

**PENETAPAN KADAR ASIATIKOSIDA EKSTRAK SEMANGGI  
GUNUNG (*Hydrocotyle sibthorpioides* Lam.) MENGGUNAKAN  
PENYARI ETANOL 70% DENGAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS  
TIPIS (KLT) – DENSITOMETRI**

**TUGAS AKHIR**

Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi



Oleh:

Himmah Aliyah Fiddien

NIM: 115070500111009

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2015**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**PENETAPAN KADAR ASIATIKOSIDA EKSTRAK SEMANGGI GUNUNG  
(*Hydrocotyle sibthorpioides* Lam.) MENGGUNAKAN PENYARI ETANOL 70%  
DENGAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (KLT) – DENSITOMETRI**

Oleh:

Himmah Aliyah Fiddien  
NIM: 115070500111009

Telah diuji pada:  
Hari : Jum'at  
Tanggal : 31 Juli 2015  
dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

Dr. Dra. Atikah, M.Si, Apt.  
NIP. 195702081985012001

Penguji II/Pembimbing I

Penguji III/Pembimbing II

Dra. Siti Jazimah Iswarin, M.Si., Apt.  
NIP. 195107281984032001

Adeltrudis Adelsa D., S.Farm., Apt., M.Farm. Klin.  
NIK. 2013048601082001

Mengetahui,  
Kepala Program Studi Farmasi

Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., M.Si.  
NIP. 195408231981032001

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul Penetapan Kadar Asiatikosida Ekstrak Semanggi Gunung (*Hydrocotyle Sibthorpioides* Lam.) menggunakan Penyari Etanol 70% dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) – Densitometri.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa syukur dan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan saya kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Dra. Siti Jazimah Iswarin, M.Si., Apt. sebagai pembimbing pertama yang telah memberi masukan, saran, serta memberi dukungan untuk dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan Tugas Akhir ini dengan baik.
3. Adeltrudis Adelsa D., S.Farm., Apt., M.Farm. Klin. sebagai pembimbing kedua yang telah memberi bimbingan, masukan, saran, dan semangat selama proses pengerjaan Tugas Akhir ini.
4. Dr. Atikah, Apt., M.Si sebagai dosen penguji yang telah memberikan masukan dan saran untuk melengkapi Tugas Akhir ini.
5. Ika Putri Nurhayati, S.Farm., Apt. dan Bachtiar Rifa'i P.I., S.Farm., Apt. sebagai dosen yang selalu memberikan bimbingan, pengarahan, dan dukungan untuk dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
6. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan dukungan materi untuk penelitian ini.

7. Segenap Dosen dan karyawan di FKUB, khususnya dosen dan karyawan Program Studi Farmasi UB atas segala ilmu dan bantuan yang diberikan.
8. Dr. dra. Sri Winarsih., Apt., M.Si., sebagai Ketua Tim Tugas Akhir beserta segenap anggota Tim pengelola Tugas Akhir FKUB.
9. Para laboran dan analis di Laboratorium Farmasi UB, serta di Unit Layanan Pengujian Fakultas Farmasi Unair yang telah membantu saya dalam menyelesaikan penelitian ini.
10. Orang tuaku tercinta, Ummi Retnowati, S.Pd dan Abi Trisulo, S.E., M.H atas doa dan dukungan yang senantiasa tercurah untukku.
11. Saudara-saudaraku, Abdurrahman Shidqul Qudwah dan Erviana yang paling mengerti, yang selalu menghibur, menemani, dan memberikan semangat.
12. Sahabat-sahabatku, Angi Nurkhairina, Rizta Widya Pangestika, Ervina Wijayanti, Elkani Vilasari, Fauza Taqiyya, Ketut Ayu Miladewi, Jingga Recinta Nirwanarezi yang mewarnai hari-hariku selama proses perkuliahan hingga penyelesaian Tugas Akhir ini.
13. Teman-teman Farmasi Angkatan 2011, kakak-kakak dan adik-adik tingkat yang telah memberikan banyak kenangan dan pembelajaran berharga.
14. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu atas dukungan yang diberikan.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun. Penulis berharap semoga Tugas Akhir ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Malang, 28 Juni 2015

Penulis

## ABSTRAK

Fiddien, Himmah Aliyah. 2015. Penetapan Kadar Asiatikosida Ekstrak Semanggi Gunung (*Hydrocotyle sibthorpioides* Lam.) menggunakan Penyari Etanol 70% dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) – Densitometri. Tugas Akhir, Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dra. Siti Jazimah Iswarin, M.Si., Apt. (2) Adeltrudis Adelsa D.,S.Farm., Apt.,M.Farm. Klin.

Semanggi gunung (*Hydrocotyle sibthorpioides* Lam.) telah digunakan oleh masyarakat terdahulu sebagai pengobatan tradisional serta memiliki persebaran yang baik di Indonesia. Semanggi gunung diketahui memiliki manfaat untuk pengobatan demam, edema, detoksikasi, sakit tenggorokan, psoriasis, dan infeksi virus hepatitis B. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar asiatikosida yang merupakan kandungan bioaktif utama dari semanggi gunung menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)–Densitometri agar dapat dimanfaatkan dalam pembuatan obat tradisional. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan penyari etanol 70%. Validasi metode juga dilakukan pada penelitian ini untuk memastikan metode KLT-Densitometri dapat digunakan untuk penetapan kadar asiatikosida pada semanggi gunung dan memberikan hasil yang dapat dipercaya. Hasil penelitian ini menunjukkan parameter validasi yang meliputi akurasi, presisi, spesifisitas, selektivitas, linearitas, dan rentang telah memenuhi persyaratan. Pengujian linearitas menunjukkan hubungan linier dengan koefisien korelasi ( $r$ )= 0,992, pada rentang konsentrasi standard 2,58-7,75  $\mu\text{g/berkas}$  uji. Uji akurasi menunjukkan %recovery sebesar 90,496%-107,591%. Uji presisi menunjukkan %KV untuk pengulangan (*repeatability*) adalah 1,353%-1,909%, sementara %KV untuk presisi antara (*intermediate precision*) adalah 1,615%. Pengujian spesifisitas menunjukkan tidak ada bukti munculnya puncak lain, dan hasil uji selektivitas menunjukkan kemiripan spektrum yang baik antara standard dengan sampel. Hasil uji kualitatif menunjukkan  $R_f$  asiatikosida dari ekstrak semanggi gunung adalah 0,34. Hasil uji kuantitatif menunjukkan kadar asiatikosida dari ekstrak semanggi gunung sebesar 9,986%.

Kata kunci: *Hydrocotyle sibthorpioides*, semanggi gunung, asiatikosida, KLT-Densitometri, Validasi Metode.

## ABSTRACT

Fiddien, Himmah Aliyah. 2015. Determination of Asiaticoside Content in *Hydrocotyle sibthorpioides* Extract using 70% Ethanol by Thin Layer Chromatography (TLC) – Densitometry Method. Final Assignment, Pharmacy Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Dra. Siti Jazimah Iswarin, M.Si., Apt. (2) Adeltrudis Adelsa D., S.Farm., Apt., M.Farm. Klin.

*Hydrocotyle sibthorpioides* have been used as traditional medicine and can grow well in Indonesia. *Hydrocotyle sibthorpioides* used as folk remedy for the treatment of fever, edema, detoxication, throat pain, psoriasis and hepatitis B virus infections. The aim of this study is to determine levels of asiaticoside content which is a major component of *Hydrocotyle sibthorpioides* using Thin Layer Chromatography (TLC)-Densitometry method. Extraction process in this study used maceration technique with 70% ethanol as solvent. Validation of method is done to ensure that TLC-Densitometry method can be used and gives reliable result for determination of asiaticoside content in *Hydrocotyle sibthorpioides*. The results showed all validation parameter including accuracy, precision, specificity, selectivity, linearity and range were found to meet the acceptance criteria. Linearity test showed linear correlation with correlation coefficient ( $r$ ) of 0,992 with the concentration at the range of 2,58-7,75  $\mu\text{g}/\text{spot}$ . Accuracy test showed the recovery of asiaticoside was found to be in the range of 90,496%-107,591%. Precision test showed the coefficient of variation was in the range of 1,353%-1,909% for repeatability, and 1,615% for intermediate precision. Specificity test showed there were no peaks from another compounds. Selectivity test showed a good spectral similarity between standard and samples. Result of qualitative test for asiaticoside in *Hydrocotyle sibthorpioides* extract showed retention factor ( $R_f$ ) of 0,34. Quantitative test showed asiaticosida level in *Hydrocotyle sibthorpioides* was 9,986%.

Key word: *Hydrocotyle sibthorpioides*, asiaticoside, TLC-Densitometry, validation.

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Sampul .....	i
Halaman Persetujuan .....	ii
Kata Pengantar .....	iii
Abstrak .....	v
Abstract .....	vi
Daftar Isi .....	vii
Daftar Tabel .....	xi
Daftar Gambar .....	xii
Daftar Lampiran .....	xiv
Daftar Rumus .....	xv
Daftar Singkatan .....	xvi
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang Masalah .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
1.4.1 Manfaat Akademis .....	5
1.4.2 Manfaat Praktis .....	5
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Obat Tradisional .....	6
2.2 Semanggi Gunung ( <i>Hydrocotyle sibthorpioides</i> ) .....	7
2.2.1 Klasifikasi .....	7
2.2.2 Morfologi .....	8
2.2.3 Penyebaran .....	8
2.2.4 Kegunaan .....	8
2.2.5 Kandungan .....	9
2.2.6 Asiatikosida .....	10
2.3 Metode Ekstraksi .....	11
2.3.1 Jenis-Jenis Ekstraksi .....	11
2.3.1.1 Cara Dingin .....	11
2.3.1.3 Cara Panas .....	12
2.3.2 Pelarut Ekstraksi .....	13



2.4 Skrining Fitokimia.....	14
2.5 Identifikasi Senyawa Asiatikosida.....	15
2.5.1 Uji Kualitatif .....	16
2.5.1.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	16
2.5.1.2 Prinsip Kerja Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	18
2.5.2 Uji Kuantitatif .....	19
2.5.2.1 KLT – Densitometri .....	20
2.5.2.2 Prosedur KLT-Densitometri.....	20
2.5.3 Penetapan Kadar.....	21
2.6 Validasi Metode Analisis.....	21
2.6.1 Ketepatan (Akurasi).....	22
2.6.2 Keseksamaan (Presisi).....	22
2.6.3 Spesifisitas .....	23
2.6.4 Linearitas dan Rentang.....	24
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b>	
3.1 Kerangka Konsep .....	25
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN</b>	
4.1 Rancangan Penelitian .....	27
4.2 Sampel Penelitian .....	27
4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian .....	27
4.3.1 Lokasi Penelitian .....	27
4.3.2 Waktu Penelitian .....	27
4.4 Bahan dan Alat Penelitian .....	28
4.4.1 Bahan.....	28
4.4.2 Alat.....	28
4.5 Definisi Operasional .....	29
4.6 Prosedur Penelitian .....	29
4.6.1 Pembuatan Ekstrak Semanggi Gunung.....	29
4.6.2 Skrining Fitokimia .....	30
4.6.2.1 Tanin .....	30
4.6.2.2 Flavonoid.....	31
4.6.2.3 Saponin .....	32
4.6.2.4 Glikosida.....	33
4.6.2.5 Steroid .....	33

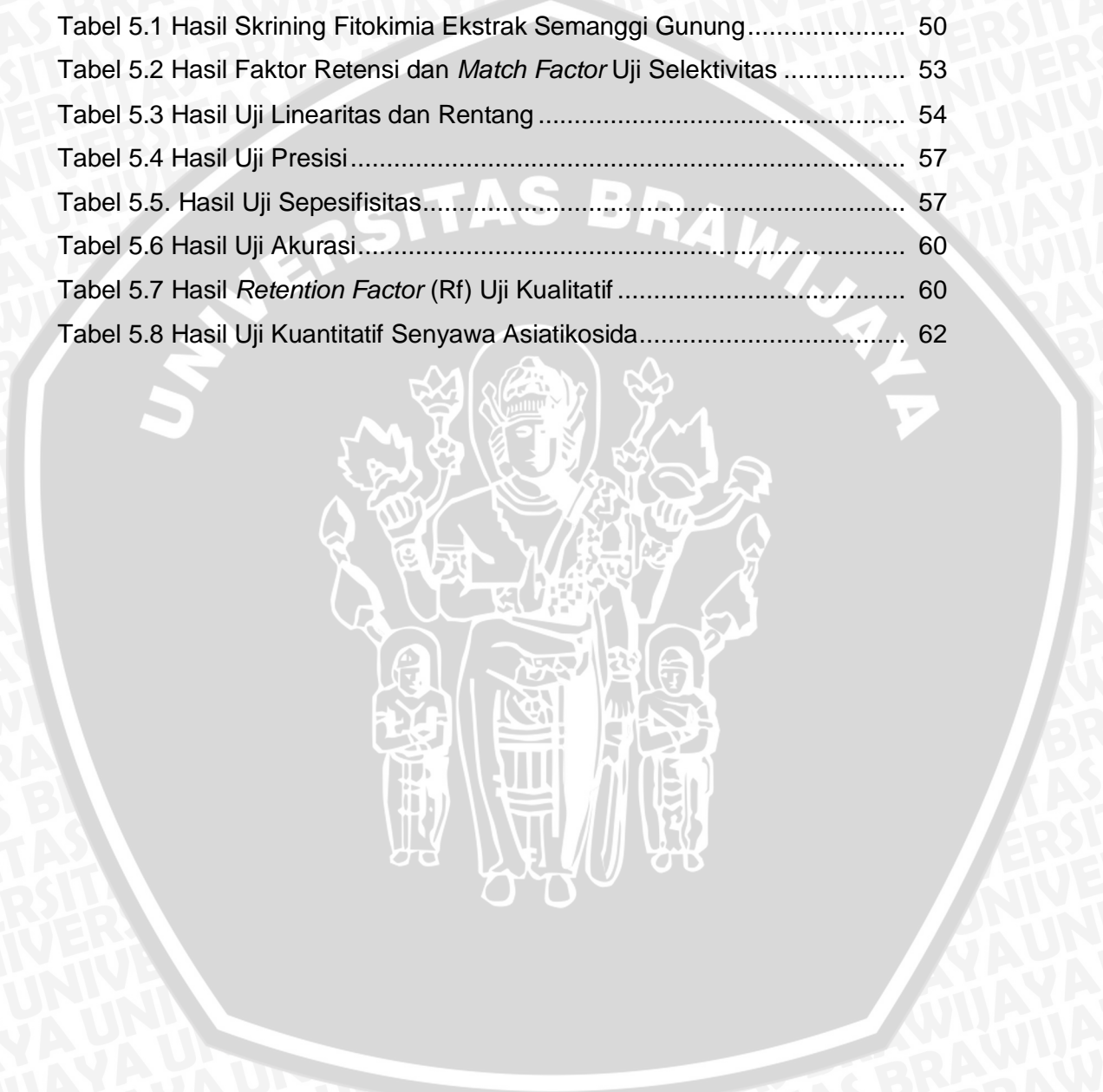


4.6.2.6 Terpenoid .....	34
4.6.2.7 Alkaloid .....	35
4.6.2.8 Glikosida Jantung .....	36
4.6.3 Validasi Metode .....	36
4.6.3.1 Preparasi Larutan Standar .....	36
4.6.3.2 Penentuan Pembuatan Seri Konsentrasi Larutan Baku .....	37
4.6.3.3 Selektivitas .....	37
4.6.3.4 Linearitas dan Rentang .....	38
4.6.3.5 Presisi .....	39
4.6.3.6 Spesifisitas .....	41
4.6.3.7 Akurasi .....	42
4.6.4 Uji Kualitatif Senyawa Asiatikosida .....	43
4.6.4.1 Preparasi Sampel .....	43
4.6.4.2 Preparasi Fase Gerak .....	44
4.6.4.3 Pengujian Kualitatif Asiatikosida .....	44
4.6.5 Uji Kuantitatif Senyawa Asiatikosida .....	45
4.7 Analisis Data .....	47
4.8 Alur Penelitian .....	48
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA</b>	
5.1 Ekstraksi .....	49
5.2 Skrining Fitokimia .....	50
5.3 Validasi Metode Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri .....	51
5.3.1 Selektivitas .....	51
5.3.2 Linearitas dan Rentang .....	54
5.3.3 Presisi .....	55
5.3.4 Spesifisitas .....	57
5.3.5 Akurasi .....	58
5.4 Uji Kualitatif Senyawa Asiatikosida .....	60
5.5 Uji Kuantitatif Senyawa Asiatikosida .....	62
<b>BAB 6 PEMBAHASAN</b>	
6.1 Pembahasan .....	64
6.1.1 Ekstraksi .....	64
6.1.2 Skrining Fitokimia .....	65

6.1.2.1 Tanin.....	65
6.1.2.2 Flavonoid.....	66
6.1.2.3 Saponin.....	67
6.1.2.4 Glikosida Jantung.....	67
6.1.2.5 Terpenoid.....	68
6.1.2.6 Steroid.....	69
6.1.2.7 Glikosida.....	69
6.1.2.8 Alkaloid.....	70
6.1.3 Validasi Metode Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri.....	73
6.1.3.1 Selektivitas.....	73
6.1.3.2 Linearitas dan Rentang.....	74
6.1.3.3 Presisi.....	74
6.1.3.4 Spesifisitas.....	75
6.1.3.5 Akurasi.....	76
6.1.4 Uji Kualitatif Senyawa Asiatikosida.....	77
6.1.5 Uji Kuantitatif Senyawa Asiatikosida.....	78
6.2 Implikasi Penelitian.....	79
6.3 Keterbatasan Penelitian.....	79
<b>BAB 7 PENUTUP</b>	
7.1 Kesimpulan.....	80
7.2 Saran.....	80
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	82
<b>LAMPIRAN</b> .....	89

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Indeks Polaritas Pelarut .....	19
Tabel 2.2 Parameter Validasi Metode .....	22
Tabel 5.1 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Semanggi Gunung.....	50
Tabel 5.2 Hasil Faktor Retensi dan <i>Match Factor</i> Uji Selektivitas .....	53
Tabel 5.3 Hasil Uji Linearitas dan Rentang .....	54
Tabel 5.4 Hasil Uji Presisi.....	57
Tabel 5.5. Hasil Uji Sepesifisitas.....	57
Tabel 5.6 Hasil Uji Akurasi.....	60
Tabel 5.7 Hasil <i>Retention Factor</i> (Rf) Uji Kualitatif .....	60
Tabel 5.8 Hasil Uji Kuantitatif Senyawa Asiatikosida.....	62



**DAFTAR GAMBAR**

Gambar 2.1 Semanggi Gunung .....	7
Gambar 2.2 Penyebaran Semanggi Gunung .....	8
Gambar 2.3 Struktur Kimia Senyawa Saponin Tipe Oleanane pada Semanggi Gunung .....	9
Gambar 2.4 Struktur Kimia Asiatikosida.....	10
Gambar 3.1 Kerangka Konsep .....	25
Gambar 4.1 Prosedur Pembuatan Ekstrak Semanggi Gunung .....	30
Gambar 4.2 Prosedur Skrining Tanin.....	31
Gambar 4.3 Prosedur Skrining Flavonoid .....	32
Gambar 4.4 Prosedur Skrining Saponin.....	33
Gambar 4.5 Prosedur Skrining Glikosida.....	33
Gambar 4.6 Prosedur Skrining Steroid .....	34
Gambar 4.7 Prosedur Skrining Terpenoid.....	34
Gambar 4.8 Prosedur Skrining Alkaloid .....	35
Gambar 4.9 Prosedur Skrining Glikosida Jantung .....	36
Gambar 4.10 Prosedur Pengujian Linearitas dan Rentang .....	39
Gambar 4.11 Prosedur Pengujian Presisi .....	40
Gambar 4.12 Proses Pengujian Spesifisitas .....	42
Gambar 4.13 Prosedur Pengujian Akurasi.....	43
Gambar 4.14 Prosedur Preparasi Sampel .....	43
Gambar 4.15 Prosedur Preparasi Fase Gerak.....	44
Gambar 4.16 Prosedur pengujian Kualitatif Asiatikosida.....	45
Gambar 4.17 Prosedur Uji Kuantitatif Senyawa Asiatikosida .....	46
Gambar 4.18 Alur Penelitian Umum .....	48
Gambar 5.1. Hasil Spektrum Uji Selektivitas.....	52
Gambar 5.2. Kurva Baku Linearitas Standard Asiatikosida .....	55
Gambar 5.3 Kurva Baku Presisi Hari 1 .....	56
Gambar 5.4 Kurva Baku Presisi Hari 2 .....	56
Gambar 5.5 Kurva Baku Presisi Hari 3 .....	56
Gambar 5.6 Hasil Spektrum Uji Spesifisitas.....	58
Gambar 5.7 Kurva Baku untuk Uji Akurasi pada Penambahan Standard 3750 ppm dan 6250 ppm .....	59



Gambar 5.8 Kurva Baku untuk Uji Akurasi pada Penambahan  
Standard 5000 ppm..... 59

Gambar 5.9 Hasil Uji Kualitatif Senyawa Asiatikosida..... 61



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 *Timeline* Kegiatan..... 89

Lampiran 2 Rincian Hasil Optimasi Eluen..... 90

Lampiran 3 Perhitungan Indeks Polaritas Eluen ..... 102

Lampiran 4 Perhitungan Presisi..... 103

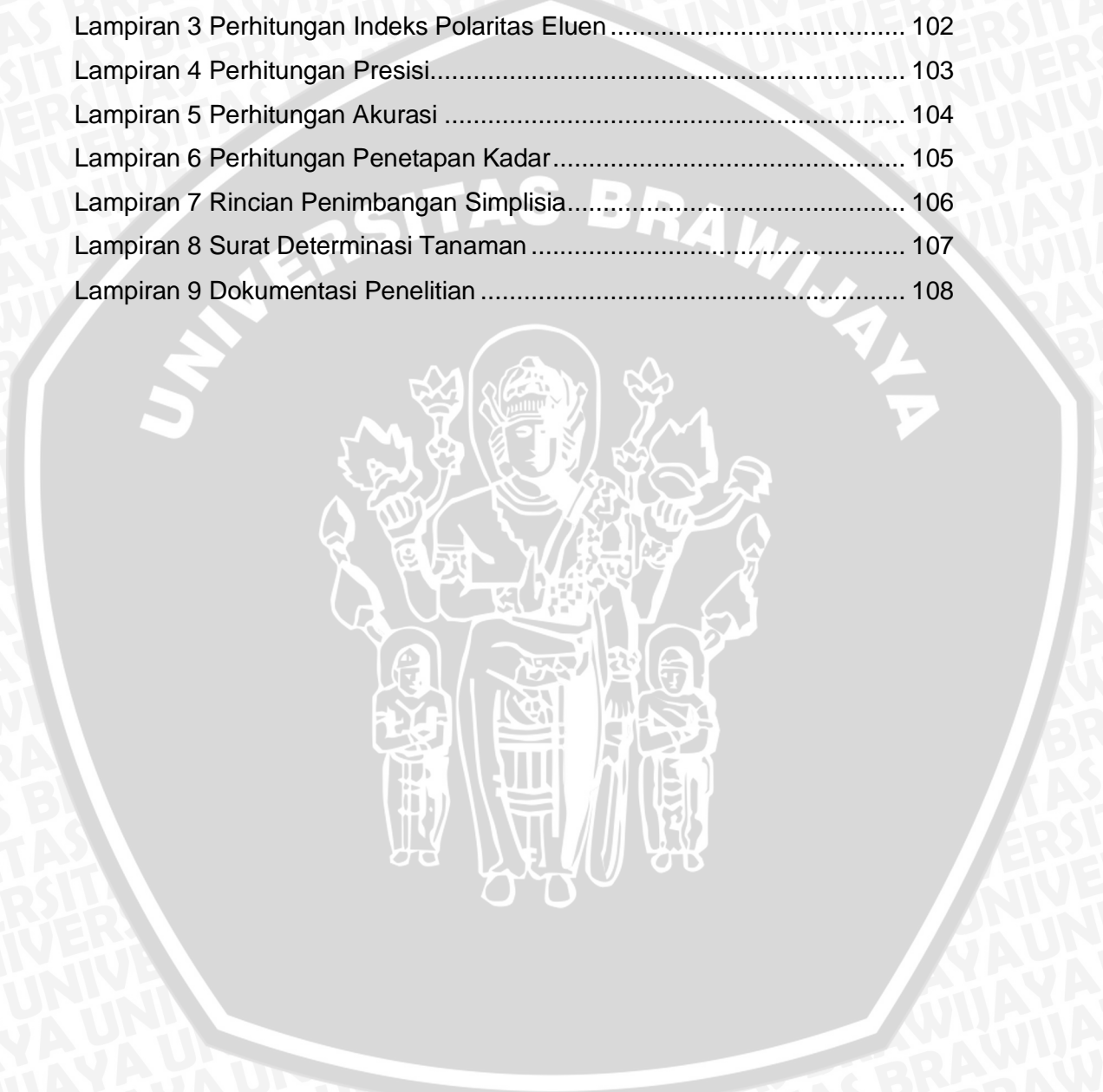
Lampiran 5 Perhitungan Akurasi ..... 104

Lampiran 6 Perhitungan Penetapan Kadar..... 105

Lampiran 7 Rincian Penimbangan Simplisia..... 106

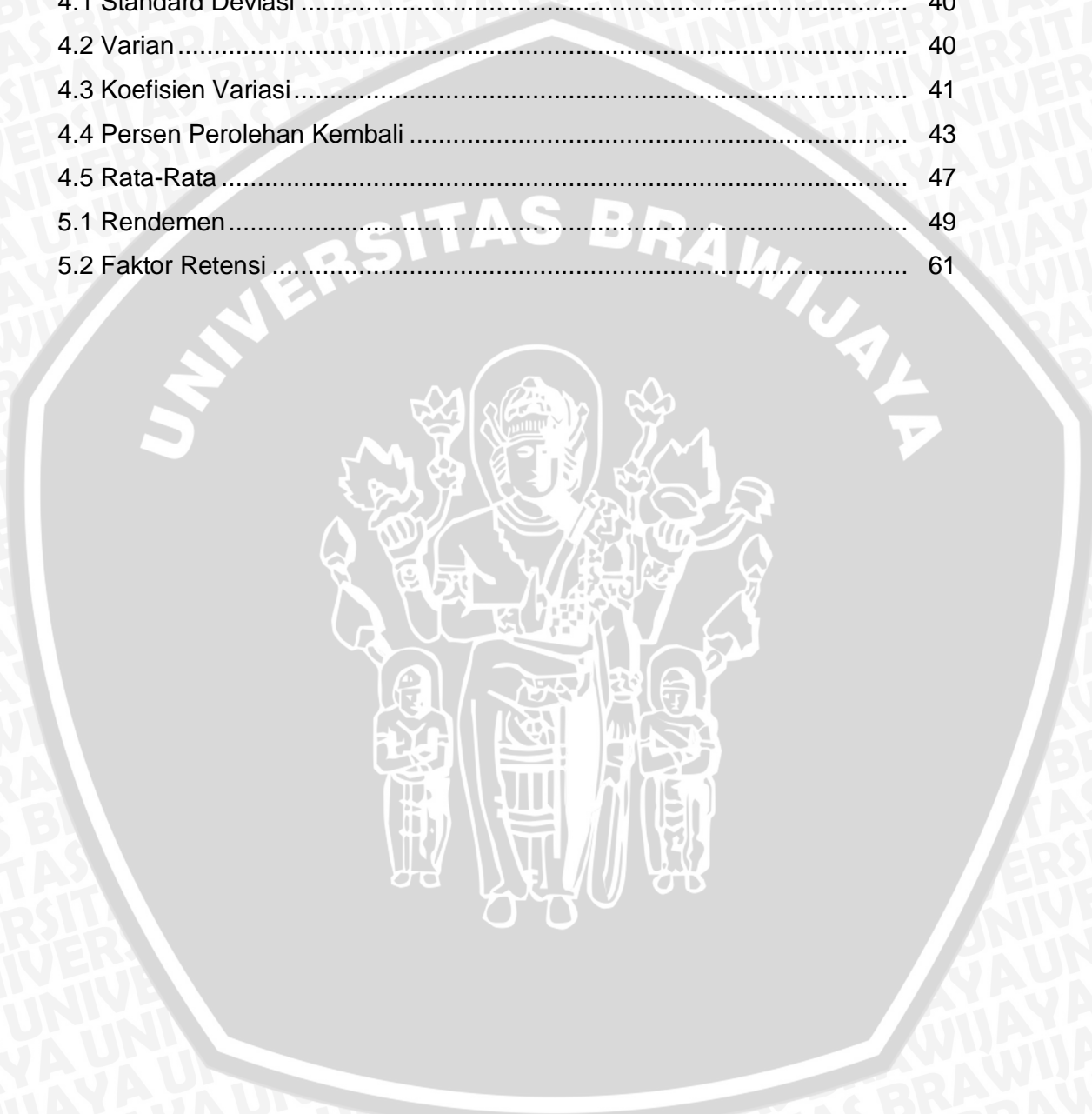
Lampiran 8 Surat Determinasi Tanaman ..... 107

Lampiran 9 Dokumentasi Penelitian ..... 108



DAFTAR RUMUS

2.1 Indeks Polaritas Campuran .....	18
4.1 Standard Deviasi .....	40
4.2 Varian .....	40
4.3 Koefisien Variasi .....	41
4.4 Persen Perolehan Kembali .....	43
4.5 Rata-Rata .....	47
5.1 Rendemen .....	49
5.2 Faktor Retensi .....	61



## DAFTAR SINGKATAN

AUC	: Area Under Curve
$\mu\text{g}$	: Mikrogram
$\mu\text{l}$	: Mikroliter
$^{\circ}\text{C}$	: Derajat Celcius
Al	: Aluminum Iodida
AU	: Arbitrary Unit
cm	: Sentimeter
DILI	: <i>Drug Induced Liver Injury</i>
$\text{FeCl}_3$	: Ferric Chloride
$\text{H}_2\text{SO}_4$	: Asam Sulfat
HPLC	: <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
KLT	: Kromatografi Lapis Tipis
KV	: Koefisien Varian
KV	: Koefisien Korelasi
Lam	: Lamarck
mdpl	: Meter Di Atas Permukaan Laut
mg	: Miligram
ml	: Mililiter
NaCl	: Natrium Chloride
NaOH	: Natrium Hidroksida
ng	: Nanogram
nm	: Nanometer
No.	: Nomer
pH	: Minus Logaritma Konsentrasi Ion Hidrogen
ppm	: Part Per Million
r	: Koefisien Korelasi
$r^2$	: Koefisien Determinasi
Rf	: Retention Factor
rpm	: Rotation Per Minute
SD	: Standard Deviasi
UV	: Ultraviolet



UV-Vis : Ultraviolet visible  
v/v : Volume per volume

