

Pengaruh Konsentrasi Etanol 70%, 90%, 95% Terhadap Kandungan Flavonoid Pada Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.)

Zselni Kusumawardani¹, Kusnadi², Joko Santoso³
Politeknik Harapan Bersama, Jalan Mataram No.09 Kota Tegal,
Jawa Tengah
Telp. (0283) 352000
Program Studi Diploma III Farmasi Politeknik Harapan
Bersama Tegal, Indonesia
e-mail: zselniwardani@gmail.com

Article Info

Article history:

Submission ...

Accepted ...

Publish ...

Abstrak (Bahas Indonesia) Bold, Times New Roman (11 pt)

Daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr) merupakan tanaman yang mudah tumbuh di Indonesia. Daun katuk memiliki banyak kandungan senyawa yaitu tanin, saponin, flavonoid, alkaloid. Flavonoid terdapat pada tumbuhan dalam bentuk glikosida yang berikatan dengan suatu gula sehingga bersifat polar. Pelarut polar yang biasa digunakan untuk ekstraksi flavonoid adalah etanol, methanol, air.

Pada penelitian ini, yang digunakan yaitu daun katuk yang diperoleh di Kota Tegal Kecamatan Tegal Timur Jawa Tengah. Ekstraksi yang digunakan dengan metode refluks. Identifikasi flavonoid dilakukan dengan uji warna test dengan NaOH 10% dan H₂SO₄(pekat), uji Kromatografi Lapis Tipis dengan fase gerak menggunakan metanol : kloroform : eter, serta metode Spektrofotometri UV-Vis. Penetapan kadar flavonoid secara spektrofotometri menggunakan spektrofotometri diukur pada panjang gelombang 300-400 nm.

Hasil penelitian menunjukkan adanya perubahan warna menjadi kuning ketika ditetesi NaOH 10% dan menjadi merah bata sampai coklat kehitaman ketika ditetesi H₂SO₄(pekat). Nilai rata-rata R_f pada pelarut etanol 70% sebesar 0,74, pada pelarut etanol 90% nilai R_f sebesar 0,74, dan pada pelarut etanol 95% sebesar 0,79 nilai ini mendekati nilai R_f standar yaitu 0,78. Kadar rata-rata flavonoid yang tertinggi diperoleh pelarut etanol 70% sebesar 0,452% mgQE/100 gr ekstrak, pada pelarut etanol 90% diperoleh kadar rata-rata sebesar 0,394% mgQE/100 gr ekstrak dan pada pelarut 95% diperoleh kadar rata-rata sebesar 0,380% mgQE/100 gr ekstrak.

Kata kunci—daun katuk, etanol, flavonoid, KLT, spektrofotometri UV-Vis

Ucapan terima kasih:

Abstract

Katuk leaves (Sauropus androgynus (L.) Merr) is a plant that is easy to grow in Indonesia. Katuk leaves contain many compounds, namely tannins, saponins, flavonoids, alkaloids. Flavonoids are found in plants in the form of glycosides that bind to a sugar so that they are polar. Polar solvents commonly used for flavonoid extraction are ethanol, methanol, water.

In this study, used katuk leaves obtained in Tegal City, East Tegal District, Central Java. The extraction method used is reflux. Identification of flavonoids was carried out by color test with NaOH 10% and H₂SO₄ (concentrated), Thin Layer Chromatography test with mobile phase using methanol: chloroform: ether, and UV-Vis Spectrophotometric method. Determination of flavonoid levels by spectrophotometry using spectrophotometry measured at a wavelength of 300-400 nm

The results showed a change in color to yellow when dropped by NaOH

10% and brick red to blackish brown when dropped by H₂SO₄ (concentrated). The average R_f value in 70% ethanol solvent was 0.74, for ethanol solvent 90% the R_f value was 0.74, and for 95% ethanol solvent of 0.79 this value is close to the standard R_f value of 0.78. The highest average level of flavonoids was obtained by 70% ethanol solvent of 0.452% mgQE / 100 gr extract, 90% ethanol solvent obtained an average level of 0.394% mgQE / 100 gr extract and 95% solvent obtained an average level of 0.380 mgQE / 100 gr extract.

Keyword – *katuk leaves, ethanol, flavonoids, TLC, spectrophotometry UV-Vis*

DOI

©2020 Politeknik Harapan Bersama Tegal

Alamat korespondensi:

Prodi DIII Farmasi Politeknik Harapan Bersama Tegal

Gedung A Lt.3. Kampus 1

Jl. Mataram No.09 Kota Tegal, Kodepos 52122

Telp. (0283) 352000

E-mail: parapemikir_poltek@yahoo.com

p-ISSN: 2089-5313

e-ISSN: 2549-5062

A. Pendahuluan

Bahan obat yang berasal dari alam secara obat modern (obat sintetik) saat ini banyak digunakan oleh masyarakat untuk menjaga kesehatan dan mengobati penyakit tertentu. Meskipun begitu, obat modern mempunyai kekurangan yaitu efek samping besar. Oleh karena itu banyak masyarakat yang beralih ke pengobatan tradisional yang dinilai memiliki efek samping yang lebih kecil dan dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat keluarga. Salah satu yang digunakan sebagai obat tradisional adalah daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr)

Daun katuk memiliki banyak kegunaan seperti mengobati bisul, demam, dan darah kotor. Manfaat lain yang telah dikenal luas oleh masyarakat adalah sebagai pelancar ASI/laktagogum (Aziz dan Muktaningsih, 2006). Menurut beberapa penelitian telah diketahui bahwa daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) mengandung senyawa flavonoid yang berkolerasi dengan aktivitas antioksidan.

Flavonoid terdapat pada tumbuhan dalam bentuk glikosida yang berikatan dengan suatu gula sehingga bersifat polar. Pelarut polar yang biasa digunakan untuk ekstraksi flavonoid adalah etanol, methanol, etil asetat, aseton, air dan isopropanol (Suryani,2015). Etanol juga mampu menyari senyawa kimia lebih banyak dibandingkan dengan air dan methanol (Azizah dan Salamah, 2013). Pemilihan pelarut merupakan faktor penting dalam ekstraksi. Pelarut yang dipilih harus dapat mengekstraksi komponen kimia dalam tanaman secara optimal. Pelarut etanol adalah pelarut polar sehingga pelarut ini sering digunakan untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif (Arifin dkk. 2006).

Penelitian dari (Riwanti dkk. 2020) mengenai pengaruh konsentrasi etanol 50%, 70% dan 96% terhadap kadar flavonoid total rumput laut memperoleh hasil bahwa kadar flavonoid total tertinggi terdapat dalam ekstrak etanol 70%. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh (Luginda dkk. 2018) mengenai pengaruh variasi konsentrasi pelarut etanol 60%, 70%, 80%, dan 96% terhadap kadar flavonoid total daun beluntas yang menyatakan bahwa berdasarkan data yang diperoleh menunjukkan kadar flavonoid total ekstrak daun beluntas tertinggi didapatkan pada ekstrak etanol 60%.

Menurut beberapa peneliti tersebut dapat diketahui bahwa konsentrasi pelarut akan berpengaruh terhadap kadar flavonoid total yang diperoleh. Berdasarkan latar belakang tersebut

peneliti tertarik melakukan penelitian untuk mengetahui adanya pengaruh konsentrasi ekstrak etanol 70%, 90%, dan 95% terhadap kadar flavonoid total daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) menggunakan Spektrofotometri UV vis, sehingga nantinya data tersebut dapat digunakan untuk menentukan pelarut yang optimal dalam proses ekstraksi.

Senyawa flavonoid pada daun katuk diekstraksi dengan metode refluks melalui proses pemisahan kandungan senyawa-senyawa aktif dengan cara panas (membutuhkan pemanasan pada prosesnya), ekstraksi dengan pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI,1995).

B. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan Laboratorium Teknologi Farmasi Prodi Diploma III Farmasi Politeknik Harapan Bersama. Jenis penelitian ini merupakan eksperimental laboratorium.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah labu alas bulat, kondensor, statif, klem, kompor spirtus, kaki tiga, penangas, selang, benjana, batang pengaduk, tabung reaksi, rak tabung, waterbath, kain flanel neraca analitik, beaker glass, objek glass, corong pisah, deck glass, corong kaca, masker, sarung tangan, chamber, gelas ukur, plat KLT, spotes, tabung reaksi, oven, lampu sinar UV, termometer, cawan uap, mikroskop, spektrofotometer UV-Vis.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah : daun katuk dalam keadaan segar, sebagai pelarut : Etanol dengan konsentrasi 70%,90% dan 95%.

Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan alat refluks dengan mencampurkan 100 gram simplisia kering daun katuk dengan 300 ml etanol dengan perbandingan simplisia : etanol (1:3). Kemudian diisolasi dengan metode refluks dengan suhu 63-65° C selama 2 jam. Setelah itu disaring dalam keadaan panas menggunakan kain flanel untuk mendapatkan filtrat senyawa flavonoid dalam jumlah maksimal dan diuapkan dengan menggunakan kompor spirtus pada api kecil untuk menghilangkan pelarutnya yang kemudian menghasilkan ekstrak pekat.

Isolasi Senyawa Flavonoid

Ekstrak bebas dari pelarut (ekstrak kental) kemudian dilakukan isolasi flavonoid dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan corong

pisah dengan pelarut n-heksana sebanyak 30 ml, untuk memisahkan senyawa-senyawa non polar masing-masing dilakukan tiga kali replikasi. Penambahan n-heksana menyebabkan terbentuknya 2 fase kedua pelarut yaitu fase polar dan non polar memiliki berat jenis dan kepolaran yang berbeda. Berat jenis fase non polar lebih kecil daripada fase polar, sehingga lapisan non polar berada dibagian atas dan lapisan polar berada dibagian bawah. Lapisan polar bagian bawah diambil, tampung dalam cawan porselin (yang sebelumnya sudah ditimbang), lalu diuapkan menggunakan water bath hingga mengental dan angkat cawan porselin lalu didinginkan. Kemudian dilakukan dan menghitung prosentase rendemen, uji identifikasi flavonoid, KLT dan menentukan kadar flavonoid dengan Spektrofotometer UV-Vis.

Perhitungan Rendemen

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kental} \times 100\%}{\text{Berat Sampel}}$$

Keterangan : Y = Berat Ekstrak Kental
X = Berat sampel

Identifikasi Senyawa Flavonoid

1. Uji Warna Test dengan NaOH 10 %

Test dengan NaOH 10 % dengan cara memasukkan dua tetes sampel dalam spots, ditambahkan dengan 2-4 tetes larutan NaOH 10% (Asih, 2009), perubahan warna diamati hingga menjadi warna kuning sampai kuning kecoklatan. Hal ini dikarenakan flavonoid termasuk senyawa fenol sehingga apabila direaksikan dengan basa akan terbentuk warna yang disebabkan terjadinya sistem konjugasi dari gugus aromatik (Desandi, 2014).

2. Uji Warna Test dengan H₂SO₄(pekat)

Test warna dengan H₂SO₄(pekat) dengan cara masukkan 4 tetes sampel dalam tabung reaksi tambahkan 2- 4 tetes larutan H₂SO₄(pekat) (Asih, 2009). Perubahan warna yang terjadi diamati menjadi merah bata sampai coklat kehitaman hal ini disebabkan karena flavonoid apabila direaksikan dengan asam akan terbentuk warna yang disebabkan terjadinya sistem konjugasi dari gugus khalkon.

Uji Kromatografi Lapis Tipis

Flavonoid yang sudah diketahui

rendemennya, kemudian flavonoid yang didapat diidentifikasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis dengan cara membuat fase gerak untuk analisa kualitatif menggunakan metanol : kloroform : eter (5 : 4 : 1). Eluen tersebut bersifat sangat polar sehingga bisa memisahkan senyawa flavonoid dan jumlah banyak yang ditandai dengan munculnya noda. Menjenuhkan fase gerak, memasukkan kertas saring sebagai indikatornya agar seluruh permukaan bejana terisi uap eluen sehingga rambatan yang dihasilkan baik dan beraturan. Menunggu fase gerak siap digunakan. Mengaktifkan fase diam menggunakan plat KLT lapis silika gel aktif (dioven selama 3 menit dengan suhu 45°C) supaya palt KLT tidak lembab sehingga penyerapan bisa berlangsung dengan cepat. Memberi garis batas atas dan batas bawah pada plat KLT. Menotolkan eluen hasil pada garis batas bawah plat KLT, tunggu hingga kering. Memasukkan plat KLT kedalam chamber KLT yang telah berisi fase gerak yang sudah dijenuhkan terlebih dahulu. Menunggu hingga fase gerak mencapai garis batas atas plat KLT. Mengangkat plat KLT dari dalam chamber, tunggu hingga kering. Melihat dibawah sinar lampu UV pada panjang gelombang 254 nm. Menganalisa R_f dan membandingkan dengan nilai R_f standar (Rohyami, 2008).

Uji Spektrofotometer UV-Vis

1. Pembuatan Larutan Blanko

Mengambil 10 ml metanol masukan dalam tabung reaksi dan memasukan 3 ml metanol kedalam kuvet dan masukan kuvet ke dalam Spektrofotometer UV-Vis. Pembuatan larutanblanko bertujuan untuk kalibrasi pada alat sehingga konsentrasi dimulai dari titik nol (Rohyami, 2008)

2. Pembuatan Larutan Induk Baku Pembanding Kuersetin

Menimbang seksama sebanyak 50 mg kuersetin baku,dimasukan ke dalam labu ukuran 50 ml dan ditambahkan dengan sedikit pelarut. Lalu dikocok hingga larut, selanjutnya diencerkan dengan pelarut sampai garis tanda sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm.

3. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Memipet larutan induk kuarsetin sejumlah volume tertentu pada kuvet kemudian periksa pada panjang gelombang 300-400 nm, kemudian mencatat absorbansi yang dihasilkan oleh masing-masing

panjang gelombang dan membuat kurva hubungan antara panjang gelombang dan absorbansi (Hanani, 2016).

4. Pembuatan Kurva Baku Pembeding

Mengambil larutan baku 1000 ppm, kemudian diencerkan menjadi 10ppm, 20ppm, 30ppm, 40ppm, 50ppm. Dibaca absorbansi pada gelombang maksimal yang didapat, kemudian ditentukan regresi liniernya (Mustapa, 2014). Ditambahkan 2 ml aquadest dan 150 μ L NaNO₂ 5%. Kemudian didiamkan selama 6 menit, lalu ditambahkan AlCl₃ 10% sebanyak 150 μ L, kemudian didiamkan kembali selama 6 menit, larutan direaksikan dengan 2 ml NaOH 4% kemudian diencerkan dengan aquadest hingga volume 5 ml. Larutan dikocok hingga homogen, kemudian diukur absorbansi yang dihasilkan oleh konsentrasi pada panjang gelombang maksimum yang didapat dan membuat kurva hubungan antara konsentrasi baku dan absorbansinya (Agung, 2016).

5. Penentuan Kadar Senyawa Flavonoid

Larutan standar ekstrak dipipet sebanyak 500 μ L ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 2 mL aquadest dan 150 μ L NaNO₂ 5%. Kemudian diamkan selama 6 menit, sebanyak 150 μ L AlCl₃ 10% ditambahkan kedalam larutan, kemudian didiamkan kembali selama 6 menit, larutan direaksikan dengan 2 mL NaOH 4% kemudian diencerkan dengan aquadest hingga volume 5 mL. Larutan dikocok hingga homogen, kemudian diukur absorbansi yang dihasilkan oleh konsentrasi pada panjang gelombang maksimum yang didapat dan membuat kurva hubungan antara konsentrasi baku dengan absorbansinya (Agung, 2016).

C. Hasil dan Pembahasan

Penelitian tentang pengaruh perbedaan konsentrasi etanol terhadap kadar flavonoid pada ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi etanol terhadap kandungan flavonoid pada daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) dan mengetahui berapa kadar senyawa flavonoid yang terkandung pada daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.). Senyawa flavonoid yang bersifat polar akan larut pada pelarut polar, yaitu etanol dengan menggunakan metode refluks.

1. Proses Ekstraksi

Pada penelitian ini, proses pertama

yang dilakukan adalah membuat ekstrak daun katuk dengan cara mengisolasi senyawa flavonoid pada buncis menggunakan metode refluks yang dilakukan selama 2 jam. Pelarut yang digunakan yaitu etanol 70%, etanol 90%, dan etanol 95%, karena pelarut ini dapat melarutkan hampir semua senyawa organik yang ada pada sampel, mudah menguap sehingga mudah dibebaskan dari ekstrak, flavonoid bersifat polar sehingga harus dilarutkan dengan pelarut polar. Bantuan energi berupa panas pada refluks akan membantu proses pemecahan dinding sel sehingga senyawa flavonoid pada sampel dapat terekstraksi secara maksimal. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan penangas air untuk menjaga agar tidak terjadi kelebihan temperature selama pemanasan.

Hasil yang diperoleh dari metode refluks kemudian disaring dengan menggunakan kain flanel, hasil filtrate cair diuapkan dengan pemanasan pada api kecil untuk menghilangkan pelarut yang masih tercampur pada ekstrak.

Ekstrak yang telah bebas dari pelarut kemudian di isolasi menggunakan corong pisah dengan pelarut n-heksana dilakukan sebanyak 3 kali ekstraksi. Penambahan n-heksana menyebabkan terbentuknya 2 fase, lapisan senyawa non polar berada di bagian atas fase (n-heksana) dan lapisan senyawa polar berada di bagian bawah, ekstraksi dengan n-heksana dilakukan untuk memisahkan komponen flavonoid dari fase air. Lapisan yang diambil untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid adalah lapisan bawah, kemudian filtrate yang didapatkan diuapkan menggunakan waterbath dengan tujuan agar fraksi ekstrak yang terdapat pada sampel menguap untuk mendapatkan ekstrak kental, hasil ekstrak kental yang diperoleh pada sampel menggunakan pelarut etanol 70% yaitu 13,01 g, dengan rendemen 13,03%, hasil ekstrak kental yang diperoleh pada sampel menggunakan pelarut etanol 90% yaitu 13,58 g dengan rendemen 13,58%, dan hasil ekstrak kental yang diperoleh pada sampel menggunakan pelarut etanol 95% yaitu 13,01 g dengan rendemen 13,02%.

2. Uji Reaksi Warna

Tabel 1. Hasil Identifikasi Flavonoid Dengan Reaksi Warna

Perlakuan	Pustaka	Hasil (Asih, 2009)
1 ml ekstrak daun katuk + 4 tetes NaOH 10%	Perubahan warna kuning	Perubahan warna menjadi warna kuning (+)
4 tetes ekstrak daun katuk +4tetes H ₂ SO ₄ (pekat)	Perubahan warna coklat kehitaman sampai merah tua	Perubahan merah bata sampai coklat kehitaman (+)

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan ekstrak daun katuk positif mengandung flavonoid. Terjadi perubahan warna menjadi kuning setelah ditetesi NaOH 10% ini karena senyawa Kristin yang merupakan turunan dari senyawa-senyawa flavonol pada penambahan NaOH mengalami penguraian oleh basa menjadi molekul seperti asetofen yang berwarna kuning karena adanya pemutusan ikatan pada struktur isoprena (Achmad, 1986). Hal ini membuktikan bahwa ekstrak daun katuk mengandung senyawa flavonoid.

3. Identifikasi Flavonoid dengan KLT

Identifikasi berikutnya untuk mengetahui ada tidaknya senyawa flavonoid pada daun katuk dengan metode KLT. KLT merupakan suatu metode memisahkan komponen kimia berdasarkan prinsip absorpsi dan partisi, yang ditentukan oleh fase diam dan fase gerak. Fase diam yang digunakan adalah plat KLT berupa silika gel yang bersifat polar, yang terlebih dahulu dioven pada suhu 45°C selama 3 menit bertujuan untuk menghilangkan kandungan air yang terdapat pada plat sehingga daya serap plat menjadi maksimal, sedangkan fase gerak yang digunakan adalah campuran metanol : kloroform : eter dengan perbandingan (5:4:1).

Pemilihan eluen yang digunakan mempunyai kepolaran yang tinggi sehingga bisa memisahkan senyawa flavonoid yang bersifat polar. Bejana terisi uap eluen sehingga rambatan yang dihasilkan baik dan benturan. Penjenuhan dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh homogenitas dalam bejana dan meminimalkan penguapan pelarut dari lempeng KLT. Kemudian setelah jenuh dilakukan penotolan sampel pada lapisan penyerap (fase diam), yang selanjutnya penyerap dimasukan kedalam bejana yang berisi fase gerak yang sudah jenuh. Pada

proses mengembangkan, plat KLT akan mengabsorpsi fase gerak. Setelah mencapai batas atas plat, kemudian plat diangkat dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan deteksi senyawa yang diidentifikasi dibawah sinar UV dengan panjang gelombang 254nm. Berdasarkan hasil KLT terlihat bercak pada plat KLT dibawah sinar panjang gelombang 254nm berwarna kekuningan, sehingga diperoleh nilai Rf. Hasil Rf dan hRf senyawa flavonoid daun katuk adalah sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil Rf dan hRf Senyawa Flavonoid Pada Ekstrak Daun Katuk

Replik asi	Hasil							
	Etanol 70%		Etanol 90%		Etanol 95%		Pustaka (Harbone, 1987)	
	Rf	h	Rf	h	Rf	h	Rf	H
I	0,70	70	0,72	72	0,73	73	0,78	78
II	0,74	74	0,73	73	0,78	78		
III	0,78	78	0,77	77	0,88	88		
Rata-rata	0,74	74	0,74	74	0,79	79		

Dari hasil analisis KLT pada ekstrak daun katuk diperoleh perbedaan Rf yang diduga merupakan senyawa metabolit sekunder yang tertarik ke dalam pelarut polar. Pada penelitian ini menggunakan standar teoritis yaitu Rf 0,78. Pada hasil uji KLT nilai Rf dan hRf yang didapat dengan rata-rata pada pelarut etanol 70% sebesar 0,74 dengan nilai hRf sebesar 74, pada pelarut etanol 90% nilai Rf sebesar 0,74 dengan nilai hRf sebesar 74 dan pada pelarut etanol 95% sebesar 0,79 dengan nilai hRf sebesar 79. Nilai Rf sangat karakteristik untuk senyawa tertentu pada eluen tertentu. Hal tersebut dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya perbedaan senyawa dalam sampel. Senyawa yang mempunyai nilai Rf lebih besar berarti mempunyai kepolaran yang rendah, sebaliknya nilai Rf yang kecil berarti mempunyai kepolaran yang tinggi. Hal tersebut dikarenakan fase diam bersifat polar. Senyawa yang lebih polar akan tertahan kuat pada fase diam, sehingga menghasilkan nilai

Rf yang rendah. Rf KLT yang bagus berkisar antara 0,2 – 0,8. Jika terlalu tinggi, yang harus dilakukan adalah mengurangi kepolaran eluen, dan sebaliknya (Ewing Galen Wood, 1985). Telah disebutkan sebelumnya bahwa polaritas sampel dan laju pergerakan berbanding terbalik. Semakin tinggi polaritas senyawa, semakin ikatannya dengan fase diam yang berupa plat silica gel yang bersifat polar sehingga mempunyai nilai Rf yang semakin kecil, dan sebaliknya. Sedangkan jika dilihat dari pengaruh eluen yang digunakan, semakin tinggi polaritas eluen maka nilai Rf nya juga semakin tinggi. (Serma and Bernard, 2003). Dari hasil kualitatif uji reaksi warna flavonoid didapat (+) sehingga dapat dilanjutkan ke uji kuantitatif dengan metode spektrofotometri UV-Vis,

4. Identifikasi Flavonoid dengan Spektrofotometri UV-Vis

Analisis berikutnya yaitu secara kuantitatif dengan tujuan untuk menetapkan kadar flavonoid pada sampel dengan metode spektrofotometri UV-Vis menggunakan alat spektrofotometer. Metode spektrofotometri UV-Vis digunakan karena waktu pengerjaannya yang singkat, cukup mudah dalam pengerjaannya, jumlah sampel sedikit dan data yang dihasilkan lebih valid dengan tingkat ketelitian yang tinggi. Langkah kerja yang dilakukan dalam uji spektrofotometri UV-Vis, dengan larutan NaNO₂ 5%, AlCl₃ 10% dan NaOH 4% sebagai larutan pereaksi. Pengukuran kadar flavonoid total pada ekstrak daun katuk dengan penambahan AlCl₃ dan NaNO₂ terbentuk senyawa kompleks antara AlCl₃ dan NaNO₂ dengan flavonoid yang menghasilkan reaksi warna, yang kemudian bereaksi dengan basa kuat (NaOH). Pereaksi AlCl₃ dapat digunakan untuk mendeteksi flavonoid dengan gugus orto dihidroksi dan dihidroksi karbonil atau yang hanya mempunyai gugus orto dihidroksi saja

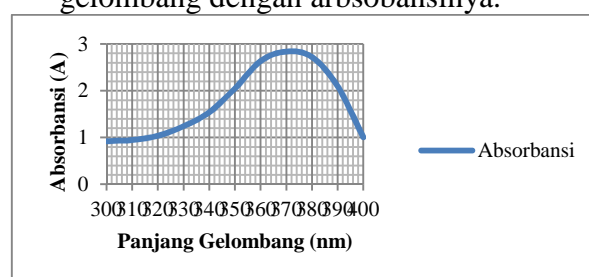
Pada tahap spektrofotometri terlebih dahulu dibuat larutan blanko yang berisi metanol. Pembuatan larutan blanko bertujuan untuk kalibrasi pada alat sehingga konsentrasi dimulai dari titik nol. Proses selanjutnya dilakukan penentuan panjang gelombang untuk memperoleh absorbansi maksimal. Alasan penggunaan panjang gelombang maksimal untuk memperoleh kepekaan dan

serapan yang maksimal juga. Oleh karena itu pada serapan yang maksimal pada perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar. Larutan yang digunakan untuk menentukan panjang gelombang maksimal yaitu larutan standar kuersetin. Pembuatan larutan pereaksi, dengan memipet larutan induk kuersetin sejumlah volume tertentu pada kuvet. Kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang 300-400 nm. Hasil pengukuran panjang gelombang larutan standar kuersetin sebagai berikut:

Tabel 3. Data Absorbansi Larutan Kuersetin

No	Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
1	300	0,923
2	310	0,948
3	320	1,037
4	330	1,242
5	340	1,542
6	350	2,050
7	360	2,636
8	370	2,839
		(maks)
9	380	2,721
10	390	2,094
11	400	1,003

Hubungan antara absorbansi dan panjang gelombang ditentukan sehingga dapat diketahui panjang gelombang maksimalnya, hasil orientasi diperoleh data panjang gelombang dengan mengukur serapan pada panjang gelombang maksimum (puncak kurva), agar dapat memberikan serapan tertinggi untuk setiap konsentrasi. Dari data yang diperoleh kemudian dibuat kurva hubungan antara panjang gelombang dengan absorbansinya.



Gambar 1. Kurva Panjang Gelombang Vs Absorbansi

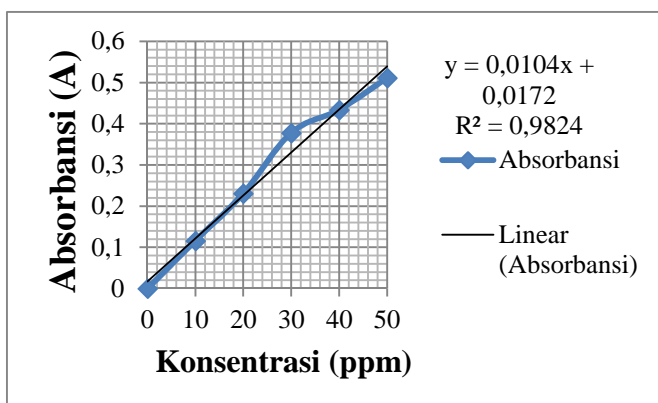
Gambar 1. menunjukkan bahwa absorbansi tertinggi terdapat pada panjang

gelombang 370 nm dengan absorbansi 2,839. Hasil orientasi diperoleh data panjang gelombang maksimal pada larutan standar kuersetin adalah 370 nm. Proses selanjutnya setelah diperoleh panjang gelombang maksimal, diukur dengan menggunakan larutan standar baku kuersetin dari 5 konsentrasi untuk membuat kurva linier dengan menggunakan panjang gelombang maksimal yang diperoleh dan sebagai pembandingan pada pengukuran senyawa flavonoid pada sampel. Data absorbansi dari konsentrasi larutan standar baku kuersetin dapat dibuat kurva baku antara konsentrasi larutan kuersetin dan absorbansinya. Kurva baku dibuat dengan tujuan mengetahui hubungan antara konsentrasi larutan dengan nilai absorbansinya sehingga konsentrasi sampel dapat diketahui. Larutan baku kuersetin yang digunakan yaitu 0,10,20,30,40,50. Konsentrasi 0 adalah konsentrasi blanko (Agung, 2016)

Tabel 4. Konsentrasi dan Absorbansi dari Kuersetin

Konsentrasi	Absorbansi
0	0
10	0,116
20	0,231
30	0,378
40	0,434
50	0,511

Hasil pembuatan kurva standar kuersetin yang bertujuan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi larutan dengan nilai absorbansi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva Dengan Absorbansi Kuersetin

Kurva standar yang diperoleh memiliki

persamaan garis $y = 0,0104x + 0,0172$. Persamaan ini digunakan untuk menghitung kadar flavonoid dalam sampel dimana (y) menyatakan nilai absorbansi dan (x) menyatakan kadar flavonoid dalam sampel (Agung, 2016). Dengan koefisien korelasi yang diperoleh $R^2 = 0,9824$. Hal ini menunjukkan semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi pula absorbansinya.

Persamaan linier $y=0,0104x + 0,0172$ yang diperoleh akan digunakan untuk menetapkan kadar flavonoid pada daun katuk menggunakan metode refluks dengan y adalah absorbansi sampel dan x adalah konsentrasi flavonoid dalam sampel. Pengukuran absorbansi pada ekstrak daun katuk dilakukan pada panjang gelombang maksimal yang didapat yaitu 370 nm. Berikut ini merupakan data absorbansi senyawa flavonoid pada daun katuk:

Tabel 5. Data Absorbansi Senyawa Flavonoid Pada Daun Katuk

Replikasi	Absorbansi			Panjang Gelombang
	Etanol 70%	Etanol 90%	Etanol 95%	
I	0,490	0,463	0,421	370 nm
II	0,469	0,425	0,410	
III	0,505	0,462	0,410	
Rata-rata	0,488	0,45	0,413	

5. Penetapan Kadar Flavonoid Dengan Spektrofotometri UV-Vis

Proses selanjutnya yaitu penetapan kadar senyawa flavonoid pada sampel. Dibawah ini merupakan data hasil penetapan kadar senyawa flavonoid dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

Tabel 6. Data Kadar Senyawa Flavonoid Pada Daun Katuk

Replikasi	Kadar (mgQE/gr ekstrak)		
	Etanol 70%	Etanol 90%	Etanol 95%
I	0,454	0,428	0,388
II	0,434	0,329	0,377
III	0,469	0,427	0,377
Rata-rata	0,452	0,394	0,380

Hasil penetapan kadar senyawa flavonoid yang terkandung dalam sampel pada pelarut etanol 70% replikasi I adalah 0,454 mgQE/gr ekstrak, pada replikasi II adalah 0,434 mgQE/gr ekstrak, dan pada replikasi III adalah

0,469 mgQE/gr ekstrak. Pada pelarut etanol 90% replikasi I adalah 0,428 mgQE/gr ekstrak, pada replikasi II adalah 0,329 mgQE/gr ekstrak dan pada replikasi III adalah 0,427 mgQE/gr ekstrak. Sedangkan pada pelarut etanol 95% replikasi I adalah 0,388 mgQE/gr ekstrak, pada replikasi II adalah 0,377 mgQE/gr ekstrak dan pada replikasi III adalah 0,377 mgQE/gr ekstrak.

Berdasarkan data tersebut hasil kadar senyawa flavonoid pada ekstrak daun katuk dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis yaitu untuk kadar flavonoid dengan menggunakan pelarut etanol 70% didapat hasil dengan rata-rata sebesar 0,452 mgQE/gr ekstrak, pada pelarut etanol 90% didapat hasil dengan rata-rata sebesar 0,394 mgQE/gr ekstrak, sedangkan pada pelarut etanol 95% didapat hasil rata-rata sebesar 0,380 mgQE/gr ekstrak.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kadar flavonoid total tertinggi pada ekstrak daun katuk yang didapat dari pengaruh perbedaan konsentrasi etanol yaitu pelarut etanol konsentrasi 70%. Pelarut etanol 70% memperoleh kadar flavonoid lebih tinggi dibandingkan dengan etanol 90% dan 95%. Tingginya kadar senyawa flavonoid dalam ekstrak daun katuk yang diperoleh menggunakan pelarut etanol 70% dikarenakan semakin tinggi konsentrasi etanol maka semakin rendah tingkat kepolaran pelarutnya (Shadmani, 2004). Suatu zat akan terlarut dan terekstrak dengan baik apabila pelarut yang digunakan memiliki tingkat kepolaran yang sama (Yuswi, 2017). Pelarut campuran antara alkohol dan air merupakan pelarut pengestrak terbaik untuk hampir semua senyawa yang memiliki berat molekul rendah seperti flavonoid. Penggunaan pelarut etanol dengan konsentrasi diatas 70% mengakibatkan penurunan total flavonoid. Pelarut etanol diatas 70% kurang efektif untuk melarutkan senyawa flavonoid yang memiliki berat molekul rendah (Suhendra, 2019). Menurut Harborne (1987), senyawa flavonoid terbagi menjadi beberapa jenis. Tiap jenis flavonoid mempunyai kepolaran yang berbeda-beda tergantung dari jumlah dan

posisi gugus hidroksil tiap jenis flavonoid sehingga hal tersebut akan mempengaruhi kelarutan flavonoid pada pelarut.

D. Simpulan

Perbedaan konsentrasi pelarut etanol berpengaruh terhadap kadar flavonoid ekstrak daun katuk.

Kadar flavonoid tertinggi dimiliki oleh pelarut etanol 70% dengan rata-rata sebesar 0,425 mgQE/gr ekstrak dibandingkan dengan pelarut etanol 90% dan 95% yang memiliki rata-rata sebesar 0,394 mgQE/gr ekstrak dan 0,380 mgQE/gr ekstrak

E. Daftar Pustaka

- [1] Achmad S.A. (1986). Kimia Organik Bahan Alam. Penerbit Karunika, Jakarta.
- [2] Agoes, A. (2010). Tanaman Obat Indonesia. Jakarta : Salemba Medika.
- [3] Agung, NC. (2016). Pengembangan Produk Kombinasi Ekstrak Daun Pare Dan Bonggol Pisang Kepok Dengan Sediaan Tonik Rambut Pada Kelinci Jantan. Jakarta : Universitas Pancasila.
- [4] Alhabsyi, D.F, dkk. (2014). Aktifitas Antioksidan Dan Tabir Surya Pada Ekstrak Kulit Buah Pisang Goroho (*Musa Acuminate L*). Jurnal Ilmiah. Manado: UNSRAT Manado.
- [5] Arifin, Helmi, dkk. (2006). Standarisasi Ekstrak Etanol Daun *Eugenia Cumini Merr*. Padang : Universitas Andalas.
- [6] Asih, I.A.R. Astuti. (2009). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Isoflavon Dari Kacang Kedelai (*Glycin max*). Bali : Universitas Udayana.
- [7] Azis, S. dan S. R. Muktiningsih. (2006). Studi manfaat daun katuk (*Sauropus androgynus*). Cermin Dunia Kedokteran. Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan

- Kesehatan. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- [8] Azizah, Barokati dan Nina Salamah. (2013). Standarisasi Parameter Non Spesifik Dan Perbandingan Kadar Kurkumin Ekstrak Etanol Dan Ekstrak Terpurifikasi Rimpang Kunyit. Yogyakarta : Universitas Ahmad Dahlan.
- [9] Day, R A, dan Underwood, A L., (2002), Analisis Kimia Kuantitatif Edisi Keenam, Erlangga, Jakarta.
- [10] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1986). Sediaan Gelantik. Bakti Husada: Jakarta.
- [11] Departemen Kesehatan RI. (1995). Farmakope Indonesia Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- [12] Departemen Kesehatan Republik Indonesia, (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- [13] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2001). Inventaris Tumbuhan Obat Indonesia I. Jilid 2. Jakarta : Depkes RI.
- [14] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). Farmakope Herbal Indonesia. (Edisi I). Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [15] Desandi Y, Andi. (2014). Ekstraksi dan Uji Filokimia (*Sonneratia alba*). Bandung : Universitas Padjadjaran.
- [16] Ditjen POM. (1995). Materia Medika Indonesia. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- [17] Ditjen POM. (1989). Materia Medika Indonesia. Jilid V. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- [18] Ekawati, Minanti Arna, dkk. (2017). Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid pada daun sembukan (*Paederiafoetida* L) serta uji aktivitasnya sebagai anti oksidan. Bali : Unniversitas Udayana.
- [19] Ewing, Galed Wood. (1985). Instrumental of Chemical Analysis Fifth Edition. McGraw-Hill. Singapore.
- [20] Gandjar dan rohman. (2012). Analisis Obat Secara Spektroskopi dan Kromatografi. Yogyakarta : Pustaka pelajar.
- [21] Harbone, J.B. (1987). Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan ,2nd, (Terjemahan oleh : Padwaminata, K. Dan Soediro, I). Bandung : Penerbit ITB.
- [22] Luginda, Rega Alfaz, dkk (2018). Pengaruh Variasi Konsentrasi Pelarut Etanol Terhadap Kadar Flavonoid Total Daun Beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) Dengan Metode Microwave – Assisted Extraction (MAE). Bogor : Universitas Pakuan.
- [23] Marjoni, R. 2016, Dasar-Dasar Fitokimia. CV. Trans Info Media: Jakarta Timur.
- [24] Riwanti, Pramudita, dkk. (2020). Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50, 70 dan 96% *Sargassumpolycystum* dari Madura. Surabaya : Universitas Hang Tuah
- [25] Rohman, A. (2007). Kimia Farmasi Analisis, Yogyakarta : Pustaka Belajar.
- [26] Rohman, Abdul. (2009). Kromatografi Untuk Analisis Obat. Ed I. Yogyakarta : Graha Ilmu.
- [27] Rohyami, Yuli. (2008). Penentuan Kandungan Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa Scheff Boerl*). Yogyakarta : Universitas Islam Indonesia.
- [28] Rukmana, Rahmat. (2003). Katuk :

- Potensi Dan Manfaatnya. Yogyakarta : Kanisius.
- [29] Santana, dkk. (2009). Methodologies for The Extraction of Phenolic Compounds from Enviromental Samples : New Approaches. *Molecules*. Vol. 14. Hal. 298-320.
- [30] Santoso, U. (2009). Manfaat Daun Katuk Bagi Kesehatan Manusia dan Produktivitas Ternak. www.uripsantoso.wordpress.com. Diakses tanggal 25 November 2020.
- [31] Serma, J and Bernard F, (2003). *Handbook of Thin Layer Chromatography Third Edition, Revised and Expanded*. Marcel Dekker Inc. New York.
- [32] Shadmani, A, dkk. (2004). Kinetic studies on *Zingiber officinale*. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 17(1):47-54.
- [33] Suhendra, Corry Permatasari, dkk. 2019. Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Ilalang (*Imperata cylindrica* (L) Beauv.) Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan* Vol. 8, No.1, 27-35.
- [34] Suryani, Nyoman Citra, dkk. 2015. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Kandungan Total Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Matoa (*Pometiapinnata*). Bali : Unniversitas Undayana.
- [35] Susanti, N.M.P, dkk. 2014 Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 90% Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.). Bali : Universitas Udayana.
- [36] Syahadat, Anwar dan Nurelilasari Siregar. 2020 Skrining Fitokimia Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) Sebagai Pelancar ASI. Padang sidimpuan : Universitas Aufa Royhan.
- [37] Yuswi, N.C.R. 2017. Ekstraksi Antioksidan Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) Dengan Metode Ultrasonic Bath (Kajian Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 5(1):71-79