

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilaksanakan di UPF Pelayanan Kesehatan Tradisional, Kalisoro, Kecamatan Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Kegiatan determinasi bertujuan untuk memastikan identitas dan ketepatan spesies tanaman yang digunakan, yaitu daun kacang panjang *Vigna unguiculata* (L.).

Hasil determinasi dari tanaman daun kacang Panjang (*Vigna unguiculata* L.) yang dilakukan di kemenkes dengan nomor TL.02.04/D.XII.6/11205.488/2026 pada tanggal 7 Mei 2026 adalah sebagai berikut:

Familia : Fabaceae

Spesies : *Vigna unguiculata* (L.) Walp

Sinonim : *Phaseolus unguiculatus* (L.) Piper

Hasil determinasi dari tanaman kacang Panjang (*Vigna unguiculata* L.) telah sesuai menurut (Wahyuni *et al.*, 2024) menyatakan bahwa tumbuhan yang digunakan merupakan daun Kacang Panjang (*Vigna unguiculata* L.) dari family Fabaceae.

B. Pengambilan Dan Pengeringan Bahan

Sebanyak 4.000 g daun kacang panjang (*Vigna unguiculata* L.) dikumpulkan sebagai bahan penelitian. Daun yang telah diperoleh selanjutnya dilakukan sortasi basah untuk memisahkan tanah, kotoran, dan bahan asing lainnya yang tidak diinginkan. Setelah itu, daun dicuci hingga bersih dan dirajang menjadi bagian yang lebih kecil untuk mempercepat proses pengeringan. Proses pengeringan dilakukan menggunakan oven pada suhu 60°C hingga diperoleh daun kacang panjang dalam kondisi kering.

Daun Kacang panjang (*Vigna unguiculata* L.) yang telah kering di sortasi kering untuk memilah ada atau tidaknya senyawa yang tidak diinginkan pada simplisia. Daun kacang panjang (*Vigna unguiculata* L.) yang telah di sortasi kering, di blender hingga menjadi serbuk halus dan diayak menggunakan ayakan

nomor 60. Hasil pengumpulan bahan diperoleh bobot basah daun kacang panjang (*Vigna unguiculata* L.) sebanyak 4 kg, dan dijadikan serbuk, diperoleh bobot sebanyak 500g dengan presentase 12,5% seperti yang tertera pada tabel 1.

Tabel. 1 Presentase serbuk simplisia

Simplisia Basah (g)	Simplisia Kering (g)	Serbuk (g)	Presentase %
4000	500	485	12,5

Menurut (Kemenkes, 2022), Syarat nilai presentase serbuk yang baik yaitu lebih dari 10%, Sehingga hasil yang di dapat sudah memenuhi syarat.

C. Pembuatan Ekstrak Daun kacang Panjang

Pada tabel 2 Ekstrak kental yang dihasilkan sebanyak 89,25g dan diperoleh rendeman simplisia ekstrak sebesar 22,31% (Kemenkes, 2022). Syarat nilai rendeman ekstrak yang baik yaitu lebih dari 10%. Hasil rendeman yang diperoleh telah memenuhi syarat. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Karim *et al.*,(2025) yang menunjukkan nilai rendemen sebesar 24,64%.

Tabel. 2 Presentase rendemen ekstrak

Serbuk daun kacang panjang (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
400	89,25	22,31

D. Hasil Uji Parameter Standarisasi Ekstrak

1. Standarisasi / kontrol kualitas

a. Uji Organoleptis Ekstrak Daun kacang Panjang (*Vigna unguiculata* L.)

Tujuan dilakukanya uji organoleptis yaitu untuk memberikan pengenalan awal terhadap serbuk simplisia. Berikut hasil uji organoleptis dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel. 3 Organoleptis simplisia

Warna	Aroma	Rasa	Teksture
Hijau	Khas aromatis dedaunan	Sedikit kelat (sepat), agak pahit	Halus

Dari hasil pengujian Organoleptis serbuk simplisia menghasilkan warna hijau tua, Aroma khas aromatis dedaunan, Rasa kelat (sepat), agak pahit, teksture serbuk simplisia halus. Pengujian warna, aroma, rasa,

teksture pada suatu serbuk simplisia dilakukan dengan memanfaatkan indera manusia dalam mengidentifikasi atribut sensori produk karena belum ada mesin atau alat yang dapat menggantikan kepekaan indera manusia (Rizal *et al.*, 2024). Pada uji ini kurang lebih sama seperti penelitian uji organoleptis yang dilakukan (Octavia *et al.*, 2023).

b. Uji susut pengeringan dengan *Moisture Balance*

Pada tabel 4 menunjukkan bahwa hasil penetapan kadar susut pengeringan yang di uji menggunakan alat *moisture balance* sebesar 6,67 %. Menurut (Kemenkes, 2022) hasil susut pengeringan yang baik yaitu tidak lebih dari 10%. Hasil penelitian yang telah dilakukan masih sesuai dengan ketentuan susut pengeringan yang baik.

Tabel.4 Hasil *Moisture balance*

Replikasi	Jumlah serbuk (g)	Bobot Akhir (g)	Hasil susut pengeringan
1	2	1,870	6,50
2	2	1,867	6,65
3	2	1,862	6,86
Rata – rata ± SD			6,67 ± SD 0,180

c. Uji Bebas Etanol

Ekstrak daun kacang Panjang (*Vigna unguiculata* L.) dilakukan uji bebas etanol. Uji bebas etanol dilakukan untuk mengetahui apakah ekstrak terdapat etanol atau tidak. Hasil uji bebas etanol dapat dikatakan bebas pelarut apabila tidak terdapat bau khas dari pelarut etanol pada ekstrak daun kacang Panjang (*Vigna Unguiculata* L.) yang telah di uji.

Tabel. 5 Hasil Uji bebas etanol

Prosedur	Hasil	Pustaka
0,5 g Esktrak + 2ml asam asetat + 2 ml H ₂ SO ₄ Kemudian dipanaskan	Tidak tercium bau ester yang khas dari etanol	Tidak tercium bau ester dari etanol (Priamsari and Rokhana, 2020).

Pada tabel 5 ditunjukkan dengan hasil yang di peroleh dari uji bebas etanol daun Kacang Panjang (*Vigna unguiculata* L.) tersebut dinyatakan bebas pelarut etanol karena tidak tercium aroma eter saat di reaksi

dengan asam sulfat dan asam asetat. Hasil penelitian ini sama dengan penelitian Achmad *et al.*, (2024) yaitu tidak tercium bau ester setelah pengujian, yang menandakan ekstrak telah bebas dari etanol.

d. Skrining Fitokimia

Pengujian kimia ekstrak daun Kacang Panjang (*Vigna unguiculata* L.) menggunakan metode tabung, dikarenakan kandungan flavonoid dapat teridentifikasi dengan baik. Berikut hasil uji tabung dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel.6 Hasil skrining fitokimia

Identifikasi	Pereaksi	Hasil Ekstrak	Interprestasi Hasil
Alkaloid	<i>Dragendorf, Mayer dan Wagner</i>	Endapan Putih, Endapan Coklat, Endapan Merah	+
Flavonoid	Pita Magnesium, Asam klorida pekat, Amilalkohol	Munculnya warna Jingga pada lapisan amilalkohol	+
Saponin	HCl 2M	Adanya gelembung yang stabil	+
Fenolik	FeCl ₃ 1%	Perubahan warna menjadi Hitam	+
Tanin	FeCl ₃	Biru Kehitaman	+

Keterangan

(+) Mengandung Senyawa

(-) Tidak Mengandung Senyawa

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak daun kacang Panjang (*Vigna unguiculata* L.) positif mengandung senyawa Alkaloid, Flavonoid, Saponin, Fenolik, Tanin. Pada penelitian yang dilakukan oleh Herdaningsih & Muharami,(2025) Daun kacang Panjang juga positif mengandung senyawa metabolit sekunder seperti Alkaloid, Flavonoid, Saponin, Fenolik, Tanin.

e. Uji Kromatografi Lapis Tipis

Hasil penelitian pada uji KLT yang telah dilakukan menunjukan bahwa ekstrak daun pandan wangi mengandung senyawa flavonoid. Uji KLT dilakukan menggunakan plat silca gel GF₂₅₄ sebagai fase diam dan disinari dibawah lampu UV₂₅₄ dan UV₃₆₆. Hasil kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel.7 Hasil uji KLT

Kandungan Senyawa	Eluen dan Pembanding	Hasil Positif	Hasil Nilai RF	Ket
Alkaloid	Kloroform : Metanol (9:1) Pembanding : Kafein Penampak noda : <i>dragendorff</i>	Munculnya noda berwarna coklat/Merah bata atau Jingga	Nilai Sampel = 0,8 Baku Pembanding = 0,9	(+) Positif Alkaloid

Keterangan:

(+) Mengandung senyawa

(-) Tidak mengandung

Senyawa Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan untuk memperjelas suatu hasil yang didapat pada uji skrining fitokimia. Hasil nilai RF yang diperoleh dari ekstrak Daun Kacang Panjang (*Vigna unguiculata* L.) menunjukkan bahwa ekstrak positif mengandung senyawa Alkaloid yang ditandai dengan adanya perubahan warna coklat/Merah bata atau Jingga. Pada pengujian Kromatografi Lapis Tipis yang telah dilakukan terdapat selisih antara sampel dan pembanding, pada uji flavonoid, nilai sampel 0,8, nilai pembanding 0,9 terdapat selisih sebesar 0,1. Menurut Harborne, (1987) Nilai RF pada masing-masing kandungan baik, RF sampel ataupun RF baku pembanding memiliki nilai Rf yang sesuai dengan syarat Rf yang baik berkisar antara 0,2 – 0,8.

f. Penentuan Panjang Gelombang

Berdasarkan pengukuran larutan kafein menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200.00 nm hingga 400.00 nm, diperoleh data peak (puncak) dan valley (lembah) sebagai berikut, Dari Hasil pengukuran larutan kafein menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentan panjang gelombang 200.00 nm hingga 400.00 nm diperoleh Panjang gelombang maksimum untuk indikasi kafein adalah 276.00 nm dengan nilai absorbansi tertinggi sebesar 0.7188 , hasil ini menunjukkan kesesuaian yang sangat baik menurut Standar Nasional Indonesia (2014), Panjang gelombang serapan maksimum untuk kafein yaitu 276 nm.

Tabel. 8 hasil Pengukuran Panjang Gelombang

NO.	Tipe (P/V)	Panjang Gelombang (Wavelength – nm)	Absorbansi (Abs.)
1	Puncak (peak ↑)	307.00	0.6796
2	Puncak (peak ↑)	276.00 (Indikasi Puncak Kafein)	0.7188
3	Lembah (Valley ↓)	340.00	0.1915
4	Lembah (Valley ↓)	295.00	0.6250
5	Lembah (Valley ↓)	258.00	0.6282

g. Pengukuran Kurva Baku Kafein

Berdasarkan Tabel 9 gambar grafik hasil analisis Kurva Baku Kafein menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis. Persamaan Regresi Linear, Dari grafik tersebut, diperoleh persamaan garis lurus (*regresi linear*) sebagai berikut:

$$y=0,069x+0,036$$

y (Sumbu Vertikal): Menunjukkan nilai Absorbansi (serapan cahaya) yang terukur oleh spektrofotometer. Nilainya berkisar antara 0,000 hingga 0,450. x (Sumbu Horizontal): Menunjukkan nilai Konsentrasi larutan standar kafein (biasanya dalam satuan ppm atau $\mu\text{g/mL}$). Konsentrasi yang diuji berada pada rentang 1 hingga 5. Slope/Kemiringan ($a=0,069$): Menunjukkan sensitivitas metode analitik. Setiap kenaikan 1 unit konsentrasi kafein akan meningkatkan nilai absorbansi sebesar 0,069. Intercept/Konstanta ($b=0,036$): Merupakan nilai absorbansi teoretis ketika konsentrasi kafein bernilai nol ($x=0$).

Nilai koefisien determinasi yang diperoleh sangat baik, yaitu $R^2 = 0,9985$ Kesimpulannya Nilai ini menunjukkan tingkat linearitas yang sangat tinggi. Nilai R^2 yang mendekati 1 (ideal jika $\geq 0,995$ atau 0,999 untuk analisis kimia) membuktikan adanya hubungan linear yang sangat kuat dan berbanding lurus antara peningkatan konsentrasi kafein dengan nilai absorbansi yang dihasilkan. Kurva baku ini sudah valid dan memenuhi syarat untuk digunakan dalam analisis kuantitatif. Anda dapat menggunakan persamaan $y = 0,069x + 0,036$ ini untuk menghitung kadar atau konsentrasi sampel kafein yang belum diketahui.

Tabel. 9 hasil Kurva Baku Kafein**Tabel.10** Nilai hasil kurva baku Kafein

Seri Konsentrasi	Abs	K.Abs
10	0.110	0.1100
15	0.170	0.1700
20	0.240	0.2400
25	0.310	0.3100
30	0.385	0.3850

E. Perhitungan Kadar Alkaloid Total

Waktu kerja optimum (*operating time*) yang diperoleh berada pada rentang 41–58 menit. Penentuan kadar alkaloid total dilakukan dengan mengambil 2 mL larutan sampel, kemudian ditambahkan 2 mL larutan penyangga (buffer) fosfat pH 4,7 dan 2 mL larutan Bromocresol Green (BCG). Campuran tersebut selanjutnya diekstraksi menggunakan 3 mL kloroform sebanyak 3 kali pengulangan dengan bantuan vortex mixer. Setelah diekstraksi, larutan didiamkan sesuai *operating time*, lalu diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang maksimum kafein.

F. Perhitungan Kadar Alkaloid Total

Waktu kerja optimum (*operating time*) yang diperoleh berada pada rentang 41–58 menit. Penentuan kadar alkaloid total dilakukan dengan mengambil 2 mL larutan sampel, kemudian ditambahkan 2 mL larutan penyangga (buffer) fosfat pH 4,7 dan 2 mL larutan *Bromocresol Green* (BCG). Campuran tersebut selanjutnya diekstraksi menggunakan 3 mL kloroform sebanyak 3 kali pengulangan dengan bantuan *vortex mixer*. Setelah diekstraksi, larutan didiamkan sesuai *operating time*, lalu diukur

nilai absorbansinya pada panjang gelombang maksimum kafein.

Tabel 11. Hasil absorpsi sampel ekstrak daun kacang Panjang

Replikasi	Abs	K.Abs	Hasil Kadar Alkaloid Total
1	0.701	0.7011	6,7 x 10 ⁻⁵ %
2	0.701	0.7011	
3	0.701	0.7011	

Hasil pengujian sampel ekstrak daun kacang panjang (*Vigna unguiculata* L.) menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis menunjukkan nilai absorbansi yang sangat konsisten, yaitu 0,701 dari tiga kali replikasi pada konsentrasi sampel 10.000 ppm. Berdasarkan hasil pengukuran tersebut, diperoleh kadar alkaloid total ekstrak daun kacang panjang sebesar 6,7 x 10⁻⁵% (atau setara dengan 0,000067%). Kadar ini relatif sangat rendah jika dibandingkan dengan penelitian terdahulu. Pada penelitian yang dilakukan (Setyaningrum & Susanti, 2022) Dari penelitian tersebut diperoleh hasil kadar pada ekstrak etanol biji ketumbar (*Coriandrum sativa*) sebesar 0,524% dan Pada penelitian yang dilakukan (Karim *et al.*, 2025) dari penelitian tersebut diperoleh hasil kadar alkaloid total daun ungu (*Graptophyllum pictum* L.) sebesar 0,1305%. Rendahnya kadar alkaloid total pada daun kacang panjang (*Vigna unguiculata* L.) yaitu sebesar 6,7×10⁻⁵% dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor utama, di antaranya :

Jaringan atau organ tumbuhan yang digunakan, alkaloid sering terkumpul di bagian tertentu seperti biji, kulit batang, atau akar sebagai cara tumbuhan melindungi diri. Bagian daun yang muda atau tua mungkin memiliki kadar yang jauh lebih rendah dibandingkan organ – organ penyimpan lainnya (Juliana *et al.*, 2024).

Pembentukan metabolit sekunder, termasuk alkaloid, dipengaruhi oleh berbagai kondisi lingkungan, seperti tingkat stres tanaman, ketersediaan unsur hara dalam tanah, intensitas paparan sinar matahari, serta kondisi tempat tumbuh. Tanaman yang berkembang pada lingkungan dengan kondisi optimal dan memiliki tingkat gangguan, seperti serangan herbivora

maupun stres lingkungan, yang relatif rendah cenderung menghasilkan alkaloid dalam jumlah yang lebih rendah (Juliana *et al.*, 2024).

Alkaloid memiliki karakteristik kepolaran yang berbeda-beda, bergantung pada bentuknya, baik dalam bentuk garam alkaloid yang bersifat lebih polar maupun alkaloid bebas yang cenderung kurang polar. Oleh karena itu, pemilihan jenis pelarut dan penerapan kondisi ekstraksi yang tepat menjadi faktor penting dalam memperoleh senyawa alkaloid secara optimal. Penggunaan pelarut atau kondisi ekstraksi yang kurang sesuai dapat menyebabkan proses penarikan senyawa alkaloid dari matriks daun menjadi kurang maksimal (Larasati *et al.*, 2021).

Alkaloid adalah salah satu jenis zat kimia yang dihasilkan oleh tubuh makhluk hidup, biasanya mengandung unsur nitrogen, dan dapat ditemukan di dalam tubuh hewan maupun pada tumbuhan. Mayoritas alkaloid berasal dari tumbuhan, terutama dari tumbuhan berbunga, di mana tidak kurang dari 20% tumbuhan berbunga mengandung zat alkaloid. Alkaloid terdapat di berbagai bagian tanaman, seperti bunga, biji, daun, cabang, akar, dan kulit kayu, meskipun jumlahnya sedikit dan harus dipisahkan dari campuran senyawa yang kompleks lainnya. Dari segi fisiologi, alkaloid memiliki peran yang sangat penting dalam kehidupan sehari-hari dan sering digunakan dalam berbagai bentuk pengobatan. Manfaat kesehatan dari alkaloid meliputi mengatur tekanan darah, merangsang sistem saraf, serta melindungi tubuh dari infeksi bakteri. Alkaloid juga bisa digunakan sebagai obat untuk menurunkan gula darah, mencegah pertumbuhan bakteri, mengatasi diare, serta mencegah penyakit malaria. Namun, meski memiliki berbagai manfaat, beberapa senyawa alkaloid ternyata bisa beracun. Maka itu, mengenali senyawa alkaloid yang mungkin memberikan manfaat sangat penting (Sitorus *and* Hutabarat, 2024).