

UJI PENDAHULUAN DAN KARAKTERISASI BUAH KAWISTA (*Limonia acidissima*) KHAS KARAWANG

¹ Neni Sri Gunarti

¹Prodi Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang
neni.gunarti@ubpkarawang.ac.id

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian karakterisasi dan telaah fitokimia simplisia buah kawista (*Limonia acidissima*) khas Karawang. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa simplisia buah kawista mengandung senyawa polifenolat, alkaloid, kuinon, steroid, triterpenoid, monoterpenoid, triterpenoid dan flavonoid. Hasil penetapan standar mutu simplisia menunjukkan bahwa serbuk simplisia memiliki kadar air (5,200%), susut pengeringan (8,958%), kadar abu total (11,918%), kadar abu tidak larut asam (0,708%), kadar sari larut air (20,810%) dan kadar sari larut etanol (12,241%).

Kata Kunci : karakterisasi, penapisan fitokimia, buah kawista.

PENDAHULUAN

Kawista (*Limonia acidissima*) merupakan tanaman yang termasuk ke dalam suku jeruk-jerukan (Rutaceae). Tanaman ini banyak tersebar di daerah Jawa khususnya Karawang, sehingga tanaman ini menjadi tanaman khas Karawang. Tanaman ini banyak digunakan khususnya bagian buahnya untuk dikonsumsi. Penggunaan buah kawista untuk pengobatan belum banyak diketahui, termasuk mengenai informasi senyawa berkhasiat dan karakteristik buah kawista jika akan digunakan sebagai bahan baku pengobatan.

Karakteristik bahan baku untuk penggunaan pengobatan sangat penting untuk menjamin kualitas bahan dan menjaga keseragaman khasiat. Informasi metabolit sekunder sangat penting untuk mengetahui senyawa berkhasiat yang akan diaplikasikan sebagai pengobatan, bahan baku obat ataupun bahan tambahan obat. Untuk itu perlunya

dilakukan uji pendahuluan dan karakterisasi buah kawista untuk mengetahui kandungan kimia yang terkandung pada buah kawista.

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode experiment dengan menggunakan sampel simplisia dan ekstrak buah kawista dari daerah Karawang.

III.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu alat-alat gelas, lemari pengering, alat penggiling, neraca analitik, tanur, alat soxhlet, *rotavapor*, vial sampel, penangas air, plat KLT, penyemprot, aluminium foil, bejana kromatografi, spektrofotometer ultra violet-sinar tampak (Hewlett Packard 8435) lampu UV (Camag), cawan penguap, krus, kuvet.

Bahan penelitian yang digunakan adalah buah Kawista (*Limonia acidissima*). Bahan kimia dan pereaksi yang digunakan adalah etanol, n-heksana, etil asetat, serbuk Mg, natrium asetat, eter, toluena, bismuth subnitrat, kalium iodida, raksa (II) klorida, aluminium (III) klorida, besi (III) klorida, natrium hidroksida, natrium karbonat, asam sitrat, asam borat, asam format, asam asetat, pereaksi Folin-Ciocalteu, penampak bercak sitroborat, anisaldehida, air suling, silika gel GF₂₅₄, kertas saring, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil, tembaga (II) klorida, neokuproin, amonium asetat, kertas perkamen.

III.2 Prosedur Percobaan

Pada percobaan ini dilakukan beberapa langkah percobaan sebagai berikut :

a. Penyiapan Simplisia

Penyiapan simplisia terdiri dari beberapa tahapan yaitu pengumpulan bahan baku, pemilahan basah, pencucian, pengeringan, pemilahan kering, penyerbukan dan penyimpanan. Pemilahan bahan baku basah dilakukan secara manual segera setelah bahan baku dikumpulkan. Setelah dipilah, bahan baku dicuci di bawah air mengalir hingga bersih. Bahan baku kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 40-42°C. Bahan baku kering dipilah kembali untuk memisahkan komponen asing yang masih ada. Simplisia kemudian digiling menjadi serbuk lalu disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat untuk digunakan pada tahapan penelitian selanjutnya.

b. Karakterisasi Simplisia

Penetapan karakteristik simplisia meliputi penetapan kadar abu total, penetapan kadar sari larut etanol, penetapan kadar sari larut air dan penetapan kadar air.

1. Penetapan Kadar Abu Total

Sebanyak 2 gram simplisia ditimbang dalam krus yang telah ditara dan dipijarkan. Simplisia kemudian dipijarkan hingga arang habis, didinginkan dan ditimbang. Apabila dengan cara ini arang tidak habis ditambahkan air panas dan sirasing melalui kertas saring bebas abu. Residu dan kertas saring dipijarkan dalam krus yang sama. Filtrat diuapkan, dipijarkan hingga bobot tetapan ditimbang. Kadar abu dihitung terhadap simplisia yang dikeringkan di udara (Depkes, 1989).

2. Penetapan Kadar Sari Larut Etanol

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia dimasukkan ke dalam labu bersumbat dan dimaserasi dengan 100 mL etanol 95 % sambil dikocok selama 6 jam pertama, dibiarkan selama 18 jam. Campuran kemudian disaring cepat dan 20 mL filtrat diuapkan hingga kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara dan dipanaskan pada suhu 105 °C hingga bobot tetap. Kadar sari larut etanol dihitung dalam persen terhadap simplisia yang dikeringkan di udara (Depkes, 1989).

3. Penetapan Kadar Sari Larut Air

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia dimasukkan ke dalam labu bersumbat dan dimaserasi dengan 100 mL air kloroform selama 24 jam. Labu dikocok selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam berikutnya. Campuran kemudian disaring dan 20 mL filtrat diuapkan hingga kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara dan dipanaskan pada suhu 105 °C hingga bobot tetap. Kadar sari larut air dihitung dalam persen terhadap simplisia yang dikeringkan di udara (Depkes, 1989).

4. Penetapan Kadar Air

Untuk menetapkan kadar air simplisia digunakan metode destilasi azeotrop. Labu destilasi diisi dengan 200 mL toluena dan 2 mL air. Campuran dipanaskan selama 2 jam dan didinginkan selama 30 menit. Volume distilat awal dicatat sebagai n_0 . Simplisia ditimbang sejumlah yang diperkirakan mengandung 2-3 mL air, dimasukkan ke dalam labu destilasi. Batu didih ditambahkan ke labu destilasi. Pemanasan dilakukan selama 15

menit. Laju destilasi diatur menjadi dua tetes per detik hingga sebagian besar air telah terdestilasi dan kemudian diatur menjadi empat tetes per detik. Setelah semua air tersuling, bagian dalam pendingin dicuci dengan toluena dan penyulingan dilanjutkan selama 5 menit. Tabung penerima kemudian dibiarkan mendingin hingga suhu kamar, bila ada tetesan air yang melekat pada pendingin maka tabung digosok dengan karet yang diikatkan pada kawat tembaga dan dibasahi toluena hingga tetesan air turun. Volume air diukur sebagai volume destilasi kedua (n_1). Kadar air dihitung dengan persamaan berikut (WHO, 1998).

$$\% \text{ (v/b) kadar air} = \frac{100 (n_1 - n_0)}{w}$$

Dimana :
w = bobot simplisia dalam gram
 n_0 = volume air hasil destilasi pertama dalam mL
 n_1 = volume air hasil destilasi kedua dalam mL

c. Penapisan Fitokimia

Pemeriksaan ini meliputi pemeriksaan golongan senyawa kimia meliputi golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, kuinon, saponin, steroid/triterpenoid.

1. Pemeriksaan Alkaloid

Bahan simplisia dan ekstrak sebanyak 2 g ditambahkan 5 mL amonia 21 % kemudian digerus dalam mortar, selanjutnya 25 mL kloroform ditambahkan kedalam campuran tersebut dan digerus dengan kuat. Campuran disaring kemudian filtratnya digunakan sebagai larutan percobaan (larutan A). Larutan A diekstraksi 2 kali dengan asam klorida 10% (larutan B). Larutan A diteteskan pada kertas saring, lalu ditetesi pereaksi Dragendorff, bahan positif mengandung alkaloid bila timbul warna merah jingga. Larutan B sebanyak 5 mL dalam tabung reaksi diuji dengan pereaksi Mayer dan Dragendorff, bahan positif mengandung alkaloid jika timbul endapan merah bata pada penambahan pereaksi Dragendorff dan endapan putih pada penambahan pereaksi Mayer.

2. Pemeriksaan Flavonoid

Bahan simplisia dan ekstrak sebanyak 1 g ditambahkan 100 mL air panas, didihkan selama 15 menit kemudian disaring. Filtrat sebanyak 5 mL ditambah serbuk Mg dan ditambah 2 mL larutan alkohol-asam klorida (1:1), kemudian ditambahkan amil

alkohol, dikocok kuat-kuat kemudian dibiarkan memisah. Bahan positif mengandung flavonoid jika timbul warna merah/kuning/jingga pada lapisan amil alkohol.

3. Pemeriksaan Saponin

Bahan simplisia dan ekstrak 1 g ditambahkan 100 mL air panas, dididihkan selama 15 menit kemudian disaring. Filtrat sebanyak 10 mL dalam tabung reaksi dikocok vertikal selama 10 detik dan diamkan selama 10 menit. Bahan positif mengandung saponin bila terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1 cm dan buih tidak hilang ketika ditambah HCl 2N.

4. Pemeriksaan Kuinon

Bahan simplisia dan ekstrak 1 g ditambahkan 100 ml air panas, dididihkan selama 15 menit kemudian disaring. Bila sampel tidak mengandung tanin, maka kedalam 5 mL filtrat ditambah beberapa tetes NaOH 1N. Bahan positif mengandung kuinon jika timbul warna merah. Jika bahan mengandung tanin, maka serbuk bahan sebanyak 2 g dimaserasi dalam HCl 10 % selama beberapa jam, lalu larutan disaring dan dibagi 2. Tabung 1 sebanyak 5 mL diekstraksi dengan benzena dan tabung 2 sebanyak 5 mL diekstraksi dengan campuran eter-kloroform (2:1), kedua fase organik masing-masing diuapkan sampai sepersepuluh (0,5 mL). Kedua fase masing-masing dikocok dengan larutan NaOH 30 %. Bahan positif mengandung kuinon jika pada fase air timbul warna jingga/merah/violet.

5. Pemeriksaan Tanin

Bahan simplisia dan ekstrak 1 g ditambahkan 100 mL air panas, dididihkan selama 15 menit kemudian disaring. Filtrat sebanyak 5 mL direaksikan dengan larutan FeCl_3 1 %. Dalam tabung lain, 5 mL filtrat ditambahkan larutan gelatin. Bahan positif mengandung tannin jika timbul warna hijau violet pada penambahan FeCl_3 dan terbentuk endapan pada penambahan larutan gelatin. Untuk pemeriksaan tannin galat dan katekat dilakukan dengan cara berikut. Filtrat ditambahkan pereaksi Steasny, kemudian dipanaskan dalam tangas air. Bahan positif mengandung tanin katekat jika terbentuk endapan merah muda.

6. Pemeriksaan Steroid/Triterpenoid

Bahan simplisia dan ekstrak 1 gram dimaserasi dengan 25 mL eter selama 2 jam kemudian disaring. Filtrat sebanyak 5 mL diuapkan dalam cawan penguap, kedalam residu ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat kemudian ditambah 1 tetes asam sulfat pekat. Bahan positif mengandung steroid/triterpenoid jika terbentuk warna ungu – biru/hijau.

d. Pemantauan pola kromatogram ekstrak

Ekstrak 2 g yang telah dilarutkan dipantau pola kromatogramnya menggunakan plat KLT₂₅₄ dengan 10 pengembang berbeda kepolaran lalu disemprot dengan penampak bercak untuk identifikasi senyawa pada kromatogram.

PEMBAHASAN

Bahan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Buah Kawista (*Limonia accidisima*) yang diperoleh dari Kota Karawang. Proses pembuatan simplisia buah kawista dimulai dari pengumpulan bahan, sortasi basah, pencucian, pengeriangan, sortasi kering, pengepakan. Sortasi untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lain dari simplisia, pencucian menggunakan air mengalir untuk mengurangi kemungkinan kontaminasi yang mempengaruhi hasil akhir, perajangan/pengecilan ukuran untuk memperbesar luas permukaan sehingga proses pengeringan lebih optimal, kemudian dilakukan pengeringan menggunakan sinar matahari hingga dihasilkan simplisia kering. Penapisan fitokimia atau skrining fitokimia merupakan tahapan awal dalam identifikasi kandungan kimia yang terdapat dalam simplisia maupun ekstrak. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia

Golongan Senyawa	Identifikasi Simplisia	
	(+)	(-)
Alkaloid	√	-
Polifenolat	√	-

Flavonoid	√	-
Tanin	-	√
Kuinon	√	-
Saponin	-	√
Monoterpenoid dan Sesquiterpenoid	√	-
Triterpenoid dan Steroid	√	-

Keterangan:

(+) Terdeteksi

(-) Tidak Terdeteksi

Berdasarkan hasil yang tercantum dalam tabel diatas, menunjukkan bahwa simplisia buah kawista mengandung senyawa polifenolat, alkaloid, kuinon, steroid, triterpenoid, monoterpenoid, triterpenoid dan flavonoid. Penetapan standar mutu dilakukan untuk menjamin keamanan, khasiat dan kualitas dari simplisia dan ekstrak. Parameter non spesifik yang dilakukan pada simplisia diantaranya, parameter susut pengeringan, kadar air, kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam. Parameter spesifik yang dilakukan pada simplisia, meliputi kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol. Hasil penetapan standar mutu dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil penetapan standar mutu

Pengujian	Identifikasi Simplisia
Susut Pengeringan	8,958%
Kadar air	5,200%
Kadar abu total	11,918%
Kadar abu tidak larut asam	0,708%
Kadar sari larut air	20,810%
Kadar sari larut etanol	12,241%

Parameter non spesifik merupakan parameter yang terkait dengan factor lingkungan dalam pembuatan simplisia meliputi uji terkait dengan pencemaran. sedangkan parameter spesifik merupakan parameter yang terkait langsung dengan senyawa yang ada didalam tanaman. Parameter non spesifik diantaranya susut pengeringan, prinsipnya adalah pengukuran sisa zat setelah pengeringan pada temperatur

105°C selama 30 menit atau sampai berat konstan, yang dinyatakan dalam nilai persen. Dengan tujuan memberi batas maksimum tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Departemen Kesehatan RI, 2000: 13). Susut pengeringan yang diperoleh dari sampel adalah 8,958%. Kadar air merupakan banyaknya air yang terkandung dalam bahan yang dinyatakan dalam persen. Parameter kadar air bertujuan untuk memberikan batasan minimal tentang besarnya kandungan air didalam bahan. Berdasarkan hasil penetapan, diketahui bahwa kadar air sampel adalah sebesar 5,200%. Hasil tersebut sesuai dengan pustaka dimana kadar air tidak boleh lebih dari 10% (Departemen Kesehatan RI, 1977:140). Kadar air adalah salah satu karakteristik yang mempengaruhi penampakan tekstur serta menentukan kesegaran dan daya awet bahan simplisia, karena air merupakan media utama untuk pertumbuhan bakteri sehingga dapat mempercepat pembusukan, mempercepat reaksi hidrolisis, dan menyebabkan mutu simplisia menurun. Hasil parameter susut pengeringan lebih besar dibandingkan dengan hasil penetapan kadar air. Hal tersebut dikarenakan pada saat proses susut pengeringan, senyawa yang hilang tidak hanya air tetapi senyawa-senyawa lain yang mudah menguap juga ikut hilang. Parameter kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan senyawa anorganik baik internal maupun eksternal yang berasal dari proses awal sampai menjadi simplisia sehingga dapat menetapkan tingkat pengotor suatu bahan oleh logam dan silikat. Hasil kadar abu total yang diperoleh adalah 11,918%. Sedangkan kadar abu tidak larut asam dilakukan untuk menentukan abu yang berasal dari pasir atau tanah. Hasil yang diperoleh adalah 0,708%. Parameter kadar sari bertujuan untuk memberikan gambaran awal jumlah kandungan senyawa yang terlarut atau tersari dalam pelarut tertentu (Departemen Kesehatan RI, 2000: 31). Parameter kadar sari yang dilakukan meliputi kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol. Pada parameter kadar sari larut air, ditambahkan kloroform untuk mencegah pertumbuhan mikroba, dimana air merupakan media utama pertumbuhan mikroba. Berdasarkan hasil yang diperoleh nilai dari kadar sari larut air lebih besar dari kadar sari larut etanol, karena senyawa-senyawa dalam daun paitan lebih banyak bersifat polar (sebesar 20,810%), sehingga dapat tertarik oleh pelarut air. Senyawa yang diduga tertarik dalam kadar sari larut air adalah alkaloid, polifenol, tanin dan saponin. Sedangkan hasil kadar sari larut etanol lebih rendah (sebesar 12,241%). Senyawa yang diduga tertarik dalam pelarut etanol yaitu senyawa flavonoid, monoterpen dan sesquiterpen.

PENUTUP

Metabolit sekunder dalam kawista adalah alkaloid, polifenolat, flavonoid, kuinon, monoterpenod/sesquiterpenoid dan steroid/triterpenoid. Hasil penetapan standar mutu simplisia menunjukkan bahwa serbuk simplisia memiliki kadar air (5,200%), susut pengeringan (8,958%), kadar abu total (11,918%), kadar abu tidak larut asam (0,708%), kadar sari larut air (20,810%) dan kadar sari larut etanol (12,241%). Perlu dilakukan pengujian aktivitas farmakologi dan isolasi senyawa berkhasiat.

DAFTAR PUSTAKA

- Depkes, 1989, **Materia Medika Indonesia Jilid V**, Jakarta : Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Depkes, 2000, **Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat**, Jakarta : Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- Farnsworth, N. R., 1966, Biological and Phytochemical Screening of Plants, **J. Pharm. Sci.**, 55(3), 243-268.
- Harborne, J. B., 1987, **Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan**, Bandung : Penerbit ITB.
- List, P. H. and P. C. Schmidt. 1989. **Phytopharmaceutical Technology**. CRC Press, Boca Raton, 99-107
- Sukanto, L.A. 1999. **Morfogenesis Berbagai Eksplan Kawista (*Limonia acidissima* L.) yang Ditumbuhkan secara Kultur Jaringan**. Prosiding Seminar Biologi Menuju Milenium III. Fakultas Biologi UGM.