

STANDARDISASI SIMPLISIA DARI BUAH MIANA (*Plectranthus Seutellaroides (L) R.Bth*) YANG BERASAL DARI 3 TEMPAT TUMBUH MENADO, KUPANG DAN PAPUA

D.Mutiatikum, Sukmayati Alegantina dan Yun Astuti

Puslitbang Biomedis dan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan

Abstract. Herbal medicine industries are growing rapidly in Indonesia, therefore, medicinal plant as a raw material is needed. Standardization of raw materials and detection of finger print of chemical compounds is the requirements to obtain a good quality of raw material. Standardization of raw material includes characterization, screening of phytochemical, fractionation of the extract followed by the detection of chemical compounds by TLC (Thin Layer Chromatography) and the detection of finger print by Densitometre. In this study, the chemical compounds from the medicinal plant obtained from three different places were determined. The results shown that tannin is the marker and the finger print from each fractions (e.g. n-hexan, ethyl acetate and ethanol) has a similar chromatogram.

Key words : Standardisasi simplisia, Miana (*Plectranthus Seutellaroides (L) R.Bth*)

PENDAHULUAN

Tanaman obat sebagai bahan baku obat sangat dibutuhkan di Indonesia, seiring dengan berkembangnya industri jamu atau obat tradisional dan meningkatnya pemasaran pada industri jamu atau obat tradisional merupakan peluang untuk pengembangan tanaman obat-obatan, sedangkan prospek pengembangan tanaman obat pada masa-masa mendatang cukup baik mengingat bahwa keadaan tanah dan iklim di Indonesia sangat baik untuk pengembangan beberapa jenis tanaman obat. ⁽¹⁾ Penggunaan Bahan baku atau simplisia harus distandarkan, supaya keberulangnya terjamin ini kaitannya dengan zat identitas, *Fingerprint* dan komposisi kandungan kimia yang spesifikasinya terdapat dalam monografi sebagai persyaratan mutu yang tercantum dalam *Materia Medika Indonesia*. ⁽²⁾

Bahan baku yang berasal dari daun harus diperlakukan secara hati-hati, untuk melindungi aroma dan warna aslinya serta kandungan senyawa-senyawa yang ada. Untuk memperkecil kehilangan senyawa-senyawa yang mudah menguap. Tanaman iler (*Coleus atropurpureus Benth*), dengan nama daerah miana, jawer kotok tergolong ke dalam famili *Labiatae* adalah tumbuhan liar diladang atau di kebun - kebun sebagai tanaman hias. Berbatang basah yang tingginya mencapai 1 meter. Daunnya berbentuk segitiga atau bentuk bulat telur dengan warna yang sangat bervariasi dari hijau hingga merah ungu berbulu, dan tepinya beringgit. Bungannya berwarna merah atau ungu atau kuning. Tanaman iler memiliki secara empiris efek farmakologis antara lain sebagai peluruh haid, penambah nafsu makan, menetralkan racun, menghilangkan gumpalan darah,

dan juga obat cacing. Bagian yang digunakan adalah daunnya, senyawa kimia yang terkandung dalam daun iler (miana) adalah golongan minyak atsiri, flavonoid, steroid, tannin dan saponin.^(3,4)Penggunaan daun miana di Menado digunakan sebagai obat malaria dengan jalan mencampurnya dengan buah sirih dan madu. ^(5,6) Tujuan standarisasi simplisia adalah menentukan *fingerprint* untuk menjamin keberulangan dari suatu simplisia. Sampel diambil dari 3 tempat yaitu Menado, Papua dan Kupang.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan

Simplisia daun miana berupa daun segar yang diambil dari pekarangan rumah penduduk di pedesaan yang berasal dari Menado, Kupang dan Papua.

Etanol 70%, *n- hexan pa*, etil acetal *pa*, kloroform *pa*, metanol *pa*, toquen *pa*, asam indigo sulfonat LP, kalium permanganat 0,1 N,

Alat

Alat-alat gelas, tangas air, seperangkat alat KLT, Timbangan merek Precisa XT 220 A, Rotary evaporator Buchi R -114, Waterbath SBS Oven merk Heraeus Spektrofotometer UV (Camag), Densitometer Schimadzu CS 9301 PC.

Cara Kerja. ^(2,7)

Pembuatan Simplisia

Sampel daun segar dikeringkan di oven dengan suhu 37° C sampai kering selama 2 hari, kemudian dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan dengan ukuran Mers 40. Sampel dianalisa sesuai pedoman dari Materia Medika Indonesia dan Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat .

Fraksinasi ekstrak

Timbang 5 g serbuk miana kemudian di ekstraksi 4 kali dengan menggunakan pelarut *n- hexan* @ 25 ml hingga diperoleh fraksi *n- hexan* 100 ml. Ampas disari kembali sebanyak 4 kali menggunakan etil asetat @ 25 ml hingga diperoleh fraksi etil asetat 100 ml. Selanjutnya ampas disari kembali sebanyak 4 kali menggunakan etanol @ 25 ml hingga diperoleh 100 ml. Masing-masing fraksi dipekatkan menggunakan tangas air hingga kering, kemudian dilarutkan dengan 10 ml pelarutnya . Larutan siap untuk KLT

Skrining Fitokimia

Skrining Fitokimia untuk mengetahui golongan kimia dengan menguji secara kualitatif adanya senyawa kimia tanin, tanin katekat, saponin , steroid, terpenoid, flavonoid dan alkaloid.

1. Penentuan senyawa Tanin

10 gram serbuk miana tambah 100 ml air dididihkan selama 15 menit, saring filtratnya direaksikan dengan FeCl₃ 1% terbentuk warna biru tua atau hitam kehijauan.

2. Tanin katekat

a. Filtrat seperti diatas + pereaksi Stiansny (campuran 2 bagian formalin 30% v/v dengan 1 bagian HCl v/v) kemudian dipanaskan pada temperatur 90 ° C terbentuk endapan merah muda.

b. Hasil bagian a) disaring, filtrate dijenuhkan dengan Na acetate tambah beberapa tetes FeCl₃ 1%, larutan berubah menjadi berwarna biru tinta (hitam)

3. Saponin

0.5 gram serbuk dimasukkan dalam tabung pereaksi tambah 10 ml air panas dan dinginkan kemudian kocok dengan kuat selama 10 detik sehingga

terbentuk buih yang mantap selama 10 menit setinggi 1 sampai 10 cm, dengan penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang.

4. Steroid dan Terpenoid

Serbuk dibuat tingtur 10% dalam etanol 70%, ambil 10 ml, kemudian tambah 10 ml air tambah 2 ml Pb acetate 10%, diamkan selama 15 menit kemudian disaring. Filtrat ditampung dalam corong pisah dan dilakukan ekstraksi 3X dengan 5 ml CHCl₃. larutan CHCl₃ saring dengan melalui Na sulfat anhidrat.

Filtrat dibagi 2, uapkan CHCl₃ sampai kering, residu dilarutkan dengan beberapa tetes asam acetat tambah 3 ml campuran 50 bagian asam acetat dengan 1 bagian asam sulfat pekat sehingga larutan berwarna ungu sampai biru hijau, ini berarti Steroid positif, apabila berwarna merah/coklat berarti triterpenoid.

5. Flavonoid (menggunakan reaksi Sianidin)

Ke dalam filtrat 1) tambah 3 ml alkohol klorhidrat (campuran 2 bagian etanol 50% dengan 1 bagian HCl pekat) terbentuk warna jingga, merah sampai ungu.

6. Alkaloid

5 gram serbuk tambah 10 ml HCl 0,1 N maserasi selama 2 jam kemudian saring. 1 ml filtrat tambah 5 tetes pereaksi Dragendorf, sehingga terjadi endapan coklat kemerahan.

1 ml filtrat tambah 5 tetes pereaksi mayer terbentuk endapan putih.

Karakteristik Simplisia .⁽⁷⁾

Karakteristik Simplisia mencakup penetapan kadar air, kadar Tanin, kadar

abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar abu larut air, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol. Karakterisasi dilakukan sesuai persyaratan Materia Medika Indonesia untuk simplisia daun miana.

Penetapan Kadar Air dengan Cara Destilasi

Bersihkan tabung penerima dan pendingin dengan asam pencuci, bilas dengan air, keringkan dalam lemari pengering. Ke dalam labu kering masukan simplisia 5 g. Masukan lebih kurang 200 ml toluen kedalam labu, hubungkan alat. Tuang toluen ke dalam tabung penerima melalui alat pendingin. Panaskan labu hati-hati selama 15 menit. Setelah toluen mendidih, suling dengan kecepatan lebih kurang 2 tetes tiap detik, hingga sebagian air tersuling, kemudian naikkan kecepatan penyulingan hingga 4 tetes tiap detik. lanjutkan penyulingan selama 5 menit. Biarkan tabung penerima pendingin hingga suhu kamar. Setelah air dan toluen memisah sempurna, baca volume air. Hitung kadar air dalam persen.

Penetapan Kadar Tanin Total

Lebih kurang 2 g simplisia timbang seksama, panaskan dengan 50 ml air mendidih diatas tangas air selama 30 menit sambil diaduk. Diamkan selama beberapa menit enap tuangkan melalui segumpal kapas kedalam labu takar 250 ml. Sari sisa dengan air mendidih, saring larutan ke dalam labu takar yang sama. Ulangi penyarian beberapa kali hingga larutan bila direaksikan dengan besi (III) amonium sulfat tidak menunjukkan adanya tanin. Dinginkan cairan dan tambahkan air secukupnya hingga, 250 ml. Pipet 25 ml larutan kedalam labu 1000 ml tambahkan 750 ml air dan 25 ml asam indigo sulfonat LP, titrasi dengan kalium permanganat 0,1 N hingga larutan berwarna kuning emas. 1 ml kalium permanganat 0,1N setara

dengan 0,004157 g tanin. Lakukan percobaan blanko.

Kadar Abu Total

Lebih kurang 2 g sampai 3 g simplisia yang telah diserbuk dan ditimbang seksama, dimasukkan kedalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara, ratakan. Pijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, dinginkan, timbang. Jika cara ini arang tidak dapat dihilangkan, tambahkan air panas, saring melalui kertas saring bebas abu. Pijarkan sisa kertas dan kertas saring dalam krus yang sama. Masukkan filtrat kedalam krus, uapkan, pijarkan hingga bobot tetap, timbang. Hitung kadar abu terhadap bahan yang telah dikeringkan diudara.

Kadar Abu Tidak Larut Asam

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu, didihkan dengan 25 ml asam sulfat encer P selama 5 menit, kumpulkan bagian yang tidak larut asam, saring melalui krus kaca masir atau kertas saring bebas abu, cuci dengan air panas, pijarkan hingga bobot tetap, timbang. Hitung kadar abu yang tidak larut asam terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara.

Kadar Abu Larut Air

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu, didihkan dengan 25 ml air selama 5 menit, kumpulkan bagian yang tidak larut, saring melalui krus kaca masir atau kertas saring bebas abu, cuci dengan air panas dan pijarkan selama 15 menit pada suhu tidak lebih dari 450°C, hingga bobot tetap, timbang. Perbedaan bobot sesuai dengan jumlah abu yang larut dalam air. Hitung kadar abu yang larut dalam air terhadap bahan yang dikeringkan di udara.

Kadar Sari Larut Air

Maserasi sejumlah 5,0 g simplisia selama 24 jam dengan 100 ml air kloroform LP menggunakan labu bersumbat

sambil berkali-kali dikocok selama 18 jam. Saring, uapkan 20 ml filtrat hingga kering dalam cawan dangkal berdasarkan rata yang telah ditara, panaskan residu pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Hitung kadar dalam persen senyawa yang larut dalam air, dihitung terhadap ekstrak awal.

Kadar Sari Larut Etanol

Maserasi sejumlah 5,0 g ekstrak selama 24 jam 100 ml etanol (95%), menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 5 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Saring cepat dengan menghindarkan penguapan etanol, kemudian uapkan 20 ml filtrat hingga kering dalam cawan dangkal berdasarkan rata yang telah ditara, panaskan residu pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Hitung kadar dalam persen senyawa yang larut dalam etanol (95%), dihitung terhadap ekstrak awal.

Karakterisasi Ekstrak

Karakterisasi ekstrak mencakup karakterisasi spesifik yang terdiri dari pemeriksaan pola kromatografi ekstrak berdasarkan polaritas pelarut dengan cara kromatografi lapis tipis (KLT) dan Densitometri untuk *Finger Print*.

Cuplikan : Fraksi *n*-hexan

Fase diam : Silika gel GF 254

Fase gerak : Hexan : etil asetat = (75 : 25)

Sistem KLT untuk fraksi non polar

Cuplikan : Fraksi etil asetat

Fase diam : Silika gel GF 254

Fase gerak : Kloroform : Methanol : air (65 : 25 : 4)

Sistem KLT untuk fraksi polar

Cuplikan : Fraksi Etanol

Fase diam : Silika gel GF 254

Fase gerak : Kloroform : Ethanol (95 : 5)

Sistem KLT untuk fraksi polar

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengujian simplisia daun miana (Tabel 1), susut pengeringan bertujuan untuk melihat senyawa yang hilang pada proses pengeringan nilainya antara 5,52% - 10,03 %, nilai ini bervariasi karena kemungkinan tidak sama proses pengeringannya atau adanya kontaminasi. Hasil pemeriksaan kadar air yang berasal dari 3 kota yaitu Menado, Kupang dan Papua antara 9,7 – 11,91 % , simplisia yang berasal dari Kupang kadar airnya melebihi dari 10 %, hal ini mungkin disebabkan karena pada proses pengeringan kurang kering. Tujuan pemeriksaan kadar air adalah untuk memberi batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air dalam bahan (simplisia), makin tinggi kadar air, makin mudah untuk ditumbuhi jamur, kapang dan sehingga dapat menurunkan aktivitas biologi simplisia dalam masa penyimpanan. Kadar air tergantung pada waktu pengeringan simplisia makin kering, makin kecil kadar airnya.

Tanin dapat digunakan sebagai marker atau zat identitas untuk tanaman miana, kadar tanin yang ditentukan adalah tanin total. Pada penetapan kadar abu digunakan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak terkait dengan kemurnian dan kontaminasi.

Kadar abu yang tidak larut asam merupakan rangkaian dari pemeriksaan kadar abu, sedangkan kadar sari larut etanol makin banyak yang terlarut makin baik. (parameter ekstrak). Dari tabel tersebut diatas dapat dilihat bahwa dari hasil uji dari 3 tempat tumbuh tidak sama kemungkinan hal ini dipengaruhi oleh variabel bibit, tempat tumbuh, iklim, kondisi (umur dan cara) panen, serta proses pasca panen dan preparasi akhir

seperti pengeringan dan pengayakan. Proses pemanenan dan preparasi simplisia merupakan proses yang dapat menentukan mutu simplisia. Standardisasi simplisia sebagai bahan baku harus memenuhi persyaratan yang tercantum dalam monografi terbitan resmi Departemen Kesehatan (Materia Medika Indonesia).

Hasil skrining Fitokimia Simplisia Daun Miana terdeteksi golongan senyawa tanin, tanin katekat, saponin, terpenoid, flavonoid dan turunan kinon pada semua simplisia yang berasal dari Menado, Kupang dan Papua. Sesuai dengan pustaka bahwa kandungan kimia daun iler (miana) adalah golongan minyak atsiri, flavonoid, steroid, tanin dan saponin.

Tanin dapat digunakan sebagai marker atau zat identitas untuk tanaman miana. Penggolongan tanin tumbuhan terdiri dari tanin terkondensasi (strukturnya oligomer katekin dan flavon 3,4-diol, Tanin terhidrolisa (strukturnya ester asam galat dan glukosa) dan Prototanin (struktur katekin dan galokatekin). Identifikasi tanin yang ditentukan merupakan tannin total. (8,9)

Golongan senyawa flavonol sangat tersebar dalam tumbuhan, baik bagi ko-pigman antosianin dalam daun, bunga maupun dalam tumbuhan tinggi. Dalam tumbuhan terdapat banyak sekali glikosida flavonol.

Kuinon adalah senyawa berwarna dan mempunyai kromofor dasar seperti kromofor pada benzokuinon, yang terdiri atas dua gugus karbonil yang berkonyugasi dengan dua ikatan rangkap karbon-karbon. Hasil skrining fitokimia daun miana yang berasal dari Kupang terlihat tajam dibandingkan yang berasal dari Menado dan Papua.

Data pola kromatogram KLT dan densitometri disiapkan dari simplisia

Tabel 1. Hasil Uji Karakteristik Simplisia Daun Miana yang berasal dari Menado, Kupang dan Papua.

No	Jenis Uji	Hasil Uji (%)			Hasil MMI (%)
		Menado	Kupang	Papua	
1	Susut Pengeringan	5,52	10,03	8,16	
2	Kadar Air	9,7	11,91	9,9	≤10
3	Kadar Tanin	3,70	3,26	3,60	
4	Kadar Abu total	11,54	16,61	9,40	8
5	Kadar abu tidak larut asam	1,52	1,81	1,04	≤ 2
6	Kadar abu larut air	5,39	4,72	2,24	
7	Kadar sari larut air	19,34	17,66	15,22	≥ 22
8	Kadar sari larut etanol	17,20	16,52	16,59	≥ 5

Tabel 2 : Hasil Skrining Fitokimia Simplisia Daun Miana yang berasal dari Menado, Kupang dan Papua.

No	Golongan Senyawa Kimia	Simplisia Daun Miana		
		Menado	Kupang	Papua
	Tanin	+++	+++	+++
	Tanin Katekat	+	+	+
	Saponin	+	+	+
	Steroid	-	-	-
	Terpenoid	+	+	+
	Flavonoid	+	+	+
	Alkaloid dg Meyer	-	-	-
	Dragendorf	-	-	-
	Turunan Kinon	+	+++	++

miana kemudian difraksinasi berdasarkan polaritas pelarut mulai dari non polar (heksan), semi polar (etil asetat) dan polar (etanol). Fraksinasi dengan dengan pelarut non polar (heksan) ditujukan untuk mendeteksi senyawa terpen (Triterpenoid) dan steroid. Triterpenoid dapat digolongkan menjadi empat senyawa yaitu triterpena, steroid, saponin dan glikosida jantung. Triterpena dan steroid terdapat sebagai glikosida, terbukti dari hasil pemeriksaan

dalam penggolongan kimia terdeteksi adanya senyawa saponin dan terpenoid.⁽⁹⁾

Hasil fraksinasi ditotolkan masing - masing sebanyak 20 ul pada lempeng KLT dan sebagai fase gerak digunakan *n*-heksan : etil asetat (75:25), dengan penampak bercak sinar UV dengan panjang gelombang 245nm tampak 1 bercak yang menonjol dengan Rf 0,82 (Menado), 0,88 (Kupang) dan 0,85 (Papua). Bercak atau puncak kromatogram pada Rf tersebut

Tabel 3 : Hasil Kromatografi Lapis Tipis fraksi *n*- heksan pada 254 nm

No	Harga Rf Daun Miana secara manual			Harga Rf Daun Miana dengan Densito		
	Menado	Kupang	Papua	Menado	Kupang	Papua
1	0,22 (Coklat)		0,24 (Coklat)	0,20 (Coklat)	0,23 (Coklat)	0,20 (Coklat)
2	0,35 (Coklat)	0,39 (Coklat)	0,37 (Coklat)	0,33 (Coklat)	0,45 (Coklat)	0,32 (Coklat)
3	0,47 (Coklat)		0,50 (Coklat)	0,42 (Coklat)	0,48 (Coklat)	0,44 (Coklat)
4				0,53 (Coklat)	0,55 (Coklat)	0,55 (Coklat)
5	0,57 (Coklat)	0,55 (Coklat)	0,61 (Coklat)	0,60 (Coklat)	0,67 (Coklat)	0,65 (Coklat)
6	0,83 (Coklat)	0,92 (Coklat)	0,89 (Coklat)	0,82 (Coklat)	0,88 (Coklat)	0,85 (Coklat)
7				0,89 (Coklat)	0,98 (Coklat)	0,89 (Coklat)

dapat digunakan sebagai marker. Daun miana yang berasal dari Menado, Kupang dan Papua mempunyai Rf yang hampir sama baik dihitung secara manual maupun dengan densitometer tergambar pola kromatogram. Pada fraksi *n* – heksan yang merupakan pelarut non polar biasanya terdapat senyawa terpen sesuai dengan hasil pada Tabel 2. ⁽⁹⁾

Pada Tabel 4, kondisinya sama dengan pada Tabel 3, hanya dilihat dengan penampak bercak sinar UV dengan panjang gelombang 366 nm, disini terlihat bercak biru dengan flourensi dengan Rf 0,82 (Menado), 0,84 (Kupang) dan 0,85 (Papua) ini sebagai marker. Biasanya yang terdeteksi dengan panjang gelombang tersebut merupakan ciri dari spektrum golongan flavonoid utama. Hasil kromatogram yang merupakan “Finger print” dari daun miana yang berasal dari 3 kota, yang berasal dari Kupang dan Papua terdapat 2 kromatogram yang sama, sedangkan dari Menado ada 3 kromatogram, hal ini mungkin disebabkan perbedaan variaetas. Hasil kromatogram ini lebih baik diabsorpsi pada panjang gelombang 366 nm.

Pada Tabel 5 dan 6 adalah hasil kromatografi lapis tipis yang berasal dari fraksi etil asetat, sebagai penampak noda menggunakan spektrofometri pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Pola kromatogram (*Finger print*) yang dapat digunakan sebagai standar untuk

keberulangan pada penetapan simplista miana selanjutnya sebagai bahan baku obat. Pada fraksi etil asetat memberikan hasil dengan harga Rf yang hampir sama antara 0,78 – 0,83. Pada panjang gelombang 366 nm noda tampak lebih jelas dengan flourosensi berwarna biru, pada panjang gelombang 254 nm secara manual tidak terdeteksi sedangkan dengan alat densitometri Rf nya antara 0,84 – 0,86. Pada fraksi etil asetat ditujukan untuk mendeteksi senyawa flavonoid, sesuai dengan skrining fitokimia yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

Flavonoid merupakan senyawa yang larut dalam air, flavonoid dapat diekstraksi dengan etanol 70% dan tetap ada dalam lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter minyak bumi (Benzen). Flavonoid merupakan senyawa fenol, dengan sistem aromatik yang terkonjugasi dan karena itu menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum UV dan spektrum tampak dengan pengembang harus lebih polar. Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan, terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid dan dalam bentuk kombinasi aglikon. Flavonoid dalam ekstrak etanol dapat dipisahkan dengan cara kromatografi. ^(8,9)

Pemeriksaan flavonoid dalam ekstrak etanol dengan menggunakan kromatografi kertas dua arah kromatografi

plat berlapiskan selulosa, sebagai pembanding biasanya digunakan senyawa rutin yaitu suatu glikosida flavonol. Pemisahan

flavonoid dapat dilihat dengan sinar tampak UV 254 dan 366 nm dan verflourocensi. ^(8,9)

Tabel 4 : Hasil Kromatografi Lapis Tipis Fraksi N- Heksan Pada 366 Nm

No	Harga Rf Daun Miana secara manual			Harga Rf Daun Miana dengan Densito		
	Menado	Kupang	Papua	Menado	Kupang	Papua
1	0,21 (orange)		0,25 (orange)	0,27 (orange)	0,29 (orange)	0,29 (orange)
2	0,36 (orange)	0,38 (orange)	0,44 (orange)	0,42 (orange)	0,45 (orange)	0,44 (orange)
3	0,49 (orange)	0,52 (orange)		0,53 (orange)	0,55 (orange)	0,55 (orange)
4	0,57 (orange)		0,57 (orange)	0,60 (orange)	0,64 (orange)	0,60 (orange)
5	0,82 (Biru Fl)	0,83 (Biru Fl)	0,85 (Biru Fl)	0,82 (Biru Fl)	0,84 (Biru Fl)	0,85 (Biru Fl)

Tabel 5 : Hasil Kromatografi Lapis Tipis Fraksi Etil Asetat Pada 254 Nm

No	Harga Rf Daun Miana secara manual			Harga Rf Daun Miana dengan Densito		
	Menado	Kupang	Papua	Menado	Kupang	Papua
1	0,32(Coklat M)	0,25(Coklat M)	0,27(Coklat M)	0,31(Coklat M)	0,29(Coklat M)	0,32(Coklat M)
2	0,43(Coklat M)	0,43(Coklat M)	0,42(Coklat M)	0,38(Coklat M)	0,38(Coklat M)	0,38(Coklat M)
3	0,51(Coklat M)		0,49(Coklat M)	0,50(Coklat M)	0,47(Coklat M)	0,46(Coklat M)
4				0,69(Coklat M)	0,65(Coklat M)	0,70(Coklat M)
5				0,86(Coklat M)	0,86(Coklat M)	0,84(Coklat M)

Tabel 6 : Hasil kromatografi Lapis Tipis fraksi Etil asetat pada 366 nm

No	Harga Rf Daun Miana secara manual			Harga Rf Daun Miana dengan Densito		
	Menado	Kupang	Papua	Menado	Kupang	Papua
1	0,29 (orange)	0,28 (orange)	0,28 (orange)	0,29 (orange)	0,29 (orange)	0,25 (orange)
2	0,43 (orange)	0,44 (orange)	0,42 (orange)	0,38 (orange)	0,38 (orange)	0,38 (orange)
3	0,51 (orange)		0,51 (orange)	0,54 (orange)	0,47 (orange)	0,46 (orange)
4	0,79 (Biru Fl)	0,82 (Biru Fl)	0,78 (Biru Fl)	0,79 (Biru Fl)	0,83 (Biru Fl)	0,78 (Biru Fl)

Tabel 7 : Hasil kromatografi Lapis Tipis fraksi Etanol pada 25 nm

No	Harga Rf Daun Miana secara manual			Harga Rf Daun Miana dengan Densito		
	Menado	Kupang	Papua	Menado	Kupang	Papua
1	0,31(coklat M)			0,31(coklat M)	0,34(coklat M)	0,36(coklat M)
2	0,41(coklat M)	0,38(coklat M)	0,39(coklat M)	0,41(coklat M)	0,40(coklat M)	0,40(coklat M)
3	0,78(coklat M)	0,75(coklat M)	0,78(coklat M)	0,73(coklat M)	0,71(coklat M)	0,71(coklat M)
4	0,91(coklat M)	0,90(coklat M)	0,92(coklat M)	0,78(coklat M)	0,88(coklat M)	0,78(coklat M)
5						

Tabel 8 : Hasil kromatografi Lapis Tipis fraksi Etanol pada 366 nm

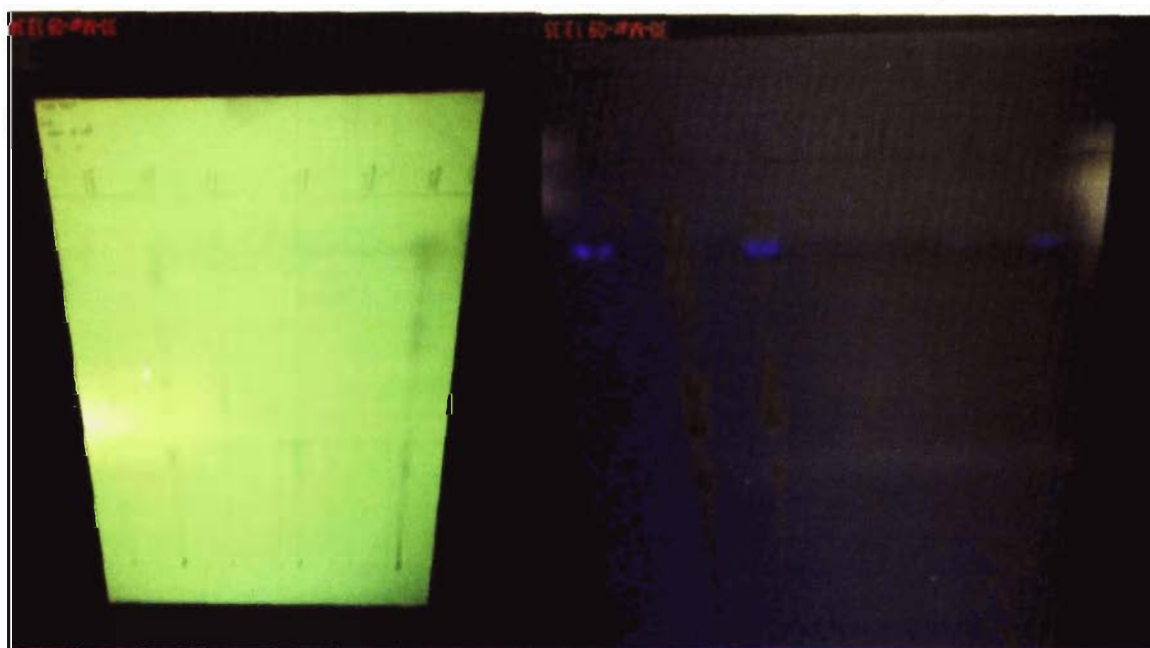
No	Harga Rf Daun Miana secara manual			Harga Rf Daun Miana dengan Densito		
	Menado	Kupang	Papua	Menado	Kupang	Papua
1				0,29 (orange)		
2	0,41 (orange)		0,41 (orange)	0,41 (orange)	0,39 (orange)	0,46 (orange)
3	0,54 (orange)		0,54 (orange)	0,54 (orange)	0,51 (orange)	0,57 (orange)
4	0,77 (orange)	0,81 (orange)	0,77 (orange)	0,78 (orange)	0,78 (orange)	0,78 (orange)
5	0,90 (orange)	0,91 (orange)	0,91 (orange)	0,90 (orange)	0,90 (orange)	0,90 (orange)

Pada Tabel 7 dan 8 adalah hasil kromatografi lapis tipis yang berasal dari fraksi etanol, sebagai penampak noda menggunakan spektrofometri pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Pada Rf 0,77 yang dihitung secara manual dan Rf 0,78 yang dihitung berdasarkan hasil kromatogram dengan densitometri dapat digunakan sebagai marker atau zat penanda untuk penenuan selanjutnya sebagai standar. Miana yang berasal dari Kupang pada fraksi ini Rfnya agak bergeser ini dapat dilihat pada gambar dibawah ini hasil kromotogram. Pada fraksi polar (etanol) ditujukan untuk men deteksi senyawa saponin dan tanin

Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol dan telah terdeteksi dalam lebih 90 suku tumbuhan. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis sel darah. Pencarian saponin dalam tumbuhan telah dirangsang oleh kebutuhan akan sumber sapogenin yang mudah diperoleh dan dapat diubah di laboratorium menjadi sterol hewan yang verkhasiat penting. Saponin jauh lebih polar daripada sapogenin karena ikatan glikosidanya dan lebih mudah dipisahkan dengan kromatogrfi kertas atau dengan KLT pada selulosa.^(8,9)

Dengan panjang gelombang 254

Dengan panjang gelombang 366



Keterangan :

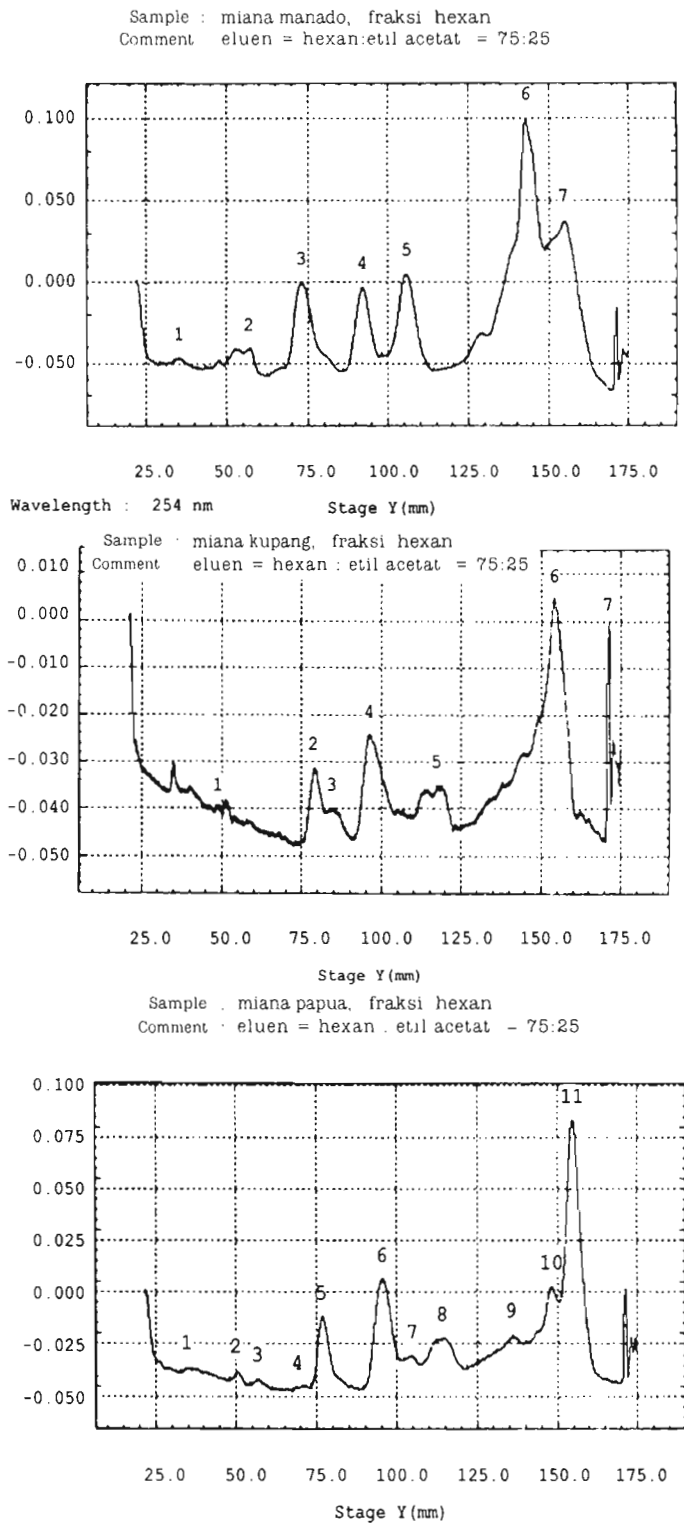
Titik 1 = miana Kupang

Titik ke 2 = miana Menado

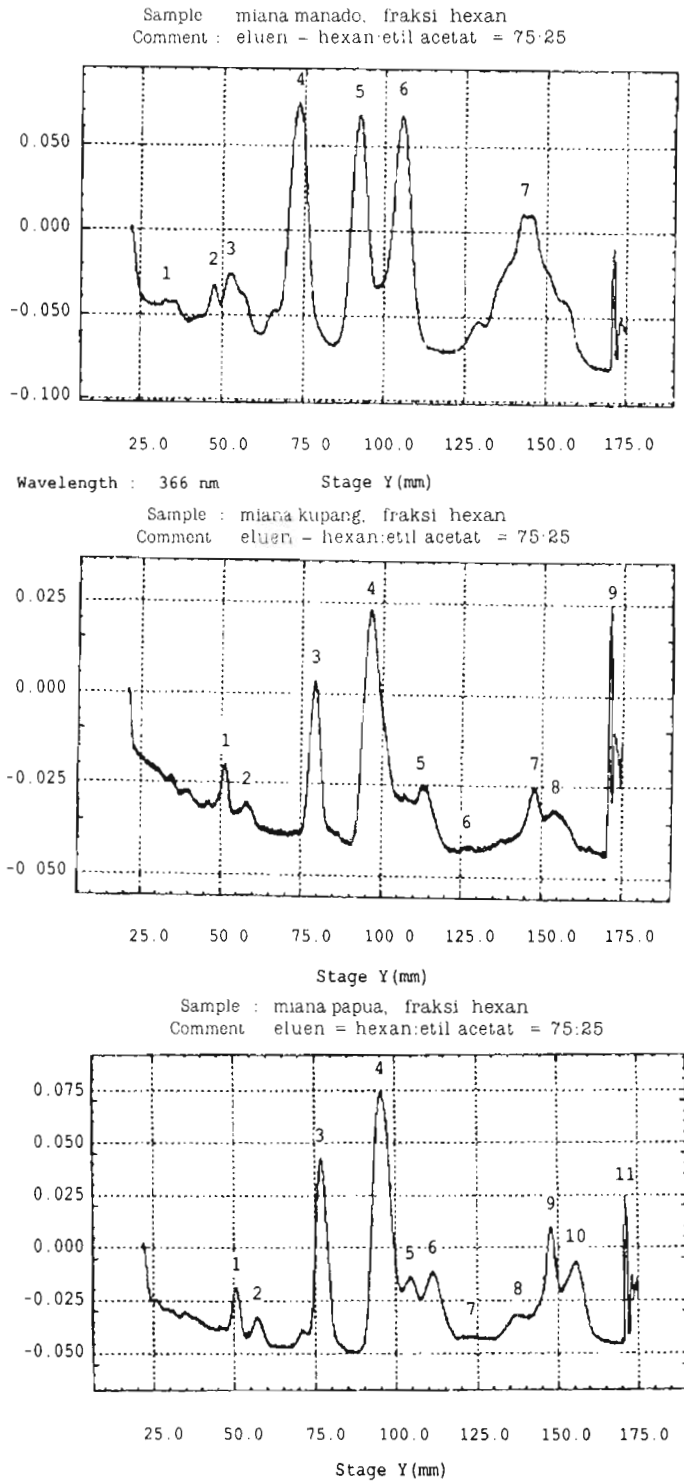
Titik ke 3 = miana Papua

Dengan fase gerak (cluen) = hexan : etil asetat = 75 : 25

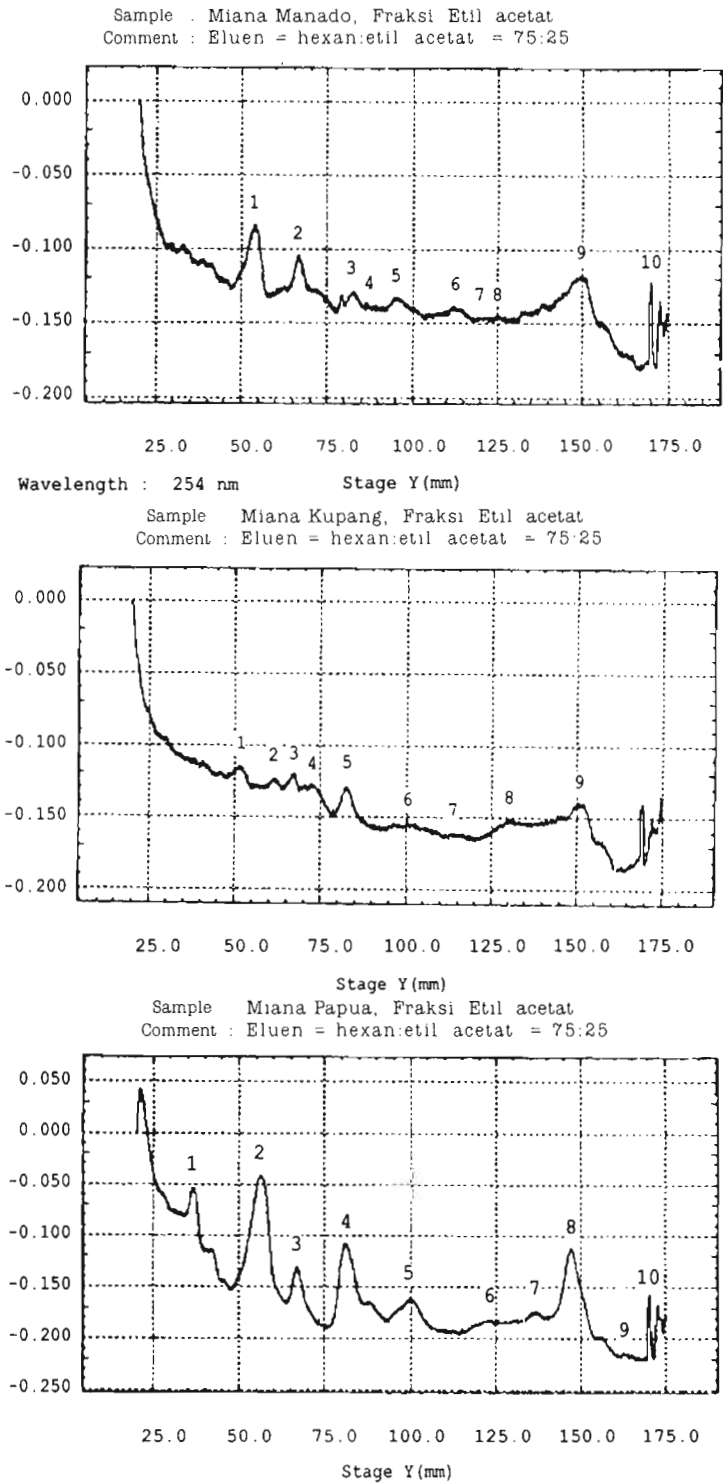
Gambar 1 Hasil kromatografi fraksi hexan yang dideteksi dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 dan 366



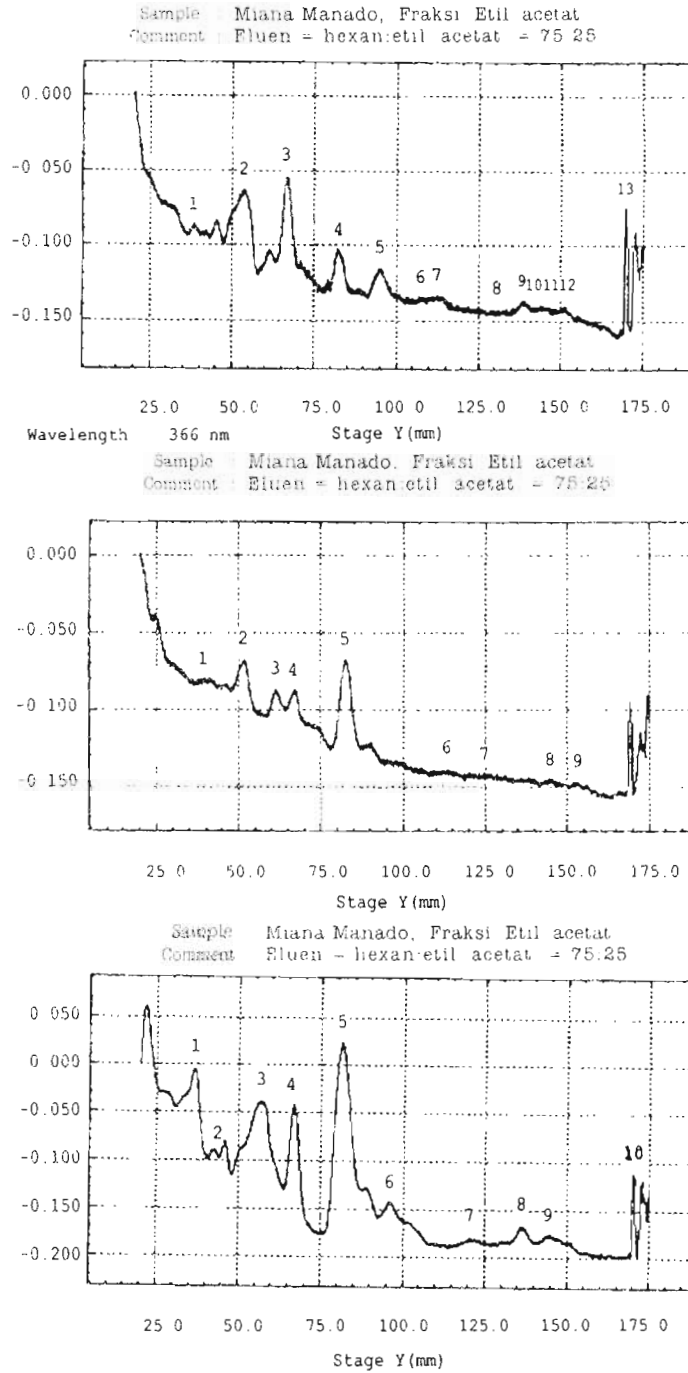
Gambar 2. Kromatogram KLT-Densitometri fraksi *n*-heksan dengan pengembang heksan : etil acetat (75 : 25) pada sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm



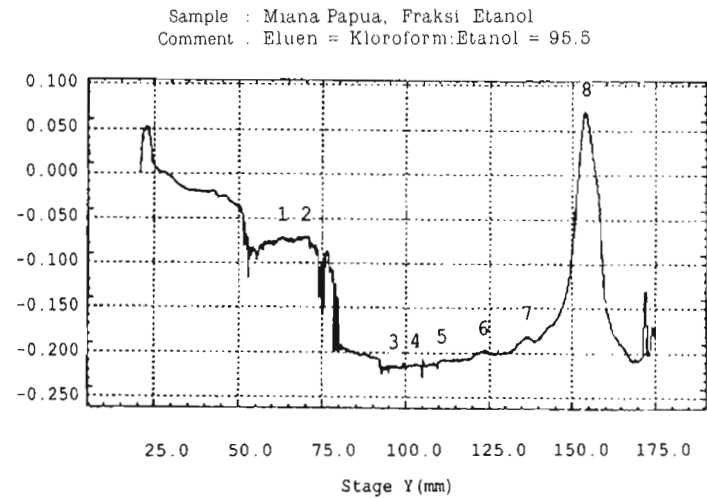
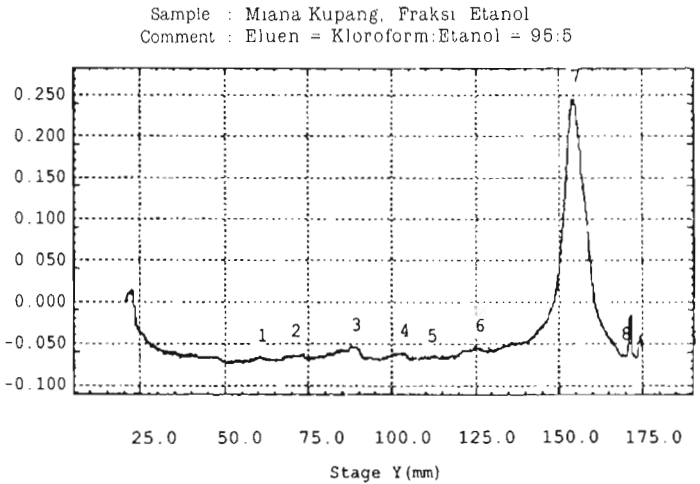
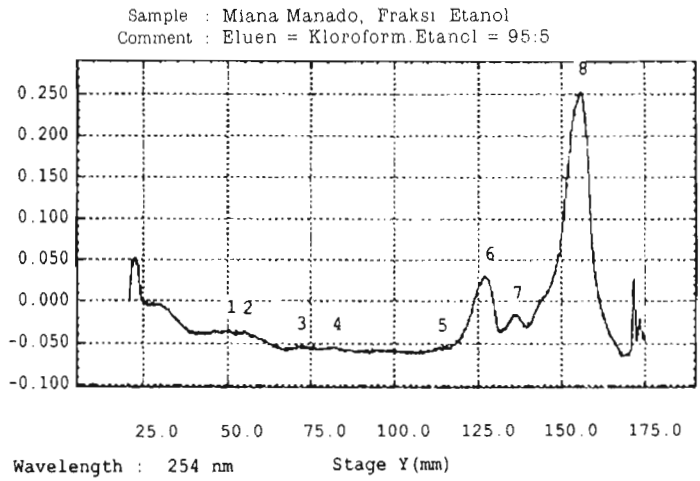
Gambar 3. Kromatogram KLT-Densitometri fraksi *n*-heksan dengan pengembang heksan: etil acetat (75 : 25) pada sinar UV dengan panjang gelombang 366 nm



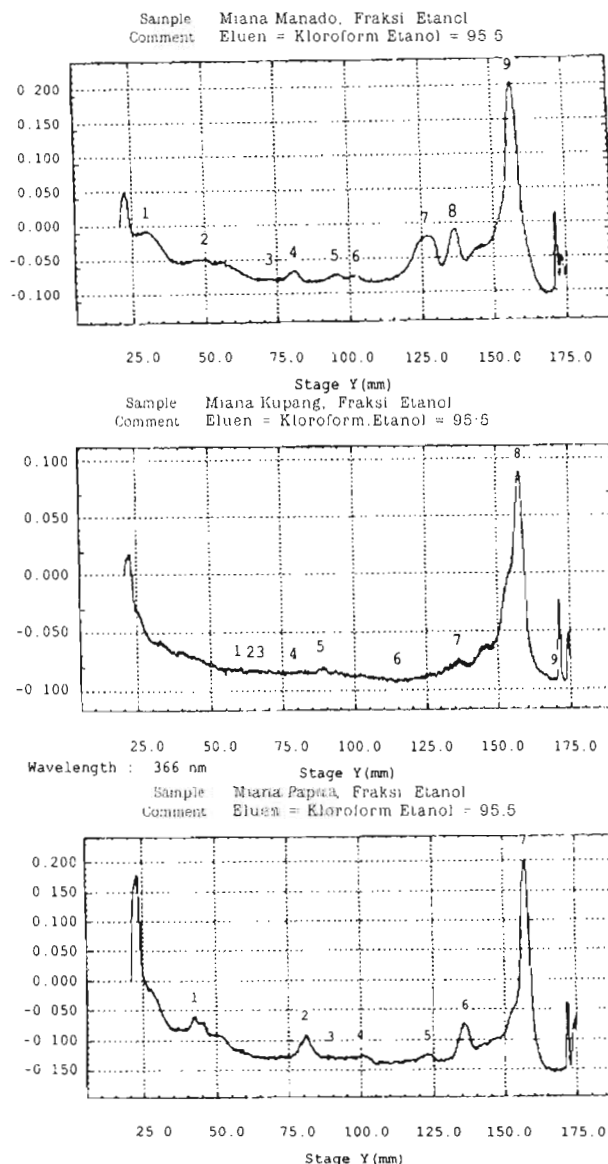
Gambar 4. Kromatogram KLT-Densitometri fraksi etil acetat dengan pengembang heksan : etil acetat (95 : 5) pada sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm



Gambar 5 Kromatogram KLT-Densitometri fraksi etil acetat dengan pengembang heksan : etil acetat (75 : 25) pada sinar UV dengan panjang gelombang 366 nm



Gambar 6. Kromatogram KLT-Densitometri fraksi etanol dengan pengembang kloroform : etanol (95 : 5) pada sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm



Gambar 7. Kromatogram KLT-Densitometri fraksi etanol dengan pengembang kloroform : etanol (95 : 5) pada sinar UV dengan panjang gelombang 366 nm

Tanin terdapat luas dalam tumbuhan berpembuluh. Secara kimia terdapat dua jenis utama tanin yang tersebar tidak merata dalam dunia tumbuhan. Tanin terkondensasi (proantosianidin) terdapat dalam paku - pakuan dan gimnospermae serta tersebar luas dalam angiospermae, terutama pada jenis tumbuhan berkayu. Tanin terhidrolisis penyebarannya terbatas pada tumbuhan berkeping dua. Tanin dapat

dideteksi dengan kromatografi kertas dengan sinar UV pendek berupa bercak lembayung yang bereaksi positif dengan pereaksi fenol.

Dalam praktek sulit sekali mengekstraksi seluruh tanin, terutama tanin terkondensasi, untuk analisis dilakukan pengukuran ekstrak dilakukan terhadap tanin total. ^(8,9)

Dalam ekstrak etanol dapat dideteksi juga senyawa flavonoid yaitu dengan menggunakan kromatografi kertas dua arah kromatografi plat berlapiskan selulosa, sebagai pembanding biasanya digunakan senyawa rutin yaitu suatu glikosida flavonol. Pemisahan flavonoid dapat dilihat dengan sinar tampak UV 254 dan 366 nm dan berflourocensi.⁽¹⁰⁾

Hasil kromatografi dari fraksi etanol yang berasal dari 3 tempat yaitu Menado, Kupang dan Papua terdapat 1 kromatogram yang menonjol dapat dideteksi dengan jelas pada panjang gelombang 254 dan 366, ini dapat digunakan sebagai *fingerprint*. Gambar 1 merupakan contoh gambar hasil kromatografi fraksi hexan yang dideteksi dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 dan 366

Dari hasil pemeriksaan terlihat gambar kromatogram dari 3 fraksi (*hexan*, *etilasetat*, *etanol*) dan 3 tempat pengambilan sampel (Menado, Kupang, Papua) yang telah dideteksi dengan spektrofometri UV pada panjang gelombang 254 dan 366 nm. Hasil kromatogram dengan pengembangan kloroform : etanol (95:5) pada fraksinasi etil asetat kurang baik hasilnya.

Pada fraksi *hexan* dengan panjang gelombang 366 nm dan 254 nm dari tempat pengambilan sampel Kupang dan Papua dapat digunakan sebagai kromatogram penanda atau *fingerprint* untuk simplisia daun miana, sampel yang berasal dari Menado ada 3 puncak sedangkan yang berasal dari Kupang dan Papua 2 puncak, hal ini mungkin disebabkan jenisnya (*species*) berbeda. Begitu juga pada fraksi etanol dari 3 tempat pengambilan sampel pada panjang gelombang 254 nm maupun 366nm

Standarisasi ini untuk menentukan *fingerprint* dari suatu zat untuk menjamin keberulangan dari suatu simplisia.

KESIMPULAN

1. Tanin merupakan golongan terbesar yang terdeteksi pada ke 3 tempat pengambilan sampel (Menado, Papua dan Kupang) dengan kadar antara 3,26 – 3,60 %.
2. "Finger print" dari ke 3 fraksi dan 3 tempat pengambilan sampel (Menado, Papua dan Kupang).

DAFTAR RUJUKAN

1. A.Basrah,dkk. Agroindustri Tanaman Obat, Status Perkembangan produksi dan pengolahan, Prosiding forum konsolidasi strategi dan koordinasi Pengembangan argoindustri Tanaman Obat,BBIHP, Badan Penelitian dan Pengembangan Industri,1995.
2. Anonim, Materia Medika Indonesia, Jilid V, Dirjen POM, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989.
3. Atlas Tumbuhan Obat Ind./Dr. Setiawan Dalimartha/Hd, di akses dari: <http://jacksite.wordpress.com>.
4. Iler (Coleus scutellarioides, Linn,Benth) di akses dari http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?mnu=2&id=12
5. Nugroho, Y.Astuti, Karakterisasi, Uji Toksisitas Akut Oral dan Uji Mukolitik Tanaman Mayana (*Plectranthus Seutellaroides (L) R.Bth*), Laporan Penelitian Badan Litbangkes,2003.
6. Lisdawati,Vivi, Karakterisasi Daun Miana (*Plectranthus Seutellaroides (L) R.Bth*) Dan Buah Sirih (*Piper betle L*) Secara fisiko kimia dari Ramuan Lokal Antimalaria daerah Sulawesi Utara, Media Litbang Kesehatan, Badan Litbangkes ,2008.
7. Anonim, Parameter Umum Ekstrak Tumbuhan Obat edisi I,Dirjen POM, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000.
8. J.B. Harborne, Metode Fitokimia, Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan, terbitan kedua, penerbit ITB Bandung, 1987
9. Chaudhury, R,R,Dr. Herbal Medicine for Human Health, Regional Publication, SEARO, No 20, WHO Regional Office for South East Asia, New Delhi, 1992.