

Penetapan Kadar Alkaloid Total pada Batang Brotowali (*Tinospora Crispa* L.) Secara Spektrofometri UV-Vis

Puspa Indah^{1*}, Ali Rakhman Hakim², Tuti Alawiyah³, Kunti Nastiti⁴

¹⁻⁴ Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Sari Mulia, Indonesia

*Penulis Korespondensi: puspandot0203@gmail.com

Abstract. Brotowali stem (*Tinospora crispa* L.) is a plant that grows abundantly in Central Kalimantan and has been empirically used for generations as an antidiabetic remedy by the Dayak Ngaju community. Brotowali stem contains secondary metabolite compounds, including alkaloids, which possess various pharmacological activities, one of which is antidiabetic activity. This study aimed to determine the alkaloid content of *Tinospora crispa* stem extract in aquadest, ethyl acetate, and n-hexane fractions. The research employed an observational descriptive method by analyzing qualitative data through color reaction tests and quantitative data using UV-Vis spectrophotometry to determine alkaloid levels. The qualitative analysis results showed positive color reactions indicating the presence of alkaloid compounds. Quantitative analysis using UV-Vis spectrophotometry revealed that the total alkaloid content in the aquadest fraction was 20.19 mg or 20.19%, in the n-hexane fraction was 20.54 mg or 20.54%, and in the ethyl acetate fraction was 31.07 mg or 31.07%. The highest total alkaloid content was found in the ethyl acetate fraction. In conclusion, the extract of *Tinospora crispa* stem positively contains alkaloids, with the highest alkaloid content obtained in the ethyl acetate fraction at 31.07%.

Keywords: Alkaloids; Brotowali stem; Fractionation; Quantitative analysis; UV-Vis Spectrophotometry

Abstrak. Batang brotowali (*Tinospora crispa* L.) merupakan tanaman yang banyak tumbuh di Kalimantan Tengah dan secara empiris telah digunakan secara turun-temurun sebagai obat antidiabetes oleh masyarakat Dayak Ngaju. Batang brotowali diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder, salah satunya alkaloid, yang memiliki berbagai aktivitas farmakologis, termasuk sebagai antidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar alkaloid pada ekstrak batang brotowali dalam fraksi aquadest, etil asetat, dan n-heksan. Metode penelitian yang digunakan adalah deskriptif observasional dengan analisis data kualitatif melalui uji reaksi warna serta analisis data kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis untuk menentukan kadar alkaloid. Hasil analisis kualitatif menunjukkan adanya reaksi warna positif yang menandakan keberadaan senyawa alkaloid. Sementara itu, hasil analisis kuantitatif menunjukkan bahwa kadar alkaloid total pada fraksi aquadest sebesar 20,19 mg atau 20,19%, pada fraksi n-heksan sebesar 20,54 mg atau 20,54%, dan pada fraksi etil asetat sebesar 31,07 mg atau 31,07%. Kadar alkaloid total tertinggi diperoleh pada fraksi etil asetat. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekstrak batang brotowali positif mengandung senyawa alkaloid dengan kadar tertinggi terdapat pada fraksi etil asetat sebesar 31,07%.

Kata kunci: Alkaloid; Analisis kuantitatif; Batang brotowali; Fraksinasi; Spektrofotometri UV-Vis

1. LATAR BELAKANG

Indonesia merupakan salah satu negara yang kaya akan sumber daya alam serta penghasil kekayaan hayati berupa tanaman obat dan rempah - rempah yang bermanfaat bagi kesehatan. Beberapa tanaman obat dan rempah-rempah ini dipergunakan oleh negara luar diantaranya Amerika, Thailand, Iran sehingga menjadikan Indonesia termasuk ke dalam salah satu negara pengekspor terbesar tanaman berkhasiat obat (Larasati, 2022). Salah satu tanaman obat yang dimanfaatkan sebagai tanaman obat adalah brotowali yang mengandung pati, glikosida pikroretosida, alkaloid berberin, alkaloid palmatin, zat pahit pikroretin dan harsa. Tanaman ini dikenal memiliki beragam khasiat, antara lain sebagai antipiretik, analgetik,

antiparasit, antiseptik, antidiabetik, antitumor, serta anti jerawat. Berbagai efek tersebut berasal dari kandungan senyawa aktif yang terdapat di dalamnya. Brotowali (*Tinospora crispa* L.) mengandung senyawa pikoretin, berberin, dan palmatin yang tergolong ke dalam kelompok alkaloid, saponin, dan tanin (Yusriani dkk., 2018).

Secara empiris tanaman brotowali (*Tinospora Crispa* L) ini dikenal dengan nama penawar sampai dan sering dimanfaatkan secara turun menurun sebagai obat anti diabetes oleh masyarakat Dayak Ngaju. Bagian tumbuhan ini yang dimanfaatkan sebagai obat mencakup seluruh bagian, mulai dari akar, batang, hingga daun. Tanaman ini memiliki cita rasa pahit yang khas, namun menyimpan beragam khasiat. Umumnya, tumbuhan ini tumbuh sebagai perdu di hutan, area persawahan milik warga, atau merambat pada pagar rumah di pedesaan. Daun penawar berbentuk menyerupai hati dan berwarna hijau, sehingga tanaman obat ini mudah dikenali. Daunnya bersifat tunggal dan tidak bercabang, dengan bunga berukuran kecil berwarna putih yang berpadu dengan hijau muda. Pangkal batangnya berdiameter sebesar jari kelingking dan memiliki bintil-bintil yang tersusun rapat (Martani & Fatmaria, 2020). Selain brotowali, daun tempuyung juga diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid serta memiliki aktivitas sebagai antidiabetes. Hal ini sejalan dengan penelitian (Pratiwi et al., 2019) yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun tempuyung mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder, yaitu flavonoid, fenol, alkaloid, saponin, dan tanin. Penelitian tersebut juga membuktikan bahwa ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) berpengaruh terhadap kadar glukosa darah pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi streptozotocin, pada variasi dosis 200 mg/kg BB, 300 mg/kg BB, dan 400 mg/kg BB.

Alkaloid merupakan salah satu jenis senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada jaringan tumbuhan, bersifat basa, serta mengandung atom nitrogen (N) dengan struktur cincin heterosiklik atau aromatik. Secara farmakologis, alkaloid berperan dalam pengobatan berbagai penyakit, seperti diare, diabetes, malaria, serta memiliki aktivitas sebagai antimikroba (Wahyuni & Marpaung, 2020).

Pada pengujian ini dilakukan secara kualitatif menggunakan pereaksi sebagai uji warna dan kuantitatif menggunakan spektrofometri uv-vis dimana banyak alkaloid, terutama yang mengandung gugus aromatik atau struktur lainnya, dapat menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu di daerah ultraviolet (UV) atau tampak (visible/Vis). Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu metode instrumen yang digunakan secara kuantitatif untuk menentukan kadar senyawa dalam suatu sampel melalui pengukuran pada daerah ultraviolet hingga cahaya tampak dengan panjang gelombang 200–700 nm. Hasil pengukuran yang

diperoleh berupa nilai serapan (absorbansi) yang didasarkan pada hukum Lambert–Beer dari berbagai konsentrasi larutan standar maupun sampel (Desi et al., 2023)

Berdasarkan uraian diatas maka penting dilakukanlah penelitian penetapan kadar alkaloid total pada batang brotowali (*Tinospora Crispa* L) secara spektrofometri uv-vis untuk mengetahui total kadar alkaloid pada fraksi air / aquadest yang bersifat polar, etil asetat yang bersifat semi polar, dan n-heksana yang bersifat non polar.

2. METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan pada penelitian ini menggunakan desain deskriptif observasional. Studi ini bertujuan hanya mengilustrasikan ataupun mendeskriptifkan suatu hasil yang ditemukan (Astuti, 2022). Pada penelitian ini guna mengetahui penetapan kadar alkaloid total pada fraksi Aquadest, Etil Asetat dan N-Heksana Batang Batang Brotowali (*Tinospora Crispa* L.).

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia dan Teknologi yang berada di lantai empat program studi Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Sari Mulia, Banjarmasin, Kalimantan Selatan.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian yaitu batang pengaduk, bejana maserasi, cawan porselin, corong pisah (*Pyrex*), corong buchner, vakum, kertas saring, kertas label/penanda, tisu, sendok tanduk, spatula, Beaker glass (*Pyrex*), Erlenmeyer (*Pyrex*), gelas ukur (*Pyrex*), labu ukur (*Pyrex*), pipet, pipet volum, spektrofotometer UV-Vis, kuvet, timbangan analitik, *waterbath*, tabung reaksi, dan rak tabung.

Bahan yang digunakan pada penelitian yaitu batang brotowali (*Tinospora Crispa* L), etanol 96% pro analisis, aquadest, etil asetat pro analisis, n-heksan pro analisis, kloroform, pereaksi mayer, pereaksi dragendrof, perekasi wagner, HCl pekat 2N, asam sitrat, Natrium Fosfat 2M, Natrium Hidroksida 2N (NaOH), dan Bromocresol Green (BCG).

Pengumpulan Bahan

Batang brotowali (*Tinospora Crispa* L) diperoleh dari wilayah Kalimantan Tengah yang diambil secara manual pada bagian batang yang masih segar.

Pembuatan Serbuk Simplisia

Batang Brotowali yang telah didapatkan, selanjutnya dibersihkan dengan air mengalir dari pengotor dan tiriskan. Batang brotowali kemudian dilakukan perajangan untuk memperkecil ukuran luas permukaan dari sampel (Merisa, 2020). Sampel kemudian diblender sehingga didapat serbuk kering, lalu diayak dengan ayakan 60 mesh (Weliyanto., 2023).

Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak batang brotowali (*Tinospora crispa* L) dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Bubuk simplisia brotowali sebanyak 300 gram dimasukkan ke dalam wadah dan ditambahkan etanol 96% sebagai pelarut. Larutan didiamkan selama 3 x 24 jam dan ramaserasi kembali sebanyak 3 kali. Larutan kemudian disaring dan filtratnya dipisahkan dari ampasnya menggunakan kertas saring. Filtrat yang dihasilkan dipekatkan menggunakan alat penangas air. Perhitungan rendemen ekstrak juga dilakukan. Selanjutnya dilakukan perhitungan randemen ekstrak.

Fraksinasi

Ekstrak yang telah diperoleh selanjutnya difraksinasi menggunakan corong pisah melalui metode fraksinasi cair-cair. Proses fraksinasi dilakukan dengan menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan aquadest. Sebanyak 5 gram ekstrak batang brotowali ditimbang, kemudian disuspensikan dengan aquadest. Suspensi tersebut dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan pelarut n-heksan dengan perbandingan 1:5. Selanjutnya dilakukan pengocokan secara kuat dan dibiarkan hingga terbentuk dua fase, yaitu fase atas berupa fraksi n-heksan dan fase bawah berupa fraksi aquadest (Leuweung, 2023).

Fraksi aquadest dikembalikan ke corong pisah dan ditambahkan pelarut selanjutnya, etil asetat. Dengan cara dikocok dengan kuat seperti sebelumnya maka akan terbentuk 2 fasa yaitu fasa bawah yaitu fraksi air aquadest dan fase atas yaitu fraksi etil asetat. Hasilnya yang didapatkan adalah fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi aquadest. Fraksi cair yang dihasilkan kemudian dikentalkan dengan menggunakan waterbath dengan suhu maksimum 40°C hingga diperoleh fraksi kental. Timbang fraksi untuk mendapatkan persen hasil.

Analisis Kualitatif

Uji Senyawa Alkaloid

Uji Mayer ekstrak dilarutkan dalam pelarut etanol kemudian hasil yang diperoleh disaring untuk mendapatkan filtratnya. Selanjutnya diambil sebanyak 5 ml sampel lalu

ditambahkan HCL 2 N dengan pereaksi mayer dan akan terbentuk endapan menggumpal putih atau kuning (Rachim *et al.*, 2020).

Uji Dragendrof ekstrak dilarutkan dalam pelarut etanol kemudian hasil yang diperoleh disaring untuk mendapatkan filtratnya. Selanjutnya diambil sebanyak 5 ml sampel lalu ditambahkan HCL 2N dengan pereaksi dragendrof dan akan terbentuk endapan merah bata. (Rachim *et al.*, 2020)

Uji Wagner Ekstrak dilarutkan dalam pelarut etanol kemudian hasil yang diperoleh disaring untuk mendapatkan filtratnya. Selanjutnya diambil sebanyak 5 ml sampel lalu ditambahkan HCL 2N dengan pereaksi wagner dan akan terbentuk endapan coklat hingga hitam. (Tarukbua, 2018)

Analisis Kuantitatif

Pembuatan Larutan Baku Kafein 1000 ppm

Sebanyak 25 mg kafein ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar berukuran 25 mL dan dilarutkan dengan etanol 96% hingga mencapai tanda batas, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm. (Tuldjanah & Wulandari, 2022).

Pembuatan larutan baku standar kafein 100 ppm

Sebanyak 2,5 mL larutan baku induk dipipet dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL, kemudian ditambahkan etanol 96% hingga mencapai tanda batas dan dikocok perlahan hingga homogen, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 100 ppm (Tuldjanah & Wulandari, 2022).

Penentuan Panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang larutan kafein dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200–400 nm. Panjang gelombang yang diperoleh selanjutnya digunakan sebagai acuan untuk mengukur serapan (absorbansi) sampel ekstrak batang brotowali (*Tinospora crispa* L.).

Penetapan Operating time

Larutan standar kafein 10 ppm dipipet kemudian masukkan kedalam labu ukur 10 mL dan tambahkan kloroform sampai tanda batas. Tentukan waktu serapan yang stabil pada panjang gelombang dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Proses operating time berlangsung selama 60 menit dengan interval waktu 2 menit

Pembuatan kurva baku standar kafein

Pipet sebanyak 2, 2;2, 2;4, 2;6, 2;8; 3, dan 3;2 ml dari larutan baku 100 ppm kemudian masukkan kedalam labu ukur 10 ml dan larutkan dengan kloroform sampai tanda batas sehingga didapatkan konsentrasi larutan standar berturut-turut yaitu 20, 22, 24, 26, 28, 30 dan 32 ppm. Hitung nilai absorbansi dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan rumus $y = bx + a$ sebanyak tiga kali replikasi.

Pembuatan larutan induk 1000 ppm ekstrak Batang Brotowali (*Tinospora Crispa* L)

Fraksi aquadest, etil asetat dan n-heksana

Timbang masing – masing 10 mg ekstrak batang brotowali (*Tinospora Crispa* L) untuk setiap fraksi (aquadest, etil asetat dan n-heksana). Larutkan dengan kloroform sampai 10 ml, kemudian kocok hingga homogen sehingga didapatkan konsentrasi 1000 ppm.

Pembuatan larutan standar 100 ppm ekstrak Batang Brotowali (*Tinospora Crispa* L) Fraksi aquadest, etil asetat dan n-heksana

Pipet larutan baku induk 1000 ppm untuk setiap fraksi (aquadest, etil asetat dan n-heksana).

Masing - masing 1 ml dan larutkan dengan kloroform sampai volume 10 ml, kemudian kocok hingga homogen sehingga didapatkan konsentrasi 100 ppm.

Penetapan kadar alkaloid total pada batang brotowali pada fraksi

Sebanyak 2 mL ekstrak batang brotowali (*Tinospora crispa* L.) fraksi aquadest, n-heksan, dan etil asetat dengan konsentrasi 100 ppm dipipet. Selanjutnya ditambahkan masing-masing 5 mL larutan dapar fosfat dan larutan BCG, kemudian dilakukan proses ekstraksi menggunakan 5 mL kloroform dengan bantuan corong pisah. Fase kloroform yang terbentuk diambil dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, lalu ditambahkan kloroform hingga mencapai tanda batas. Nilai absorbansi kemudian diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan analisis dilakukan dengan tiga kali replikasi.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Serbuk simplia batang brotowali diperoleh sebanyak 300 gram, dengan ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 14,36 gram dan % rendemen ekstrak yaitu 4,78%. Pada proses fraksinasi diperoleh ekstrak kental fraksi n-heksan yaitu 0,80 gram, etil asetat 9,2 gram, dan

aquadest 3,60 gram. Sedangkan untuk % rendemen fraksi yang didapat yaitu 8% untuk fraksi n-heksan, 9,2% untuk fraksi etil asetat, dan 36% fraksi aquadest.

Tabel 1. Identifikasi Alkaloid

No	Pereaksi	Gambar	Hasil	Keterangan
1	Mayer		+	Positif mengandung Alkaloid
2	Dragendrof		+	Positif mengandung Alkaloid
3	Wagner		+	Positif mengandung Alkaloid

Sumber: Data Primer, 2025

Pada hasil identifikasi alkaloid dengan penambahan pereaksi mayer didapatkan hasil pada ekstrak etanol 96% positif menunjukkan hasil positif berbentuk endapan putih menggumpal atau kuning, pada preaksi dragendrof menunjukkan hasil posisif berbentuk endapan merah bata, dan pada pereaksi wagner juga menunjukkan hasil postif terdapatnya endapan coklat hingga hitam.



Gambar 1. Kurva Baku Kafein Panjang Gelombang 285 nm.

Sumber: Data Primer, 2025

Dari hasil kurva baku kafein didapatkan rumus regresi linear $y = 0,0057x - 0,0041$ dengan nilai α sebesar $-0,0041$ dan nilai b sebesar $0,0057$ dan nilai r sebesar $0,9943$

Tabel 2. Penentuan Absorbansi Sampel pada Panjang Gelombang 285 nm.

Sampel	Replikasi			Rata-rata
	I	II	III	
Fraksi Aquadest	0,109	0,110	0,114	0,111
Fraksi N-heksan	0,112	0,112	0,113	0,113
Fraksi Etil Asetat	0,172	0,174	0,170	0,173

Sumber: Data Primer, 2025

Tabel 3. Absorbansi Sampel

Sampel	Replikasi			Rata-rata
	I	II	III	
Fraksi Aquadest	0,109	0,110	0,114	0,111
Fraksi N-heksan	0,112	0,112	0,113	0,113
Fraksi Etil Asetat	0,172	0,174	0,170	0,173

Sumber: Data Primer, 2025

Tabel 4. Hasil Nilai Konsentrasi (ppm)

Sampel	b	y	a	x (ppm)
Fraksi Aquadest	0,0057	0,111	-0,0041	20,19
Fraksi N-heksan	0,0057	0,113	-0,0041	20,54
Fraksi Etil Asetat	0,0057	0,173	-0,0041	31,07

Sumber: Data Primer, 2025

Tabel 5. Kadar Alkaloid Total

Sampel	Konsentrasi (mg/L)	Volume (L)	Bobot (mg)	(c)	Kadar Alkaloid Total (%)
Fraksi Aquadest	20,19	0,01	0,2019		20,19
Fraksi N-heksan	20,54	0,01	0,2054		20,54
Fraksi Etil Asetat	31,07	0,01	0,3107		31,07

Sumber: Data Primer, 2025

Dilihat dari nilai kadar alkaloid pada tabel diatas dapat diketahui bahwa kadar alkaloid tertinggi berada pada fraksi etil asetat dengan nilai sebesar 31,07

Pembahasan

Pada Penelitian ini tanaman yang digunakan adalah batang brotowali (*Tinospora Crispa* L.) Sampel yang telah diperoleh kemudian diolah hingga diperoleh simplisia dengan melalui tahapan pengumpulan bahan, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, kemudian penghalusan hingga menjadi simplisia. Kemudian simplisia yang sudah jadi diekstraksi dengan tujuan menarik komponen kimia (metabolit sekunder) yang terdapat didalam simplisia. Metode ekstraksi yang dipergunakan yakni metode maserasi (Tuldjanah et al., 2022)

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi, dengan pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Etanol 96% dipilih sebagai pelarut karena mudah diperoleh dan merupakan pelarut yang paling efisien, tidak beracun, mudah diserap, serta jarang terkontaminasi oleh jamur. Proses maserasi berlangsung selama 3 x 24 jam dan dilakukan maserasi ulang untuk meningkatkan efisiensi proses ekstraksi agar diperoleh ekstrak yang optimal.. Selanjutnya dilakukan pengentalan menggunakan *waterbath*. Tujuan dari pengentalan ini adalah untuk menguapkan pelarut etanol 96% dari ekstrak yang telah diperoleh, sehingga dihasilkan ekstrak yang lebih kental. Sehingga didapatkan ekstrak kental batang brotowali yaitu 14,36 gram, sedangkan untuk % rendemen ekstrak batang brotowali yang didapatkan sebesar 4,78%. Rendemen adalah perbandingan berat kering produk yang dihasilkan dengan berat bahan baku, nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung di dalamnya. Menurut (Dwilestari et al., 2015) nilai rendemen berkaitan dengan banyaknya kandungan bioaktif yang terkandung pada tumbuhan. Semakin tinggi rendemen ekstrak maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik pada suatu bahan baku (Senduk et al., 2020).

Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang berbeda kepolarannya sehingga dapat terekstrak kedalam pelarut yang sesuai. Hasil akhir dari proses fraksinasi yang didapatkan bobot yang berbeda-beda yaitu untuk fraksi n-heksan 0,80 gram, fraksi etil asetat 9,2 gram dan fraksi aquadest 3,60 gram. Selanjutnya dilakukan perhitungan % rendemen fraksi masing-masing fraksi yaitu, fraksi n-heksan 8%, fraksi etil asetat 9,2% dan fraksi aquadest 36%. Dari perhitungan % rendemen fraksi yang dihasilkan dapat diketahui bahwa fraksi aquadest lebih banya menarik senyawa-senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar yang terdapat dalam ekstrak batang brotowali. Sedangkan untuk fraksi n-heksan dan etil asetat menarik senyawa-senyawa bersifat non polar dan semi polar. Rendemen fraksi aquadest lebih tinggi dibandingkan fraksi n-heksan dan etil asetat. Perbedaan jumlah rendemen antara ekstrak kasar dan masing-masing fraksi dipengaruhi oleh perbedaan kandungan serta komposisi kimia senyawa yang terlarut. Berdasarkan prinsip *like dissolves like*, senyawa yang

bersifat polar cenderung larut dalam pelarut polar, sedangkan senyawa nonpolar lebih mudah larut dalam pelarut nonpolar. Perbedaan polaritas pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi menyebabkan variasi senyawa yang terekstraksi, karena tingkat kepolaran pelarut dan bahan yang diekstraksi berkaitan dengan kemampuan pelarut dalam melarutkan senyawa secara optimal. Ini menunjukkan bahwa semakin tinggi persen rendemen yang diperoleh, semakin besar kandungan senyawa yang ada dalam bahan baku (Yusriani dkk., 2018).

Identifikasi alkaloid secara kualitatif menggunakan tiga pereaksi yang berbeda, yaitu mayer, dragendrof dan wagner. Sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml kemudian ditambahkan beberapa tetes pereaksi mayer, dragendrof dan wagner. Jika setelah ditetaskan pereaksi mayer terbentuk endapan menggumpal putih atau kuning maka menandakan positif alkaloid, selanjutnya teteskan pereaksi dragendrof terbentuk endapan merah bata menandakan positif alkaloid, dan jika ditetaskan pereaksi wagner terbentuk endapan coklat hingga hitam maka menandakan positif alkaloid (Rachim *et al.*, 2020) Jika semua pereaksi menandakan positif maka dapat dilanjutkan untuk mengukur kadar alkaloid dari ekstrak batang brotowali (*Tinospora Crispa L.*) secara spektrofometri UV-Vis.

Pengukuran kadar alkaloid ekstrak batang brotowali (*Tinospora Crispa L.*) secara spektrofometri UV-Vis dilakukan secara kuantitatif. Hasil pengukuran dari alat ini yaitu absorbansi dari beberapa konsentrasi larutan standar atau sampel. Larutan baku yang digunakan pada penelitian ini adalah kafein. Larutan baku kafein diukur panjang gelombang ditentukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada rentang 200-400 nm. Panjang gelombang kafein yang didapat adalah 285 nm. Setelah menetapkan panjang gelombang kafein, langkah berikutnya adalah menentukan durasi operating time untuk mengidentifikasi waktu stabil atau konstan suatu sampel dalam membentuk senyawa kompleks. Waktu pengoperasian dilakukan dengan larutan standar kafein 10 ppm selama 60 menit dengan interval 2 menit. Hasil waktu pengoperasian stabil berada dalam rentang 34-38 menit.

Selanjutnya larutan standar kafein dibuat dengan konsentrasi yang berbeda, yaitu 20 ppm, 22 ppm, 24 ppm, 26 ppm, 28 ppm, 30 ppm, dan 32 ppm kemudian diukur dengan menggunakan spektrofometri UV-Vis pada panjang gelombang 285 nm dengan tiga kali replikasi. Hasil rata-rata nilai absorbansi yang didapatkan untuk masing-masing konsentrasi yaitu, 20 ppm 0,106, 22 ppm 0,116, 24 ppm 0,130, 26 ppm 0,143, 28 ppm 0,157 ppm, 30 ppm 0,171, dan 32 ppm 0,185. Hasil kurva baku kafein berbanding lurus dengan nilai absorbansi, yang artinya jika semakin tinggi konsentrasi larutan baku maka semakin tinggi pula nilai absorbansinya (Wahyuni & Marpaung, 2020).

Pada pengukuran kurva baku standar kafein dapat diperoleh persamaan regresi linear kafein yaitu $y = 0,0057 - 0,0041x$ dimana y adalah serapan (absorbansi) dan x sebagai konsentrasi sampel dengan nilai kuadrat koefisien korelasi (R^2) yaitu 0,9943. Nilai R^2 dapat diketahui nilai koefisien relasi (r) sebesar 0,9943 yang artinya hubungan antara konsentrasi ekstrak dengan absorbansi nya sangat kuat, karena jika nilai r semakin mendekati 1 maka antara dua variabel memiliki hubungan yang kuat dengan akan membentuk kurva baku yang linear atau berbanding lurus (Astika Winahyu et al., 2019).

Kadar alkaloid pada masing-masing fraksi menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki kandungan alkaloid tertinggi, yaitu sebesar 31,07%, kemudian diikuti oleh fraksi n-heksan dan fraksi aquadest. Alkaloid merupakan salah satu metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman. Senyawa alkaloid tersusun atas elemen-elemen yang mengandung nitrogen yang berperan dalam pembentukan alkaloid serta dalam reaksi pengikatan khas antarunsurnya. Secara struktur kimia, alkaloid memiliki atom nitrogen pada bagian siklik yang berikatan dengan gugus amina, amida, fenol, dan metoksi, sehingga sifat alkaloid tergolong semipolar (Edison et al., 2020). Etil asetat itu sendiri bersifat semi polar, sehingga alkaloid yang terdapat pada fraksi etil asetat adalah alkaloid yang bersifat semi polar. Senyawa alkaloid sendiri bersifat semi polar (Alfi, 2024). Hal ini diakibatkan oleh sifat alkaloid yang memiliki gugus polar dan gugus non polar sehingga dapat terlarut dalam pelarut non polar hingga pelarut polar. Hasil ini menunjukkan bahwa aquadest lebih banyak didapatkan hasil fraksinya dibandingkan fraksi n-heksan dan etil asetat dikarenakan pelarut n-heksan dan etil asetat adalah pelarut yang mudah menguap sehingga pelarut berkurang pada saat proses penguapan (Nopiyanti & Aisayah, 2020). Senyawa – senyawa metabolit sekunder yang paling banyak diambil dari fraksi etil asetat, sehingga konsentrasi alkaloid tertinggi ada pada fraksi etil asetat, karena komponen batang brotowali kaya akan senyawa semi polar yang lebih gampang larut, di mana hal ini mengidentifikasi sifat yang dapat mengikat berbagai senyawa aktif dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda (Utami et al., 2022). Karena hasil fraksi yang tinggi tidak menunjukkan bahwa alkaloid tersebut ada dalam jumlah yang banyak juga.

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan, dapat diketahui bahwa ekstrak batang brotowali (*Tinospora Crispa* L) positif memiliki kandungan senyawa alkaloid didalamnya dengan kandungan kadar alkaloid paling tinggi berada pada fraksi etil asetat yaitu sebesar 31,07%. Jika dibandingkan dengan penelitian lain disetiap tanaman itu kadar alkaloid berbeda-beda karena kandungan alkaloidnya pun juga berbeda-beda ada yang dominan semi polar seperti hasil yang didapatkan pada penelitian ini, dan ada juga yang dominan non polar seperti penelitian (Rahmah et al., 2023)

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa penetapan kadar alkaloid ekstrak batang brotowali (*Tinospora Crispa* L.) didapatkan hasil dari analisis kualitatif dengan identifikasi penambahan pereaksi positif mengandung senyawa alkaloid yang ditandai endapan putih menggumpal atau kuning, pada pereaksi dragendrof terbentuk endapan merah bata dan pada pereaksi wagner positif terbentuk endapan coklat hingga hitam. Hasil dari analisis kuantitatif dengan metode Spektrofometri UV-Vis didapatkan kadar senyawa alkaloid total dalam fraksi aquadest sebesar 20,19 mg atau 20,19%, pada fraksi n-heksan sebesar 20,54 mg atau 20,54% dan pada fraksi etil asetat sebesar 31,07 mg atau 31,07% yang mana kadar alkaloid total tertinggi yaitu pada fraksi etil asetat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada apt. H. Ali Rakhman Hakim, M.Farm. dan apt. Tuti Alawiyah, S.Farm.,MM yang telah memberikan arahan dan bimbingan dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR REFERENSI

- Alfi, T. F. (2024). Penentuan kadar alkaloid total sirih cina (*Peperomia pellucida*) berdasarkan perbedaan konsentrasi etanol dengan metode spektrofotometri UV-Vis. *Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences*, 5(1), 158–167. <https://doi.org/10.33859/jpcs.v5i1>
- Astika Winahyu, D., Retnaningsih, A., & Aprillia, M. (2019). Determination of flavonoid levels in raru wood stone (*Cotylelobium melanoxydon* P.) with UV-Vis spectrophotometry method. *Jurnal Analis Farmasi*, 4(1), 29–36.
- Desi, A., Saputri, S., Besthari, N. S., & Surakarta, N. (2023). Penetapan kadar alkaloid total pada ekstrak kasar dan ekstrak terpurifikasi bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dengan metode spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(1), 28–37. <https://doi.org/10.30867/jifs.v3i1.330>
- Edison, E., Diharmi, A., Ariani, N. M., & Ilza, M. (2020). Komponen bioaktif dan aktivitas antioksidan ekstrak kasar *Sargassum plagyophyllum*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(1), 58–66. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v23i1.30725>
- Nopiyanti, V., & Aisiah, S. (2020). Determination of sun protection factor (SPF) on fractionated extract of rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) as sunscreen active agent. *Journal of Pharmacy*, 9(1), 19–26. <https://doi.org/10.37013/jf.v9i1.99>
- Nugroho, A. (2017). *Teknologi bahan alam*. Lambung Mangkurat University Press.

- Pratiwi, M., Tandi, J., & Wirawan, W. (2019). Uji efek ekstrak daun tempuyung terhadap kadar glukosa darah tikus putih jantan diinduksi streptozotocin. *Farmakologika Jurnal Farmasi*, 16(2).
- Rachim, A. K., Husodo, S. B., & Arifudin, M. (2020). Uji fitokimia dan bioaktivitas daun katuk hutan (*Phyllanthus reticulatus* var. *glaber*). *Jurnal Kehutanan Papuasiasia*, 6(1), 47–61. <https://doi.org/10.46703/jurnalpapuasiasia.Vol6.Iss1.197>
- Tarukbua, Y. S. F. (2018). Skrining fitokimia dan uji toksisitas ekstrak etanol daun brotowali (*Tinospora crispa* (L.) Hook. f. & Thomson) dengan metode brine shrimp lethality test (BSLT). *Pharmacon*, 7(3).
- Tuldjanah, M., & Wulandari, A. (2022). Total flavonoid and antioxidant activity of ethanol extract from Java plum (*Syzygium cumini* L.) leaf. *Gema Kesehatan*, 14(2), 135–142.
- Utami, Y. P., Arruansaratu, E., & Jumaetri, F. (2022). Analisis kadar total alkaloid dari beberapa ekstrak daun patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Smith). *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian*, 1–6.
- Wahyuni, S., & Marpaung, M. P. (2020). Penentuan kadar alkaloid total ekstrak akar kuning (*Fibraurea chloroleuca* Miers) berdasarkan perbedaan konsentrasi etanol dengan metode spektrofotometri UV-Vis. *Dalton: Jurnal Pendidikan Kimia dan Ilmu Kimia*, 3(2). <https://doi.org/10.31602/dl.v3i2.3911>
- Welianto, Y. (2023). *Penetapan kadar flavonoid total berdasarkan tingkatan fraksi ekstrak daun sirsak (Annona muricata L.)* [Skripsi, Universitas Sari Mulia].
- Yusriani, Y., Ermawati, E., & Dewi, R. (2018). Uji daya hambat krim ekstrak batang brotowali (*Tinospora crispa* L.) terhadap *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Kesehatan Yamas Makassar*, 2(2).