

Perbandingan Metode Ekstraksi Yang Berbeda Pada Biji Sorgum (*Shorgum bicolor* (L). Moench) Terhadap Rendemen Ekstrak dan Kadar Senyawa Metabolit Sekunder

*Comparison of Different Extraction Methods on Sorghum Seeds (*Shorgum bicolor* (L). Moench) on Extract Yield and Secondary Metabolite Compound Levels*

Rilyn Novita Maramis^{1*}, Evelina Maria Nahor², Elvie Rifke Rindengan³

^{1,2,3}Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Manado, Jl. Manguni 20, Malendeng-Perkamil, Manado 95126, Indonesia
Email: rilynmaramis@gmail.com

Abstrak

Sorgum sebagai tanaman yang potensial, oleh pemerintah dikembangkan sebagai bahan pangan nasional. Sorgum mengandung karbohidrat, protein dan serat yang tinggi dan mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, tanin, fenol, steroid dan terpenoid. Metabolit sekunder yang dihasilkan dan besarnya jumlah rendemen bergantung pada metode ekstraksi yang dilakukan. Penelitian ini bertujuan mengetahui jumlah rendemen dan penetapan kadar ekstrak biji sorgum yang dihasilkan dengan metode ekstraksi cara dingin (Perkolasi) dan cara panas (Refluks). Ekstrak biji sorgum diperoleh dengan cara dingin (Perkolasi) dan cara panas (Refluks) menggunakan pelarut etanol 96%. Selanjutnya dihitung rendemen yang dihasilkan kemudian dilakukan identifikasi dan penetapan kadar menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hasil penelitian yang diperoleh bahwa ekstrak biji sorgum metode ekstraksi cara dingin (Perkolasi) menghasilkan rendemen sebanyak 3,733% dan metode ekstraksi cara panas (Refluks) menghasilkan rendemen sebanyak 10,133%. Hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak biji sorgum metode ekstraksi cara dingin (Perkolasi) dan metode cara panas (Refluks), masing-masing metode mengandung senyawa metabolit sekunder saponin, flavonoid, tanin dan terpenoid serta tidak mengandung alkaloid dan steroid. Ekstrak biji sorgum metode perkolasi memiliki kadar total saponin dari Quillaja bark sebesar 0,94%b/b, kadar total flavonoid ekuivalen kuersetin sebesar 0,84%b/b, kadar total tannin ekuivalen asam tanat sebesar 0,45%b/b dan ekstrak biji sorgum metode refluks memiliki kadar total saponin dari Quillaja bark sebesar 1,07%b/b, kadar total flavonoid ekuivalen kuersetin sebesar 0,0615 %b/b dan kadar total tannin ekuivalen asam tanat sebesar 19,44 %b/b.

Kata kunci: Sorgum; Perkolasi; Refluks; Rendemen; Kadar.

Abstract

Sorghum, as a potential crop, has been promoted by the government as a national food source. Sorghum contains primary metabolites such as carbohydrates, proteins, and high fiber, as well as secondary metabolites including alkaloids, tannins and phenols, steroids, and terpenoids. The secondary metabolites produced and the yield obtained depend on the extraction method used. This study aimed to determine the yield and concentration of sorghum seed extract obtained through cold extraction (Percolation) and hot extraction (Reflux). Sorghum seed extract was obtained using cold (Percolation) and hot (Reflux) extraction methods with 96% ethanol as the solvent. The resulting yield was then calculated, followed by identification and quantification using UV-Vis spectrophotometry. The results show that the cold extraction (Percolation) method produced a yield of 3,733%, while the hot extraction (Reflux) method produced a yield of 10,133%. The identification of secondary metabolites in sorghum seed extracts from both cold (Percolation) and hot (Reflux) extraction methods reveals the presence of saponins, flavonoids, tannins, and terpenoids, but no alkaloids or steroids. The percolation method yields a total saponin content from Quillaja bark of 0,94% w/w, a total flavonoid content equivalent to quercetin of 0,84% w/w, and a total tannin content equivalent to tannic acid of 0,45% w/w. Meanwhile, the reflux extraction method yields a total saponin content from Quillaja bark of 1,07% w/w, a total flavonoid content equivalent to quercetin of 0,0615 %b/b, and a total tannin content equivalent to tannic acid of 19,44% w/w.

Keywords: Sorghum; Percolation; Reflux; Yield; Content.

* Corresponding Author: Rilyn Novita Maramis, Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Manado

E-mail : rilynmaramis@gmail.com

Doi : 10.35451/jfm.v7i2.2592

Received : March 06, 2025. Accepted: April 21, 2025. Published: April 30, 2025

Copyright (c) 2025 Rilyn Novita Maramis. Creative Commons License This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

1. PENDAHULUAN

Sorgum merupakan sumber bahan pangan yang saat ini dikembangkan oleh pemerintah sebagai bahan pangan nasional pengganti padi. Tanaman sorgum dapat tumbuh dengan baik pada semua daerah, beradaptasi dengan baik pada berbagai kondisi ekologis, dan terus menghasilkan panen meskipun dalam kondisi lingkungan yang buruk [1]. Sorgum sebagai tanaman yang potensial mengandung karbohidrat, protein serta serat yang tinggi dan mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, tanin, fenol, steroid dan terpenoid [2]. Kandungan metabolit sekunder berdasarkan hasil penelitian menyatakan ekstrak metanol biji sorgum mengandung saponin, tanin, gula pereduksi, alkaloid, fenol fitosterol dan antosianin [3]. Penelitian lain menyebutkan ekstrak etanol 70% biji sorgum yang diperoleh dengan cara maserasi mengandung saponin, alkaloid, flavonoid dan tanin [4]. Metabolit sekunder merupakan suatu senyawa yang diperoleh dari biosintesis makhluk hidup tumbuhan, mikroba atau hewan [5]. Senyawa ini diambil menggunakan metode ekstraksi dan isolasi. Ekstraksi yaitu proses pemisahan berdasarkan perbedaan kemampuan melarutnya komponen-komponen yang ada dalam campuran [6]. Umumnya proses ekstraksi terbagi dua metode yakni cara dingin dan cara panas. Ekstraksi metode dingin contohnya maserasi dan perkolasi. Ekstraksi metode panas contohnya refluks, soxhlet, digesti, infus dan dekok.

Kandungan senyawa kimia yang larut dalam pelarut dapat diperoleh menggunakan teknik ekstraksi. Dalam pemilihan pelarut perlu diperhatikan selektifitas, sifat racun dan kemudahannya menguap. Metode ekstraksi yang digunakan merupakan hal penting dalam proses pemisahan senyawa bioaktif, karena ini menentukan jumlah rendemen yang diperoleh. Rendemen yaitu persentase perbandingan jumlah ekstrak yang dihasilkan terhadap jumlah simplisia yang digunakan. Satuan yang digunakan adalah persen (%). Tingginya nilai rendemen menunjukkan ekstrak yang dihasilkan semakin besar [7]. Penelitian sebelumnya yang dilakukan dimana ekstraksi cara maserasi menggunakan pelarut etanol 75% biji sorgum dengan perikardium menghasilkan rendemen 10,48% dan tanpa perikardium menghasilkan rendemen 8,4% [2]. Penelitian lain juga menyatakan ekstrak biji sorgum menggunakan ekstraksi maserasi menggunakan etanol 70% diperoleh rendemen 3,73% [3].

Penyarian dengan metode perkolasi dimana ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru hingga penyarian sempurna, dilaksanakan umumnya ditemperatur ruangan. Penyarian dilakukan pada serbuk yang sudah dibasahi dengan mengalirkan pelarutnya. Metode refluks merupakan metode berkesinambungan yang mana pelarut secara terus menerus menyari senyawa kimia pada simplisia, pelarut dipanaskan hingga menguap untuk mengekstrak komponen kimia dalam simplisia, pelarut dipanaskan hingga menguap untuk mengekstrak komponen kimia dalam simplisia. Pendingin balik kemudian mengembunkan uap menjadi molekul cair, yang jatuh kembali ke dalam labu alas bulat selama proses ekstraksi. Proses terjadi terus menerus dan umumnya diselesaikan tiga kali selama 4 jam [8]. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui jumlah rendemen ekstrak serta melakukan identifikasi senyawa metabolit sekunder dan penetapan kadar ekstrak biji sorgum (*Shorgum bicolor* (L). Moench) yang dihasilkan dengan metode ekstraksi cara dingin (Perkolasi) dan cara panas (Refluks).

Penelitian oleh (Maryam dkk, 2023) menunjukkan bahwa perbedaan metode ekstraksi menghasilkan kadar flavonoid yang berbeda pada ekstrak daun sawo duren dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis [9]. Penelitian lain yang dilakukan (Sari dan Puspitasari, 2023) menggunakan spektrofotometri UV-Vis menghasilkan kadar fenol dan flavonoid yang berbeda pada ekstrak umbi wortel yang dihasilkan dari metode ekstraksi yang berbeda [10]. Selanjutnya penelitian oleh (Aji dkk, 2023) memberikan hasil perbedaan rendemen pada ekstrak daun bakau hitam menggunakan metode ekstraksi yang berbeda [11].

Berdasarkan uraian tersebut, Peneliti ingin mengetahui jumlah rendemen ekstrak, melakukan identifikasi senyawa metabolit sekunder dan penetapan kadar ekstrak biji sorgum (*Shorgum bicolor* (L). Moench) yang dihasilkan dengan metode ekstraksi cara dingin (Perkolasi) dan cara panas (Refluks).

2. METODE

Bahan

Biji sorgum, etanol 96%, HCl 2N, aquadest, pereaksi Bouchardat, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorf, serbuk Magnesium, HCl Pekat, amil alkohol, FeCl₃ 1%, asam asetat anhidrat dan H₂SO₄ Pekat, H₂SO₄ 25%, eter, anisaldehyd, H₂SO₄ 50%, standar saponin, standar quercetin, Nat nitrit 5%, aluminium klorida 10%, NaOH 1 M, HCl 4N, dietil eter, reagen Folin Ciocalteu, natrium karbonat 20%, standar tannic acid.

Alat

Perkolator, Refluks, timbangan analitik, corong, batang pengaduk, pipet tetes, gelas ukur, gelas piala, rotavapor, erlenmeyer, cawan penguap, kertas saring, tabung reaksi, penangas air, rak tabung reaksi dan spatel besi, spektrofotometri UV-Vis.

Prosedur

Penyiapan sampel

Sampel biji sorgum yang telah dikumpulkan dan dikeringkan tidak dibawah sinar matahari langsung, dihaluskan dan diayak dengan pengayak mesh 40 [2].

Ekstraksi Sampel

Ekstraksi dilakukan dua metode yaitu perkolasi dan refluks. Metode perkolasi dilakukan dengan menimbang 50 gram serbuk biji sorgum masukkan dalam wadah tertutup dan direndam dengan 100 ml etanol 96% selama 24 jam. Pindahkan massa sedikit demi sedikit ke dalam perkolator, ditambahkan etanol 96% secukupnya sampai cairan mulai menetes, diatur tetesan kecepatan 1 ml/menit. Terus tambahkan secukupnya pelarut hingga selalu ada lapisan pelarut di atas simplisia sampai didapat 400 ml perkolat. Massa diperas dan tambahkan hasil perasan ke dalam perkolat kemudian cukupkan pelarut sampai 500 ml. Dipekatkan pada rotavapor, diuapkan di atas penangas air sampai pelarut menguap sempurna kemudian ditimbang ekstrak kental yang dihasilkan dan hitung rendemen. Metode refluks dibuat dengan menimbang 50 gram serbuk biji sorgum dan masukkan ke dalam labu 1000 ml. Etanol 96% ditambahkan secukupnya dan direfluks selama 3 jam, ekstraksi dibuat 2 kali ulangan dan disaring. Kumpulkan semua filtrat yang diperoleh, kemudian dipekatkan pada rotavapor, diuapkan di atas penangas air sampai pelarut menguap sempurna kemudian ditimbang ekstrak kental yang dihasilkan dan hitung rendemen [12].

Identifikasi Alkaloid

Ekstrak etanol biji sorgum 500 mg dimasukkan dalam tabung reaksi lalu masukkan HCl 2N 1 ml dan air 9 ml. Panaskan 2 menit, dinginkan lalu saring. Dibagi filtrat ke dalam 3 tabung reaksi. Masukkan pereaksi Bouchardat pada tabung reaksi pertama. Terjadi endapan berwarna coklat atau hitam berarti mengandung alkaloid. Ditambahkan pereaksi Mayer pada tabung reaksi kedua. Terjadi endapan berwarna putih atau kuning berarti adanya alkaloid. Tambahkan pereaksi Dragendorff pada tabung reaksi ketiga. Terjadi endapan berwarna jingga atau merah coklat berarti mengandung alkaloid [13].

Identifikasi Flavonoid

Ekstrak etanol biji sorgum sebanyak 500 mg dimasukkan pada tabung reaksi dan tambahkan 10 ml aquadest. Dipanaskan 5 menit, dinginkan dan disaring. Diambil filtrat sebanyak 5 ml, tambahkan 0,1g serbuk Magnesium, 1 ml HCl pekat dan 2 ml amil alkohol. Dikocok, dibiarkan memisah, jika terjadi warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol berarti mengandung flavonoid [13].

Identifikasi Saponin

Ekstrak etanol biji sorgum 500 mg dimasukkan pada tabung reaksi dan tambahkan air panas 10 ml, dinginkan selanjutnya dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Terjadi buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1-10 cm dengan penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang berarti adanya saponin [14].

Identifikasi Tanin

Ekstrak etanol biji sorgum 500 mg dimasukkan pada tabung reaksi. Tambahkan 2 ml air suling, 1 ml etanol 96% dan 2 tetes larutan FeCl_3 1%. Terjadi warna hijau gelap atau hijau kebiruan berarti mengandung tanin [14].

Identifikasi Steroid dan Terpenoid

Ekstrak etanol biji sorgum 100 mg dimasukkan pada plat tetes, tambahkan asam asetat anhidrat hingga semua sampel terendam. Diamkan selama 15 menit, lalu sebanyak 6 tetes larutan dimasukkan kedalam tabung reaksi, tambahkan 2-3 tetes asam sulfat pekat. Terjadi warna biru berarti mengandung senyawa golongan steroid dan warna merah jingga atau ungu berarti terdapat senyawa golongan terpenoid.

Pembuatan Larutan Baku Standar Saponin from Quilaja bark

Timbang standar saponin Quillaja 10 mg kemudian tambahkan air 5 ml, vortex 5 menit. Tambahkan 50 μl anisaldehyd, gojok dan diamkan selama 10 menit. Tambahkan 2 ml asam sulfat 50%, panaskan pada penangas air suhu 60°C selama 10 menit dan tambahkan air sampai 10 ml dalam labu takar, encerkan dari 400, 200, 100, 50, 25, 12.5 μl . Ukur panjang gelombang menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada 400-450 nm. Serapan panjang gelombang maksimal pada panjang gelombang 435 nm.

Penetapan Kadar Saponin Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Timbang sampel sebanyak ± 50 mg kemudian tambahkan 2 ml H_2SO_4 25%. Autoclaf 120 menit, suhu 110°C. Ekstraksi menggunakan eter. Keringkan filtratnya, tambahkan air 1 ml, vortex 5 menit. Tambahkan 50 μl anisaldehyd, gojok dan diamkan selama 10 menit. Tambahkan 2 ml asam sulfat 50%, panaskan pada penangas air suhu 60°C selama 10 menit dan tambahkan air sampai 10 ml dalam labu takar, encerkan 5 kali. Baca serapan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimal 435 nm.

Pembuatan Larutan Baku Standar Flavonoid Equivalent Quercetin

Timbang baku standar Quercetin 10,0 mg tambahkan 0,3 ml natrium nitrit 5%. Tunggu 5 menit tambahkan 0,6 ml aluminium chloride 10%, tunggu 5 menit tambahkan 2 ml natrium hidroksida 1 M. Tambahkan aquades sampai 10 ml dalam labu takar. Pindahkan ke dalam kuvet, ukur panjang gelombang menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada 400-600 nm. Serapan panjang gelombang maksimal pada panjang gelombang 510 nm.

Penetapan Kadar Flavonoid Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Timbang 50 mg sampel tambahkan 2 mL HCl 4N. Hidrolisis dengan autoclaf pada suhu 110°C selama 2 jam. Saring sampel, tambahkan eter ke dalam filtrat. Ekstraksi dengan eter, ambil fase eter. Ulangi sebanyak 3x. Keringkan fase eter. Tambahkan 0,3 ml natrium nitrit 5% pada sampel yang telah kering. Setelah 5 menit tambahkan 0,6 ml aluminium chloride 10%, tunggu 5 menit, masukkan 2 ml natrium hidroksida 1 M. Tambahkan aquades sampai 10 ml dalam labu takar. Encerkan sesuai kebutuhan. Pindahkan ke dalam kuvet, baca serapan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimal 510 nm.

Pembuatan Larutan Baku Standar equivalent Tannic Acid

Timbang dengan seksama standar Tannic Acid, tambahkan 10 ml reagen Folin Ciocalteu, divortex, tunggu 5 menit. Tambahkan larutan Natrium Carbonat 20%, tepatkan hingga volume 100 ml. Encerkan sesuai konsentrasi kurva standar. Inkubasi pada suhu kamar selama 30 menit selanjutnya ukur panjang gelombang menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada 600-800 nm. Serapan panjang gelombang maksimal pada panjang gelombang 760 nm.

Penetapan Kadar Tanin Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Timbang sampel sebanyak ± 50 mg. Selama 20 jam diekstraksi dengan 10 ml Diethyl eter, lalu saring. Uapkan sisa Diethyl eter, tambahkan Aquadest pada sampel sampai volume 10 ml. Ambil 1 ml larutan sampel tambahkan dengan 0,1 mL reagen Folin Ciocalteu, divortex, tunggu 5 menit. Tambahkan dengan 2 ml Natrium Carbonat 20%, divortex, tunggu 5 menit. Tambahkan aquadest sampai volume 10 ml. Inkubasi pada suhu kamar selama 30 menit selanjutnya baca absorbansi menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimal 760 nm.

3. HASIL

Penelitian diawali dengan pengolahan sampel, proses ekstraksi, identifikasi metabolit sekunder dan penetapan kadar. Sampel yang digunakan adalah biji sorgum dalam bentuk simplisia kering kemudian dihaluskan menggunakan grinder. Selanjutnya proses ekstraksi menggunakan metode perkolasi dan refluks.

Tabel 1. Rendemen Ekstrak Biji Sorgum

Metode Ekstraksi	Berat Sampel (gram)	Berat Ekstrak (gram)	Rendemen (%)	Rata-rata (%)
Perkolasi	50	2,1	4,2	3,733
		2,0	4,0	
		1,5	3,0	
Refluks	50	6,7	13,4	10,133
		4,5	9,0	
		4,0	8,0	

Hasil ekstraksi 50 g biji sorgum metode perkolasi pelarut etanol 96% mendapatkan ekstrak kental rendemen sebesar 3,733%. Ekstrak hasil perkolasi yang diperoleh memiliki ciri-ciri seperti bentuk yang kental dan berwarna coklat kemerahan. Hasil ekstraksi 50 g biji sorgum dengan metode refluks menggunakan etanol 96% sebagai pelarut menghasilkan ekstrak kental dengan rendemen sebesar 10,133%. Ekstrak hasil refluks yang diperoleh memiliki ciri-ciri seperti bentuk yang kental dan berwarna coklat kemerahan. Hasil identifikasi metabolit sekunder metode cara dingin perkolasi maupun cara panas refluks, masing-masing metode menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama yaitu saponin, flavonoid, tanin dan terpenoid serta tidak mengandung alkaloid dan steroid.

Tabel 2. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Metode Perkolasi dan Refluks Ekstrak Biji Sorgum

No	Metode Ekstraksi	Golongan Senyawa	Literatur	Hasil	Ket
1.	Perkolasi	Alkaloid	Pereaksi Bouchardat : Endapan coklat sampai hitam	Tidak ada endapan	-
			Pereaksi Mayer : Endapan putih/kuning	Tidak ada endapan	-
			Pereaksi Dragendorf : Endapan jingga/merah coklat	Tidak ada endapan	-
		Saponin	Terbentuk busa mantap tidak kurang dari 10 menit, tambah 1 tetes HCl 2 N busa tidak hilang	Terbentuk busa mantap tidak kurang dari 10 menit, tambah 1 tetes HCl 2 N busa tidak hilang	+
		Flavonoid	Terbentuk warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol	Warna Jingga	+
		Tanin	Warna Hijau Gelap/kehitaman atau Hijau Kebiruan	Warna Hijau Gelap/kehitaman	+
		Steroid	Warna Biru	Warna Hijau Kehitaman	-
2.	Refluks	Alkaloid	Pereaksi Bouchardat : Endapan coklat sampai hitam	Tidak ada endapan	-
			Pereaksi Mayer : Endapan putih/kuning	Tidak ada endapan	-
			Pereaksi Dragendorf : Endapan	Tidak ada endapan	-
		Terpenoid			

		jingga/merah coklat		
Saponin		Terbentuk busa mantap tidak kurang dari 10 menit, tambah 1 tetes HCl 2 N busa tidak hilang	Terbentuk busa mantap tidak kurang dari 10 menit, tambah 1 tetes HCl 2 N busa tidak hilang	+
Flavonoid		Terbentuk warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol	Warna Jingga	+
Tanin		Warna Hijau Gelap/kehitaman atau Hijau Kebiruan	Warna Hijau Gelap/kehitaman	+
Steroid		Warna Biru	Warna Hijau Kehitaman	-
Terpenoid		Warna Merah Jingga atau Ungu	Warna Jingga	+

Ekstrak biji sorgum yang diperoleh dengan metode perkolasi dan refluks selanjutnya dilakukan penetapan kadar saponin, flavonoid dan tanin dengan metode Spektrofotometri UV-Vis.

Tabel 3. Kadar Saponin from Quillaja bark metode Spektrofotometri UV-Vis

Sampel	Berat sampel (g)	Add Larutan (ml)	FP	Hasil Alat (ppm)	Hasil Perolehan (% b/b)	Kadar Rata-rata (% b/b)
Ekstrak Biji Sorgum	0,0530	10	5	10,0322	0,95	0,94
Hasil Perkolasi	0,0547	10	5	10,1884	0,93	
Ekstrak Biji Sorgum	0,0530	10	5	11,1092	1,05	1,07
Hasil Refluks	0,0509	10	5	11,0877	1,09	

Hasil penetapan kadar saponin menggunakan spektrofotometri UV-Vis ekstrak biji sorgum dengan metode perkolasi sebesar 0,94% dan metode refluks sebesar 1,07%.

Tabel 4. Kadar Flavonoid Equivalent Quercetin metode Spektrofotometri UV-Vis

Sampel	Berat sampel (g)	Add Larutan (ml)	FP	Hasil Alat (ppm)	Hasil Perolehan (% b/b)	Kadar Rata-rata (% b/b)
Ekstrak Biji Sorgum	0,0550	10	1,0	44,8644	0,82	0,84
Hasil Perkolasi	0,0543	10	1,0	45,1696	0,83	
	0,0514	10	1,0	44,5413	0,87	
Ekstrak Biji Sorgum	0,1038	10	1,0	7,0509	0,0679	0,0615
Hasil Refluks	0,1033	10	1,0	6,2437	0,0604	
	0,1023	10	1,0	5,7477	0,0561	

Hasil penetapan kadar flavonoid menggunakan spektrofotometri UV-Vis ekstrak biji sorgum dengan metode perkolasi sebesar 0,84% dan metode refluks sebesar 0,0615%.

Tabel 5. Kadar Tanin Ekuivalen Tannin Acid

Sampel	Berat sampel (g)	Add Larutan (ml)	FP	Hasil Alat (ppm)	Hasil Perolehan (% b/b)	Kadar Rata-rata (% b/b)
Ekstrak Biji Sorgum	0,0555	10	10	2,5015	0,45	0,45
Hasil Perkolasi	0,0530	10	10	2,3560	0,44	
Ekstrak Biji Sorgum	0,0553	10	250	4,3586	19,70	19,44
Hasil Refluks	0,0557	10	250	4,2717	19,17	

Hasil penetapan kadar tanin menggunakan spektrofotometri UV-Vis ekstrak biji sorgum dengan metode perkolasi sebesar 0,45% dan metode refluks sebesar 19,44%.

Tabel 6. Penetapan Kadar Ekstrak Biji Sorgum Metode Perkolasi dan Refluks

No	Parameter Uji	Hasil	
		Perkolasi (%b/b)	Refluks (%b/b)
1	Total Saponin from Quillaja bark	0,94	1,07
2	Total Flavonoid Equivalent Quercetin	0,84	0,0615
3	Total Tanin Ekuivalen Tannin Acid	0,45	19,44

4. PEMBAHASAN

Simplisia kering biji sorgum dihaluskan menggunakan grinder. Penghalusan bertujuan meningkatkan luas permukaan partikel simplisia sehingga pelarut dapat lebih mudah menembusnya dan mengekstrak senyawa-senyawa yang terkandung di dalamnya karena kontak yang terjadi menjadi lebih besar [15]. Besarnya rendemen yang dihasilkan ditentukan juga pada proses penting yaitu pemilihan metode pemisahan. Ekstraksi atau pemisahan senyawa kimia yaitu proses awal isolasi senyawa bioaktif dari tanaman. Ekstraksi biji sorgum dilakukan dengan metode perkolasi dan refluks. Tujuannya untuk mengetahui pengaruh proses ekstraksi yang berbeda terhadap rendemen, senyawa metabolit sekunder serta kadar yang dihasilkan. Etanol 96% digunakan sebagai pelarut, dimana keuntungannya selektif, tidak toksik, absorpsinya baik, kemampuan menyaringnya yang tinggi sehingga dapat menyari senyawa yang bersifat non polar, semi polar dan polar [16].

Metode cara dingin prinsipnya tidak membutuhkan pemanasan. Metode perkolasi adalah ekstraksi cara dingin atau ekstraksi yang tidak menggunakan panas, yang memungkinkan tidak terjadi kerusakan senyawa [17]. Hasil perkolasi biji sorgum yang diperoleh diuapkan pada rotavapor, dipekatkan pada penangas air sampai diperoleh ekstrak kental. Proses ekstraksi dilaksanakan sebanyak tiga kali pengulangan. Hasil ekstraksi 50 g biji sorgum dengan metode perkolasi mendapatkan ekstrak kental rendemen sebesar 3,733%. Ekstrak hasil perkolasi memiliki ciri-ciri seperti bentuk yang kental dan berwarna coklat kemerahan. Efek panas yang ada pada metode refluks membantu proses difusi pelarut ke dalam dinding sel tumbuhan. Metode ekstraksi refluks untuk mengekstraksikan sampel yang tahan pemanasan serta sampel bertekstur keras dan kasar seperti batang, akar, biji dan herba [18]. Hasil refluks biji sorgum yang diperoleh diuapkan pada rotavapor dan dipekatkan di atas penangas air sampai didapat ekstrak kental. Proses ekstraksi dilaksanakan sebanyak tiga kali pengulangan. Hasil ekstraksi 50 g biji sorgum metode refluks mendapatkan ekstrak kental rendemen sebesar 10,133%.

Berdasarkan hasil penelitian ekstraksi biji sorgum menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode cara dingin perkolasi menghasilkan rendemen sebesar 3,733% dan cara panas refluks menghasilkan rendemen sebesar 10,133%. Pada hasil uji statistik menggunakan Independent Samples Tes menghasilkan nilai Sig. (2-tailed) sebesar 0,020<0,05 berarti ada perbedaan signifikan terhadap rendemen yang dihasilkan antara metode perkolasi dan refluks. Hasil ini menunjukkan bahwa dengan menggunakan metode ekstraksi cara panas refluks mendapatkan rendemen ekstrak yang lebih besar daripada metode cara dingin perkolasi.

Proses pemanasan pada biji sorgum menyebabkan senyawa metabolit sekunder yang terekstrak lebih banyak dibandingkan tanpa pemanasan. Metode refluks menggunakan efek panas saat pengerjaannya. Akibat adanya panas menaikkan energi kinetika pelarut dan komponen-komponen pada tumbuhan menyebabkan peningkatan frekuensi tumbukan diantara keduanya. Tumbukan-tumbukan yang terjadi dibutuhkan untuk mempercepat proses destruksi dinding sel sehingga pelarut dapat berdifusi ke dalam dinding sel dan terlarutnya senyawa-senyawa tumbuhan dalam pelarut [19]. Persentase nilai jumlah rendemen biji sorgum menggunakan metode refluks lebih banyak, dikarenakan metode refluks merupakan metode cara panas yang dapat menarik sejumlah ekstrak yang lebih baik dibandingkan dengan metode perkolasi. Semakin besar angka nilai rendemen, semakin banyak kandungan yang terdapat pada ekstrak yang dihasilkan.

Uji fitokimia, dalam hal ini identifikasi metabolit sekunder untuk mendapatkan data keberadaan komponen kimia yang ada pada sampel. Identifikasi pada ekstrak biji sorgum yaitu alkaloid (uji reaksi pengendapan), saponin (uji

reaksi busa), flavonoid, tanin, steroid dan terpenoid (uji reaksi warna). Berdasarkan penelitian diperoleh hasil untuk metode cara dingin perkolasi maupun cara panas refluks, masing-masing metode menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama yaitu saponin, flavonoid, tanin dan terpenoid serta tidak mengandung alkaloid dan steroid.

Pengujian alkaloid menggunakan pereaksi bouchardat terjadi endapan coklat sampai hitam. Endapan ini adalah hasil pembentukan ikatan kovalen koordinasi antara K^+ dengan alkaloid membentuk suatu kompleks dari kalium alkaloid [20]. Uji ekstrak biji sorgum hasil perkolasi terlihat larutan warna orange tidak terdapat endapan dan metode refluks menunjukkan larutan warna orange tidak terdapat endapan, sehingga hasil yang diperoleh menunjukkan negatif alkaloid. Pengujian dengan pereaksi mayer, hasil positif ditunjukkan adanya endapan putih. Pereaksi mayer bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat membentuk kompleks kalium alkaloid. Identifikasi dengan pereaksi mayer pada ekstrak biji sorgum menggunakan metode perkolasi menunjukkan larutan warna orange dan metode refluks menunjukkan larutan warna orange tidak memiliki endapan, karena ekstrak tidak ada atom nitrogen yang terkandung pada senyawa alkaloid sehingga hasil yang diperoleh menunjukkan negatif alkaloid [21]. Pengujian dengan pereaksi dragendrof terbentuknya endapan jingga atau merah coklat, karena terjadi reaksi atom nitrogen pada alkaloid terhadap ion logam K^+ pada senyawa kompleks kalium tetraiodobismutat (III) membentuk kompleks kalium-alkaloid dengan ikatan kovalen koordinasi dan ion kompleks tetraiodobismutat (III). Pereaksi dragendrof merupakan campuran larutan bismut nitrat dalam asam klorida mencegah terjadinya reaksi hidrolisis dengan larutan kalium iodida mendapatkan endapan hitam bismut (III) iodida (BiI_3) [22]. Hasil pengujian yang dilakukan pada ekstrak biji sorgum menggunakan metode perkolasi terlihat larutan berwarna orange tidak terdapat endapan dan metode refluks menunjukkan larutan warna orange tidak terdapat endapan, sehingga hasil yang diperoleh menunjukkan negatif alkaloid.

Pengujian saponin terjadinya busa yang stabil, artinya ekstrak mengandung saponin karena terdapat glikosida yang menghasilkan busa pada air selanjutnya terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya [20]. Hasil pengujian pada ekstrak biji sorgum menggunakan metode perkolasi dan metode refluks menghasilkan busa stabil kurang lebih selama 10 menit, hasil menunjukkan positif mengandung saponin. Pengujian flavonoid menunjukkan hasil positif setelah direaksikan dengan logam magnesium, asam klorida dan amil alkohol yang ditandai adanya warna merah atau jingga pada lapisan amil alkohol. Gugus karbonil pada flavonoid direduksi oleh logam magnesium pada kondisi sangat asam dan membentuk garam flavilium berwarna jingga [20]. Hasil pengujian yang dilakukan pada ekstrak biji sorgum menggunakan metode perkolasi dan refluks menghasilkan warna jingga pada lapisan amil alkohol, sehingga hasilnya diperoleh mengandung flavonoid.

Pengujian tanin menggunakan pereaksi $FeCl_3$ bertujuan menentukan apakah sampel terdapat gugus fenol. Terbentuknya gugus tersebut dapat dilihat terjadinya warna hijau kehitaman setelah penambahan $FeCl_3$. Uji $FeCl_3$ menunjukkan hasil positif karena sampel mengandung senyawa fenol dan kemungkinan salah satunya tanin sebab tanin merupakan senyawa polifenol [23]. Hasil pengujian terhadap ekstrak biji sorgum menggunakan metode perkolasi dan metode refluks menghasilkan warna hijau gelap/kehitaman, sehingga hasil yang diperoleh positif mengandung tanin. Pengujian steroid dan terpenoid ekstrak biji sorgum dengan pereaksi asam anhidrida asetat dan asam sulfat pekat menunjukkan hasil positif jika terjadi warna biru untuk steroid dan warna merah jingga atau ungu untuk terpenoid. Pereaksi yang ditambahkan menyebabkan molekul asam anhidrida asetat berikatan dengan molekul senyawa steroid atau terpenoid menghasilkan reaksi yang terlihat pada perubahan warna [24]. Hasil pengujian yang diperoleh pada ekstrak biji sorgum menggunakan metode perkolasi dan metode refluks tidak terbentuk warna biru, yang artinya ekstrak biji sorgum tidak mengandung senyawa steroid tetapi menghasilkan warna jingga sehingga menunjukkan hasil positif mengandung terpenoid.

Ekstrak biji sorgum yang diperoleh dengan metode perkolasi dan refluks selanjutnya dilakukan penetapan kadar saponin, flavonoid dan tanin menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis. Penentuan kadar saponin ekstrak biji sorgum berdasarkan kurva regresi dengan parameter uji total saponin dari Quillaja bark diperoleh persamaan regresi $y = 9.44528e-004 x - 0.00332132$ dengan koefisien korelasi (r^2) = 0.99974. Diperoleh kadar total saponin sampel ekstrak biji sorgum yang diperoleh dengan cara perkolasi yaitu 0,94% dan dengan cara refluks yaitu

1,07%. Uji kadar flavonoid total dengan kuersetin sebagai kurva standar baku didapat persamaan regresi $y = 0.00599857x - 0.00857346$ dengan koefisien korelasi (r^2) = 0.99965. Sehingga diperoleh kadar total flavonoid pada sampel ekstrak biji sorgum yang diperoleh dengan cara perkolasi yaitu 0,84% dan yang diperoleh dengan cara refluks yaitu 0,0615 %b/b. Penentuan kadar tannin total menggunakan asam tanat sebagai kurva standar baku diperoleh koefisien korelasi (r^2) = 0.99994. Sehingga diperoleh kadar total senyawa pada sampel ekstrak biji sorgum yang diperoleh dengan cara perkolasi, yaitu 0,45% dan yang diperoleh dengan cara refluks, yaitu 19,44%.

Hasil identifikasi metabolit sekunder ekstrak biji sorgum metode perkolasi dan refluks mengandung saponin, flavonoid, tannin dan terpenoid. Metabolit sekunder saponin diketahui mempunyai aktivitas antifungi, antibakteri, antitumor [25]. Flavonoid mempunyai aktivitas antipiretik [26], antiinflamasi, antibakteri dan antioksidan [27]. Tanin mempunyai aktivitas sebagai antioksidan [28] dan antibakteri [29]. Terpenoid mempunyai aktivitas sebagai antimikroba [30].

5. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa ekstrak biji sorgum metode ekstraksi cara dingin (Perkolasi) menghasilkan rendemen sebanyak 3,733% dan metode ekstraksi cara panas (Refluks) menghasilkan rendemen sebanyak 10,133%. Hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak biji sorgum metode ekstraksi cara perkolasi dan metode refluks, masing-masing metode terdapat senyawa metabolit sekunder saponin, flavonoid, tanin dan terpenoid serta tidak terdapat alkaloid dan steroid. Ekstrak biji sorgum metode perkolasi memiliki kadar total saponin dari Quillaja bark 0,94%b/b, kadar total flavonoid ekivalen kuersetin 0,84%b/b, kadar total tanin ekivalen asam tanat sebesar 0,45%b/b dan ekstrak biji sorgum metode refluks memiliki kadar total saponin dari Quillaja bark sebesar 1,07%b/b, kadar total flavonoid ekivalen kuersetin sebesar 0,0615 %b/b dan kadar total tannin ekivalen asam tanat sebesar 19,44 %b/b.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Aryani NF, Khatimah K, Tajuddin FN, Kahirunnisa AI, Magfira N, Aminuddin NW. Budidaya Tanaman Sorgum (*Shorgum bicolor* (L) Moench). Makassar: Jurusan Biologi FMIPA UNM; 2022.
- [2] Agustina L, Yulianti N, Oktavianasari Fi, Ranumsari M. Skrining Fitokimia dan Uji Potensi Biji Sorgum (*Sorgum bicolor* L. Moench) Sebagai Serat Secara In Vitro. *J Wiyata* 2021;8:35–46.
- [3] Azubuike CP, Uzoeto CA, Igbokwe NH, Igwilo CI. In vitro antisickling, antimicrobial and antioxidant potentials of extracts of *Sorghum bicolor* (L) Moench seeds and *Mangifera indica* (L) Anacardiaceae leaves and their formulations. *J Sci Pract Pharm* 2016;3:135–44.
- [4] Foni MLM, Pakan PD, Hutasoit RM. Uji Potensi Aktivitas Antibakteri Ekstrak ETanol 70% Biji Sorgum (*Shorgum bicolor* L. Moench) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Cendana Med J* 2019;16:19–29.
- [5] Syahwiranto G, Theresih K. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Biji Mahoni (*swietenia mahagoni* JACQ.) Metode Ekstraksi Soklet Pelarut Etanol. *J Kim Dasar* 2018;7:184–90.
- [6] Amri Aji. SB. and T. Pengaruh Waktu Ekstraksi Dan Konsentrasi Hcl Untuk Pembuatan Pektin Dari Kulit Jeruk Bali (*Citrus maxima*). *J Teknol Kim Unimal* 2017;6:33–44.
- [7] Wijaya H, Novitasari, Jubaidah S. Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). *J Ilm Manuntung* 2018;4:79–83.
- [8] Emelda. Farmakognosi Untuk Mahasiswa Kompetensi Keahlian Farmasi. Yogyakarta: Pustaka Baru Press; 2019.
- [9] Maryam F, Utami YP, Mus S, Rohana. View of Perbandingan Beberapa Metode Ekstraksi Ekstrak Etanol Daun Sawo Duren (*Chrysophyllum cainito* L.) Terhadap Kadar Flavonoid Total Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-VIS.pdf. *J Mandala Pharmacon Indones* 2023;9:132–8.
- [10] Sari WN, Puspitasari AD. View of Perbandingan Kadar Fenolik Dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Umbi Wortel (*Daucus carota* L.) pada Berbagai Metode Ekstraksi.pdf. *J Ilmu Farm Dan Farm Klin* 2023;1:28–35.
- [11] Aji AP, Issusilaningtyas E, Fauziah AR, Ratih D, Nugraheni. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kandungan Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Bakau Hitam (*Rhizophora mucronata*). *Sains Indones J Ilm Nusan* 2023;1:173–171.
- [12] Paokuma F, Syarif RA, Najib A, Kunci K. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Senyawa Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Patikan Kebo (*Ephorbia hirta*). *J Fitofarmaka Indones* 2023;10:35.

- <https://doi.org/10.33096/jffi.v10i1.964>.
- [13] Jubaidah S, Sundu R, Sabriningsih N. Penetapan Kadar Fenolik Total Fraksi Polar dan Nonpolar Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris* L.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *J Ris Kefarmasian Indones* 2019;1:140–7.
 - [14] Rumagit BI, Nahor E, Lalura CC. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Ekstrak Etanol Kulit Buah Mangga Kweni (*Mangifera odorata* Griff.) Identification of Secondary Metabolite Compounds in Ethanol Extract of Fruit Peel of mangga kweni (*Mangifera odorata* Griff.). *Pros. Semin. Nas. Tahun 2020 Poltekkes Kemenkes Manad.*, 2020, p. 14–9.
 - [15] Husni E, Suharti N, Atma APT. Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* Linn) serta Penentuan Kadar Fenolat dan Uji Aktivitas Antioksidan. *J Sains Farm Klin* 2018;5:12–6.
 - [16] Wendersteyt VN, Wewengkang DS, Abdullah SS. Uji Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak dan Fraksi Ascidian *Herdmania momus* Dari Perairan Pulau Bangka Likupang Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* dan *Candida albicans*. *Pharmacon* 2021;10:706–12.
 - [17] Andhiarto Y, Andayani R, Ilmiyah NH. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) Dengan Metode Ekstraksi Perkolasi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *J Pharm Sci Technol* 2019;2:102–11.
 - [18] Manek MS. Uji Aktivitas Antidiare Ekstrak Etanol Daun Sirih. Kupang: Universitas Citra Bangsa Kupang; 2019.
 - [19] Trinovita E, Rahman MI, Carmelita AB. Evaluasi Potensi Aktivitas Ekstrak Etanol Akar Seluang Belum (*Luvunga sarmentosa* [Blume] Kurz.) Terhadap Radikal Bebas 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH). *Pros. Semin. Nas. Online Biol. Penyakit*, Surabaya: CV. Conquera Enterprise Surabaya; 2020, p. 94–114.
 - [20] Handayani F, Apriliana A, Arlanda D. Characterization of simplicia of selutui puka (*Tabernaemontana macrocarpa* Jack.) stem bark. *Bivalen Chem Stud J* 2022;5.
 - [21] Wardhani RAPW, Supartono. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Pada Bakteri. *J Chem Sci* 2015;4.
 - [22] Wahyuni S, Marpaung P. Determination Of Total Alkaloid Levels Extracts Of Akar Kuning (*Fibraurea chloroleuca* Miers) Based On The Differences Of Ethanol Concentrations by Spectrofotometry UV-Vis Method. *J Pendidik Kim Dan Ilmu Kim* 2020;3.
 - [23] Listiana L, Wahlanto P, Sintia SR, Ismail R. Penetapan Kadar Tanin Dalam Daun Mangkogan (*Nothopanax scutellarium* Merr) Perasan Dan Rebusan Dengan Spektrofotometer UV-Vis. *Pharm Genius J* 2022;1:62–73.
 - [24] Fransiska AN, Masyrofah D, Marlian H, Sakina IV, Tyasna PS. Identifikasi Senyawa Terpenoid dan Steroid Pada Beberapa Tanaman Menggunakan Pelarut N-Heksan. *J Heal Sains* 2021;2:734–41.
 - [25] Ngginak J, Apu MT, Sampe R, Biologi P, Keguruan F, Artha K, et al. Analisis Kandungan Saponin Pada Ekstrak Seratmatang Buah Lontar (*Borassus flabellifer* Linn). *Bioedukasi J Pendidik Biol Univ Muhammadiyah Metro* 2021:221–8.
 - [26] Sambou CN. Tanaman Herbal yang Memiliki Aktivitas Antipiretik. *Maj Infosains* 2022;3:81–5. <https://doi.org/10.35790/ebm.2.1.2014.3691>.
 - [27] Meilina A, Nindita Y, Sunarsih ES. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 70% Kulit Pisang Ambon Kuning (*Musa acuminata* Colla) Terhadap Penyembuhan Luka Sayat Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *J Res Pharm* 2022;2:119–26.
 - [28] Dewi NP. Uji Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Daun Awar-awar (*Ficus septica* Burm F) dengan Spektrofotometer UV-VIS. *Acta Holist Pharm* 2020;2:16–24.
 - [29] Swari N. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Batang Tanaman Temen (*Graptophyllum pictum* (L) Griff). Bali: 2023.
 - [30] Botahala L, Sukarti, Arifudin W, Arif AR, Ischaidar, Arafah M, et al. Deteksi Dini Metabolit Sekunder Pada Tanaman. Solok Sumatera Barat: Mitra Cendekia Media; 2020.