

**ANALISIS KADAR SENYAWA FLAVONOID EKSTRAK METANOL DAUN LAMTORO
(*Leucaena Leucocephala*) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

MOH ADAM MUSTAPA

ABSTRACT: The Research of analysis flavonoids in methanol extract of leaves leucaena (*leucaena leucocephala*) with the aim to identify and perform the assay UV-Vis Spectrophotometer has been conducted. On the measurement of standard solutions obtained linear regression equation $y = 0.0149 + 0,0307x$ with a correlation coefficient (r) was 0.9989. The results of the validation has been done obtained the linearity with concentrations of $14.5264 \pm 2.0891 \mu\text{g}/500 \text{ g}$, or can be said contained 0.0093% flavonoid compounds in 500 g of dry powder Lamtoro leaf (*leucaena leucocephala*). The levels are still relatively very low. However, it is possible levels of flavonoids contained in the methanol extract of Lamtoro leaves (*Leucaena leucocephala*) is larger. Given in this study was not conducted to prove the analysis validation method performed completely accurate.

Keywords : Lamtoro leaves, methanol extract, flavonoids, UV-Vis spectrophotometry.

Abstrak : Telah dilakukan penelitian analisis flavonoid dalam ekstrak metanol daun lamtoro (*leucaena leucocephala*) dengan tujuan untuk mengidentifikasi dan melakukan penetapan kadar secara Spektrofotometer UV-Vis. Identifikasi dilakukan dengan menggunakan KLT dengan eluen etil asetat: n-heksan (9:1) dibawah sinar UV dan menghasilkan bercak yang diduga flavonoid. Pada pengukuran larutan standar didapatkan persamaan regresi linear $y = 0,0149 + 0,0307x$ dengan nilai koefisien korelasi (r) adalah 0,9993. Hasil validasi yang telah dilakukan diperoleh linieritas dengan konsentrasi $14.5264 \pm 2.0891 \mu\text{g}/500 \text{ g}$ atau dapat dikatakan terdapat 0.0093% senyawa flavonoid dalam 500 g serbuk kering daun lamtoro (*leucaena leucocephala*). kadar tersebut masih tergolong sangat rendah. Namun, ada kemungkinan kadar flavonoid yang terkandung dalam ekstrak metanol daun Lamtoro (*Leucaena leucoc* hala) lebih besar.

Kata Kunci : Daun Lamtoro, Ekstrak Metanol, Flavonoid, spektrofotometri UV-Vis.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Keanekaragaman hayati yang ada di bumi ini tak hanya digunakan sebagai bahan pangan ataupun untuk dinikmati keindahannya saja, tetapi dapat juga bermanfaat sebagai bahan untuk mengobati berbagai jenis penyakit. Indonesia adalah salah satu negara yang memiliki kekayaan alam yang melimpah dan beraneka ragam, namun hanya sebagian kecil yang diteliti serta dimanfaatkan (Helliwel, 1999: 23).

Direktorat jendral POM (1991), menemukan ada 283 spesies tumbuhan obat yang sudah terdaftar digunakan oleh industri obat tradisional di Indonesia. WHO (World Health Organization) pada tahun 1985 memprediksi bahwa sekitar 80% penduduk dunia telah memanfaatkan tumbuhan obat untuk pemeliharaan kesehatan primernya (Peters, 2000: 12). Kandungan senyawa kimia yang beragam pada berbagai tumbuhan dijumpai secara tersebar ataupun terpusat pada organ tubuh tumbuhan seperti daun, bunga, buah, biji, akar, rimpang, atau kulit batang[(Hornok, 1992: 46).

Tanaman berkhasiat di Indonesia yang banyak digunakan untuk pengobatan penyakit secara tradisional diantaranya adalah Lamtoro. Lamtoro dengan nama ilmiah *Leucaena leucocephala*, tetapi ada juga yang menyebutnya *Leucaena glauca*, (Linn.) Benth atau *Mimosa glauca*, Linn merupakan perdu yang berkhasiat obat mengandung zat aktif yang berupa alkaloid, saponin, flavonoid, mimosin, leukanin, protein, lemak, kalsium, fosfor, besi, vitamin A dan vitamin B. Berbagai kandungan yang terdapat dalam tanaman lamtoro yang diperkirakan sebagai antiinflamasi adalah flavonoid. Senyawa ini ditemukan pada batang, daun, bunga, dan daun. Flavonoid dalam bentuk aglikon bersifat nonpolar, sedangkan dalam bentuk glikosida bersifat polar. Berdasarkan sifat flavonoid tersebut, maka untuk ekstraksi dapat digunakan Metanol 70% sebagai bahan penyarinya, karena Metanol 70% bersifat semi polar yang dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar maupun non-polar. Selain itu, Metanol 70% tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut (Harborne, 1987:57-58).

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman hijau, kecuali alga. Flavonoid yang lazim ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi (Angiospermae)

adalah flavon dan flavonol dengan C- dan O-glikosida, isoflavon C- dan O-glikosida, flavanon C- dan O-glikosida, khalkon dengan C- dan O-glikosida, dan dihidrokhalkon, proantosianidin dan antosianin, auron O-glikosida, dan dihidroflavonol O-glikosida. Golongan flavon, flavonol, flavanon, isoflavon, dan khalkon juga sering ditemukan dalam bentuk aglikonnya. Flavonoid tersusun dari dua cincin aromatis yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga dengan susunan C6-C3-C6. (Markham, 1988:14),

Menurut Rahmawan (2008:3), flavonoid merupakan senyawa aktif yang dapat berefek sebagai antiradikal, antioksidan, antibakteri, dan antiinflamasi. Flavonoid dapat diekstrak dengan sistem ekstraksi secara batch seperti yang dilakukan oleh Rohyami (2008:19). Secara kuantitatif jumlah flavonoid dari tumbuhan relatif kecil. Abad (1993:56) hanya mendapatkan 0,28 kg (0,14%) 5,7,3'-trihidroksi-3,6,4'-trimetoksi flavon dari 200 kg *Tanacetum microphyllum* dan *Conoclidium greggii* sebanyak 2 kg hanya mengandung 0,024 kg (1,2%) 5,7,4'-trihidroksi 6,3',5'-trimetoksi flavon.

Analisis kualitatif flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Spektrum serapan ultra violet dan serapan tampak merupakan cara tunggal yang paling bermanfaat untuk mengidentifikasi struktur flavonoid (Markham, 1988:4). Flavonoid mengandung sistem aromatis yang terkonjugasi dan dapat menunjukkan pita serapan kuat pada daerah UV-Vis (Rohyami, 2008:2).

Metode tersebut juga dapat digunakan untuk melakukan uji secara kuantitatif untuk menentukan jumlah flavonoid yang terdapat dalam ekstrak metanol daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) juga dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis (Carbonaro, 2005). Standar yang digunakan adalah flavonoid rutin (quersetin) (Slimestad, 2005:61).

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan pengujian kembali mengenai persentase kadar senyawa Flavonoid (Quarsetin) pada tumbuhan Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) yang tumbuh di Gorontalo. Dalam penelitian ini akan dilakukan Identifikasi Senyawa Flavonoid pada ekstrak metanol pada daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang, maka diambil rumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah validasi metode penetapan kadar flavonoid menggunakan Spektrofotometer UV-Vis memenuhi persyaratan?
2. Apakah daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) di Gorontalo mengandung senyawa flavonoid?

Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis kandungan flavonoid pada ekstrak metanol Daun Lamtoro (*Leucaena Leucocephala*).

METODE PENELITIAN

Lokasi Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakognosi Jurusan Farmasi, FIKK UNG pada bulan Juni - Juli 2014.

Alat dan Bahan

1 Alat

Alat yang digunakan adalah gelas kimia, *waterbath*, corong, statif dan klem, pipet mikro, pipet tetes, botol vial, pisau, penggaris, neraca analitik, lampu UV, seperangkat alat kromatografi lapis tipis, seperangkat alat kromatografi preparatif, botol semprot, dan spektrofotometer UV-Vis.

2. Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan adalah ekstrak metanol daun tumbuhan Lamtoro (*Leucaena leucocephala*).

Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan berupa Metanol 70%, Serbuk Magnesium, HCl 2 N, H₂SO₄ 2 N, NaOH pekat. plat KLT kresgel G 60 F 254, n-butanol, asam asetat, aquadest, standar kuersetin.

Rancangan Penelitian

1. Penyiapan Simplisia

Sampel daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) yang telah dikumpulkan disortasi, kemudian sampel dicuci dengan air hingga bersih. Setelah itu kemudian sampel dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada tempat yang tidak terkena cahaya matahari langsung selama 4 hari.

2. Skrining Fitokimia

Serbuk daun lamtoro daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) sebanyak 1 gram dilarutkan dengan menggunakan 50 mL air panas kemudian disaring dan diperoleh filtrat yang akan digunakan sebagai larutan percobaan.

Sebanyak 5 ml larutan percobaan masukkan ke dalam tabung reaksi, tambahkan sedikit serbuk HCl kocok kuat dan biarkan memisah. Kemudian ditambahkan serbuk magnesium dan damilalkohol secara berturut-turut dengan prosedur yang sama. Terbentuk warna dalam larutan amilalkohol menunjukkan adanya senyawa flavonoid

3. Pemurnian Senyawa Flavonoid

Sampel daun tumbuhan Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) terlebih dahulu ditimbang sebanyak 100 gr, kemudian diekstraksi maserasi menggunakan pelarut Metanol 70% sebanyak 1200 ml sambil diaduk dengan batang pengaduk selama 2 jam. proses perendaman dilakukan selama 3 x 24 jam dengan setiap 1 x 24 jam sampel di saring menggunakan kain kassa, diganti pelarutnya dan larutan penyari hasil ekstraksi ditampung dan dilakukan secara berkala selama 3 hari. Setelah di saring dan selanjutnya dilakukan pemisahan menggunakan

corong pisah dengan penambahan pelarut n-heksan yang bertujuan untuk membebaskan senyawa-senyawa nonpolar. Selanjutnya dilakukan identifikasi senyawa flavonoid dengan Kromatografi Lapis Tipis. Lempeng KLT yang digunakan adalah KLT kresgel G 60 F 254 3x10 cm dengan fase gerak yang akan di optimasi. Setelah didapatkan eluen yang optimal selanjutnya dilakukan pemurnian senyawa flavonoid. (Harbone, 1996).

Selanjutnya dilakukan fraksinasi untuk mendapatkan ekstrak murni flavonoid dari ekstrak metanol daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*). Pada tahapan ini digunakan plat KLT kresgel G 60 F 254 3x10 cm. Eluen yang digunakan adalah etil asetat : n-heksan (9:1) v/v (Rohyami, 2007). Elusi dilakukan setelah lempeng KLT penuh dengan uap eluen, didiamkan sekitar 5–10 menit. Untuk mendeteksi bercak dilakukan dengan menggunakan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Bercak ditandai dengan menggunakan pensil.

Jika sudah diperoleh ekstrak murni pada tahapan di atas, kemudian dilakukan fraksinasi dengan KLT preparatif. Deteksi dilakukan dengan membandingkan fraksi identik quersetin dengan standard an dilihat penampakan dibawah lampu UV 366 nm. Bercak yang berupa pita diberi tanda dengan pensil. Setiap bercak yang diperoleh dikerok dan dilarutkan dalam metanol 70% dan disaring dengan kertas saring *Wathman*. Selanjutnya dilakukan hidrolisis flavonoid dengan mengasamkan campuran Metanol 70% dan HCl 2 M (1:1) sebanyak 25 mL, kemudian ditambahkan ke ekstrak daun lamtoro yang sebelumnya telah dilarutkan dengan Metanol 70% (25 mL). Selanjutnya ekstrak disaring dengan kertas saring *Wathman*. Kemudian dilakukan penguapan di atas waterbath selama 4 hari untuk menguapkan pelarut hingga mendapatkan ekstrak kental.

4. Analisis Flavonoid dengan Spektroskopi UV-Vis

Penyiapan Bahan

1. Penentuan Kadar Air Sampel

Simplisia ditimbang dalam cawan yang telah diketahui bobotnya, simplisia kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 110°C selama kurang lebih 3 jam kemudian didinginkan. Pekerjaan diulang sampai simplisia mencapai berat konstan. Selisih berat yang sebelum dan sesudah pengeringan adalah banyaknya air yang diuapkan. (SNI 01-2891-1992 butir 5.1)

2. Pembuatan Larutan Induk Baku Pembanding Quarsetin

Ditimbang saksama sebanyak 50,0 mg Quarcestin baku, dimasukkan ke dalam labu ukur 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. Dari larutan induk baku 1000 ppm, dipipet sebanyak 5 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL. Diencerkan dengan pelarut sampai garis tanda, lalu dikocok sampai homogen sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 100 ppm. Dipipet 12,5 mL larutan induk baku 100 ppm, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, diencerkan dengan pelarut sampai garis tanda dan dikocok sampai homogen sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 25 ppm.

3. Pembuatan Larutan Sampel

Sebanyak 10 g hasil fraksinasi yang didapatkan kemudian dilarutkan kedalam gelas ukur 25 mL dengan metanol 70% sebanyak 15 mL dan diaduk hingga homogen. Selanjutnya dilarutkan dengan metanol 70% sampai pada garis tanda.

4. Optimasi Panjang Gelombang

Optimasi panjang gelombang dilakukan untuk menentukan panjang gelombang maksimum yang akan digunakan dalam pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan menggunakan larutan standar.

5. Penentuan Absorbansi Isolat Murni Senyawa Flavonoid

Penentuan absorbansi isolat murni senyawa flavonoid dengan landasan panjang gelombang khas standar flavonoid yang didapatkan dari optimasi, ditentukan nilai absorbansi larutan standar dan ekstrak metanol daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*).

6. Kalibrasi hasil pengukuran dengan standar

Absorbansi fraksi flavonoid dikalibrasikan dengan kurva konsentrasi standar versus absorbansi standar dengan persamaan regresi linear. Hasil yang diperoleh diperhitungkan dengan faktor pengenceran sehingga diperoleh konsentrasi flavonoid yang terdapat dalam ekstrak metanol daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*).

Prosedur Analisis

1. Analisis Kualitatif

Analisis kualitatif Quarsetin dapat dilakukan dengan membandingkan nilai absorbansi sampel dengan larutan baku pembanding Quarsetin pada kondisi Spektrofotometer UV-Vis yang sama.

2. Analisis Kuantitatif

3. Penentuan Linieritas Kurva Kalibrasi Baku Pembanding Quarsetin

Larutan standar 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm dibuat dengan dipipet dengan teliti 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; dan 12,5 mL larutan standar 100 ppm masing-masing diencerkan dengan pelarut metanol 70% dalam labu takar 25 mL sampai tanda dan diaduk hingga homogen. Blanko yang digunakan adalah metanol 70% murni.. Masing-masing larutan tersebut disaring menggunakan kertas saring Whatman. Setelah itu, filtrat larutan baku pembanding diukur kedalam sistem Spektrofotometer UV-Vis dan dibuat kurva kalibrasi antara konsentrasi dan absorbansi.

Penetapan Kadar Flavonoid dalam Sampel

Larutan sampel yang telah disiapkan, disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman. Kemudian diukur nilai absorbansi pada sistem Spektrofotometer UV-Vis.

Kadar Quarsetin yang terdapat dalam larutan sampel (X) dihitung dengan mensubstitusikan absorbansi ke dalam persamaan regresi yang diperoleh dari kurva kalibrasi sebagai Y. Hasilnya lalu dikali volume larutan sampel (25 mL), kemudian dibagi dengan berat penimbangan sampel kentang goreng sehingga diperoleh kadar Quarsetin dengan satuan $\mu\text{g/g}$ sampel.

Rumus perhitungan kadar Quarsetin dalam sampel dituliskan sebagai berikut.

$$\text{Kadar Quarsetin} = \frac{X (\mu\text{g}) \times \text{Volume larutan Sampel (mL)}}{\text{Berat penimbangan Sampel}}$$

Analisis Data Penetapan Kadar Secara Statistik

Data perhitungan kadar Quarsetin dianalisis secara statistik menggunakan uji t. Rumus yang digunakan untuk menghitung simpangan baku adalah:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(X - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

Sedangkan untuk mengetahui apakah data diterima atau ditolak digunakan rumus seperti di bawah ini:

$$t_{\text{hitung}} = \frac{X - \bar{X}}{SD/\sqrt{n}}$$

Data diterima jika $-t_{\text{tabel}} < t_{\text{hitung}} < t_{\text{tabel}}$ pada interval kepercayaan 95% dengan nilai $\alpha = 0,05$.

Keterangan:

SD = *standard deviation*/ simpangan baku

X = kadar Quarsetin

\bar{X} = kadar rerata Quarsetin

N = jumlah perlakuan

Untuk mengetahui kadar Quarsetin dalam sampel secara statistik digunakan rumus:

$$\text{Kadar Quarsetin } (\mu) = \pm (t \times SD / \sqrt{n})$$

Keterangan:

μ = kadar Quarsetin

t = harga t_{tabel} dengan derajat kepercayaan

Validasi Metode

Akurasi (Kecermatan)

Akurasi ditentukan dengan menggunakan metode penambahan baku (*the method of standard additives*), yakni ke dalam sampel kentang goreng ditambahkan Quarsetin baku sebanyak 50%, 100%, 150% dari rerata kadar Quarsetin yang terdapat pada sampel, kemudian dianalisis dengan prosedur yang sama seperti pada sampel. Hasil dinyatakan dalam persen perolehan kembali (*% recovery*). Persen perolehan kembali dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\% \text{ Perolehan Kembali} = \frac{A_2 - A_1}{B} \times 100\%$$

Keterangan:

A_1 = Kadar analit sebelum penambahan Quarsetin baku

A_2 = Kadar analit yang diperoleh setelah penambahan Quarsetin baku

B = Kadar Quarsetin baku yang ditambahkan

Presisi (Keseksamaan)

Uji presisi (keseksamaan) ditentukan dengan parameter RSD (*Relatif Standard Deviasi*) yang dirumuskan sebagai berikut.

$$\text{RSD} = \frac{\text{SD}}{\bar{X}} \times 100\%$$

Keterangan:

SD = Standar deviasi/simpangan baku

\bar{X} = Kadar rerata Quarsetin dalam satu sampel

Batas Deteksi dan Batas Kuantitas

Batas deteksi (*Limit Of Detection/LOD*) dan batas kuantitasi (*Limit Of Quantitation/LOQ*) dihitung dari persamaan regresi kurva kalibrasi baku pembanding. Batas deteksi dan batas kuantitasi dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{\sum(Y - Y_i)^2}{n - 2}}$$

$$\text{LOD} = 3,3 (\text{SD}/S)$$

$$\text{LOQ} = 10 (\text{SD}/S)$$

Keterangan:

SD = Standar deviasi respon

S = *Slope* atau derajat kemiringan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Tabel Hasil analisis Flavonoid menggunakan KLT analisis

Fase Gerak	Rf	Warna Bercak		
		UV 366 nm	FeCl ₃	FeCl ₃ dan UV 366 nm
Etil asetat : n-heksan (9 : 1)	0,31	Biru	-	Biru
	0,44	Biru	-	Biru
	0,50	Coklat samar	Kuning	Coklat hijau
	0,60	Kuning	Kuning	Kuning hijau
	0,76	Coklat	Kuning	Kuning Coklat
Etil asetat : n-heksan (8 : 2)	0,04	Kuning kebiruan	-	Kuning kebiruan
	0,12	Biru samar	-	Biru samar
	0,22	Kuning	Kuning	Kuning hijau
	0,38	Coklat	Kuning	Coklat
	0,92	Biru terang	-	Biru terang
Etil asetat : n-heksan (7 : 3)	0,11	Biru	-	Biru
	0,27	Coklat samar	Kuning	Coklat samar
	0,42	Coklat	Kuning	Coklat
	0,80	Biru	-	Biru
Etil asetat : n-heksan (6 : 4)	0,67	Kuning coklat	Kuning	Kuning coklat
	0,81	Kuning	Kuning	Kuning hijau
	0,98	Biru	-	Biru

Tabel Hasil pembacaan absorbansi larutan baku Kuersetin

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi
10	0,349
20	0,629
30	0,911
40	1,258
50	1,547

(sumber : Rohyami, 2008)

No.	Kadar (µg/g)	Absorbansi	$(X - \bar{X})$	$(X - \bar{X})^2$
-----	--------------	------------	-----------------	-------------------

	X	Y		
1.	14.8576	0.48	0.3312	0.1096
2.	14.1953	0.46	-0.3312	0.1096
	$\sum X = 29.0529$			$\sum (X - \bar{X})^2 = 0.2193$
	$\bar{X} = 14.5264$			

Rerata kadar flavonoid ($\mu\text{g/g}$)	Persentase kadar flavonoid (%)	Kadar Flavonoid* ($\mu\text{g/g}$)
14,5264	0,91	14,5264 \pm 2,0891

Ket: *: kadar flavonoid yang dihitung secara statistik

Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan analisis kandungan flavonoid pada ekstrak metanol daun Lamtoro (*Laucaena Leucocephala*) secara Spektrofotometri UV-Vis. Metode ini digunakan berdasarkan hasil penelitian Rohyami (2008) yang menyatakan metode ini telah memenuhi persyaratan dalam uji validasi dan dapat digunakan dalam penetapan kadar flavonoid.

Sampel yang digunakan merupakan hasil ekstraksi simplisia daun Lamtoro (*Laucaena Leucocephala*) yang diambil di desa Talumpata Kec. Tapa Kab. Bone Bolango. Hasil penentuan kadar air sampel sebesar 3,69%. Hal ini sesuai dengan SNI (Standar Nasional Indonesia) 01-2891-1992 butir 5.1 mengenai Bubuk dan Rempah-rempah yang menyatakan bahwa simplisia bahan makanan dan obat diharapkan memiliki kadar air maksimal 12%. Setelah itu simplisia dilakukan uji fitokimia untuk memastikan keberadaan senyawa flavonoid didalam sampel. Pada uji fitikomia flavonoid, penambahan serbuk Mg dan HCl pekat untuk mereduksi agar ikatan gula pecah sehingga mudah ditarik oleh amil alkohol. Pada uji identifikasi flavonoid, penambahan amil alkohol untuk menarik aglikon dari senyawa flavonoid, dimana sebelumnya flavonoid dihidrolisa dengan HCl menjadi glikon dan aglikon.

Setelah dilakukan ekstraksi larutan ekstrak metanol kemudian diekstraksi cair-cair pada corong pisah untuk memisahkan fase polar dan nonpolarnya. Fase metanol yang ditafsirkan memiliki kandungan flavonoid kemudian dianalisis dengan KLT analisis dengan menggunakan eluen hasil optimasi pelarut terbaik yaitu etil asetat : n-heksan (9:1) dan dilihat penampakan

noda terbaik dibawah sinar UV 366 nm. Noda dengan pemisahan terbaik kemudian dikeruk dan dihidrolisis dengan HCL 2 N. Hal ini telah sesuai dengan prosedur yang dijalankan oleh Rohyami (2008) dalam penelitiannya. Kesalahan dalam tahap ini adalah tidak dilakukannya penujian kemurnian menggunakan KLT dua dimensi yang bertujuan untuk memastikan kemurnian senyawa flavonoid yang akan dianalisis.

Hasil kerukan dari noda dengan pemisahan terbaik pada KLT analisis kemudian diencerkan dengan metanol dan disaring. Kemudian larutan sampel sebanyak 25 ml dimasukkan kedalam kuvet untuk dilakukan pengukuran nilai absorbansi pada sistem spektrofotometri UV-Vis dan diperoleh nilai absorbansi dari sampel pada dua kali pengukuran seperti terlihat pada tabel pengukuran absorbansi sampel.

Dari nilai absorbansi flavonoid yang diperoleh, sampel dianalisis secara kuantitatif dengan metode penetapan konsentrasi sampel menggunakan kurva kalibrasi larutan baku (Gandjar dan Abdul, 346). Yang menjadi kelemahan pada penelitian ini tidak dilakukannya pengukuran absorbansi larutan standar kuersetin secara langsung melainkan hanya berdasarkan data yang dikutip dari hasil penelitian Rohyami (2008) seperti yang tertera pada tabel nilai absorbansi larutan baku. Hal ini juga berakibat tidak dilakukannya analisis kualitatif serta adanya kekhawatiran kevalidan hasil pengukuran kadar flavonoid disebabkan bedanya kondisi sistem spektrofotometri UV-Vis yang digunakan pada pengukuran larutan standar kuersetin dan larutan sampel.

Dari data larutan standar yang digunakan didapatkan kurva kalibrasi larutan standar dengan persamaan regresi linear $y = 0,0313 + 0,0302 x$ dan nilai koefisien relasi (r)= 0,9993. Persamaan ini kemudian digunakan dalam penetapan kadar flavonoid dari hasil pembacaan nilai absorbansi larutan sampel.

Hasil pembacaan menunjukkan nilai absorbansi yang baik dan sudah sesuai dengan literatur yakni absorbansi flavonoid terbaca pada panjang gelombang 230-295 nm (pita II) dan 300-560 nm (pita I). dari dua kali pengukuran didapat pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 278 nm dengan nilai absorbansi nilai rata-rata absorbansi 0.47.

Dari analisa data didapatkan kadar flavonoid yang terkandung dalam ekstrak metanol daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) adalah $14.5264 \pm 2.0891 \mu\text{g}/500 \text{ g}$ sampel kering daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) atau 0.0093% flavonoid.

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan bahwa:

1. Metode Spektrofotometri UV-Vis dengan menggunakan pelarut metanol dapat diterapkan dalam penetapan kadar flavonoid ekstrak metanol daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) yang difraksinasi secara KLT dengan pelarut etil asetat : n-heksan (9:1).
2. Ekstrak metanol daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) di Gorontalo mengandung Flavonoid.
3. Kadar Flavonoid dalam ekstrak metanol daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) adalah $14.5264 \pm 2.0891 \mu\text{g}/500 \text{ g}$ sampel kering daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) atau 0.0093% flavonoid. Dimana kadar tersebut jika di bandingkan dengan hasil penelitian Aye P.A (2013) masih tergolong sangat rendah. Namun, ada kemungkinan kadar flavonoid yang terkandung dalam ekstrak metanol daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) lebih besar. Mengingat dalam penelitian ini tidak dilakukan validasi metode untuk membuktikan analisis yang dilakukan benar-benar akurat

5.2 Saran

Untuk Peneliti selanjutnya Sebaiknya dilakukan kembali penelitian terhadap kandungan flavonoid pada ekstrak metanol daun Lamtoro (*Leucaena leucocephala*) menggunakan standar kuersetin untuk memastikan kadar flavonoid benar-benar dapat dipercaya. Juga sebaiknya terlebih dahulu benar-benar memastikan ketersediaan larutan standar kuersetin dan melakukan optimasi pelarut dalam pemurnian senyawa flavonoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Abad, M.J., Barmejo, P., Villar, A. 1993. *Anti-inflammatory Activity of Two Flavonoids from Tanacetum microphyllum*. J. Nat. Production, 56, 1164
- Aye P.A and Adegun M. K. 2013, *Chemical Composition and some functional properties of Moringa, Leucaena and Gliricidia leaf meals*, Jurnal, Ado-Ekiti: Agriculture and Biology Journal of North America.
- Basset, J., Denny.R.C, Et. al,. 1994. Vogel – kimia Analisis kuantitatif anorganik. ed.IV. Jakarta: EGC.
- Daintith, John. 1994. A Concise Dictionary of Chemistry. Oxford: Oxford University Press.
- Dalimartha, S. 2006. “Atlas Tumbuhan Obat Indonesia” Jilid 5. Jakarta: Puspa Swara.
- Ditjen POM. (1995). *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Harborne, J.B. 1996. “Metode Fitokimia”. Penuntun Cara Menganalisa Tumbuhan. Bandung: ITB.
- Harmita. 2006. Analisis Kuantitatif Bahan Baku dan Sediaan Farmasi. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA-Universitas Indonesia.
- Helliwel, B. dan Gutteridge, J.M.C. 1999. Free radical in Biology and Medicine.3rded.Oxford: University press. Hal. 23-31. 105-115.
- Hornok, L. 1992. *General aspects of medicinal plants*. Di dalam: Hornok L, editor. *Cultivation and Processing of medicinal Plants*. New York: John Wiley & Kuntjoro, dan I.B.I. Gotama (ed.).
- [Http : // www.library.usu.ac.id/](http://www.library.usu.ac.id/) diakses tanggal 22 Februari 2014 (20:16)
- [Http : // wocono.wordpress.com](http://wocono.wordpress.com) diakses tanggal 27 Juni 2014 (11:17)

- Ibnu Gholib Gandjar dan Abdul Rohman, 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Kurniasari, Indah. 2006. *Metode Cepat Penentuan Flavonoid Total Meniran (Phyllanthus niruri L.) Berbasis Teknik Spektrometri Inframerah dan Kemometrik*. Skripsi. Bogor: IPB.
- Kokasih et al. 2004. *Asas Pengembangan Prosedur Analisis*. Edisi pertama. Surabaya: Airlangga University Press.
- Markham, K.R., 1988, *Techniques of Flavonoids Identification*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung.
- Peters, D. Whitehouse, J. 2000. *The role of herbs in modern medicine:some current and future issues. Di dalam: Herbs. Proceedings of the International Conference and Exhibition; Malaysia. 9-11 Nov 1999*. Malaysia: Malaysian Agricultural Research and Development Institute.
- Rahmawan, Landyyun Sjahid. 2008. *Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari daun Dewandaru (Eugenia uniflora L)*. Skripsi. Surakarta : Univ Muhammadiyah
- Robinson, T., 1991, *The Organic Constituents of Higher Plants*, 6th Ed., Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung.
- Rohyami, Yuli .2008. *Penentuan Kandungan Flavonoid dari Ekstrak metanol Daging Buah Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa Scheff Boerl)*. Jurnal. Yogyakarta : Universitas Islam Indonesia
- Sastrohamidjojo. H, 1996, *Sintesis Bahan Alam*, Cetakan ke-1, Liberty, Jogyakarta.
- Sinaga, E. 2006. *Botani Kunyit*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tumbuhan Obat UNAS/P3TOUNAS. <http://iptek.apjii.or.id>. diakses tanggal 22 Februari 2014 (20:25)
- Slimestad, R., et.al., 2005, *Flavonoids from black chokeberries, Aronia melanocarpa*, *Journal of Food Composition and Analysis*, Volume 18, Issue 1, February 2005, Pages 61-68.
- SNI 01-2891-1992, *Bubuk dan Rempah-Rempah*, hlm. 5.

Umar, Farah. (2008). "Optimasi Ekstraksi Flavonoid Total Daun Jati Belanda". *Skripsi*. Bogor : IPB.

Zuhra, Cut Fatimah, dkk. 2008. "Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauopus androgynus (L) Merr*)". *Jurnal Biologi Sumatera Vol 3 No 1. Hlm. 7-10, Januari 2008*.

