
2. Apakah standarisasi ekstrak kangkung darat memenuhi standar yang ditetapkan BPOM atau acuan lainnya?

C. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui nilai parameter spesifik dan nonspesifik standarisasi ekstrak kangkung darat.
2. Untuk mengetahui bahwa standarisasi ekstrak kangkung darat memenuhi standar yang ditetapkan BPOM atau acuan lainnya.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat melengkapi data standarisasi ekstrak herbal khususnya kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir) serta dapat segera dilakukan uji praklinik dan klinik sehingga pada akhirnya dapat diketahui efikasi dan keamanan dari ekstrak kangkung darat yang terstandar.

BAB II STUDI PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Kangkung Darat

a. Deskripsi tanaman

Kangkung darat yang bernama latin *Ipomoea reptans* Poir yang biasa tumbuh ditempat basah, rawa, dataran rendah sampai dataran dengan ketinggian 1000 meter dari permukaan laut biasa dimanfaatkan untuk sayur-sayuran. Tumbuhan ini berwarna hijau, tumbuh menjalar, batang berbentuk bulat, beruas dan berongga. Daun kangkung bertangkai panjang dan letaknya berselang-seling. Permukaan daun berwarna hijau tua, sedang bagian bawah berwarna hijau muda. Daun dan batang kangkung dimakan sebagai sayuran dan lalapan⁹. Tanaman kangkung darat ditunjukkan oleh gambar 1.



Gambar 1. Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir)

b. Kandungan kimia

Kandungan kimia kangkung adalah protein, mineral, (kalsium, fosfor, besi), vitamin (A, B₁, C, karotenoid), hentriakontan, dan sitosterol⁹. Kangkung darat memiliki vitamin C paling tinggi dibandingkan dengan akar kiambang (*Salvinia cuculata*), Kastanye (*Trapa natans*), dan mata lele (*Lemna minor*)¹⁰. Vitamin C adalah agen antioksidan yang merupakan senyawa yang dapat melindungi sel terhadap radikal bebas. Tingginya radikal bebas dan menurunnya

kekebalan antioksidan akan menyebabkan kerusakan organela sel dan enzim, peningkatan lipid peroksida, dan resistensi insulin⁷. Selain itu terdapat literatur penelitian tentang diabetes mellitus menjelaskan senyawa yang berefek entihiperglikemik pada kangkung adalah senyawa karotenoid⁸.

c. Klasifikasi tanaman kangkung¹¹ :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermathopyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub-kelas	: Asteridae
Ordo	: Solanales
Familia	: Convolvulaceae
Genus	: <i>Ipomoea</i>
Spesies	: <i>Ipomoea reptans</i> Poir.

2. Standardisasi

Standardisasi dalam kefarmasian adalah serangkaian parameter, prosedur, dan cara pengukuran yang hasilnya merupakan unsur-unsur terkait paradigma mutu kefarmasian yaitu memenuhi syarat standar dalam aspek kimia, biologi, dan farmasi. Pengertian standardisasi juga berarti proses menjamin bahwa produk obat ataupun ekstrak mempunyai nilai parameter yang konstan. Salah satu tujuan standardisasi adalah memberikan data kandungan kimia yang nantinya dapat dijadikan sebagai senyawa yang bertanggungjawab dalam efek farmakologis. Ruang lingkup standardisasi berupa parameter spesifik dan parameter nonspesifik³.

Parameter spesifik adalah aspek yang terkait dengan kandungan kimia baik secara kualitatif dan kuantitatif yang bertanggungjawab terhadap aktifitas farmakologis. Sedangkan parameter nonspesifik adalah segala aspek yang tidak berkaitan dengan efek farmakologis namun

berkaitan dengan aspek keamanan dan stabilitas ekstrak¹. Parameter spesifik yang dapat dinilai meliputi deskripsi ekstrak, identitas ekstrak, organoleptik, senyawa terlarut dalam pelarut tertentu, kandungan kimia, dan kadar total golongan kandungan kimia. Parameter nonspesifik yang dapat dinilai meliputi susut pengeringan, bobot jenis, kadar air, kadar abu, sisa pelarut, residu pestisida, cemaran logam berat, cemaran mikroba, cemaran kapang, khamir, dan aflatoksin³.

Menentukan kandungan kimia suatu herbal membutuhkan senyawa marker. Kriteria senyawa marker diantaranya :

- a. Senyawa aktif, yaitu senyawa yang bertanggungjawab langsung pada aktifitas farmakologis.
- b. Senyawa utama, yaitu senyawa yang lebih dominan secara kuantitatif diantara komposisi senyawa lainnya dalam suatu herbal.
- c. Senyawa identitas, yaitu senyawa yang khas hanya terdapat dalam suatu herbal.
- d. Senyawa aktual, yaitu seluruh senyawa yang dianalisis berada dalam suatu herbal¹.

Objek standardisasi adalah ekstrak tumbuhan yang diperoleh dari penyarian pelarut tertentu⁸. Air dan etanol sering digunakan sebagai pelarut/ penyari. Etanol memiliki daya sari pada senyawa dengan polaritas yang lebar (semipolar). Ada tiga jenis ekstrak yaitu ekstrak cair, ekstrak kental, dan ekstrak kering. Ekstrak cair biasanya mengandung kadar air 30%, ekstrak kental mengandung 5-30%, dan ekstrak kering mengandung < 5%¹.

Tabel I. Persyaratan Parameter Nonspesifik¹

Parameter	Persyaratan
Angka Lempeng Total (ALT)	< 10 koloni/gram
<i>Coliform</i>	< 3 koloni/gram
Kapang dan Khamir	< 10 koloni/gram
<i>E. Coli</i>	(-) negatif
<i>S. Aureus</i>	(-) negatif
<i>Salmonella</i> Sp.	(-) negatif
Residu Pestisida	< 5µg/kg
Cemaran Logam Timbal (Pb)	< 10 mg/kg
Cemaran Logam Kadmium (Cd)	< 0,3 mg/kg
Kadar Air	
Ekstrak Kering	<5%
Ekstrak Kental	5%-30%
Ekstrak Cair	>30%

3. Metode Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan cair yang diperoleh dari mengekstraksi suatu simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Selanjutnya pelarut diuapkan dan sisa ekstrak dimanfaatkan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Ekstrak cair biasanya menggunakan pelarut etanol. Tiap ml ekstrak akan mengandung 1 gram simplisia yang memenuhi syarat. Ekstrak tumbuhan bisa sebagai bahan awal, bahan antara, atau bahan produk jadi. Ekstrak dinilai sebagai bahan awal jika digunakan sebagai bahan baku untuk teknologi fitofarmasi menjadi produk jadi. Ekstrak dinilai sebagai bahan antara jika menjadi bahan yang masih perlu diproses lagi menjadi fraksi-fraksi ataupun isolat sebagai campuran dengan ekstrak lain. Ekstrak dinilai sebagai bahan produk jadi jika ekstrak merupakan sediaan yang siap digunakan oleh pasien/ konsumen³.

Tahap awal sebelum pembuatan ekstrak adalah pembuatan simplisia kering (penyerbukan). Proses penyerbukan yang baik akan semakin efektif dan efisien dalam proses ekstraksi. Saat penyerbukan dengan menggunakan alat-alat logam dihindari panas yang dihasilkan dari proses gesekan. Sebab panas yang dihasilkan dikhawatirkan akan

mempengaruhi kandungan senyawa simplisia. Suatu pelarut ekstrak diharapkan dapat melarutkan metabolit sekunder yang terkandung. Pelarut yang lazim digunakan adalah air dan etanol. Sedangkan metanol, heksana, toluen, kloroform, dan aseton biasanya digunakan pada tahap separasi dan tahap pemurnian. Metanol sangat dihindari penggunaannya karena bisa menyebabkan ketoksikan³.

Terdapat banyak jenis metode ekstraksi. Ekstraksi dapat dilakukan dengan menggunakan pelarut, destilasi uap, ataupun cara ekstraksi lainnya. Metode maserasi adalah jenis ekstraksi cara dingin yang menggunakan pelarut tertentu dengan beberapa kali pengadukan pada suhu kamar. Prinsip metode ini adalah mencapai konsentrasi seimbang (penjenuhan). Proses ekstraksi dapat dilakukan pengulangan dengan penambahan pelarut setelah penyaringan maserat pertama yang disebut remaserasi³. Metode baru yang sedang dikembangkan untuk menghemat pelarut dan lamanya ekstraksi yaitu *microwave-assisted extraction* (MAE), *supercritical fluid extraction* (SFE), dan *accelerated solvent extraction* (ASE) atau *pressurized liquid extraction* (PLE)¹².

4. Spektrofotometri Serapan Atom

Metode spektrofotometri serapan atom digunakan untuk analisis kuantitatif unsur-unsur logam dalam jumlah rumit (*trace*) dan sangat rumit (*ultratrace*). Analisis ini mengukur kadar total unsur logam dalam sampel. Analisis ini memiliki kepekaan yang tinggi dengan batas deteksi ± 1 ppm. Cara analisis spektrofotometri atom berupa cara emisi dan cara absorpsi. Pada emisi terdapat pemberian energi dalam bentuk nyala hingga menyebabkan eksitasi atom ke tingkat yang lebih tinggi. Eksitasi ini tidak berlangsung lama dan melepaskan energi dalam bentuk radiasi¹³. Radiasi ini tidak berbentuk kontinu atau berkesinambungan namun dalam bentuk frekuensi-frekuensi diskrit¹⁴. Frekuensi diskrit terjadi karena dalam atom netral terdapat tingkat-tingkat energi elektron saja serta tidak terdapat energi vibrasi ataupun rotasi. Frekuensi radiasi akan bersifat spesifik dari setiap unsur dan intensitasnya sebanding dengan jumlah atom yang

terekitasi. Pada absorpsi terdapat penyerapan energi radiasi yang dilewatkan pada atom-atom pada tingkat dasar. Dengan menyerap suatu radiasi maka atom akan memiliki energi untuk pindah dari tingkat dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi atau yang disebut tingkat eksitasi¹⁴. Suatu garis yang mewakili suatu transisi dalam keadaan dasar, atau, dalam absorpsi, eksitasi suatu atom keadaan dasar disebut garis resonansi¹³.

Lazimnya suatu larutan yang mengandung logam timbal (Pb^{2+}) atau kadmium (Cu^{2+}) dimasukkan dalam nyala dalam bentuk aerosol. Saat butiran melewati nyala pelarut akan menguap dan butiran ini akan berubah menjadi partikel. Selanjutnya partikel akan berdisosiasi dan menghasilkan atom-atom logam. Diperkirakan efisiensi kurang dari 1% untuk menyebar larutan menjadi aerosol dan mengubah analit menjadi atom-atom. Gangguan dalam absorpsi atom adalah adanya matriks yang mempengaruhi proses dan laju atomisasi¹³.

Sistem peralatan spektrofotometri serapan atom terdiri atas :

1. Sumber sinar

Sumber sinar yang biasa digunakan adalah lampu katoda berongga atau *hollow cathode lamp*. Lampu ini mengandung katoda, anoda, serta berisi gas mulia (neon atau argon) yang bertekanan 10-15 torr. Antara anoda dan katoda diberi selisih tegangan sehingga katoda akan memancarkan berkas-berkas elektron menuju anoda. Elektron-elektron yang berenergi tinggi akan bertabrakan dengan gas-gas mulia yang berada di dalamnya sehingga gas-gas ini menjadi ion yang bermuatan positif. Ion gas yang bermuatan positif selanjutnya akan menuju katoda dengan kecepatan dan energi yang tinggi. Katoda yang telah mengandung unsur-unsur sesuai yang akan dianalisis, maka unsur-unsur ini akan terlempar di luar katoda akibat tabrakan ion positif gas mulia¹⁴.

2. Tempat sampel

Tempat sampel adalah wadah pengubahan analit-analit menjadi atom-atom netral pada keadaan dasar. Cara untuk

mengubah terdiri atas dengan nyala (*flame*) ataupun tanpa nyala (*flameless*). Nyala (*flame*) berfungsi untuk mengeksitasi atom dari tingkat dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Berdasarkan buku Khopkar(1990), logam timbal (Pb) memiliki panjang gelombang 217 nm, dengan tipe nyala udara-asetilen, dan batas deteksi 0,015 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ¹⁵. Tanpa nyala (*flameless*) adalah teknik atomisasi yang dipakai jika proses atomisasi yang tidak sempurna. Dalam teknik ini sampel dimasukkan ke dalam tabung grafit dan dipanaskan dengan sistem elektrik dengan melewatkan arus listrik pada tabung. Akibatnya analit akan berubah menjadi atom-atom netral sehingga terjadilah proses penyerapan energi saat dilewatkan sinar yang berasal dari lampu katoda¹⁴.

3. Monokromator

Monokromator berfungsi untuk memisahkan dan memilih panjang gelombang yang akan digunakan dalam analisis. Monokromator memiliki sistem optik dan alat untuk memisahkan radiasi resonansi dan kontinu yang disebut *chopper*¹⁴.

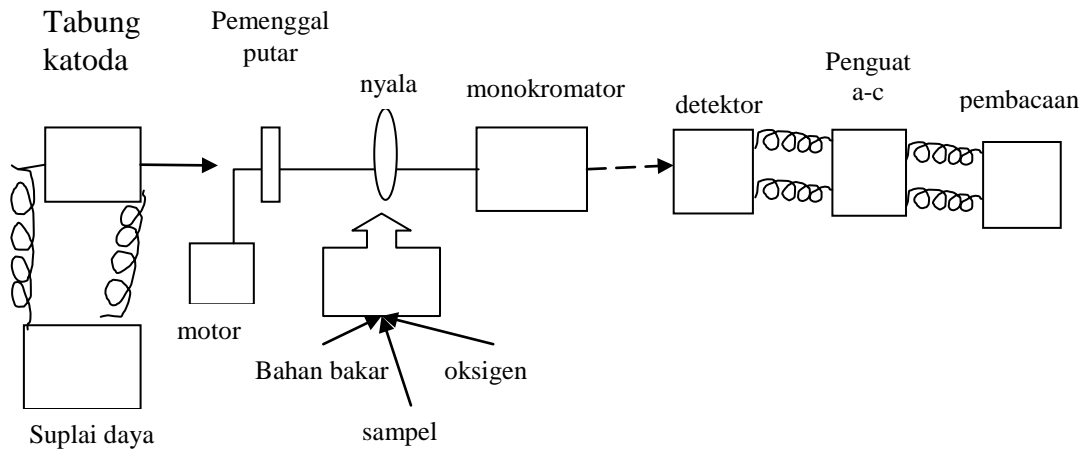
4. Detektor

Detektor berfungsi untuk mengukur intensitas cahaya yang melalui tempat atomisasi. Terdapat dua cara yang digunakan dalam sistem deteksi. Pertama dengan memberikan respon terhadap radiasi resonansi dan kontinu. *Output* yang dihasilkan disalurkan pada galvanometer dan setiap perubahan yang dihasilkan dari radiasi resonansi dianggap sebagai *output*. Kedua dengan memberikan respon terhadap radiasi resonansi saja. *Output* yang dihasilkan dari radiasi resonansi langsung dianggap sebagai *output*¹⁴.

5. Pembaca/ *readout*

Readout merupakan alat untuk pencatatan hasil. Alat ini sebelumnya terkalibrasi untuk pembacaan suatu transmisi

ataupun absorpsi. Hasil pembacaan dapat berupa angka ataupun kurva¹⁴.



Gambar 2. *Komponen spektrometri serapan atom*¹⁴

5. Kromatografi

Kromatografi merupakan suatu teknik pemisahan. Berdasarkan akar katanya kromatografi dapat memisahkan senyawa yang berwarna. Namun dewasa ini kromatografi tidak hanya untuk pemisahan senyawa berwarna namun juga untuk senyawa yang tidak berwarna. Kromatografi menggunakan dua fase dalam prinsip pemisahannya yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam dapat berupa padatan maupun cairan. Jika fase diam berbentuk padatan maka sifat pemisahan yang terjadi adalah serapan. Sedangkan untuk fase diam yang berbentuk cairan maka sifat pemisahan yang terjadi adalah partisi. Kromatografi lapis tipis terdiri atas fase diam padatan dan fase gerak cairan. Sedangkan kromatografi gas terdiri atas fase diam padatan dan fase gerak gas. Keuntungan dari kromatografi selain ekonomis, pengerjaannya tidak memakan waktu lama, dan hanya membutuhkan jumlah sampel yang sedikit¹⁶.

a. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis merupakan salah satu teknik kromatografi pada bidang datar. Prinsip kromatografi lapis tipis adalah interaksi antara fase diam, fase gerak, dan molekul solut. Interaksi ini akan menghasilkan pergerakan dan pemisahan yang berbeda-beda secara spesifik. Pemisahan ini dicirikan dengan retensi solut pada plat kromatografi yang disebut dengan faktor retardasi solut (Rf). Faktor retardasi solut didefinisikan dengan jarak migrasi solut terhadap jarak ujung fase gerak. Nilai maksimum Rf adalah 1 yang berarti solut bermigrasi dengan kecepatan yang sama dengan fase gerak. Nilai minimum Rf adalah 0 yang berarti solut tertahan pada posisi titik batas bawah¹⁷. Pengaktifan plat KLT dilakukan dengan memanaskan plat pada suhu 100°C selama beberapa waktu. Di bawah ini persamaan yang digunakan untuk mendapatkan nilai Rf¹⁶.

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solut}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

Persamaan 1. Perhitungan nilai Rf¹⁷

Kromatografi dapat dilakukan untuk analisis baik kualitatif maupun kuantitatif. Analisis Kualitatif dapat ditunjukkan oleh nilai Rf dan persamaan bentuk yang dibandingkan dengan standar. Sedangkan untuk analisis kuantitatif membutuhkan densitometer ataupun pengukuran spektrofotometer. Densitometri mampu mengukur absorbansi, fluoresens, dan beberapa spektra lainnya¹⁸.

b. Kromatografi Gas (KG) dan Spektrometri Massa (SM)

Kromatografi gas adalah instrumen kelompok kromatografi dengan prinsip pemisahan dan deteksi senyawa-senyawa yang didasarkan pada titik didih suatu senyawa dan interaksi yang mungkin terjadi dengan fase diam. Kegunaan kromatografi gas adalah pemisahan senyawa organik yang mudah menguap dan juga untuk analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa dalam suatu campuran. Sampel kromatografi gas dapat berupa padat, cair dan gas. Terdapat dua jenis kromatografi gas yaitu kromatografi

gas cair (KGC) dan kromatografi gas padat (KGP). Kromatografi gas cair menggunakan fase diam berupa cairan sehingga solut atau analit akan terlarut pada fase diam. Mekanisme pemisahan pada kromatografi gas cair adalah partisi. Kromatografi gas padat menggunakan fase diam berupa padatan misalnya polimerik sehingga mekanisme pemisahan pada kromatografi padat adalah adsorpsi¹³.

Fase gerak pada kromatografi gas disebut sebagai gas pembawa. Syarat gas pembawa adalah tidak reaktif, murni, dan dapat disimpan dalam tangki bertekanan tinggi. Terdapat beberapa contoh gas pembawa seperti helium, nitrogen, hidrogen, argon dan metana. Penentuan gas pembawa tergantung dengan detektor yang akan digunakan. Misalnya helium cocok untuk detektor hantar panas, ionisasi nyala, fotometri nyala, dan termionik¹³.

Fase diam pada kromatografi gas terdapat pada kolom. Ada dua jenis kolom yaitu kolom kemas dan kolom kapiler. Kolom kemas mengandung fase cair yang tersebar pada permukaan penyangga yang terdapat pada tabung yang relatif besar. Kolom kapiler memiliki diameter yang lebih kecil dari kolom kemas dan fase diam dilapiskan pada dinding kolom atau bercampur dengan penyangga untuk memperbesar luas permukaan efektif. Semakin sempit diameter kolom pemisahan kolom akan semakin besar dan puncak kromatogram akan semakin tajam. Jenis fase diam akan mempengaruhi komponen-komponen senyawa yang terelusi. Misalnya golongan sampel steroid, pestisida, alkaloid, ester fase diam yang biasa digunakan adalah metal silikon yang non polar. Sedangkan untuk Carbowax 20M yang polar, golongan sampel yang biasa dianalisis adalah alkohol, amina aromatik, dan keton¹³.

Kromatografi gas dapat memisahkan senyawa-senyawa namun tidak dapat mengidentifikasi senyawa tersebut. Sehingga seringkali kromatografi gas digabungkan dengan instrumen lain seperti spektrometri massa (SM). Spektrometri massa digunakan untuk memisahkan isotop-isotop unsur dan menentukan massanya. Spektrum massa yang merupakan intensitas berkas ion pada detektor dibanding massa terhadap muatan (m/e)

dapat digunakan untuk menentukan struktur molekul. Pengembangan alat kromatografi gas dan spektrometri massa tidak hanya dapat memisahkan komponen sampel dari kolom namun juga dapat memberikan informasi struktur¹⁴.

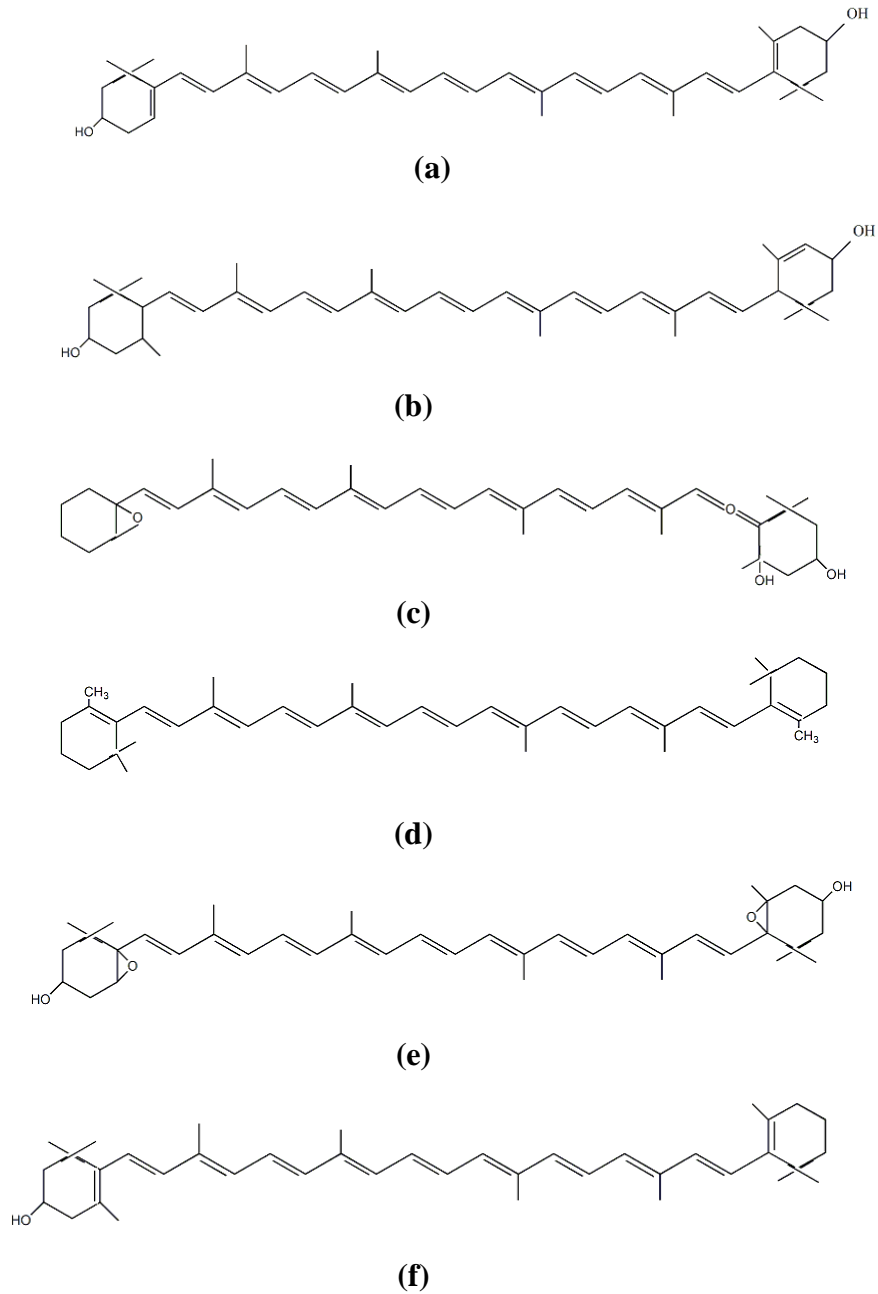
6. Antioksidan

Antioksidan secara pengertian kimia adalah senyawa yang mengalami oksidasi atau pemberi elektron kepada senyawa yang bersifat oksidan. Sedangkan untuk istilah biologi senyawa yang mampu menangkal bahaya negatif dari senyawa oksidan. Antioksidan dibagi menjadi 2 yaitu antioksidan enzimatis dengan nonenzimatis. Untuk antioksidan nonenzimatis dibedakan menjadi dua lagi yaitu, antioksidan larut lemak dan antioksidan tidak larut lemak. Antioksidan enzimatis contohnya enzim superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutasi peroksidase (GSH-Px). Sedangkan untuk antioksidan nonenzimatis contohnya adalah vitamin E, vitamin C, karotenoid, Flavonoid, asam urat, bilirubin dan albumin. Antioksidan vitamin C dan β -karoten banyak terdapat dalam buah dan sayuran. β -karoten juga banyak terkandung dalam wortel, ketela rambat, semangka, bayam, kangkung, dan jeruk¹⁹.

7. Karotenoid

Karotenoid merupakan senyawa isoprenoid C_{40} dan tetraterpenoid yang terdapat dalam plastida tanaman. Senyawa karotenoid banyak terdapat pada sayuran hijau terutama pada kantung pigmen hijau daun. Karotenoid di dalam sayuran dapat berupa α -karoten, β -karoten, dan lutein yang bersifat larut lemak¹⁹. Sebuah literatur menyebutkan bahwa di dalam *Ipomoea aquatica* senyawa yang beraktivitas untuk mereduksi resistensi insulin dan menurunkan kadar gula darah adalah karotenoid⁸. Karotenoid sebagai salah satu senyawa antioksidan dapat mencegah adanya radikal bebas yang berefek terhadap kerusakan organ sel, resistensi reseptor insulin, dan penyakit degeneratif⁷. Literatur lain tentang kandungan karotenoid di dalam *Ipomoea aquatica* mencakup *Zeaxantin*, *Lutein*, *Neoxantin*, β -karoten, *violoxantin*, dan *criptoxantin*⁶. β -karoten merupakan komponen yang banyak ditemukan di dalam tanaman yang berpotensi menjaga integritas membran dari antioksidan. Lutein sebagai komponen karotenoid memiliki efek protektif terhadap

aterogenesis¹⁹. Gambar kandungan karotenoid di dalam *Ipomoea aquatica* tersaji pada gambar 3.



Gambar 3. Kandungan karotenoid di dalam *Ipomoea aquatica*. (a) Zeaxantin, (b) Lutein, (c) Neoxantin, (d) β -karoten, (e) violoxantin, dan (f) criptoxantin⁶.

B. Keterangan Empirik

Keterangan empirik yang ingin didapatkan dari penelitian ini adalah nilai parameter spesifik dan nonspesifik standardisasi ekstrak kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir) yang dibandingkan dengan standar yang terdapat dalam BPOM ataupun acuan lainnya. Pengujian ataupun pemeriksaan persyaratan parameter standar ekstrak mutlak dilakukan dengan berpegang pada manajemen pengendalian mutu³.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

1. Bahan

Kangkung darat di daerah Krajan, Wedomartani, dipanen pada tanggal 16 Februari 2012, etanol 96% teknis, ekstrak kental kangkung darat, aquabidestilata steril (PT. Ikapharmindo Putramas), etanol, asam nitrat, natrium klorida 0,9%, plat KLT silica gel 60 F₂₅₄, diklorometan, aseton, dietilamin (Merck), aquades (Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Islam Indonesia), *plate count agar*, *czapek dox agar*, *brilliant green lactose bile broth* (Oxoid), n-heksan (J.T. Baker), toluen, petroleum eter (Brataco Chemika), dan standar β -karoten dari laboratorium kimia farmasi Universitas Islam Indonesia (Calbiochem).

2. Alat

Timbangan analitik (Mettler toledo), pengaduk kaca, pisau, lemari pengering, topples kaca, kain putih, kertas saring, penyaring *Buchner*, *rotary evaporator* (Heidolph- L4000), erlenmeyer, gelas beker, gelas ukur, labu ukur, corong gelas, piknometer, panci, termometer, kruss porselen, pemijar (Vulcan A-550), instrument Karl Fischer (Mettler toledo V30), inkubator (Memmert), cawan petri, *laminar air flow* (Esco airstream), tabung reaksi, tabung reaksi bertutup, tabung durham, mikropipet, pipet tetes, pipet volum, instrumen AAS (Perkin-Elmer 5100 PC), instrumen GC-MS (Shimadzu QP2010SE), *Chamber KLT*, *microsyringe* (Hamilton), instrumen KLT Densitometri (Camag TLC Scanner 3).

B. Cara Penelitian

1. Pengambilan dan Determinasi Sampel

Kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir) diperoleh langsung di daerah Krajan, Wedomartani, Ngemplak, Kabupaten Sleman pada usia panen $\pm 25-30$ hari. Waktu pemanenan dilakukan pada pagi hari dengan menggunakan tangan langsung yang bersih untuk pemanenannya. Determinasi sampel dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Islam Indonesia dengan membawa seluruh bagian tanaman.

2. Ekstraksi sampel

Sampel terlebih dahulu disortasi dan dicuci dengan menggunakan air bersih. Selanjutnya sampel dirajang kecil-kecil dan kemudian mulai dikeringkan dengan memisahkan antara batang dan daun kangkung. Batang kangkung yang bulat dibelah dua dan dipotong kecil-kecil. Sedangkan untuk daun kangkung dipotong halus. Lama pengeringan untuk batang ± 2 hari sedangkan untuk daun membutuhkan waktu ± 1 hari. Setelah kering semua sampel diserbukkan hingga menjadi simplisia. Kurang lebih 2 kg simplisia diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi yaitu jenis ekstraksi cara dingin (suhu kamar 25°C) yang menggunakan pelarut etanol 96%. Proses ekstraksi dilakukan pengadukan yang berkala sehingga melakukan penambahan pelarut setelah penyaringan maserat pertama (remaserasi)³. Proses ekstraksi dilakukan selama kurang lebih enam hari dengan dua kali remaserasi. Setelah dihasilkan maserat cair, kemudian dilakukan pemekatan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu $\pm 60^{\circ}\text{C}$ dengan kecepatan 60rpm. Lama pemekatan kurang lebih membutuhkan waktu dua jam hingga menghasilkan ekstrak kental. Selanjutnya ekstrak kental akan diuji parameter spesifik dan nonspesifik.

3. Parameter Spesifik

a. Deskripsi tanaman

Deskripsi tanaman dibimbing oleh tenaga berpengalaman yang dilakukan secara visual dari buku sumber Flora, *Voor De Scholen in Indonesia* karangan DR. C.G.G.J. Van Stenis tahun 1965 dengan mendeskripsikan nama latin, morfologi tumbuhan, dan nama Indonesia²¹.

b. Organoleptik

Uji organoleptik menggunakan panca indra yang mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa dari ekstrak³.

c. Pola kromatogram dan pengukuran kadar senyawa marker

Dibuat ekstrak dengan konsentrasi 3% yang menggunakan pelarut etanol 96%. Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 F₂₅₄. Sebelum analisis dilakukan optimasi fase gerak dengan tiga variasi yang terdiri atas n-heksan:toluen (9:1), n-heksan:diklorometan (9:1)²², dan petroleum eter:aseton:dietilamin (10:4:1)²³. Masing-masing fase gerak dijenuhkan di dalam *chamber* KLT. Plat KLT sebelumnya diaktifkan dengan dioven pada suhu 100° kurang lebih selama satu jam. Senyawa marker yang digunakan untuk pengujian pola kromatogram adalah β -karoten. Masing-masing konsentrasi dari standar β -karoten yang disiapkan yaitu 0,5%, 7,5%, dan 1%. Setelah penotolan ekstrak dan standar β -karoten pada plat KLT maka plat dimasukkan ke dalam *chamber* untuk dielusi. Setelah dielusi maka akan dipilih variasi fase gerak yang memberikan pemisahan lebih banyak pada plat KLT. Untuk pengukuran kadar senyawa identitas di dalam ekstrak, menggunakan fase gerak yang terbaik dan hasil elusi dimasukkan ke dalam KLT densitometri untuk diukur nilai AUC dari spot yang dihasilkan.

4. Parameter Nonspesifik

a. Bobot jenis

Pengukuran bobot jenis menggunakan alat piknometer yang telah dikeringkan dan dikalibrasi dengan menetapkan bobot piknometer dan bobot air yang telah dididihkan pada suhu 25°C. Ekstrak yang telah diatur

hingga suhu 23°C, dimasukkan ke dalam piknometer. Kemudian diatur suhu piknometer hingga mencapai 25°C, dibuang kelebihan ekstrak, dan dibuka tutup piknometer hingga suhu naik menjadi 27°C. Selanjutnya piknometer ditimbang. Hasil penimbangan yang diperoleh dikurangkan dengan bobot piknometer kosong. Bobot jenis ekstrak adalah hasil yang diperoleh dengan membagi bobot ekstrak dengan bobot air dalam piknometer pada suhu 25°C³. Persamaan pengukuran bobot jenis ekstrak ditunjukkan oleh persamaan 2.

$$\boxed{\text{bobot jenis} = \frac{\text{massa}}{\text{volum}}}$$

Persamaan 2. Perhitungan Bobot Jenis³

b. Kadar Air

Pengukuran kadar air dilakukan baik dengan cara titrasi, destilasi, atau gravimetri³. Cara titrasi menggunakan alat Karl Fischer, yang menggunakan reaksi reduksi iodin oleh sulfurdioksida dengan adanya air²⁴. Pada awalnya ekstrak diambil ± 3 ml kemudian ditimbang bobotnya. Kemudian bobot dan volume ekstrak diatur di dalam alat karl fischer. Ekstrak dimasukkan ke dalam Karl Fischer dan dilihat persentasi kadar airnya. Untuk mendapatkan hasil yang presisi dilakukan tiga kali replikasi pengukuran kadar air³.

c. Kadar Abu

Pengukuran kadar abu terdiri atas dua hal yaitu penetapan kadar abu total dan penetapan kadar abu yang tidak larut dalam asam.

(1). Penetapan kadar abu total

Ditimbang 3-5 g ekstrak, yang selanjutnya dimasukkan kedalam kurss porselen kemudian mulai dipijarkan pada suhu 800°C selama ±4 jam yang kemudian didiamkan semalam. Pemijaran dilakukan hingga arang habis. Selanjutnya hasil pijaran ditimbang kembali. Jika cara ini arang tidak dapat dihilangkan, maka tambahkan air panas dan saring dengan menggunakan kertas saring bebas abu. Dipijarkan sisa dan

kertas saring dalam kurss porselen yang sama. Selanjutnya dimasukkan filtrat ke dalam kurss porselen dan dipijarkan hingga bobot tetap, dan ditimbang. Dihitung kadar abu terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara³.

(2). Penetapan kadar abu yang tidak larut dalam asam

Abu yang diperoleh dari penetapan kadar abu, dididihkan dengan 5 ml asam nitrat selama 15 menit, dikumpulkan bagian yang tidak larut dalam asam, disaring melalui kruss kaca masir atau kertas saring bebas abu, dicuci dengan air panas, dipijarkan hingga bobot tetap, dan selanjutnya ditimbang. Dihitung kadar abu yang tidak larut dalam asam terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara³. Persamaan untuk mencari kadar abu tersaji pada persamaan 3.

$$kadar\ abu = \frac{berat\ abu}{berat\ ekstrak} \times 100\%$$

Persamaan 3. Perhitungan kadar abu²⁴.

d. Cemar Logam

Pengukuran cemaran logam menggunakan alat Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) dengan metode kurva kalibrasi. Dibuat kurva baku dari timbal (Pb) dan kadmium (Cd). Larutan induk timbal berkonsentrasi (Pb) 1000 ppm dan larutan induk kadmium berkonsentrasi (Cd) 1000 ppm¹. Pengenceran larutan induk dilakukan secara bertingkat mulai dari 100ppm, 10 ppm, dan menjadi 1 ppm. Konsentrasi larutan baku timbal (Pb) dibuat dengan seri kadar 0,01ppm, 0,05ppm, 0,1ppm, 0,5ppm. Sedangkan untuk konsentrasi larutan kadmium (Cd) dibuat dengan seri kadar 0,01ppm, 0,05ppm, 0,1ppm dan 0,2ppm. Konsentrasi larutan sampel dapat diukur setelah absorbansi sampel ditemukan dan diinterpolasi di dalam kurva baku.

Ekstrak ditimbang 3 g dan dimasukkan ke dalam kruss porselen selanjutnya dipijarkan hingga arangnya habis. Selanjutnya ditambahkan asam nitrat di dalam lemari asam hingga sampel terdekstruksi secara

sempurna. Ditetapkan cemaran logam-logam yang terdapat di dalam sampel. Penetapan cemaran logam meliputi timbal (Pb), dan kadmium (Cd) yang dilakukan tiga kali replikasi³.

e. Cemaran Mikroba

Dibuat larutan pengencer dengan melarutkan 0,9 g NaCl dalam 100 ml air (0,9%). Kemudian disiapkan 5 tabung reaksi yang masing-masing dituangkan 9 ml NaCl 0,9%. Dilakukan homogenisasi pada tabung reaksi sebanyak 10 ml (pengenceran 10^{-1}). Dari hasil homogenisasi pada penyiapan, contoh dipipet sebanyak 1 ml ke dalam tabung yang berisi pengencer NaCl 0,9% pertama hingga diperoleh pengenceran 10^{-2} dan dikocok hingga homogen kemudian ditutup dengan kapas. Dibuat pengenceran selanjutnya hingga pengenceran 10^{-6} atau sesuai dengan yang diperlukan. Selanjutnya disiapkan media tumbuh *plate count agar* (PCA). Media ditimbang 5,875 g berdasarkan keterangan pada kemasan PCA. Media dibuat untuk 11 cawan petri yang dilarutkan dalam 250 ml aquades. Seluruh media agar dan peralatan yang akan digunakan disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit³.

Setelah disterilisasi, media agar dituangkan ke dalam 11 cawan petri dengan volume masing-masing 20 ml. Satu cawan dibuat sebagai kontrol dan 10 cawan petri dibuat sebagai perlakuan yang dituangkan masing-masing 1 ml dari tiap-tiap pengenceran. Cawan petri digoyang agar suspensi homogen. Proses ini dilakukan secara aseptik di dalam *laminar air flow* (LAF). Setelah media memadat, dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama ± 24 jam dengan keadaan cawan petri terbalik. Hal ini bertujuan agar titik-titik air di dalam cawan tidak jatuh pada media agar melainkan jatuh pada penutup cawan petri. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung³. Persamaan perhitungan angka lempeng total tersaji pada persamaan 4.

$$\frac{\text{Angka lempeng total}}{\text{gram}} = \text{jumlah koloni} \times \text{faktor pengenceran}$$

Persamaan 4. Perhitungan Jumlah Koloni³

f. Cemar Kapang dan Khamir

Dibutuhkan 3 tabung reaksi yang masing-masing telah diisi 9 ml pengencer NaCl 0,9%. Dari hasil homogenisasi pada penyiapan, contoh dipipet 1 ml pengenceran 10^{-1} kedalam tabung pertama hingga diperoleh pengenceran 10^{-2} . Dibuat pengenceran selanjutnya hingga pengenceran 10^{-3} . Ditimbang 6,810 g media *czapek dox agar* (CDA) untuk dilarutkan dalam 150 ml aquades. Media dibagi media menjadi tujuh bagian. Satu bagian sebagai kontrol negatif, sedangkan enam bagian lainnya sebagai perlakuan. Dari masing-masing pengenceran dipipet 0,5 ml dan selanjutnya dituangkan pada media CDA, segera digoyang sambil diputar agar tersebar merata. Ke dalam satu cawan petri dituangkan media dan dibiarkan memadat. Kedalam enam cawan petri lainnya dituangkan media dan pengenceran kemudian dibiarkan memadat. Semua bahan dan alat yang digunakan disterilkan dengan autoklaf 121° C selama 30 menit. Seluruh proses pengerjaan dilakukan dengan aseptis di dalam LAF. Seluruh cawan petri diinkubasi pada suhu $20-25^{\circ}$ C selama 5-7 hari. Koloni ragi dibedakan karena bentuknya bulat kecil-kecil putih hampir menyerupai bakteri. Lempeng agar yang diamati adalah lempeng dimana terdapat 40-60koloni kapang/khamir³.

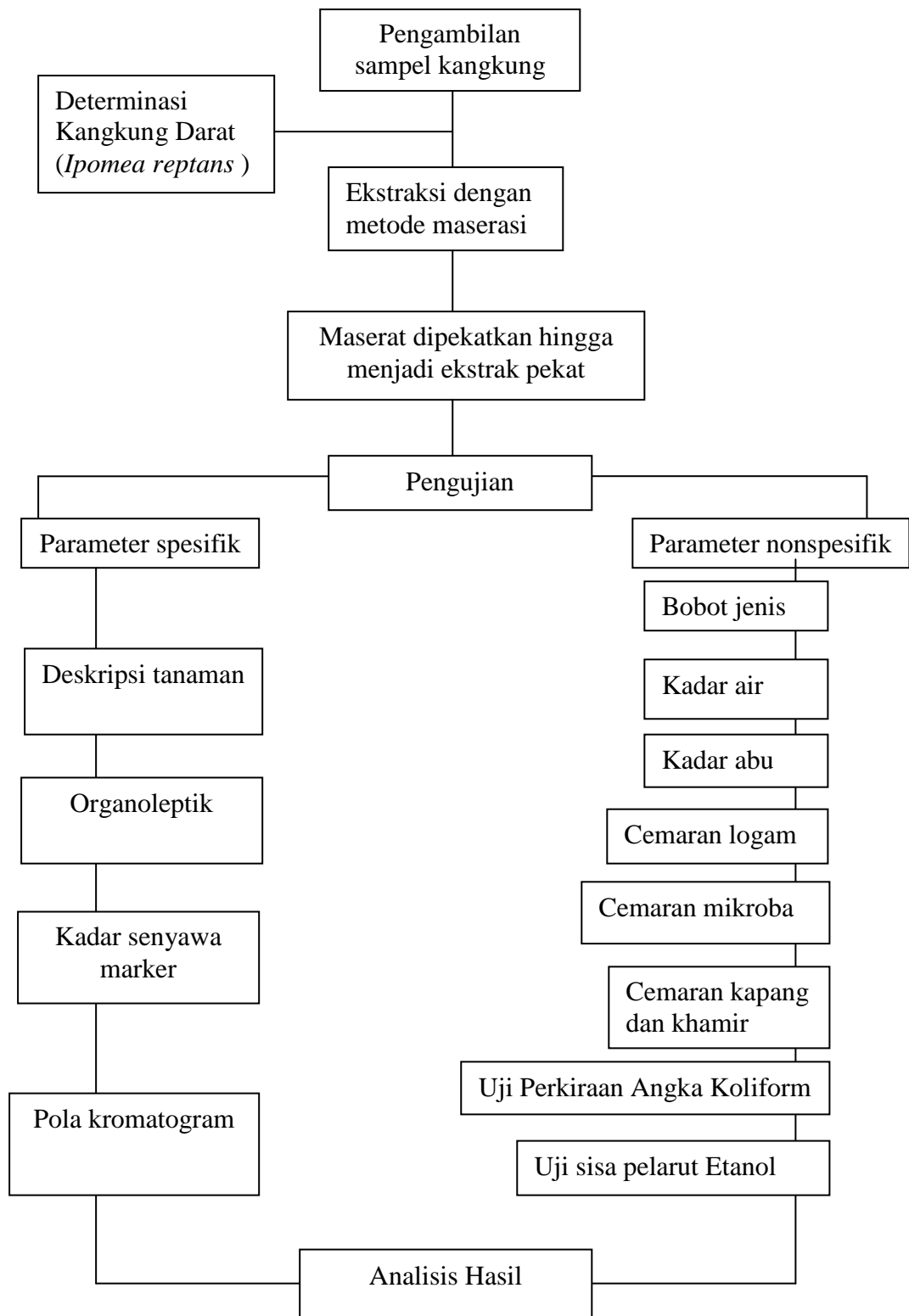
g. Uji Perkiraan Angka Koliform

Disiapkan sembilan tabung reaksi bertutup yang masing-masing di dalamnya terdapat satu tabung durham. Analisis koliform menggunakan media *briliiian green lactose bile broth* (BGLB). BGLB ditimbang sebanyak 4 g untuk dilarutkan ke dalam 100 ml aquades. Media dimasak hingga mendidih dan dimasukkan ke dalam tabung bertutup dengan catatan bahwa tabung durham yang diletakkan secara terbalik tidak mengandung gelembung udara. Sampel diencerkan dengan variasi pengenceran 10^{-2} sebanyak tiga tabung, dan pengenceran 10^{-3} sebanyak tiga tabung. Masing-masing pengenceran dipipetkan 1 ml ke dalam tabung reaksi bertutup yang telah berisi tabung durham. Sedangkan tiga tabung yang lainnya digunakan sebagai kontrol negatif yang berisikan media tumbuh BGLB. Sehingga

terdapat sembilan tabung yang terdiri atas tiga tabung mengandung sampel dengan pengenceran 10^{-2} , tiga tabung mengandung sampel dengan pengenceran 10^{-3} , dan tiga tabung lainnya sebagai kontrol negatif. Semua prosedur dilakukan secara aseptik di dalam LAF. Sterilisasi alat dan bahan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 30 menit. Kemudian semua tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan dilanjutkan 48 jam, diamati hasil yang diperoleh setelah 48 jam apakah terdapat gelembung udara³.

h. Uji Sisa Pelarut Etanol

Uji ini dilakukan dengan menggunakan alat GC-MS. Ekstrak pekat diencerkan hingga menjadi konsentrasi 0,1% dengan menggunakan pelarut metanol. Selanjutnya sampel diinjeksikan ke dalam alat GC-MS dimulai dari suhu 70°C hingga 200°C . Kemudian adanya gugus etanol dianalisis melalui *similar index* dan pola kromatogram yang dihasilkan.



Gambar 4. Skema Penelitian

C. Analisis Hasil

Ekstrak yang telah didapat diuji parameter spesifik dan nonspesifiknya. Pengukuran bobot jenis, kadar air, dan kadar abu dilakukan dengan tiga kali replikasi dan selanjutnya dirata-rata. Pengukuran kadar sisa pelarut menggunakan alat GC-MS. Pengukuran cemaran logam, cemaran mikroba, kapang dan koliform dibandingkan dengan acuan standar BPOM. Data deskripsi tanaman mengacu pada buku flora *Voor De Scholen in Indonesia*. Kadar senyawa identitas dan pola kromatogram mengacu pada penelitian dan literatur lainnya.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman adalah sebuah langkah yang digunakan untuk memastikan identitas sebuah tanaman dengan membandingkan ciri-ciri yang dimiliki tanaman dengan ciri-ciri tanaman yang telah diketahui identitasnya. Tujuan dari determinasi ini adalah mencegah kekeliruan tanaman yang akan digunakan sebagai bahan penelitian. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi yang mengacu pada buku *Flora, Voor De Scholen in Indonesia* karangan DR. C.G.G.J, Van Stenis tahun 1965²⁰.

Determinasi dipandu oleh tenaga yang berpengalaman dengan mulai mendeterminasikan morfologi tanaman, berupa akar, batang, daun, biji, dan bunga. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan adalah tanaman kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir.). Uraian selengkapnya terkait kunci determinasi *Ipomoea reptans* Poir terlampir pada lampiran 2. Kunci determinasi kangkung darat adalah sebagai berikut :

1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b	(golongan 8)
109b-119b-120a-121a-122b-123b	(Convolvulaceae)
1b-2b-3b-4b-5b-6b	(<i>Ipomoea reptans</i> Poir.)

B. Preparasi sampel

1. Pemanenan dan Perlakuan Pasca Panen

Lokasi pemanenan kangkung bertempat di daerah Krajan, Wedomartani, Ngemplak, Kabupaten Sleman. Pemanenan dilakukan pada usia tanaman $\pm 25-30$ hari. Waktu pemanenan dipilih pada pagi hari agar tanaman masih tampak segar dan diharapkan saat itu tanaman memproduksi metabolitnya secara maksimal¹. Setelah pemanenan, kemudian tanaman dicuci dan disortasi. Tujuan pencucian ini untuk membersihkan tanaman dari sisa-sisa tanah ataupun kontaminan yang lainnya. Sedangkan tujuan untuk sortasi adalah memilih tanaman yang masuk dalam kriteria baik untuk diekstraksi. Sebelum dikeringkan terlebih dahulu dilakukan

perajangan untuk batang dan daun tanaman. Perajangan ini bertujuan untuk memperkecil ukuran tanaman sehingga mempercepat waktu pengeringan. Rata-rata waktu pengeringan yang diperlukan untuk batang adalah ± 2 hari dan untuk daun adalah ± 1 hari. Pengeringan dilakukan di dalam lemari pengering dengan suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$. Di dalam lemari pengering antara batang dan daun dipisahkan satu sama lain karena mengingat waktu kering antara keduanya yang berbeda.

Berat basah tanaman kangkung darat ± 100 kg. Saat pengeringan terdapat ± 20 kg yang tidak dapat digunakan dikarenakan telah terjadi perubahan warna dan adanya kontaminan sehingga tidak memenuhi kriteria untuk diekstraksi. Pada akhirnya berat basah tanaman kangkung yang digunakan ± 80 kg. Proses pengeringan menyebabkan penyusutan sebesar 10% sehingga total berat kering tanaman kangkung darat $\pm 8,2$ kg.

2. Penyerbukan

Penyerbukan dilakukan dengan menggunakan blender bersih dan steril. Tujuan dari penyerbukan sebelum ekstraksi adalah untuk memperkecil ukuran sehingga memperluas daerah kontak antara simplisia dengan pelarut maserasi. Proses penyerbukan perlu memperhatikan derajat panas yang dihasilkan dari logam pada blender. Sehingga lama penyerbukan yang digunakan rata-rata 3-5 menit dari simplisia hingga berbentuk serbuk. Sebelum maserasi terlebih dahulu dilakukan pengukuran kadar air simplisia dengan hasil rata-rata $\pm 10,13\%$.

C. Ekstraksi sampel

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Proses maserasi dilakukan dua kali remaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Pemilihan pelarut etanol 96% diantaranya karena memiliki indeks polaritas yang lebar, ekonomis, pelarut yang umum digunakan, serta relatif aman jika dibandingkan dengan pelarut lainnya. Sedangkan metode maserasi dipilih karena lebih sederhana dan menggunakan suhu ruangan. Maserasi menggunakan 2 kg simplisia yang dilarutkan dengan etanol 96% sebanyak 8,8 liter. Proses maserasi dilakukan selama enam hari dengan dua kali pengulangan

penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama (remaserasi). Remaserasi pertama menggunakan 4,8 liter etanol 96%. Remaserasi kedua menggunakan 4 liter etanol 96%. Hasil ekstraksi kemudian disaring terlebih dahulu dengan menggunakan kain putih yang telah dibersihkan dan selanjutnya disaring kembali dengan menggunakan penyaring *Buchner*.

Pemekatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan *rotary evaporator* selama ± 2 jam dengan kecepatan 60 rpm dan suhu 60°C . Bobot ekstrak kental yang didapatkan 164,19 g. Pemekatan ekstrak bertujuan untuk mendapatkan nilai rendemen. Rendemen adalah perbandingan bobot ekstrak yang didapatkan dengan bobot simplisia yang digunakan sebelum ekstraksi. Hasil rendemen yang diperoleh 8,21%. Perhitungan hasil rendemen terlampir pada lampiran 3.



Gambar 5. Ekstrak kangkung darat (*Ipomoea reptans Poir*)

D. Parameter spesifik

1. Deskripsi tanaman

Kangkung darat berupa tumbuhan herba berwarna hijau, pada buku-bukunya keluar akar. Berbunga sejati dengan bunga majemuk berbentuk panjang atau bunga tunggal. Batang berbentuk bulat, tebal, beruas dan berongga. Bakal buah gundul dan biji-biji berbulu rapat. Daun bertangkai panjang, tidak berbagi menyirip dan letaknya berselang-seling. Tumbuhan bergetah dan memiliki akar serabut. Uraian selengkapnya terkait kunci determinasi kangkung darat terlampir pada lampiran 2. Dibawah ini adalah gambar morfologi tumbuhan kangkung darat.



Gambar 6. Tumbuhan Kangkung Darat (*Ipomoea reptans Poir*)

2. Organoleptik ekstrak

Pengujian organoleptik ekstrak dilakukan dengan menggunakan panca indra mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa. Tujuan dari pengujian ini adalah pengenalan awal dan pemastian secara kualitatif untuk ekstrak kangkung darat.

Tabel II. Hasil pengamatan uji organoleptik

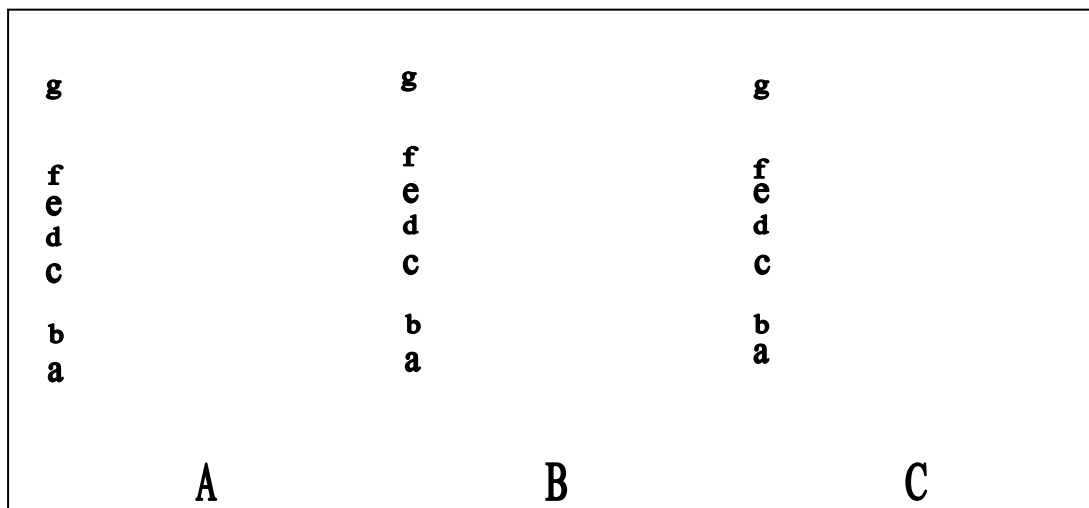
Paremeter Organoleptik	Hasil
Warna	Hitam kehijauan
Bau	Khas Kangkung
Rasa	Asam, pahit
Bentuk	Kental

3. Pola kromatogram dan Pengukuran Kadar Senyawa Marker

Pola kromatogram merupakan bentuk analisis kualitatif kandungan senyawa di dalam ekstrak. Berdasarkan literatur, kangkung memiliki aktifitas menurunkan kadar gula darah melalui senyawa karotenoid⁸. Karotenoid di dalam sayuran dapat berupa α -karoten, β -karoten, dan lutein yang bersifat larut lemak¹⁹. Sehingga untuk analisis kualitatif kandungan senyawa kangkung darat, digunakan standar β -karoten sebagai pembanding. Pola kromatogram akan memberikan nilai Rf yang khas antara ekstrak dan standar β -karoten. Pada awalnya dilakukan optimasi fase gerak yang dapat memisahkan ekstrak menjadi beberapa spot. Variasi fase gerak yang digunakan adalah, n-heksan:toluen (9:1) , n-heksan:diklorometan (9:1)²¹, dan petroleum eter:aseton:dietilamin (10:4:1)^{22,23}. Dari tiga variasi

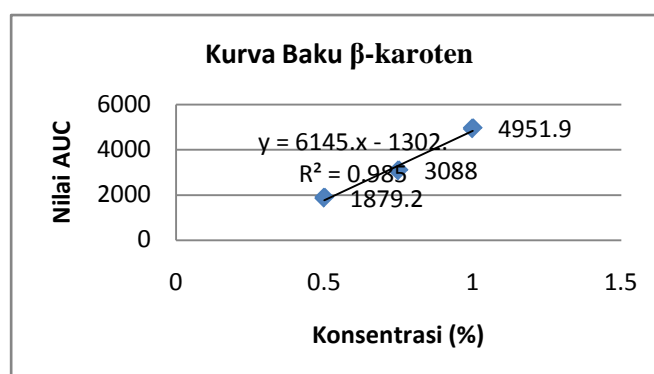
fase gerak yang menunjukkan pemisahan yang banyak adalah fase gerak petroleum eter:aseton:dietilamin (10:4:1). Sehingga kombinasi fase gerak inilah yang digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif kandungan senyawa di dalam ekstrak. Hasil kromatogram menunjukkan nilai Rf ekstrak yaitu 0,2; 0,37; 0,43; 0,48; 0,57; 0,67; dan 0,92 . Nilai Rf 0,92 merupakan nilai Rf dari β -karoten di dalam ekstrak yang merupakan persamaa nilai Rf dengan standar β -karoten.

Perhitungan kadar β -karoten di dalam ekstrak menggunakan alat densitometri. Prinsip densitometri adalah interaksi radiasi elektromagnetik dengan analit atau spot yang dihasilkan. Radiasi elektromagnetik akan mengukur luas daerah yang dihasilkan dari tiap-tiap spot. Sehingga nilai absorbansi yang dihasilkan dari densitometri adalah luas daerah. Preparasi KLT menggunakan fase diam silika GF₂₅₄ ukuran 5x10 cm dan fase gerak petroleum eter:aseton:dietilamin (10:4:1). Sebelum proses elusi, plat KLT diaktifkan di dalam oven pada suhu 100°C selama ± 1 jam. Konsentrasi ekstrak kangkung yang digunakan sebesar 3% dengan volume penotolan 4 μ L. Sedangkan untuk standar β -karoten dibuat konsentrasi 0,5%, 0,75%, dan 1% dengan volume penotolan masing-masing 15 μ L. Perhitungan pembuatan seri kadar standar β -karoten terlampir pada lampiran 4. Penotolan ekstrak dan standar β -karoten menggunakan *microsyringe*. Hasil elusi memberikan banyak spot pemisahan dari ekstrak itu sendiri. Spot yang dihasilkan dibaca menggunakan densitometri pada panjang gelombang maksimal 450nm. Nilai Rf dan luas daerah (AUC) yang dihasilkan terlampir pada lampiran 5. Hasil elusi kromatografi dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. Hasil elusi kromatografi dengan fase gerak, petroleum eter:aseton:dietilamin (10:4:1) dan fase diam silika G 60 F₂₅₄. Dari kiri ke kanan masing-masing plat terdiri atas ekstrak, standar β -karoten 0,5%, 0,75%, dan 1%. (A) Plat KLT dibawah sinar tampak, (B) Plat KLT dibawah sinar UV_{254nm}, (C) Plat KLT dibawah sinar UV_{366nm}. Nilai Rf yang dihasilkan (a)0,20 (b)0,37 (c)0,43 (d)0,48 (e)0,57 (f)0,67 (g)0,92. Nilai Rf 0,92 merupakan nilai Rf standar β -karoten.

Konsentrasi β -karoten di dalam ekstrak didapatkan dari intrapolasi luas daerah yang dihasilkan dengan persamaan regresi linear dari kurva baku. Kadar β -karoten di dalam ekstrak $2,43 \pm 0,65\% \text{ b/v}$. Berdasarkan literatur lainnya kadar β -karoten di dalam kangkung dua kali lebih kecil dibandingkan wortel yaitu sebanyak $380\mu\text{g}^{24}$. Perhitungan kadar β -karoten di dalam ekstrak terlampir pada lampiran 6. Kurva baku β -karoten tersaji pada gambar 8.



Gambar 8. Kurva baku β -karoten

E. Parameter Nonspesifik

1. Bobot jenis

Parameter ini diujikan dengan menggunakan piknometer. Pengukuran parameter ini dilakukan tiga kali replikasi. Hasil pengukuran bobot jenis dapat dilihat pada tabel III.

Tabel III. Hasil perhitungan bobot jenis

Ekstrak	Berat ekstrak (gram)	Volume ekstrak (ml)	Kerapatan $\rho = \frac{m}{v}$	Bobot jenis (g/ml)
I	28,01	24,81	1,13	1,13
II	28,13	24,81	1,13	1,13
III	28,21	24,81	1,14	1,14
Bobot jenis rata-rata (\bar{x})				1,13
Standar Deviasi (SD)				0,004

Bobot jenis menunjukkan kerapatan atau perbandingan antara masa dengan volume. Berdasarkan tabel di atas menunjukkan bahwa bobot jenis rata-rata untuk ekstrak kangkung darat adalah $1,133 \pm 0,004$ g/mL. Nilai bobot jenis ini jelas menunjukkan bahwa kerapatan ekstrak kangkung darat lebih besar dibandingkan kerapatan air. Tujuan pemeriksaan bobot jenis adalah memberikan batasan tentang besarnya massa persatuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai ekstrak pekat yang masih dapat dituang dan kemurnian dari kontaminasi.

2. Kadar air

Metode yang digunakan untuk mengetahui kadar air ekstrak etanol kangkung darat adalah dengan alat Karl-Fischer. Prinsip dari metode ini adalah titrasi. Selama proses titrasi akan terjadi reaksi reduksi iodin oleh sulfurdioksida dengan adanya air. Reaksi ini akan terus berlangsung sampai air habis²⁵. Titik akhir titrasi ditentukan secara elektromagnetik dengan menggunakan teknik penghentian titik akhir yang digambarkan pada lampiran 7. Kadar air yang terbaca dari ekstrak kangkung darat sebesar 16,40%, 16,48%, dan 16,48%. Nilai ini masuk dalam ketentuan rentang kadar air untuk ekstrak kental yaitu antara 5%-30%¹. Pengukuran kadar air pada simplisia kering kangkung darat menunjukkan nilai $\pm 10,13\%$. Sehingga setelah maserasi dengan etanol 96% dan pemekatan

ekstrak dengan *rotary evaporator* kadar air ekstrak kangkung darat menjadi $16,45 \pm 0,05\%$. Hasil pengukuran kadar air dapat dilihat pada tabel IV.

Tabel IV. Hasil pengukuran kadar air

Ekstrak	Kadar Air (%)
I	16,48
II	16,40
III	16,48
Kadar air rata-rata (\bar{x})	16,45
Standar Deviasi (SD)	0,05

3. Kadar Abu

Pengukuran kadar abu di dalam ekstrak bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses penanaman hingga terbentuknya ekstrak. Dari tiga sampel nilai kadar abu masing-masing adalah 6,12%, 5,91%, dan 5,88% dengan rata-rata $5,97 \pm 0,13\%$. Sebuah literatur menunjukkan bahwa kadar abu dalam makanan tidak melebihi 5% namun ada juga kadar abu yang mencapai 13% seperti serat daging sapi kering²⁶. Sebuah penelitian tentang kangkung darat menunjukkan bahwa kadar abu kangkung darat mencapai 13,74%²⁷. Selain pengukuran kadar abu total, dilakukan juga pengukuran kadar abu tidak larut asam. Kadar abu tidak larut asam digunakan untuk mengukur kontaminasi permukaan sayuran dan buah²⁵. Kadar abu tidak larut asam rata-rata 5,44%. Hasil perhitungan kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam dapat dilihat pada tabel V dan VI.

Tabel V. Hasil perhitungan kadar abu total

No	Berat ekstrak (gram)	Berat Abu (gram)	Kadar Abu (%)
1	5,72	0,35	6,12
2	3,72	0,22	5,91
3	5,61	0,33	5,88
Kadar abu rata-rata (\bar{x})		5,97	
Standar Deviasi (SD)		0,13	

Tabel VI. Hasil perhitungan kadar abu tidak larut asam

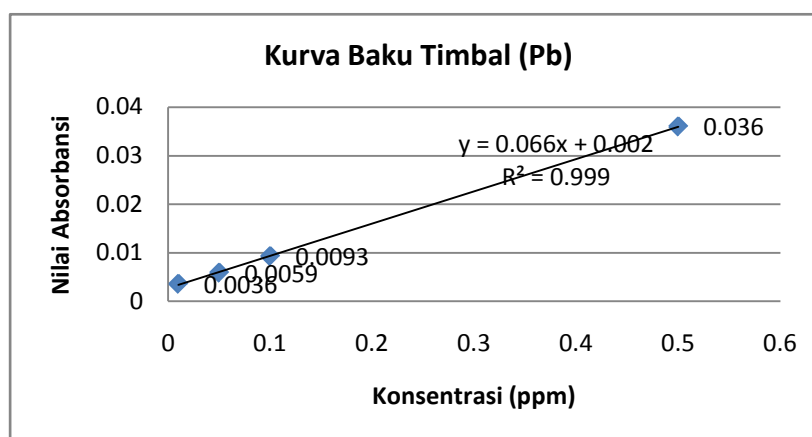
No	Berat Abu (gram)	Berat Abu tidak larut asam (gram)	Kadar Abu (%)
1	0,35	0,02	5,71
2	0,22	0,01	4,55
3	0,33	0,02	6,06
Kadar abu rata-rata (\bar{x})		5,44	
Standar Deviasi (SD)		0,79	

4. Cemaran logam berat

Penetapan kadar logam berat yang terkandung dalam ekstrak etanol kangkung darat dianalisis dengan alat Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) dengan standar timbal (Pb) dan kadmium (Cd).

a) Analisis Cemaran Timbal (Pb)

Analisis cemaran timbal menggunakan standar baku timbal dengan seri kadar 0,01ppm, 0,05ppm, 0,1ppm, dan 0,5ppm. Perhitungan pembuatan kurva baku timbal terlampir pada lampiran 8. Hasil Absorbansi yang didapatkan dari standar baku timbal 0,0036; 0,0059; 0,0093; dan 0,0360. Kurva baku timbal dapat dilihat pada gambar 9.



Gambar 9. Kurva baku timbal (Pb)

Analisis kandungan timbal di dalam ekstrak menunjukkan bahwa kadar timbal di dalam ekstrak tidak dapat dideteksi (*not detected*) oleh instrumen AAS. sehingga perlu dilakukan pengukuran batas deteksi dan batas kuantitasi dari instrumen AAS. Pengukuran batas deteksi dan batas kuantitasi yang menggunakan instrumen dilakukan dengan mengukur

respon blanko dan menghitung simpangan baku²⁸. Batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) timbal untuk instrumen spektrofotometri serapan atom (SSA) adalah $3,774 \times 10^{-4}$ ppm dan $1,258 \times 10^{-3}$ ppm. Kadar timbal yang terkandung di dalam sampel dapat dilihat pada tabel VII.

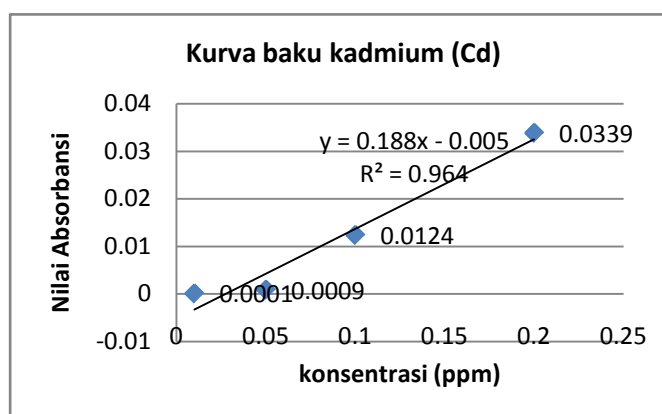
Tabel VII. Kadar timbal dalam ekstrak

Sampel	Absorbansi	Kadar (ppm)
I	0,0002	ND
II	-0,0012	ND
III	-0,0008	ND

Keterangan : ND (*not detected*)

b) Analisis Cemaran Kadmium (Cd)

Analisis cemaran kadmium menggunakan standar baku kadmium dengan seri kadar 0,01ppm, 0,05ppm, 0,1ppm, dan 0,2ppm. Perhitungan pembuatan kurva baku kadmium terlampir pada lampiran 8. Hasil Absorbansi yang didapatkan dari standar baku kadmium adalah 0,0001; 0,0009; 0,0124; dan 0,0339. Kurva baku kadmium dapat dilihat pada gambar 10.



Gambar 10. Kurva baku Kadmium (Cd)

Analisis kandungan kadmium di dalam ekstrak menunjukkan bahwa kadar kadmium di dalam ekstrak tidak dapat dideteksi (*not detected*) oleh instrumen AAS. sehingga perlu dilakukan pengukuran batas deteksi dan batas kuantitasi dari instrumen AAS. Pengukuran batas deteksi dan batas kuantitasi yang menggunakan instrumen dilakukan dengan mengukur respon blanko dan menghitung simpangan baku²⁸. Batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) kadmium untuk instrumen spektrofotometri serapan atom (SSA) adalah $1,933 \times 10^{-3}$ ppm dan $6,444 \times 10^{-3}$ ppm. Rendahnya

kadar logam di dalam ekstrak bisa disebabkan oleh beberapa faktor. Faktor pertama adalah bahwa logam timbal maupun kadmium tidak larut di dalam pelarut ekstrak yaitu etanol 96%, faktor kedua bahwa usia pemanenan mempengaruhi kandungan logam, faktor ketiga bahwa pada kebanyakan tanaman akumulasi logam terbanyak terdapat pada akar sedangkan ekstrak kangkung darat tidak menggunakan bagian akar, dan faktor keempat adalah tingginya kandungan air di dalam ekstrak menyebabkan berkurangnya kandungan logam^{29,30}. Perhitungan batas deteksi dan batas kuantitasi timbal dan kadmium terlampir pada lampiran 9. Kadar kadmium yang terkandung di dalam ekstrak ekstrak dapat dilihat pada tabel VIII.

Tabel VIII. Kadar kadmium dalam ekstrak

Sampel	Absorbansi	Kadar (ppm)
I	-0,0123	ND
II	-0,0130	ND
III	-0,0123	ND

Keterangan : ND (*not detected*)

5. Cemaran Mikroba

Dalam penetapan parameter ini dilakukan beberapa pengujian diantaranya :

a) Uji Penetapan Angka Cemaran Mikroba

Selama inkubasi \pm 24-48 jam dengan suhu 37°C hasil menunjukkan bahwa dari sebelas cawan petri tidak ada yang ditumbuhi oleh mikroba. Berdasarkan literatur bila tidak ada pertumbuhan pada semua cawan dan bukan disebabkan oleh faktor inhibitor, maka angka lempeng total dilaporkan sebagai kurang dari satu dikalikan faktor pengenceran terendah³. Gambar hasil penetapan cemaran mikroba terlampir pada lampiran 10. Hasil penetapan Angka Cemaran Mikroba dapat dilihat pada tabel IX.

Tabel IX. Hasil penetapan angka cemaran mikroba

Hasil pengamatan	Petri Disk 1	Petri disk 2
Kontrol negatif	0	0
pengenceran 10 ⁻²	0	0
pengenceran 10 ⁻³	0	0
pengenceran 10 ⁻⁴	0	0
pengenceran 10 ⁻⁵	0	0
pengenceran 10 ⁻⁶	0	0

b) Uji Perkiraan Angka Koliform

Pengujian perkiraan koliform menggunakan media BLGB. Media ini sensitif terhadap cahaya, terutama sinar matahari langsung yang menurunkan produktivitas medium dan perubahan warna menjadi biru keunguan atau merah. Hasil inkubasi selama 48 jam menunjukkan bahwa seluruh tabung tidak menghasilkan gelembung udara di dalam tabung Durham yang artinya tidak ada reaksi fermentasi oleh bakteri koliform³. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak tidak mengandung koliform. Gambar hasil uji perkiraan koliform terlampir pada lampiran 11. Di bawah ini adalah tabel hasil uji perkiraan koliform.

Tabel X. Hasil uji perkiraan koliform

Hasil Pengamatan	Kontrol Negatif	Pengenceran 10^{-2}	Pengenceran 10^{-3}
Tabung 1	0	0	0
Tabung 2	0	0	0
Tabung 3	0	0	0

6. Cemar Kapang dan Khamir

Kapang dan khamir merupakan dua golongan dari fungi. Kapang berupa filament atau multiselular, sedangkan khamir tidak berfilamen berbentuk bulat kecil namun lebih besar dari bakteri (uniselular). Khamir dapat hidup pada kondisi anaerob maupun aerob, sedangkan kapang hanya dapat hidup pada kondisi aerob. Fungi dapat tumbuh pada kisaran suhu 22°C-30°C. Untuk fungi patogen dapat hidup pada kisaran suhu 30°C-37°C. Dua hal yang membedakan antara fungi dan bakteri adalah lingkungan dan nutrisi. Fungi dapat hidup pada pH ± 5 , kelembapan yang sangat rendah dan memerlukan nitrogen yang lebih sedikit³¹. Uji angka kapang dan khamir dilakukan selama 7 hari dengan mencatat jumlah koloni yang tumbuh pada hari ke 5, 6, dan 7. Pengamatan terakhir pada inkubasi hari ke 7. Lempeng agar yang diamati adalah lempeng dimana terdapat 40-60 koloni kapang/khamir. Sehingga lempeng agar yang diamati adalah pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} . Sebab lempeng agar pengenceran 10^{-2} telah melewati jumlah 40-60 koloni kapang-khamir. Pada hari ke-5 jumlah koloni khamir dan kapang yang tumbuh pada

pengenceran 10^{-3} sejumlah 50 koloni dan pengenceran 10^{-4} sejumlah 10 koloni. Pada hari ke-6 jumlah koloni khamir dan kapang yang tumbuh pada pengenceran 10^{-3} sejumlah 38 koloni dan pengenceran 10^{-4} sejumlah 18 koloni. Dan untuk hari ke-7 jumlah koloni khamir dan kapang yang tumbuh pada pengenceran 10^{-3} sejumlah 48 koloni dan pengenceran 10^{-4} sejumlah 17 koloni. Hasil gambar dan perhitungan jumlah koloni terlampir pada lampiran 12. Jumlah koloni kapang dan khamir pada hari ke-7 pada pengenceran 10^{-3} sebanyak 0,048 koloni/gram, dan untuk pengenceran 10^{-4} sebanyak 0,0017 koloni/gram.

Tabel XI. Hasil pengamatan penetapan angka kapang dan khamir

Hari pengamatan	Kontrol negatif	Pengenceran 10^{-3}	Pengenceran 10^{-4}
Hari ke-5	0	50 koloni	10 koloni
Hari ke-6	0	38 koloni	18 koloni
Hari ke-7	0	48 koloni	17 koloni

7. Uji Sisa Pelarut Etanol

Uji sisa pelarut pada ekstrak menggunakan alat kromatografi gas dan spektrometri massa. Ekstrak diencerkan dengan pelarut metanol hingga berbentuk jernih dan selanjutnya diinjeksikan ke dalam alat Kromatografi gas dan Spektrometri massa. Hasil kromatogram dan *similar index* tidak menunjukkan adanya etanol di dalam ekstrak. Hasil kromatografi gas dan spektrometri massa terlampir pada lampiran 13.

F. Hasil Standardisasi Ekstrak Etanol Kangkung Darat

Standardisasi ekstrak etanol kangkung darat meliputi parameter spesifik dan nonspesifik. Parameter spesifik terdiri atas aspek organoleptik, aspek profil kromatografi lapis tipis, dan aspek penetapan kadar marker. Sedangkan untuk parameter nonspesifik terdiri atas pengukuran kadar air, pengukuran bobot jenis, pengukuran sisa pelarut etanol, penetapan kadar abu, pengukuran cemaran logam, penetapan cemaran mikroba, kapang, khamir, dan koliform. Pengukuran bobot jenis, kadar air, dan kadar abu dilakukan dengan tiga kali

replikasi dan selanjutnya diambil nilai rata-rata. Di bawah ini adalah tabel hasil standardisasi ekstrak etanol kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir).

Tabel XII. Hasil standardisasi ekstrak etanol kangkung darat

No.	Parameter	Hasil	Acuan
1.	Rendemen	8,21%	-
2.	Organoleptik	Bau : Khas kangkung Rasa : Asam, Pahit Warna : Hitam kehijauan Bentuk : Kental	-
3.	Kadar Air	16,45 ±0,05%	Ekstrak kental (5%-30%) Saifudin, A. 2011
4.	Kadar Abu <ul style="list-style-type: none"> • Total • Tidak larut asam 	5,97% 5,44%	Kadar abu kangkung darat ±13,74% Johantika, E. 2002
5.	Bobot jenis	1,133 ±0,004 g/ml	-
6.	Total Cemar Mikroba	Angka Lempeng Total : negatif Uji perkiraan Coliform : negatif	BPOM: < 10 koloni/g < 3 koloni/g
7.	Total Cemar Kapang & Khamir	negatif	BPOM: < 10 koloni/g
8.	Total Cemar Logam Berat Pb dan Cd.	negatif	BPOM : Pb : < 10mg/Kg Cd: < 0,3mg/Kg
9.	Pola kromatogram	Nilai Rf : 0,92	Nilai Rf standar β-karoten : 0,92
10.	Kadar β-karoten	2,43 ±0,65 % (b/v)	Khomsan A., 2009: 380µg

Parameter spesifik berupa profil kromatogram dan kadar senyawa marker mengacu pada penelitian ataupun literatur yang telah ada. Parameter nonspesifik berupa pengukuran kadar air, pengukuran bobot jenis, pengukuran sisa pelarut etanol, dan penetapan kadar abu dilakukan secara eksplorasi dengan membandingkan dengan literatur yang ada. Dan untuk parameter nonspesifik berupa pengukuran cemaran logam, dan penetapan cemaran mikroba dan kapang menggunakan acuan standar yang telah ditetapkan BPOM. Berdasarkan tabel XII dapat disimpulkan bahwa standardisasi ekstrak kangkung darat memenuhi syarat standar yang ditetapkan BPOM maupun acuan lainnya.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

1. Nilai parameter spesifik kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir) secara organoleptik berupa ekstrak kental, berwarna hitam kehijauan, berbau khas kangkung, dan memiliki rasa agak pahit keasaman. Parameter spesifik lainnya berupa pola kromatogram dengan nilai Rf 0,92 yang merupakan persamaan nilai Rf dengan standar β -karoten. Kadar β -karoten di dalam ekstrak kangkung darat sebanyak $2,43 \pm 0,65$ % b/v . Nilai parameter nonspesifik ekstrak kangkung darat berupa kadar air ekstrak sebesar $16,45 \pm 0,05$ %, kadar abu total ekstrak $5,97 \pm 0,13$ %, kadar abu tidak larut asam $5,44 \pm 0,79$ %, bobot jenis ekstrak $1,133 \pm 0,004$ g/ml, tidak terdapat cemaran logam timbal (Pb) dan kadmium (Cd), dan angka cemaran mikroba baik angka lempeng total, angka kapang, khamir, serta angka koliform di dalam ekstrak di bawah standar maksimal yang ditetapkan BPOM.
2. Berdasarkan hasil pengamatan dan analisa yang dilakukan terkait parameter-parameter standardisasi, ekstrak etanolik kangkung darat memenuhi kriteria parameter nonspesifik yang telah ditentukan oleh BPOM dan memenuhi kriteria parameter spesifik yang telah ditentukan standar acuan lainnya.

B. SARAN

1. Perlu penelitian selanjutnya untuk identifikasi senyawa yang dihasilkan dari pemisahan kromatografi pada parameter spesifik ekstrak.
2. Perlu pengembangan penelitian dari standardisasi ekstrak dengan penelitian uji praklinis dan uji klinis ekstrak kangkung darat untuk menambah daftar fitofarmaka yang ada di Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Saifudin, A., Rahayu, V., dan Teruna, H. Y., 2011, *Standardisasi Bahan Obat Alam*, Graha Ilmu, Yogyakarta.
2. Anonim, 2005, *Kriteria dan Tata Laksana Pendaftaran Obat Tradisional*, BPOM Republik Indonesia, Jakarta.
3. Anonim, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 2, 5-6, 10-31.
4. Anonim, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
5. Helminawati, 2011, Uji Efek Antihiperqlikemia Infusa Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir) pada Mencit Swiss Jantan yang Diinduksi Streptozotocin, *Skripsi*, Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
6. Prasad, N.K., Shivamurthy, G.R., and Aradhya, S.M., 2008, *Ipomoea aquatica*, An Underutilized Green Leafy Vegetable: A Review, *International Journal of Botany*, 4 (1): 123-129.
7. Maritim, A. C., Sanders R. A., and Watkins J. B., 2003, Diabetes Oxidative Stress, and Antioxidants: A Review, *J Biochem Molecular Toxicology*, 17 (1): 24-25.
8. Bhushan, M.S., Rao C.H. V, Ojha S.K., Vijaykumar M., and Verma A., 2010, An Analytical Review of Plants for Anti Diabetic Activity with Their Phytoconstituent & Mechanism of Action, *International Journal of Pharmaceutical Science and Research IJPSR*, 1 (1): 29-33.
9. Hariana, A., 2007, *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Seri 3*, Swadaya, Jakarta, 34-35.
10. Dasgupta, N., and De B., 2006, Antioxidant Actvity of Some leafy vegetables of India: A Comparative Study, *J. Foodchem*, 02 (003) : 1-2.
11. Santosa H.B., 2008, *Ragam dan Khasiat Tanaman Obat*, Agromedia Pustaka, Jakarta.
12. Choudhary, M.I., and Mosihuzzaman, M., 2008, Protocols on Safety, Efficacy, Standardization, and Documentation of Herbal Medicine, *Pure Appl. Chem.*, 80 (10): 2195–2230.
13. Gandjar, I. G., dan Rohman, A, 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 298-312, 419-428.

14. Day, R.A., dan Underwood, A.L., 1998, Quantitative Analysis Sixth Edition, Dalam Sopyan Iis, Wibi H.H., Simarmata L (Eds.), *Analisis Kimia Kuantitatif*, Edisi Keenam, Erlangga, Jakarta, 421-423, 570-571.
15. Khopkar, S.M., 1990, *Konsep Dasar Kimia Analitik*, UI Press, Jakarta.
16. Sastromidjojo, H., 2007, *Kromatografi*, Liberty, Yogyakarta, 1-5.
17. Rohman, A. dan Gandjar I.G., 2007, *Metode Kromatografi untuk Analisis Makanan*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 11-13.
18. Adamovics, J.A., 1990, *Chromatographic analysis of pharmaceuticals*, Marcel Dekker, New York, 66-67.
19. Winarsi, H., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Kanisius, Yogyakarta, 77-80, 155-162.
20. Stenis V.C.G.G.J., 2003, *Flora, Voor De Scholen in Indonesia*, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
21. Britton, G., in Jensen, S.L., and Pfander, H. (Eds.), 1995, *Carotenoids, Spectroscopy*, Volume 1, IB: Birkhauser Verlag, Berlin, 211.
22. Mendez, D.H. and Mosquera, M. I. M., 1998, Isolation and Identification of The Carotenoid Capslutein from Capsicum Annuum as Cucurbitaxanthin, *A Journal Agric, Food Chem*, 46(10), 4087- 4090.
23. Susilowati, 2008, Isolasi dan Identifikasi Senyawa karotenoid dari Cabai Merah (*Capsicum annuum* Linn.), *Skripsi*, Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Malang, Malang.
24. Khomsan, A., 2009, *Rahasia Sehat dengan Makanan Berkhasiat*, Buku Kompas, Jakarta, 146.
25. Andarwulan N., Kusnandar F., Herawati D., 2011, *Analisis Pangan*, Dian Rakyat, Jakarta, 54-57, 73-77.
26. Fennema, O.R., 1997, *Food Chemistry, 3 rd edition*, Marcel Dekker, New York.
27. Johantika, E.E.B., 2002, Pemanfaatan Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir) dalam Pembuatan Biskuit Tinggi Serat Makanan, *Skripsi*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
28. Harminta, 2004, Review Artikel: Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya, *Majalah Ilmu Kafarmasian*, 1(3) : 130.

29. Kohar, I., Hardjo P.H., dan Lika, I.I., 2005, Studi kandungan Logam Pb dalam Tanaman Kangkung Umur 3 dan 6 minggu yang ditanam di Media yang mengandung Pb, *Makara Sains*, 9(2) : 56-59.
30. Kohar, I., Hardjo P.H., Jonatan M., dan Agustanti O., 2004, Studi Kandungan Logam Pb dalam Batang dan Daun Kangkung (*Ipomoea reptans*) yang Direbus dengan Penambahan NaCl dan Asam Asetat, *Makara Sains*, 8(3): 85-88.
31. Pratiwi, S.T., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, Erlangga, Jakarta, 38-43

LAMPIRAN

Lampiran 1. Determinasi tanaman

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JURUSAN FARMASI FMIPA UII
BAGIAN BIOLOGI FARMASI

SURAT KETERANGAN

Nomor:102/UII/Jur Far/det/III/2012

Yang bertanda tangan di bawah ini, Kepala Laboratorium Biologi Farmasi Jurusan Farmasi FMIPA UII menerangkan bahwa:

Nama : Endah Nurrohwiinta Djuwarno
NIM : 08613180
Pada tanggal : 15 Maret 2012

Telah mendeterminasi 1 (satu) species tanaman dengan bimbingan Dra.Iyok Budiarti, di Laboratorium Biologi Farmasi FMIPA UII.

Tanaman tersebut: *Ipomea reptans*, Poir (kangkung darat)

Demikian surat keterangan ini di buat untuk dipergunakan semestinya.

Yogyakarta, 15 Maret 2012
Bagian Biologi Farmasi
Kepala,



Hady Anshory T.S.Si., Apt.
NIP.056130703

Lampiran 2. Kunci Determinasi Tanaman kangkung Darat

- 1.b. berbunga sejati
- 2.b. tumbuhan menjalar
- 3.b. daun tidak berbentuk jarum
- 4.b. bukan bangsa rumput
- 6.b. daun jelas
- 7.b. bukan bangsa palem
- 9.b. tumbuhan tidak memanjat/melilit
- 10.b. daun tidak tersusun rapat
- 11.b. ibu tulang daun dapat dibedakan jelas dari jaring urat daun dan dari anak cabang tulang daun
- 12.b. tidak semua daun duduk dalam karangan atau tidak ada daun sama sekali
- 13.b. tumbuh-tumbuhan berbentuk lain
- 14.a. daun tersebar, kadang-kadang sebagian berhadapan
- 15.a. daun tunggal, tetapi tidak berbagi menyirip
(golongan 8. Tanaman dengan daun tunggal dan tersebar)
- 109.b. tanaman daratan (atau tumbuh) diantara tanaman bakau
- 119.b. tanaman bukan benalu
- 120.a. Tanaman bergetah
- 121.a. Rumput-rumputan (herba)
- 122.b. Bunga besar, tidak dengan bongkol dengan pembalut
- 123.b. Tabung mahkota ke atas melebar menjadi berbentuk terompet tanpa taju.
Tangkai sari lepas

(107. Famili *Convolvaceae*)

- 1.b. buah kotak dengan 4 (jarang 6) kelep, terbelah membuka, kebanyakan bergigi 2 atau 6. Daun kelopak lain. Mahkota lebih panjang dari 0,5 cm

(*ipomea*)

2. *Ipomea*

- 1.b. Rumput-rumput membelit atau menjalar
- 2.b. helaian daun tidak berbagi menyirip
- 3.b. Bunga majemuk berbentuk panjang atau bunga tunggal

4.b. Tanaman menjalar pada buku-bukunya keluar akar. Tabung mahkota paling panjang 5 cm. Kepala putik dan benang-benang sari tertutup di dalam tabung

5.b. Helaiian daun tidak seperti kulit. Dengan ujung yang runcing atau tumpul. Tidak pernah rompang

6.a. Tanaman tanpa umbi dalam tanah. Batang tebal dan berongga atau seperti bunga karang. Kadang-kadang mengapung. Bakal buah gundul. Biji-biji berbulu halus rapat. (*Ipomoea reptans* Poir.)

Lampiran 3. Perhitungan Hasil Rendemen

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Ekstrak yang Diperoleh}}{\text{Simplisia awal}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{164,19 \text{ g}}{2000 \text{ g}} \times 100\% = 8,21\%$$

Lampiran 4. Perhitungan pembuatan larutan standar β -karoten

- Pembuatan larutan standar 1%

- $1\% = \frac{1g}{100ml} = \frac{0,1g}{10ml}$

0,1gr dilarutkan dengan etanol 96% pada labu ukur 10 ml.

a. Pengenceran 1% menjadi 0,75%, menggunakan labu ukur 5 ml :

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1\% \cdot V_1 = 0,75\% \times 5 \text{ ml}$$

$$1\% \cdot V_1 = 3,75$$

$$V_1 = 3,75 \text{ ml}$$

Diambil 3,75ml dari 1% β -karoten dan dilarutkan dengan etanol 96% pada labu ukur 5 ml.

b. Pengenceran 1% menjadi 0,5%, menggunakan labu ukur 5 ml :

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1\% \cdot V_1 = 0,5\% \times 5 \text{ ml}$$

$$1\% \cdot V_1 = 2,5$$

$$V_1 = 2,5 \text{ ml}$$

Diambil 2,5ml dari 1% β -karoten dan dilarutkan dengan etanol 96% pada labu ukur 5 ml.

Lampiran 5. Hasil KLT Densitometri

winCATS Planar Chromatography Manager

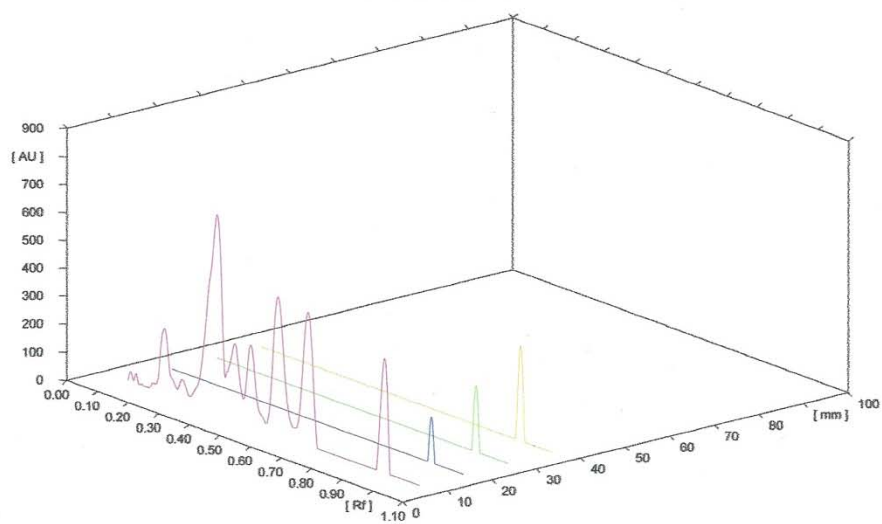
Detector properties

Y-position for 0 adjust	0.0 mm
Track # for 0 adjust	0
Analog Offset	10%
Sensitivity	Automatic (19)

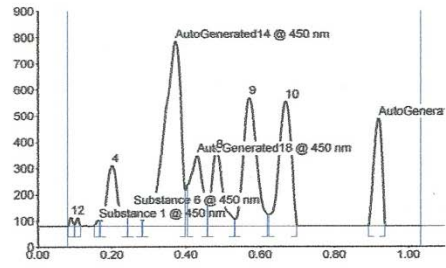
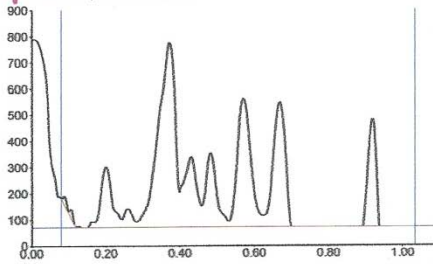
Integration**Properties**

Data filtering	Savitsky-Golay 5
Baseline correction	Lowest Slope
Peak threshold min. slope	5
Peak threshold min. height	10 AU
Peak threshold min. area	50
Peak threshold max. height	990 AU
Track start position	16.6 mm
Track end position	94.9 mm
Display scaling	Automatic

All tracks at 450 nm

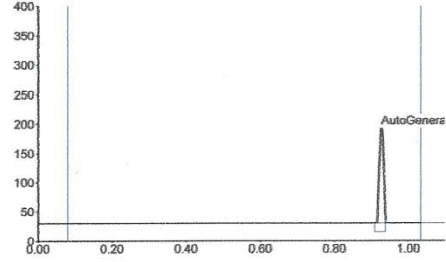
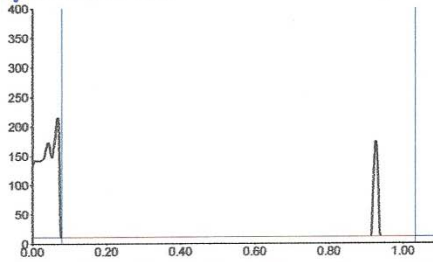


Track 1, ID: ekstrak



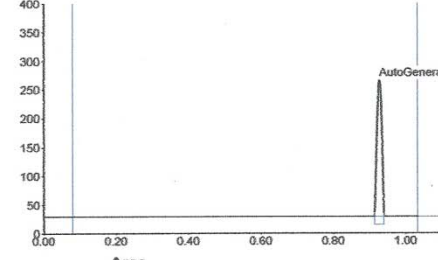
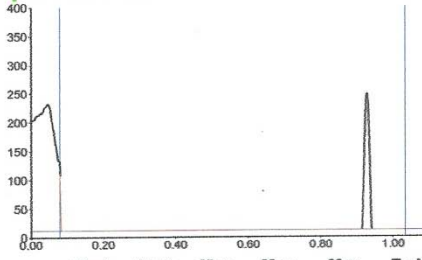
Peak	Start Rf	Start Height	Max Rf	Max Height	Max %	End Rf	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.08	2.6	0.09	34.4	1.14	0.10	5.7	296.6	0.31	unknown *
2	0.10	7.6	0.11	33.5	1.11	0.12	1.4	263.0	0.27	unknown *
3	0.15	5.9	0.17	22.1	0.73	0.17	21.9	204.3	0.21	Substance 1
4	0.17	21.1	0.20	230.8	7.64	0.24	31.1	6613.4	6.87	unknown *
5	0.24	31.5	0.26	72.2	2.39	0.28	22.0	1590.4	1.65	Substance 6
6	0.28	21.4	0.37	705.5	23.34	0.40	134.1	30301.2	31.49	AutoGenerated14
7	0.40	158.1	0.43	268.1	8.87	0.46	81.4	8425.8	8.76	AutoGenerated18
8	0.46	82.3	0.48	283.4	9.37	0.53	23.5	8132.0	8.45	unknown *
9	0.53	23.9	0.57	489.6	16.20	0.62	44.3	16867.1	17.53	unknown *
10	0.62	43.3	0.67	474.5	15.70	0.70	2.7	14869.5	15.45	unknown *
11	0.89	1.0	0.92	408.8	13.52	0.94	7.5	8649.2	8.99	AutoGenerated10

Track 2, ID: 5000



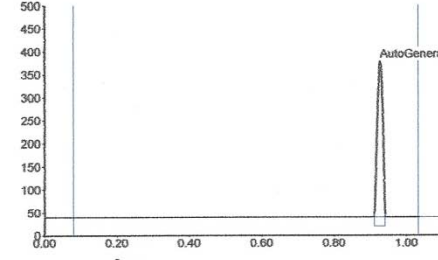
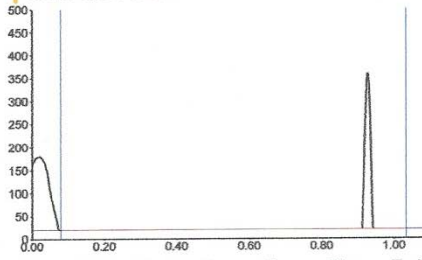
Peak	Start Rf	Start Height	Max Rf	Max Height	Max %	End Rf	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.91	0.0	0.93	163.1	100.00	0.94	4.9	1879.2	100.00	AutoGenerated10

Track 3, ID: 5000



Peak	Start Rf	Start Height	Max Rf	Max Height	Max %	End Rf	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.92	6.0	0.93	237.1	100.00	0.94	4.3	3088.0	100.00	AutoGenerated10

Track 4, ID: 10000



Peak	Start Rf	Start Height	Max Rf	Max Height	Max %	End Rf	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.91	6.5	0.93	338.8	100.00	0.94	6.2	4951.9	100.00	AutoGenerated10

Perhitungan Kurva Baku β -karoten

Tabel. Nilai AUC standar β -karoten

Konsentrasi Standar β -karoten (%)	Nilai AUC
1	4951,9
0,75	3088,0
0,5	1879,2

$$A = -1302,68$$

$$B = 6145,4$$

$$r = 0,992$$

Persamaan Regresi Linear :

$$Y = 6145,4 x - 1302,68$$

Lampiran 6. Perhitungan Kadar β -karoten yang Terkandung di dalam Ekstrak

Tabel. Nilai AUC ekstrak

Ekstrak	Nilai AUC
Replikasi I	2728,6
Replikasi II	3362,7
Replikasi III	4821,9

- Ekstrak ditotolkan dengan volume 4 μ l
- Standar β -karoten ditotolkan dengan volume 15 μ l

Persamaan Regresi Linear :

$$Y = 6145,4 x - 1302,68$$

- Nilai AUC ekstrak = 2728,6

$$\frac{15\mu l}{4\mu l} \times 2728,6 = 10232,250$$

$$10232,250 = 6145,4 x - 1302,68$$

$$10232,250 + 1302,68 = 6145,4 x$$

$$x = 1,88\%$$

kadar β -karoten di dalam ekstrak 1,88%

- Nilai AUC ekstrak = 3362,7

$$\frac{15\mu l}{4\mu l} \times 3362,7 = 12610,125$$

$$12610,125 = 6145,4 x - 1302,68$$

$$12610,125 + 1302,68 = 6145,4 x$$

$$x = 2,26\%$$

kadar β -karoten di dalam ekstrak 2,26%

- Nilai AUC ekstrak = 4821,9

$$\frac{15\mu l}{4\mu l} \times 4821,9 = 18082,125$$

$$18082,125 = 6145,4 \times x - 1302,68$$

$$18082,125 + 1302,68 = 6145,4 \times x$$

$$x = 3,15\%$$

kadar β -karoten di dalam ekstrak 3,15%

Kadar β -karoten didalam ekstrak :

Ekstrak	Kadar (%)
Replikasi I	1,88
Replikasi II	2,26
Replikasi III	3,15
Rata-rata (x)	2,43
Standar deviasi (SD)	0,65

Lampiran 7. Gambaran Titik Akhir Titrasi Karl Fischer

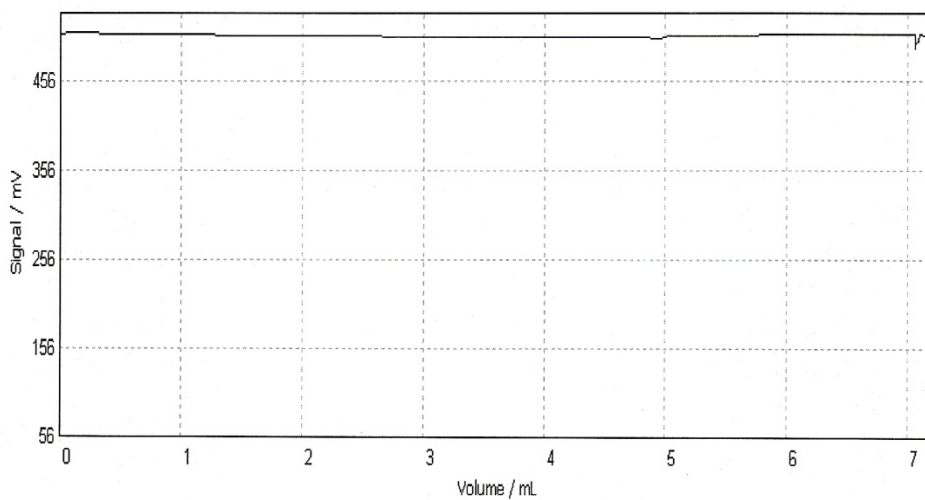
METTLER TOLEDO V30 1.0.1
KF titrator / KF Titrator

Serial No. 5130068250
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

Method: C123 EXTRACT **28/03/2012 16:57:21**
Start time: 02/04/2012 12:06:31

KF determination

Sample 1/3 EXTRACT



Volume mL	Increment mL	H2O mg	Online drift µg/min	Signal mV	Change mV	Time s
0.000	NaN	0.0000	0.1	509.4	NaN	0
0.000	0.000	0.0000	0.1	510.6	1.2	0
0.005	0.005	0.0227	0.0	510.6	0.0	2
0.015	0.010	0.0682	258.8	510.6	0.0	3
0.030	0.015	0.1365	799.0	510.6	0.0	4
0.051	0.021	0.2320	1591.1	510.8	0.2	5
0.077	0.026	0.3503	2578.6	511.1	0.3	6
0.108	0.031	0.4914	3701.7	511.2	0.1	7
0.145	0.037	0.6597	4914.4	511.0	-0.2	8
0.187	0.042	0.8508	6186.4	511.0	0.0	9
0.234	0.047	1.0646	7498.6	511.0	0.0	10
0.286	0.052	1.3012	8838.8	510.9	-0.1	11
0.344	0.058	1.5651	10199.1	510.6	-0.3	12
0.404	0.060	1.8381	11574.4	510.2	-0.4	13
0.464	0.060	2.1111	12797.4	509.8	-0.4	14
0.524	0.060	2.3841	13746.0	509.5	-0.3	15
0.584	0.060	2.6571	14439.1	509.3	-0.2	16
0.644	0.060	2.9301	14922.6	509.5	0.2	17
0.704	0.060	3.2030	15255.1	509.7	0.2	18
0.764	0.060	3.4760	15487.0	509.9	0.2	19
0.824	0.060	3.7490	15653.0	509.8	-0.1	20
0.884	0.060	4.0220	15775.5	509.7	-0.1	21
0.944	0.060	4.2950	15868.4	509.7	0.0	22
1.004	0.060	4.5680	15940.6	509.7	0.0	23
1.064	0.060	4.8410	15997.9	509.5	-0.2	24
1.124	0.060	5.1140	16042.8	509.3	-0.2	25
1.184	0.060	5.3869	16080.8	509.1	-0.2	26
1.244	0.060	5.6599	16112.4	508.9	-0.2	27
1.304	0.060	5.9329	16139.0	508.8	-0.1	28
1.364	0.060	6.2059	16161.6	508.6	-0.2	29
1.424	0.060	6.4789	16180.9	508.5	-0.1	30
1.484	0.060	6.7519	16197.6	508.4	-0.1	31

METTLER TOLEDO V30 1.0.1
KF titrator / KF Titrator

Serial No. 5130068250
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

Method: C123 **EXTRACT** **28/03/2012 16:57:21**
Start time: 02/04/2012 12:06:31

1.544	0.060	7.0249	16210.8	508.3	-0.1	32
1.604	0.060	7.2978	16223.6	508.1	-0.2	33
1.664	0.060	7.5708	16234.9	508.0	-0.1	34
1.724	0.060	7.8438	16244.9	507.9	-0.1	35
1.784	0.060	8.1168	16253.8	507.8	-0.1	36
1.844	0.060	8.3898	16260.5	507.7	-0.1	37
1.904	0.060	8.6628	16267.7	507.7	0.0	38
1.964	0.060	8.9358	16274.3	507.6	-0.1	39
2.024	0.060	9.2088	16280.2	507.6	0.0	40
2.084	0.060	9.4817	16285.6	507.5	-0.1	42
2.144	0.060	9.7547	16289.2	507.4	-0.1	42
2.204	0.060	10.0277	16293.7	507.4	0.0	44
2.264	0.060	10.3007	16297.9	507.3	-0.1	44
2.324	0.060	10.5737	16300.4	507.3	0.0	46
2.384	0.060	10.8467	16304.0	507.3	0.0	46
2.444	0.060	11.1197	16307.4	507.2	-0.1	48
2.504	0.060	11.3926	16310.4	507.2	0.0	49
2.564	0.060	11.6656	16312.0	507.1	-0.1	50
2.624	0.060	11.9386	16314.7	507.1	0.0	51
2.684	0.060	12.2116	16317.3	507.0	-0.1	52
2.744	0.060	12.4846	16318.3	507.0	0.0	53
2.804	0.060	12.7576	16320.6	506.9	-0.1	54
2.864	0.060	13.0306	16322.7	506.8	-0.1	55
2.924	0.060	13.3036	16323.4	506.8	0.0	56
2.984	0.060	13.5765	16325.3	506.7	-0.1	57
3.044	0.060	13.8495	16327.1	506.6	-0.1	58
3.104	0.060	14.1225	16327.5	506.6	0.0	59
3.164	0.060	14.3955	16329.2	506.5	-0.1	60
3.224	0.060	14.6685	16329.4	506.5	0.0	61
3.284	0.060	14.9415	16331.0	506.4	-0.1	62
3.344	0.060	15.2145	16332.5	506.4	0.0	63
3.404	0.060	15.4875	16332.5	506.3	-0.1	64
3.464	0.060	15.7604	16333.9	506.3	0.0	65
3.524	0.060	16.0334	16333.9	506.2	-0.1	66
3.584	0.060	16.3064	16333.9	506.2	0.0	67
3.644	0.060	16.5794	16333.9	506.2	0.0	68
3.704	0.060	16.8524	16333.9	506.2	0.0	69
3.764	0.060	17.1254	16333.9	506.2	0.0	70
3.824	0.060	17.3984	16333.9	506.1	-0.1	71
3.884	0.060	17.6713	16333.9	506.1	0.0	72
3.944	0.060	17.9443	16333.9	506.1	0.0	73
4.004	0.060	18.2173	16333.9	506.0	-0.1	74
4.064	0.060	18.4903	16333.9	506.0	0.0	75
4.124	0.060	18.7633	16333.9	506.0	0.0	76
4.184	0.060	19.0363	16333.9	506.0	0.0	77
4.244	0.060	19.3093	16333.9	505.9	-0.1	78
4.304	0.060	19.5823	16333.9	505.9	0.0	79
4.364	0.060	19.8552	16333.9	505.8	-0.1	80
4.424	0.060	20.1282	16333.9	505.7	-0.1	81
4.484	0.060	20.4012	16333.9	505.7	0.0	82
4.544	0.060	20.6742	16333.9	505.6	-0.1	83
4.604	0.060	20.9472	16333.9	505.6	0.0	84
4.664	0.060	21.2202	16333.9	505.5	-0.1	85
4.724	0.060	21.4932	16333.9	505.4	-0.1	86
4.784	0.060	21.7661	16333.9	505.4	0.0	87
4.844	0.060	22.0391	16333.9	505.4	0.0	88
4.904	0.060	22.3121	16333.9	505.3	-0.1	89
4.964	0.060	22.5851	16333.9	505.3	0.0	90
5.024	0.060	22.8581	16333.9	508.6	3.3	118
5.084	0.060	23.1311	16333.9	508.6	0.0	119
5.144	0.060	23.4041	16333.9	508.6	0.0	120

METTLER TOLEDO V30 1.0.1
KF titrator / KF Titrator

Serial No. 513006825
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

Method: C123 **EXTRACT** **28/03/2012 16:57:2**
Start time: 02/04/2012 12:06:31

5.204	0.060	23.6771	16333.9	508.6	0.0	121
5.264	0.060	23.9500	16333.9	508.5	-0.1	122
5.324	0.060	24.2230	16333.9	508.5	0.0	123
5.384	0.060	24.4960	16333.9	508.5	0.0	124
5.444	0.060	24.7690	16333.9	508.4	-0.1	125
5.504	0.060	25.0420	16333.9	508.4	0.0	126
5.564	0.060	25.3150	16333.9	508.5	0.1	127
5.624	0.060	25.5880	16333.9	508.6	0.1	128
5.684	0.060	25.8609	16333.9	508.6	0.0	129
5.744	0.060	26.1339	16333.9	508.8	0.2	130
5.804	0.060	26.4069	16333.9	508.9	0.1	131
5.864	0.060	26.6799	16333.9	509.0	0.1	132
5.924	0.060	26.9529	16333.9	509.2	0.2	133
5.984	0.060	27.2259	16333.9	509.3	0.1	134
6.044	0.060	27.4989	16333.9	509.5	0.2	135
6.104	0.060	27.7719	16333.9	509.6	0.1	136
6.164	0.060	28.0448	16333.9	509.7	0.1	137
6.224	0.060	28.3178	16333.9	509.7	0.0	138
6.284	0.060	28.5908	16333.9	509.9	0.2	139
6.344	0.060	28.8638	16333.9	509.9	0.0	140
6.404	0.060	29.1368	16333.9	510.1	0.2	141
6.464	0.060	29.4098	16333.9	510.2	0.1	142
6.524	0.060	29.6828	16333.9	510.3	0.1	143
6.584	0.060	29.9558	16333.9	510.3	0.0	144
6.644	0.060	30.2287	16333.9	510.4	0.1	145
6.704	0.060	30.5017	16333.9	510.4	0.0	146
6.764	0.060	30.7747	16333.9	510.3	-0.1	147
6.824	0.060	31.0477	16333.9	510.3	0.0	148
6.884	0.060	31.3207	16333.9	510.3	0.0	149
6.944	0.060	31.5937	16333.9	510.2	-0.1	150
7.004	0.060	31.8667	16333.9	509.5	-0.7	151
7.064	0.060	32.1396	16333.9	509.3	-0.2	152
7.064	0.000	32.1396	16333.9	494.1	-15.2	153
7.065	0.001	32.1442	13090.5	495.7	1.6	154
7.074	0.009	32.1851	9961.0	499.7	4.0	155
7.084	0.010	32.2306	7654.4	500.5	0.8	156
7.092	0.008	32.2670	5988.0	500.5	0.0	157
7.098	0.006	32.2943	4870.7	501.0	0.5	158
7.106	0.008	32.3307	4086.6	508.9	7.9	159
7.111	0.005	32.3535	3590.7	509.1	0.2	160
7.118	0.007	32.3853	3070.9	509.1	0.0	161
7.125	0.007	32.4172	2807.6	509.5	0.4	162
7.132	0.007	32.4490	2602.4	508.6	-0.9	163
7.137	0.005	32.4718	2488.0	508.5	-0.1	164
7.143	0.006	32.4991	2290.1	508.0	-0.5	165
7.149	0.006	32.5264	2195.2	508.1	0.1	166
7.156	0.007	32.5582	2082.1	507.3	-0.8	167
7.161	0.005	32.5810	2044.8	507.1	-0.2	168
7.167	0.006	32.6083	1945.4	506.7	-0.4	169
7.173	0.006	32.6356	1910.2	506.3	-0.4	170
7.179	0.006	32.6629	1857.2	505.5	-0.8	171
7.184	0.005	32.6856	1813.3	504.8	-0.7	172
7.190	0.006	32.7129	1749.6	503.5	-1.3	173
7.194	0.004	32.7311	1706.4	501.4	-2.1	174
7.197	0.003	32.7448	1604.3	501.6	0.2	176
7.204	0.007	32.7766	1444.5	500.4	-1.2	176
7.208	0.004	32.7948	1516.1	498.7	-1.7	178
7.212	0.004	32.8130	1460.6	495.3	-3.4	178
7.213	0.001	32.8176	1373.6	495.8	0.5	180
7.221	0.008	32.8540	1191.5	494.7	-1.1	181
7.225	0.004	32.8722	1317.2	486.3	-8.4	182

METTLER TOLEDO V30 1.0.1
KF titrator / KF Titrator

Serial No. 5130068250
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

Method: C123 **EXTRACT** **28/03/2012 16:57:21**
Start time: 02/04/2012 12:06:31

7.226	0.001	32.8767	1304.0	479.8	-6.5	183
7.227	0.001	32.8813	1134.3	480.8	1.0	184
7.235	0.008	32.9177	953.5	473.6	-7.2	185
7.237	0.002	32.9268	1155.7	448.9	-24.7	186
7.237	0.000	32.9268	1021.2	434.8	-14.1	187
7.238	0.001	32.9313	849.3	441.9	7.1	188
7.243	0.005	32.9541	701.6	445.3	3.4	189
7.251	0.008	32.9905	778.4	411.0	-34.3	190
7.251	0.000	32.9905	1062.8	272.3	-138.7	191
7.251	0.000	32.9905	935.6	147.9	-124.4	192
7.251	0.000	32.9905	759.2	92.5	-55.4	193
7.251	0.000	32.9905	563.2	139.2	46.7	194
7.251	0.000	32.9905	392.8	140.6	1.4	195
7.253	0.002	32.9996	270.2	140.6	0.0	196
7.254	0.001	33.0041	268.4	140.6	0.0	197
7.255	0.001	33.0087	292.6	176.8	36.2	198
7.255	0.000	33.0087	301.0	112.7	-64.1	199
7.255	0.000	33.0087	247.3	81.5	-31.2	200
7.255	0.000	33.0087	190.4	79.1	-2.4	201
7.255	0.000	33.0087	136.8	84.9	5.8	202
7.255	0.000	33.0087	94.9	84.9	0.0	203
7.256	0.001	33.0132	78.9	84.9	0.0	204
7.256	0.000	33.0132	73.2	89.1	4.2	205
7.256	0.000	33.0132	73.3	99.1	10.0	206
7.257	0.001	33.0178	86.4	108.3	9.2	207
7.257	0.000	33.0178	86.9	96.1	-12.2	208
7.257	0.000	33.0178	85.4	86.2	-9.9	209
7.257	0.000	33.0178	68.9	83.0	-3.2	210
7.257	0.000	33.0178	52.3	85.7	2.7	211
7.257	0.000	33.0178	31.6	86.9	1.2	212
7.257	0.000	33.0178	31.6	86.9	0.0	212

Lampiran 8. Perhitungan Pembuatan Larutan Baku

1. Larutan Baku Timbal (Pb)

Larutan induk timbal memiliki konsentrasi 1000ppm. Pengenceran larutan induk dilakukan secara bertingkat dari 1000ppm menjadi 100ppm, 100ppm menjadi 10ppm dan 10ppm menjadi 1ppm. Larutan induk dilarutkan dengan aquabidestilata dan selanjutnya dihomogenkan dengan alat sonifikasi selama kurang lebih 10 menit. Berikut perhitungan pembuatan larutan baku Timbal (Pb) :

- | | |
|--|--|
| a.) Pengenceran 1000ppm
menjadi 100ppm | 1ppm. $V_1 = 0,1$
$V_1 = 0,1\text{mL}$ |
| 1000ppm. $V_1 = 100\text{ppm} \cdot 25\text{mL}$ | e.) Pengenceran 1ppm
menjadi 0,05ppm |
| 1000ppm. $V_1 = 2500$
$V_1 = 2,5\text{mL}$ | 1ppm. $V_1 = 0,05\text{ppm} \cdot 10\text{mL}$ |
| b.) Pengenceran 100ppm
menjadi 10ppm | 1ppm. $V_1 = 0,5$
$V_1 = 0,5\text{mL}$ |
| 1000ppm. $V_1 = 100\text{ppm} \cdot 25\text{mL}$ | f.) Pengenceran 1ppm
menjadi 0,1ppm |
| 1000ppm. $V_1 = 2500$
$V_1 = 2,5\text{mL}$ | 1ppm. $V_1 = 0,1\text{ppm} \cdot 10\text{mL}$ |
| c.) Pengenceran 10ppm
menjadi 1ppm | 1ppm. $V_1 = 1$
$V_1 = 1\text{mL}$ |
| 10ppm. $V_1 = 1\text{ppm} \cdot 10\text{mL}$ | g.) Pengenceran 1ppm
menjadi 0,5ppm |
| 10ppm. $V_1 = 10$
$V_1 = 1\text{mL}$ | 1ppm. $V_1 = 0,5\text{ppm} \cdot 10\text{mL}$ |
| d.) Pengenceran 1ppm
menjadi 0,01ppm | 1ppm. $V_1 = 5$
$V_1 = 5\text{mL}$ |
| 1ppm. $V_1 = 0,01\text{ppm} \cdot 10\text{mL}$ | |

2. . Larutan Baku Kadmium (Cd)

Larutan induk Kadmium memiliki konsentrasi 1000ppm. Pengenceran larutan induk dilakukan secara bertingkat dari 1000ppm menjadi 100ppm, 100ppm menjadi 10ppm dan 10ppm menjadi 1ppm. Larutan induk dilarutkan dengan aquabidestilata dan selanjutnya dihomogenkan dengan alat sonifikasi selam kurang lebih 10 menit. Berikut perhitungan pembuatan larutan baku Kadmium (Cd) :

- | | |
|--|--|
| a.) Pengenceran 1000ppm
menjadi 100ppm | 1ppm. $V_1 = 0,1$
$V_1 = 0,1\text{mL}$ |
| 1000ppm. $V_1 = 100\text{ppm} \cdot 25\text{mL}$ | e.) Pengenceran 1ppm
menjadi 0,05ppm |
| 1000ppm. $V_1 = 2500$ | 1ppm. $V_1 = 0,05\text{ppm} \cdot 10\text{mL}$ |
| $V_1 = 2,5\text{mL}$ | 1ppm. $V_1 = 0,5$
$V_1 = 0,5\text{mL}$ |
| b.) Pengenceran 100ppm
menjadi 10ppm | f.) Pengenceran 1ppm
menjadi 0,1ppm |
| 1000ppm. $V_1 = 100\text{ppm} \cdot 25\text{mL}$ | 1ppm. $V_1 = 0,1\text{ppm} \cdot 10\text{mL}$ |
| 1000ppm. $V_1 = 2500$ | 1ppm. $V_1 = 1$
$V_1 = 1\text{mL}$ |
| $V_1 = 2,5\text{mL}$ | g.) Pengenceran 1ppm
menjadi 0,2ppm |
| c.) Pengenceran 10ppm
menjadi 1ppm | 1ppm. $V_1 = 0,2\text{ppm} \cdot 10\text{mL}$ |
| 10ppm. $V_1 = 1\text{ppm} \cdot 10\text{mL}$ | 1ppm. $V_1 = 2$
$V_1 = 2\text{mL}$ |
| 10ppm. $V_1 = 10$ | |
| $V_1 = 1\text{mL}$ | |
| d.) Pengenceran 1ppm
menjadi 0,01ppm | |
| 1ppm. $V_1 = 0,01\text{ppm} \cdot 10\text{mL}$ | |

Lampiran 9. Perhitungan LOD dan LOQ Timbal (Pb) dan Kadmium (Cd) ekstrak

a. Timbal

No	Konsentrasi Pb (ppm)	Absorbansi (Yi)	Nilai hitung absorbansi (Y)	(Y-Yi) ²
1	-0,0380	0,0002	0,000203	9x10 ⁻¹²
2	-0,0590	-0,0012	-0,001194	36x10 ⁻¹²
3	-0,0530	-0,0008	-0,000795	25x10 ⁻¹²
				Σ = 7x10 ⁻¹¹

$$s \left[\frac{y}{x} \right]^2 = \frac{\sum (Y-Y_i)^2}{n-2} = \frac{7 \times 10^{-11}}{1} = 7 \times 10^{-11}$$

$$s \left[\frac{y}{x} \right] = SD = 8,366 \times 10^{-6}$$

$$LOD = 3. SD/b$$

$$LOD = \frac{3 \times 8,366 \times 10^{-6}}{0,0665}$$

$$= 3,774 \times 10^{-4}$$

$$LOQ = 10. SD/b$$

$$= \frac{10 \times 8,366 \times 10^{-6}}{0,0665}$$

$$= 12,580 \times 10^{-4}$$

b. Kadmium

No	Konsentrasi Cd (ppm)	Absorbansi (Yi)	Nilai hitung absorbansi (Y)	(Y-Yi) ²
1	-0,0925	-0,0123	-0,012299	1x10 ⁻¹²
2	-0,0925	-0,0123	-0,012299	1x10 ⁻¹²
3	-0,0962	-0,0130	-0,012997	9x10 ⁻¹²
				Σ = 11x10 ⁻¹²

$$s \left[\frac{y}{x} \right]^2 = \frac{\sum (Y-Y_i)^2}{n-2} = \frac{1,1 \times 10^{-11}}{1} = 1,1 \times 10^{-11}$$

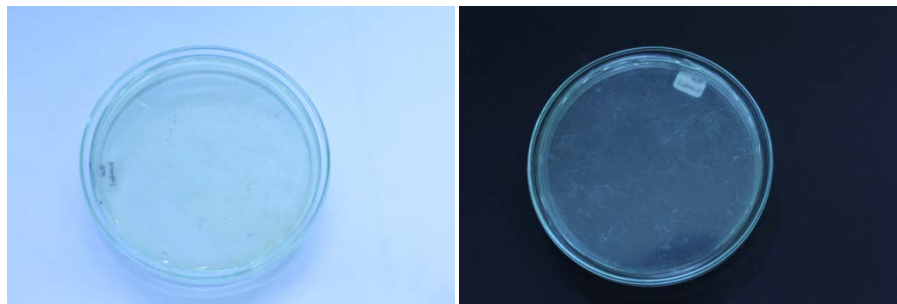
$$s \left[\frac{y}{x} \right] = SD = 3,316 \times 10^{-6}$$

$$LOD = \frac{3 \times 3,316 \times 10^{-6}}{0,005146} = 6,444 \times 10^{-3}$$

$$= 1,933 \times 10^{-3}$$

$$LOQ = 10. SD/b$$

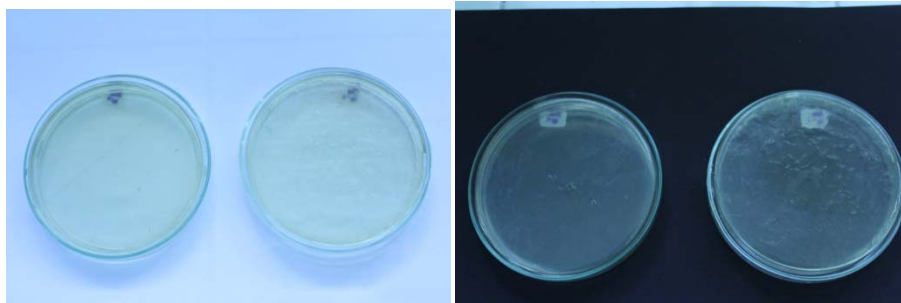
$$= \frac{10 \times 3,316 \times 10^{-6}}{0,005146}$$

Lampiran 10. Hasil Penetapan Angka Cemar Mikroba

A

B

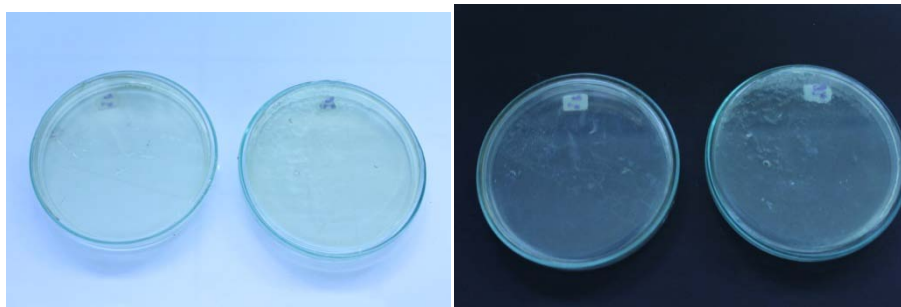
Gambar. Hasil penetapan angka cemar mikroba kontrol negatif (a) background putih (b) background hitam



A

B

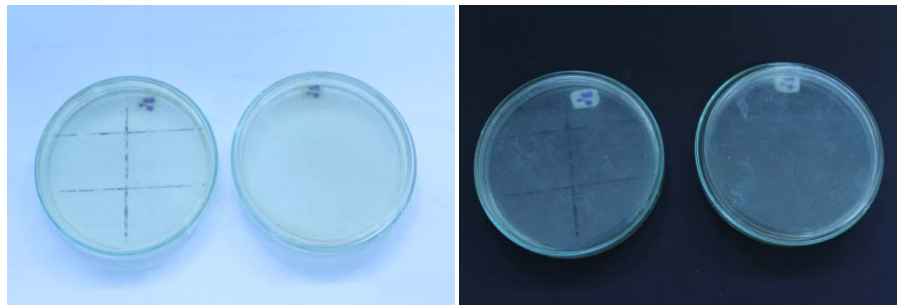
Gambar. Hasil penetapan angka cemar mikroba pengenceran 10^{-2} (a) background putih (b) background hitam



A

B

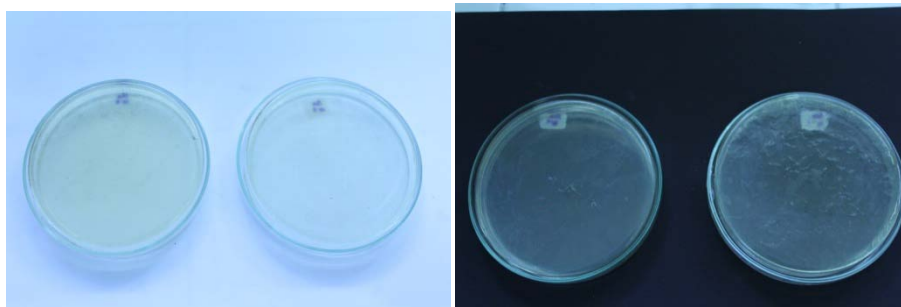
Gambar. Hasil penetapan angka cemar mikroba pengenceran 10^{-3} (a) background putih (b) background hitam



A

B

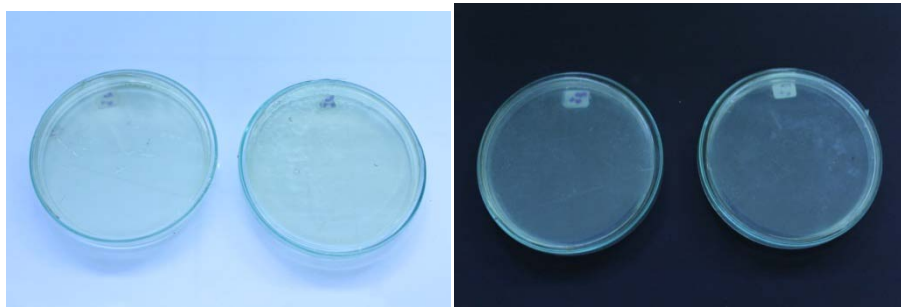
Gambar. Hasil penetapan angka cemaran mikroba pengenceran 10^{-4} (a) background putih (b) background hitam



A

B

Gambar. Hasil penetapan angka cemaran mikroba pengenceran 10^{-5} (a) background putih (b) background hitam



A

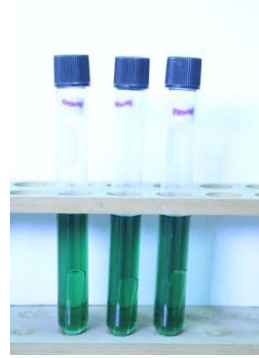
B

Gambar. Hasil penetapan angka cemaran mikroba pengenceran 10^{-6} (a) background putih (b) background hitam

Lampiran11. Hasil Uji Perkiraan Angka Koliform



a. Kontrol (-)background hitam



b. Kontrol (-)background putih

Gambar. Hasil uji perkiraan coliform kontrol negatif

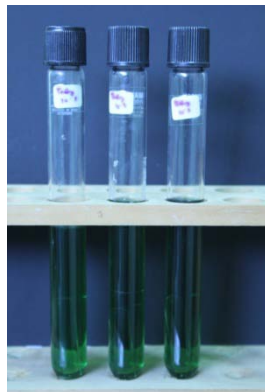


a. P 10^{-2} background d hitam

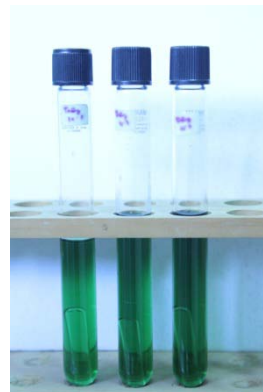


b. P 10^{-2} background putih

Gambar. Hasil uji perkiraan coliform pengenceran 10^{-2}



a. P 10^{-3} background hitam



b. P 10^{-3} background putih

Gambar. Hasil uji perkiraan coliform pengenceran 10^{-3}

Lampiran 12. Hasil Uji Cemar Kapang dan Khamir

- Perhitungan jumlah koloni/gram :

Hari ke-7

a. Pengenceran 10^{-3}

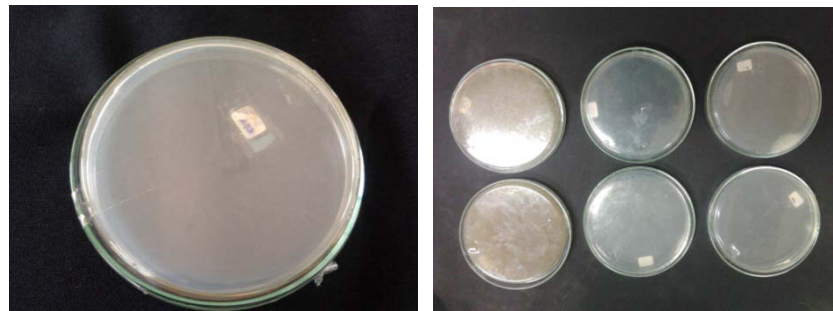
jumlah koloni x faktor pengenceran

$$48 \times 10^{-3} = 0,048 \text{ koloni/gr}$$

b. Pengenceran 10^{-4}

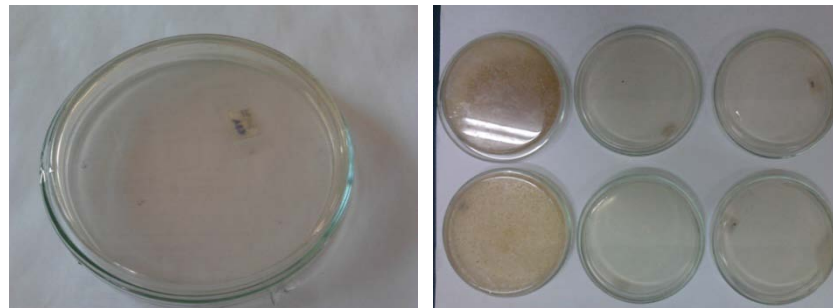
jumlah koloni x faktor pengenceran

$$17 \times 10^{-4} = 0,0017 \text{ koloni/gram}$$



Kontrol (-), Pengenceran 10^{-2} 10^{-3} 10^{-4}

Gambar. Hasil uji cemaran kapang dan khamir background hitam



Kontrol (-), Pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}

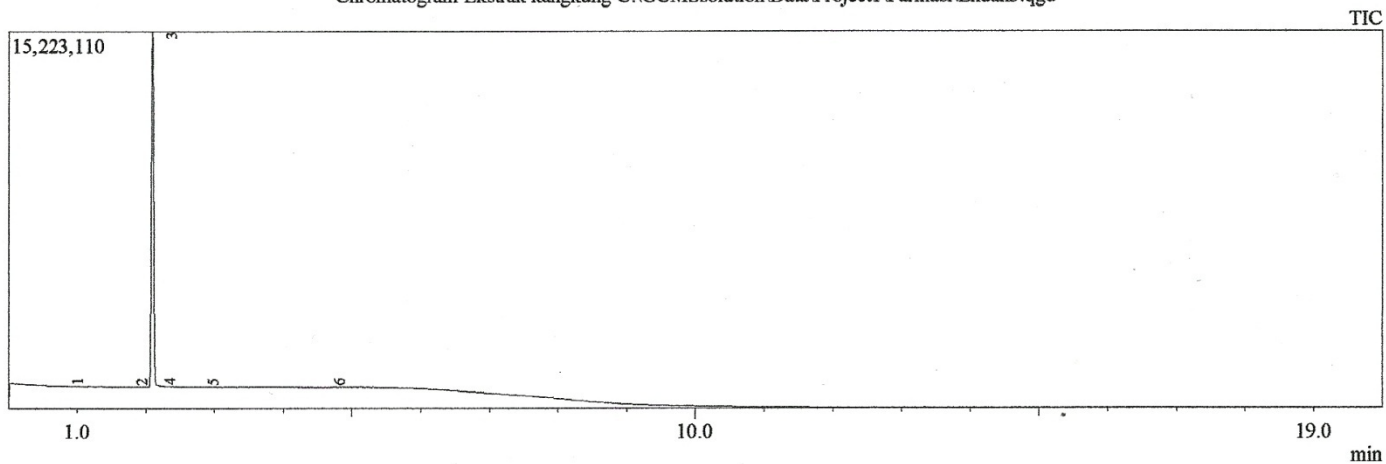
Gambar. Hasil uji cemaran kapang dan khamir background putih

Lampiran 13. Hasil Kromatografi Gas dan Spektrometri Massa.

Sample Information

Analyzed by : Admin
 Analyzed : 3/22/2012 2:46:17 PM
 Sample Name : Ekstrak kangkung
 Sample ID : EK
 Injection Volume : 0.10
 Data File : C:\GCMSsolution\Data\Project1\Farmasi\Endah3.qgd
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune1\Tuning 04082011.qgt

Chromatogram Ekstrak kangkung C:\GCMSsolution\Data\Project1\Farmasi\Endah3.qgd



Peak Report TIC						
Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height
1	1.009	0.992	1.158	24838	0.08	7823
2	1.942	1.917	2.033	39143	0.12	7739
3	2.094	2.033	2.217	32336072	99.01	14338054
4	2.342	2.217	2.367	200630	0.61	13400
5	2.983	2.967	3.108	27602	0.08	8161
6	4.817	4.800	4.950	31044	0.10	8008
				32659329	100.00	14383185

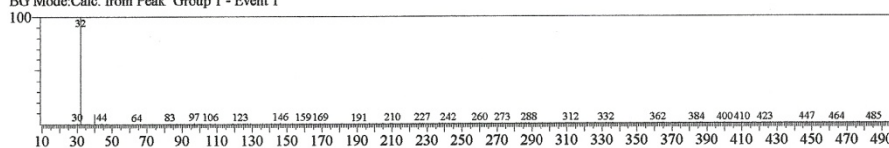
Library

<< Target >>

Line#:1 R.Time:1.008(Scan#:122) MassPeaks:213

RawMode:Averaged 1.000-1.017(121-123) BasePeak:32.05(5653)

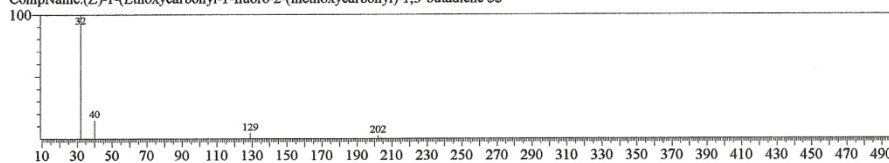
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:96870 Library:WILEY7.LIB

SI:88 Formula:C9 H11 F O4 CAS:0-00-0 MolWeight:202 RetIndex:0

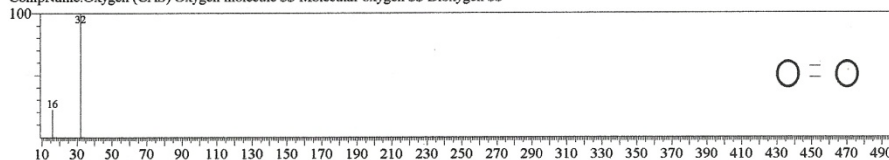
CompName:(Z)-1-(Ethoxycarbonyl-1-fluoro-2-(methoxycarbonyl)-1,3-butadiene \$\$



Hit#:2 Entry:103 Library:WILEY7.LIB

SI:86 Formula:O2 CAS:7782-44-7 MolWeight:32 RetIndex:0

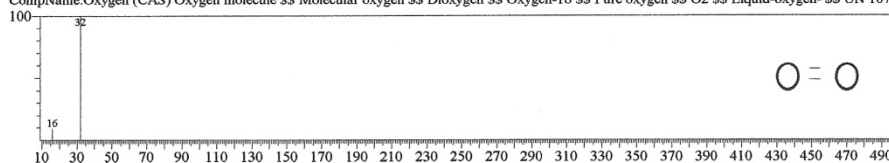
CompName:Oxygen (CAS) Oxygen molecule \$\$ Molecular oxygen \$\$ Dioxygen \$\$



Hit#:3 Entry:104 Library:WILEY7.LIB

SI:86 Formula:O2 CAS:7782-44-7 MolWeight:32 RetIndex:0

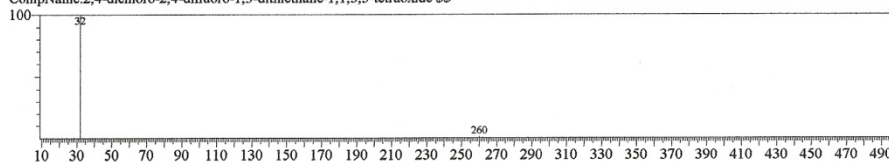
CompName:Oxygen (CAS) Oxygen molecule \$\$ Molecular oxygen \$\$ Dioxygen \$\$ Oxygen-16 \$\$ Pure oxygen \$\$ O2 \$\$ Liquid-oxygen- \$\$ UN 1072



Hit#:4 Entry:167390 Library:WILEY7.LIB

SI:86 Formula:C2 Cl2 F2 O4 S2 CAS:108319-89-7 MolWeight:260 RetIndex:0

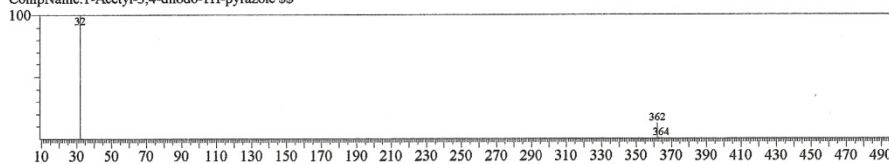
CompName:2,4-dichloro-2,4-difluoro-1,3-dithiane-1,1,3,3-tetraoxide \$\$



Hit#:5 Entry:261860 Library:WILEY7.LIB

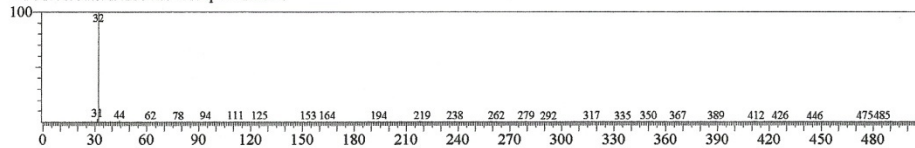
SI:84 Formula:C5 H4 I2 N2 O CAS:0-00-0 MolWeight:362 RetIndex:0

CompName:1-Acetyl-3,4-diiodo-1H-pyrazole \$\$

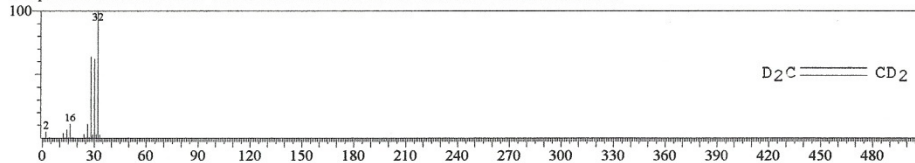


<< Target >>

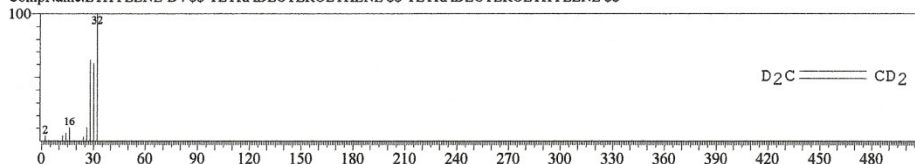
Line#:2 R.Time:1.942(Scan#:234) MassPeaks:212
 RawMode:Averaged 1.933-1.950(233-235) BasePeak:32.05(9195)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



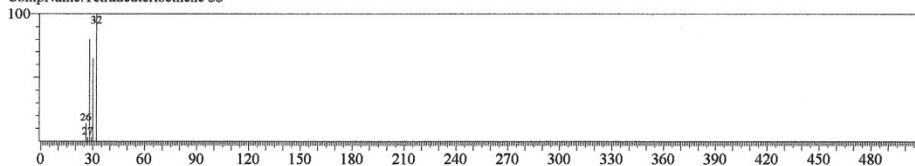
Hit#:1 Entry:50 Library:WILEY7.LIB
 SI:92 Formula:C2 D4 CAS:683-73-8 MolWeight:28 RetIndex:0
 CompName:ETHYLENE-D4 \$\$ TETRADEUTEROETHENE \$\$ TETRADEUTEROETHYLENE \$\$



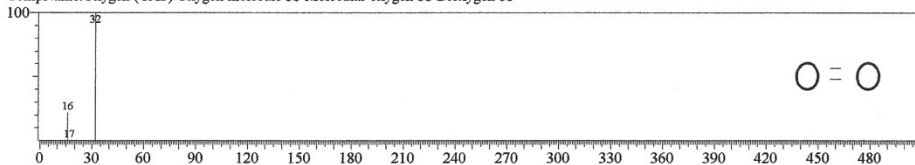
Hit#:2 Entry:51 Library:WILEY7.LIB
 SI:92 Formula:C2 D4 CAS:683-73-8 MolWeight:28 RetIndex:0
 CompName:ETHYLENE-D4 \$\$ TETRADEUTEROETHENE \$\$ TETRADEUTEROETHYLENE \$\$



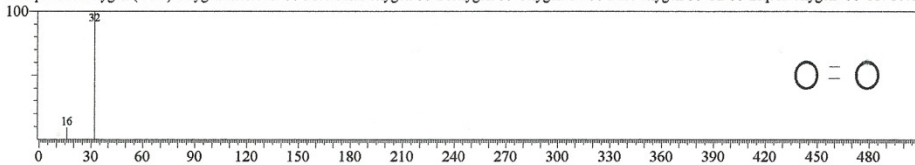
Hit#:3 Entry:34 Library:WILEY7.LIB
 SI:92 Formula:C2 D4 CAS:0-00-0 MolWeight:28 RetIndex:0
 CompName:Tetradeuterioethene \$\$



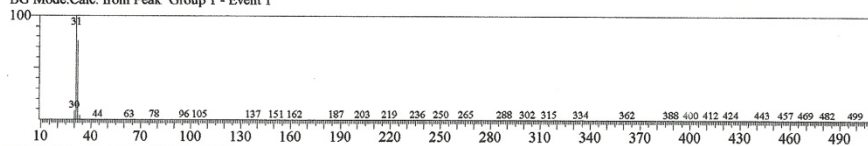
Hit#:4 Entry:103 Library:WILEY7.LIB
 SI:92 Formula:O2 CAS:7782-44-7 MolWeight:32 RetIndex:0
 CompName:Oxygen (CAS) Oxygen molecule \$\$ Molecular oxygen \$\$ Dioxygen \$\$



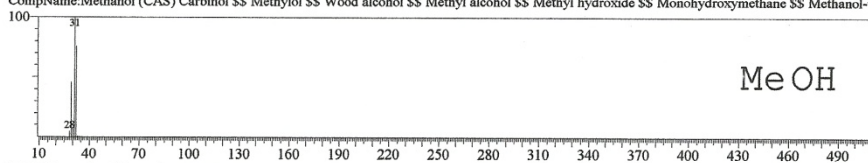
Hit#:5 Entry:104 Library:WILEY7.LIB
 SI:92 Formula:O2 CAS:7782-44-7 MolWeight:32 RetIndex:0
 CompName:Oxygen (CAS) Oxygen molecule \$\$ Molecular oxygen \$\$ Dioxygen \$\$ Oxygen-16 \$\$ Pure oxygen \$\$ O2 \$\$ Liquid-oxygen- \$\$ UN 1072



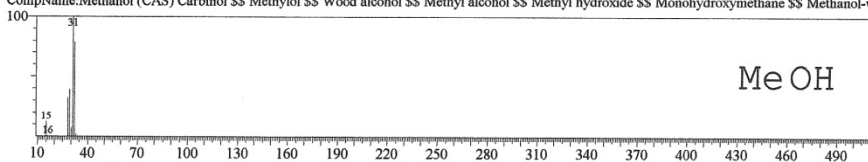
<< Target >>
 Line#:3 R.Time:2.092(Scan#:252) MassPeaks:263
 RawMode:Averaged 2.083-2.100(251-253) BasePeak:31.10(7256676)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



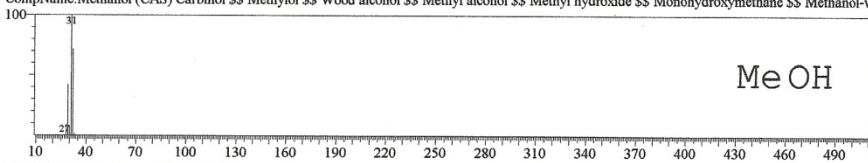
Hit#:1 Entry:93 Library:WILEY7.LIB
 SI:98 Formula:C H4 O CAS:67-56-1 MolWeight:32 RetIndex:0
 CompName:Methanol (CAS) Carbinol \$\$ Methylol \$\$ Wood alcohol \$\$ Methyl alcohol \$\$ Methyl hydroxide \$\$ Monohydroxymethane \$\$ Methanol-w



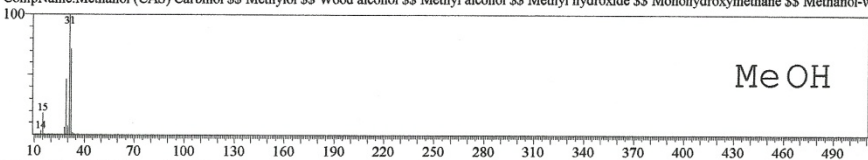
Hit#:2 Entry:94 Library:WILEY7.LIB
 SI:98 Formula:C H4 O CAS:67-56-1 MolWeight:32 RetIndex:0
 CompName:Methanol (CAS) Carbinol \$\$ Methylol \$\$ Wood alcohol \$\$ Methyl alcohol \$\$ Methyl hydroxide \$\$ Monohydroxymethane \$\$ Methanol-w



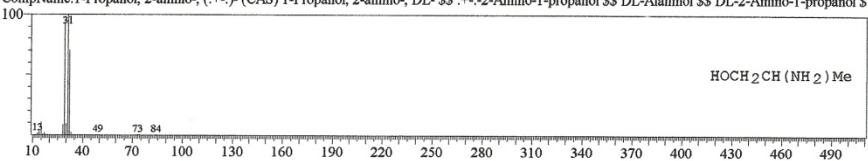
Hit#:3 Entry:90 Library:WILEY7.LIB
 SI:98 Formula:C H4 O CAS:67-56-1 MolWeight:32 RetIndex:0
 CompName:Methanol (CAS) Carbinol \$\$ Methylol \$\$ Wood alcohol \$\$ Methyl alcohol \$\$ Methyl hydroxide \$\$ Monohydroxymethane \$\$ Methanol-w



Hit#:4 Entry:91 Library:WILEY7.LIB
 SI:98 Formula:C H4 O CAS:67-56-1 MolWeight:32 RetIndex:0
 CompName:Methanol (CAS) Carbinol \$\$ Methylol \$\$ Wood alcohol \$\$ Methyl alcohol \$\$ Methyl hydroxide \$\$ Monohydroxymethane \$\$ Methanol-w

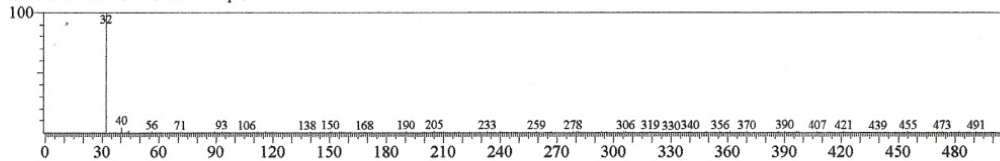


Hit#:5 Entry:1846 Library:WILEY7.LIB
 SI:97 Formula:C3 H9 N O CAS:6168-72-5 MolWeight:75 RetIndex:0
 CompName:1-Propanol, 2-amino-, (+)- (CAS) 1-Propanol, 2-amino-, DL- \$\$ +- -2-Amino-1-propanol \$\$ DL-Alaninol \$\$ DL-2-Amino-1-propanol \$

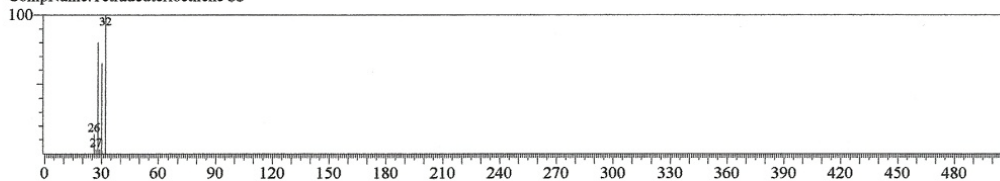


<< Target >>

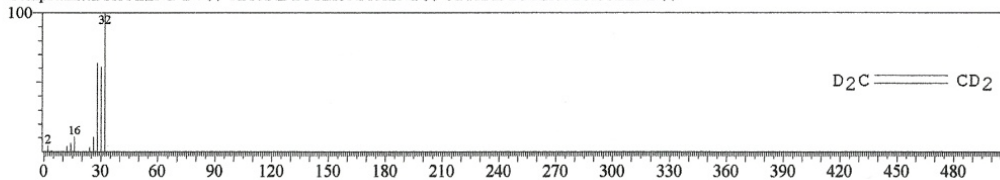
Line#:4 R.Time:2.342(Scan#:282) MassPeaks:233
 RawMode:Averaged 2.333-2.350(281-283) BasePeak:32.05(4225)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



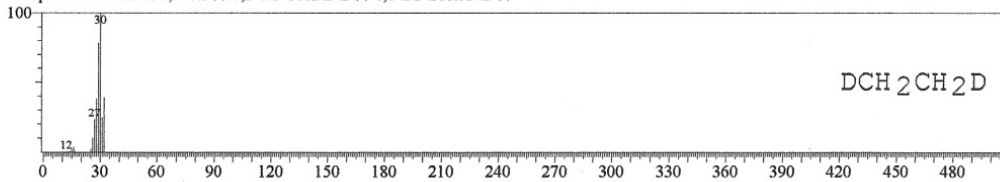
Hit#:1 Entry:34 Library:WILEY7.LIB
 SI:84 Formula:C2 D4 CAS:0-00-0 MolWeight:28 RetIndex:0
 CompName:Tetrauterioethene \$\$



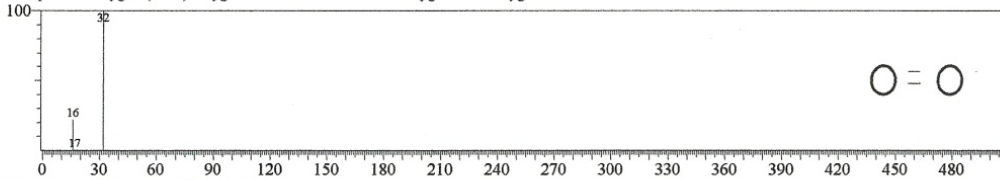
Hit#:2 Entry:51 Library:WILEY7.LIB
 SI:84 Formula:C2 D4 CAS:683-73-8 MolWeight:28 RetIndex:0
 CompName:ETHYLENE-D4 \$\$ TETRADEUTEROETHENE \$\$ TETRADEUTEROETHYLENE \$\$



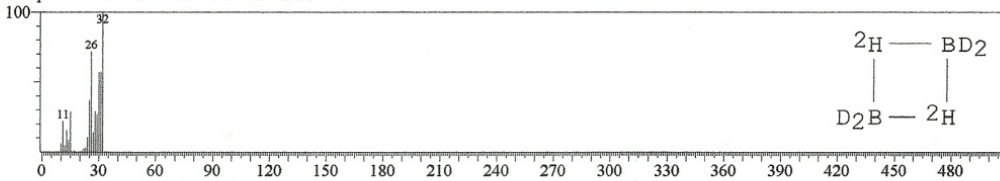
Hit#:3 Entry:69 Library:WILEY7.LIB
 SI:84 Formula:C2 H4 D2 CAS:5177-70-8 MolWeight:30 RetIndex:0
 CompName:ETHANE-1,2-D2 \$\$ 1,2-D2-ETHANE \$\$ 1,1-D2-ETHANE \$\$



Hit#:4 Entry:103 Library:WILEY7.LIB
 SI:84 Formula:O2 CAS:7782-44-7 MolWeight:32 RetIndex:0
 CompName:Oxygen (CAS) Oxygen molecule \$\$ Molecular oxygen \$\$ Dioxygen \$\$

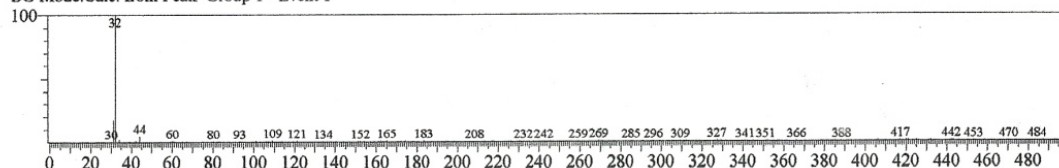


Hit#:5 Entry:30 Library:WILEY7.LIB
 SI:84 Formula:B2 D6 CAS:20396-66-1 MolWeight:28 RetIndex:0
 CompName:HEXADEUTERODIBORANE \$\$

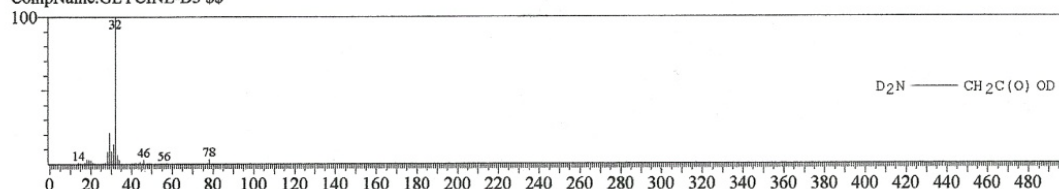


<< Target >>

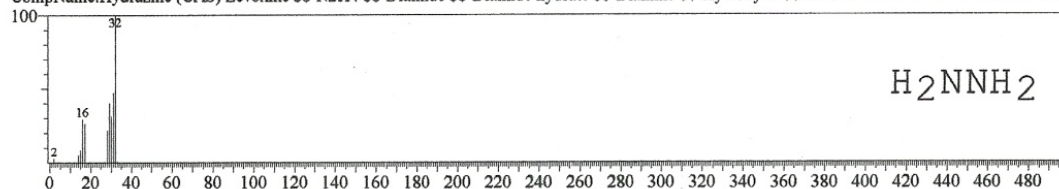
Line#:5 R.Time:2.983(Scan#:359) MassPeaks:208
 RawMode:Averaged 2.975-2.992(358-360) BasePeak:32.05(4819)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



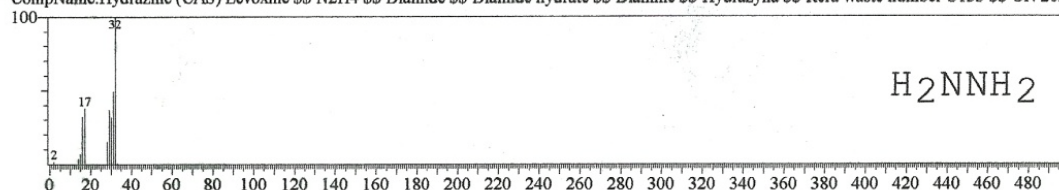
Hit#:1 Entry:1839 Library:WILEY7.LIB
 SI:85 Formula:C2 H2 D3 N O2 CAS:4896-76-8 MolWeight:75 RetIndex:0
 CompName:GLYCINE-D3 \$\$



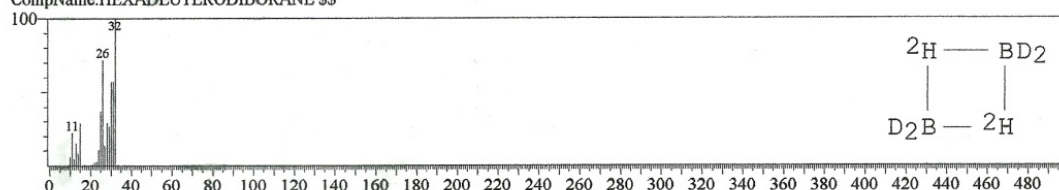
Hit#:2 Entry:100 Library:WILEY7.LIB
 SI:83 Formula:H4 N2 CAS:302-01-2 MolWeight:32 RetIndex:0
 CompName:Hydrazine (CAS) Levoxine \$\$ N2H4 \$\$ Diamide \$\$ Diamide hydrate \$\$ Diamine \$\$ Hydrazyna \$\$ Rora waste number U133 \$\$ UN 2029



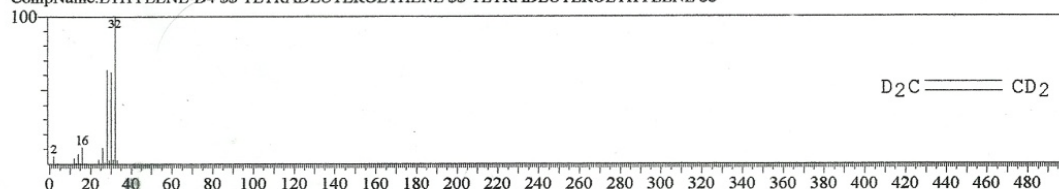
Hit#:3 Entry:99 Library:WILEY7.LIB
 SI:83 Formula:H4 N2 CAS:302-01-2 MolWeight:32 RetIndex:0
 CompName:Hydrazine (CAS) Levoxine \$\$ N2H4 \$\$ Diamide \$\$ Diamide hydrate \$\$ Diamine \$\$ Hydrazyna \$\$ Rora waste number U133 \$\$ UN 2029



Hit#:4 Entry:30 Library:WILEY7.LIB
 SI:83 Formula:B2 D6 CAS:20396-66-1 MolWeight:28 RetIndex:0
 CompName:HEXADEUTERODIBORANE \$\$

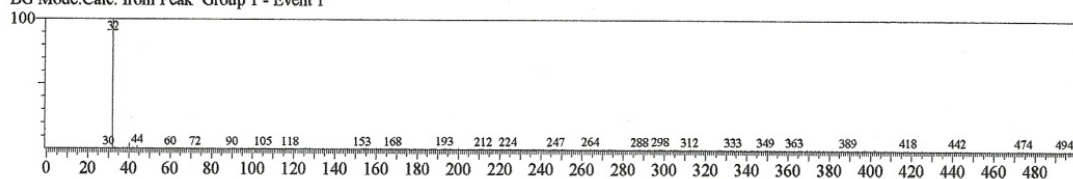


Hit#:5 Entry:50 Library:WILEY7.LIB
 SI:83 Formula:C2 D4 CAS:683-73-8 MolWeight:28 RetIndex:0
 CompName:ETHYLENE-D4 \$\$ TETRADEUTEROETHENE \$\$ TETRADEUTEROETHYLENE \$\$



<< Target >>

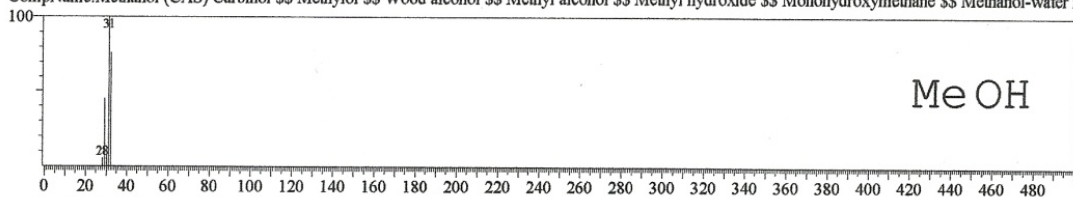
Line#:6 R.Time:4.817(Scan#:579) MassPeaks:240
 RawMode:Averaged 4.808-4.825(578-580) BasePeak:32.05(5763)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:93 Library:WILEY7.LIB

SI:87 Formula:C H4 O CAS:67-56-1 MolWeight:32 RetIndex:0

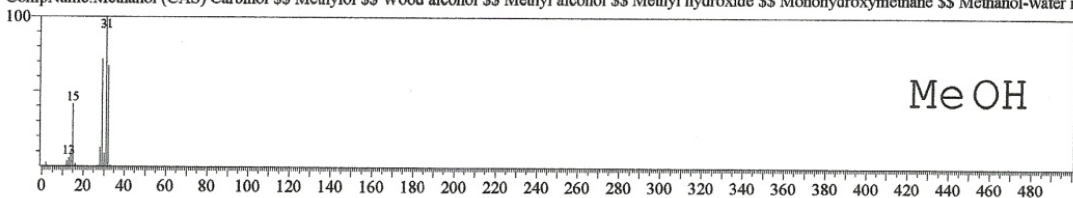
CompName:Methanol (CAS) Carbinol \$\$ Methylol \$\$ Wood alcohol \$\$ Methyl alcohol \$\$ Methyl hydroxide \$\$ Monohydroxymethane \$\$ Methanol-water r



Hit#:2 Entry:96 Library:WILEY7.LIB

SI:87 Formula:C H4 O CAS:67-56-1 MolWeight:32 RetIndex:0

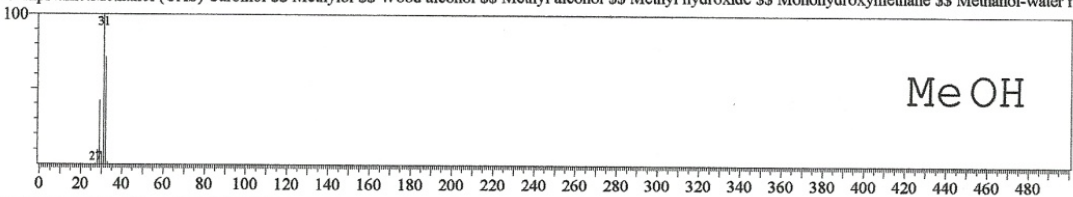
CompName:Methanol (CAS) Carbinol \$\$ Methylol \$\$ Wood alcohol \$\$ Methyl alcohol \$\$ Methyl hydroxide \$\$ Monohydroxymethane \$\$ Methanol-water r



Hit#:3 Entry:90 Library:WILEY7.LIB

SI:87 Formula:C H4 O CAS:67-56-1 MolWeight:32 RetIndex:0

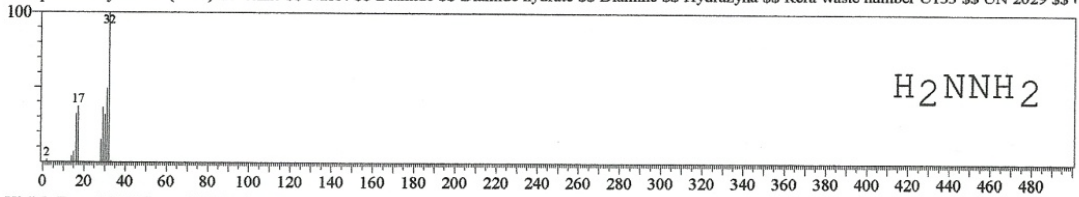
CompName:Methanol (CAS) Carbinol \$\$ Methylol \$\$ Wood alcohol \$\$ Methyl alcohol \$\$ Methyl hydroxide \$\$ Monohydroxymethane \$\$ Methanol-water r



Hit#:4 Entry:99 Library:WILEY7.LIB

SI:87 Formula:H4 N2 CAS:302-01-2 MolWeight:32 RetIndex:0

CompName:Hydrazine (CAS) Levoxine \$\$ N2H4 \$\$ Diamide \$\$ Diamide hydrate \$\$ Diamine \$\$ Hydrazyna \$\$ Rcra waste number U133 \$\$ UN 2029 \$\$ I



Hit#:5 Entry:100 Library:WILEY7.LIB

SI:87 Formula:H4 N2 CAS:302-01-2 MolWeight:32 RetIndex:0

CompName:Hydrazine (CAS) Levoxine \$\$ N2H4 \$\$ Diamide \$\$ Diamide hydrate \$\$ Diamine \$\$ Hydrazyna \$\$ Rcra waste number U133 \$\$ UN 2029 \$\$ I

