

Penetapan Kadar Flavonoid Rutin pada Daun Ubi Kayu (*Manihot Esculenta Crantz*) Secara Spektrofotometri Sinar Tampak

Zikra Azizah^{1*}, Fauziah Elvis¹, Zulharmita¹, Sestry Misfadhila¹, Boy Chandra¹, Rina Desni Yetti¹

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang, Padang, Indonesia

*E-mail.: zikraazizah1990@gmail.com

Abstrak

Penelitian tentang penetapan kadar flavonoid rutin pada daun ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) secara spektrofotometri sinar tampak telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar flavonoid rutin pada daun ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) dengan menggunakan spektrofotometer sinar tampak. Penentuan kadar flavonoid rutin pada daun ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) ditentukan berdasarkan nilai absorbansi yang diukur pada panjang gelombang sinar tampak 416 nm dengan penambahan pereaksi aluminium klorida dan menggunakan pembanding rutin. Hasil penelitian menunjukkan kadar flavonoid yang diperoleh dari daun ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) adalah 4,987% dimana kadar tersebut dihitung sebagai kadar flavonoid rutin yang terdapat pada daun ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz).

Kata Kunci : *Manihot esculenta* Crantz; rutin; flavonoid

Abstract

Research about determination of routine flavonoid levels in cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz) by visible spectrophotometry has done. This research aims to determine level of routine flavonoid in cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz) using visible spectrophotometer. The determination of routine flavonoid levels in cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz) determination based on absorbance values measured at visible light wavelength of 416 nm with the addition of reactor aluminium chloride using a routine comparator. The results showed that flavonoid level obtained from cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz) was 4.987%, where these levels are calculated as routine flavonoid levels found in cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz).

Keywords : *Manihot esculenta* Crantz; rutin; flavonoid.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan tanaman obat, dari sekian ribu tanaman obat tersebut, masih banyak sekali tanaman yang belum diketahui khasiatnya. Salah satu diantara tanaman obat tersebut adalah tanaman singkong atau ketela pohon atau ubi kayu, atau dalam bahasa Inggris disebut *cassava* (*Manihot utilissima* pohl). Tanaman singkong berasal dari Brazilia tetapi sekarang sudah tersebar hampir di seluruh dunia. Indonesia termasuk salah satu negara penghasil singkong utama dunia (Soetanto, 2001).

Daun ubi kayu memiliki berbagai kandungan, salah satunya yaitu flavonoid. Kandungan utama flavonoid daun ubi kayu adalah rutin yang merupakan glikosida kuersetin dengan disakarida yang terdiri dari glukosa dan rhamnosa. Rutin

digunakan untuk menurunkan kerapuhan kapiler, mereduksi permeabilitas kapiler oleh jaringan, penanganan pendarahan retina (Kar, 2014).

Penelitian sebelumnya telah melakukan isolasi rutin dari daun ubi kayu (*Manihot utilissima* Pohl) menggunakan resin amberlit XAD4 (Bakhtiar, 1992). Dari penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa daun ubi kayu (*Manihot utilissima* Pohl) mengandung rutin. Penelitian lain uji ekstrak daun singkong (*Manihot utilissima* Pohl) terhadap jumlah neutrofil pada proses penyembuhan luka tikus. Dari penelitian tersebut juga disimpulkan ekstrak daun singkong beraktivitas terhadap proses penyembuhan luka tikus. Hal ini karena adanya potensi antioksidan yang ada dalam kandungan ekstrak daun singkong, yaitu kandungan flavonoid rutin (Nurdiana, 2013).

Pada penelitian lain juga telah dilakukan uji aktivitas ekstrak daun singkong (*Manihot utilissima* Pohl) yang mengandung rutin sebagai bahan tabir matahari. Ditemukan bahwa ekstrak daun singkong (*Manihot utilissima* Pohl) memiliki aktivitas rutin lebih besar daripada rutin murni (Bernadi, 2000). Penelitian mengenai penetapan kadar flavonoid rutin pada daun ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) secara spektrofotometri visible belum pernah dilakukan. Hal ini yang mendasari penulis untuk melakukan penelitian mengenai penetapan kadar flavonoid rutin pada daun ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) secara spektrofotometri sinar tampak.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah Spektrofotometer UV-Vis (UV-1800 Shimadzu), timbangan analitik (Precisa), alat-alat gelas seperti erlenmeyer (Iwaki), gelas ukur (Iwaki), labu ukur (Iwaki), batang pengaduk, gelas piala (Iwaki), pipet ukur (Iwaki), pipet volume (Iwaki), pipet tetes, botol maserasi, rotary evaporator (Ika), corong, spatel, cawan penguap, muostur belents, kromatografi lapis tipis.

Bahan yang digunakan adalah daun ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz), aquadest (Bratachem), Natrium asetat (CH_3COONa), etanol 70 % (Bratachem), Aluminium Clorida (AlCl_3) dan Rutin.

Prosedur

Pengambilan sampel

Sampel yang digunakan adalah daun ubi kayu yang diambil di daerah Jln. Andalas, Kecamatan Padang Timur, Padang, Sumatera Barat.

Identifikasi Tanaman

Identifikasi dilakukan di Herbarium

ANDA Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas Padang Sumatera Barat.

Pembuatan Simplisia Daun Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz)

Pada umumnya pembuatan simplisia melalui beberapa tahapan seperti berikut: pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, pengepakan dan penyimpanan serta pemeriksaan mutu (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985).

a. Pengumpulan tanaman

Sampel diambil sebanyak 1 kg di daerah Jln. Andalas Kecamatan Padang Timur Padang Sumatera Barat. Daun yang diambil adalah daun yang sudah tua. Sampel dikumpulkan dan segera dilakukan sortasi basah (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985).

b. Sortasi basah

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Misalnya pada simplisia yang dibuat dari akar suatu tanaman obat, bahan-bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daun, akar yang telah rusak, serta pengotoran lainnya harus dibuang (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985).

c. Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada daun. Pencucian dilakukan dengan air bersih dan dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin agar tidak menghilangkan zat berkhasiat dalam daun tersebut (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985).

d. Perajangan

Perajangan dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Perajangan

dilakukan dengan menggunakan pisau sehingga diperoleh potongan dengan ukuran yang dikehendaki (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985).

e. Pengeringan

Pengeringan simplisia dilakukan dengan cara dikeringanginkan. Pengeringan ini dilakukan sampai kadar air $\leq 10\%$ (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985).

f. Sortasi kering

Tujuan sortasi untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Proses ini dilakukan secara manual (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1985).

Pembuatan Ekstrak

Timbang ± 100 g serbuk kering daun ubi kayu lalu dimaserasi dengan pelarut etanol 70 % P 1L . Masukkan simplisia kering kedalam maserator tambahkan etanol 70 % 1 liter. Rendam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Pisahkan maserat dengan cara disaring, ulangi proses penyaringan sekurang-kurangnya dua kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Kumpulkan semua maserat, kemudian uapkan dengan penguap vakum atau penguapan tekanan rendah hingga diperoleh ekstrak kental. Kemudian hitung rendemen yang diperoleh. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

Karakterisasi Ekstrak Daun Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz)

Karakterisasi Non Spesifik a.

Susut Pengeringan

Ekstrak ditimbang secara seksama sebanyak 1 g sampai 2 g dan dimasukkan ke dalam botol timbang dangkal bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu

105⁰C selama 30 menit dan telah ditara. Sebelum ditimbang, ekstrak diratakan dalam botol timbang, dengan menggoyangkan botol, hingga merupakan lapisan setebal lebih kurang 5 mm sampai 10 mm. Jika ekstrak yang diuji berupa ekstrak kental, ratakan dengan bantuan pengaduk. Kemudian dimasukkan ke dalam ruang pengering, buka tutupnya, keringkan pada suhu 105⁰C hingga bobot tetap. Sebelum setiap pengeringan, biarkan botol dalam keadaan tertutup mendingin dalam eksikator hingga suhu kamar. Jika ekstrak sulit kering dan mencair pada pemanasan, ditambahkan 1 g silika pengering yang telah ditimbang seksama setelah dikeringkan dan disimpan dalam eksikator pada suhu kamar. Campurkan silika tersebut secara rata dengan ekstrak pada saat panas, kemudian keringkan kembali pada suhu penetapan hingga bobot tetap (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

b. Kadar Air

Penetapan kadar air yang dilakukan dengan alat *infrared moisture balance* dengan metode oven udara. Metode ini didasarkan atas berat yang hilang sehingga sampel seharusnya mempunyai kestabilan panas yang tinggi dan tidak mengandung komponen yang mudah menguap. Air dikeluarkan dari bahan pada tekanan udara (760 mmHg) sehingga air menguap pada suhu 100⁰C yaitu sesuai titik didihnya. Oven yang digunakan umumnya dipanaskan dengan listrik atau dengan pemanas inframerah yang dilengkapi dengan neraca analitik yang terpasang didalamnya. Bahan uji ditimbang sebanyak 1 g di dalam alat dan langsung dengan cepat dapat diperoleh persen kadar air dari sampel pada suhu 100⁰C (Rani, *et al.*, 2015).

Karakteristik Spesifik

a. Uji Organoleptis

Ekstrak yang diperoleh diuji secara organoleptik menggunakan pengamatan

panca indera untuk mendeskripsikan bentuk, warna, rasa dan bau dari ekstrak .

Uji Kandungan Kimia

Pemeriksaan Flavonoid

Uji Alkaline: Ekstrak diuji dengan penambahan beberapa tetes larutan NaOH sehingga terjadi perubahan warna menjadi kuning cerah, dimana warna tersebut akan berkurang jika ditambahkan asam menunjukkan adanya flavonoid.

- a. Uji Timbal Asetat: Ekstrak diuji dengan penambahan beberapa tetes larutan timbal asetat terbentuk endapan kuning menunjukkan adanya flavonoid
- b. Penambahan larutan besi (III) klorida beberapa tetes akan menimbulkan warna hijau kebiruan.

Uji Kromatografi Lapis Tipis

Umumnya dibuat kromatogram pada lempeng silika gel dengan berbagai jenis fase gerak sesuai dengan golongan kandungan kimia sebagai sasaran analisis (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

a. Alat

Alat yang digunakan yaitu lempeng kromatografi, rak penyimpanan, zat penyerap, bejana kromatografi, pipet mikro dan lampu ultraviolet.

b. Penjenuhan Bejana

Kertas saring ditempatkan dalam bejana kromatografi. Tinggi kertas saring 18 cm dan lebarnya sama dengan lebar bejana. Masukkan sejumlah larutan pengembang yang terdiri dari Etil asetat-asam format-asam asetat glasial- air (100: 11:11: 26) ke dalam bejana kromatografi, hingga tingginya 0,5 sampai 1 cm dari dasar bejana. Tutup kedap dan biarkan hingga kertas saring basah seluruhnya. Kertas saring harus selalu tercelup ke dalam larutan pengembang pada dasar bejana. Kecuali dinyatakan lain pada masing-masing monografi, prosedur KLT dilakukan dalam bejana jenuh (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

c. Larutan Uji KLT

Timbang 1 g simplisia lalu rendam sambil dikocok diatas penangas air dengan 10 ml etanol P selama 10 menit. Masukkan filtrat kedalam labu ukur 10 ml tambahkan etanol P sampai tanda batas untuk mendapatkan larutan uji.

d. Prosedur KLT

Totolkan larutan uji menurut cara yang tertera pada masing-masing monografi dengan jarak 1 sampai 2 cm dari tepi bawah lempeng dan biarkan mengering. Tempatkan lempeng pada rak penyangga, hingga tempat penotolan terletak di sebelah bawah. Larutan pengembang dalam bejana harus mencapai tepi bawah lapisan penyerap, totonan jangan sampai terendam. Letakkan tutup bejana pada tempatnya dan biarkan sistem hingga fase gerak merambat sampai batas jarak rambat. Keluarkan lempeng dan keringkan di udara, amati bercak dengan sinar tampak ultraviolet gelombang pendek (254 nm). Ukur dan catat jarak tiap bercak dari titik penotolan dan catat panjang gelombang pada tiap bercak yang diamati dan hitung nilai R_f .

Pembuatan Reagen

a. Larutan Aluminium Klorida 10%

Sebanyak 2,5 g aluminium klorida dilarutkan dengan air suling di dalam labu ukur 25 ml lalu dicukupkan dengan air suling sampai tanda batas, kemudian dihomogenkan .

b. Larutan Natrium Asetat 1 M

Sebanyak 2,05 g natrium asetat dilarutkan dengan air suling di dalam labu ukur 25 ml lalu dicukupkan sampai tanda batas, kemudian homogenkan.

Pembuatan Larutan Induk Rutin 1000 ppm

Sebanyak 10 mg rutin dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml, kemudian dilarutkan dengan etanol 80% sampai tanda batas, lalu dihomogenkan (Chang, *et al*, 2002).

Pembuatan Larutan Blangko

Sebanyak 1,5 ml etanol P dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml, lalu ditambahkan 1,5 ml etanol 80%, 0,1 ml $AlCl_3$ 10%, 0,1 ml natrium asetat 1M dan 2,8 ml air suling (Chang, *et al*, 2002).

Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Rutin

Dari larutan induk rutin 1000 ppm dipipet sebanyak 1,5 ml dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml lalu di tambahkan etanol 80 % sampai tanda batas sehingga diperoleh 15 ppm. Kemudian di pipet sebanyak 0,5 ml lalu ditambahkan 1,5 ml etanol 80 %, 0,1 ml $AlCl_3$ 10 % , 0,1 ml natrium asetat 1M dan 2,8 ml air suling lalu homogenkan. Diamkan selama 30 menit kemudian ukur serapannya pada panjang gelombang 400-800 nm dengan menggunakan spektrofotometer sinar tampak (Chang, *et al*, 2002).

Penentuan Kurva Kalibrasi Rutin

Larutan induk rutin dipipet sebanyak 1; 1,25; 1,5; 1,75 dan 2,0 ml, masukkan kedalam labu ukur 10 ml. kemudian tambahkan etanol 80 % sampai tanda batas, sehingga didapat konsentrasi rutin 10, 12,5, 15, 17,5 dan 20 $\mu g/ml$. Masing masing konsentrasi larutan dipipet 0,5 ml masukkan kedalam labu ukur 10 ml lalu tambahkan 1,5 ml etanol 80 %, selanjutnya tambahkan 0,1 ml aluminium klorida 10 %, 0,1 ml natrium asetat 1 M dan 2,8 ml air suling. Larutan ini dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit, kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang serapan maksimum rutin dengan menggunakan spektrofotometer sinar tampak. Lalu buat kurva kalibrasi sehingga persamaan regresi liniernya dapat dihitung.

Penentuan Kadar Flavonoid Rutin dalam Larutan Sampel

Ekstrak ditimbang sebanyak 100 mg dan masukkan kedalam labu ukur 25 ml.

Kemudian ditambahkan etanol 80 % sampai tanda batas hingga di dapatkan konsentrasi 4000 ppm. Dari konsentrasi 4000 ppm dipipet sebanyak 2,5 ml masukkan kedalam labu ukur 10 ml lalu ditambahkan etanol 80% sampai tanda batas hingga di peroleh konsentrasi 1000 ppm. Kemudian di pipet 0,5 ml larutan ekstrak lalu tambah 1,5 ml etanol 80 %, selanjutnya tambahkan 0,1 ml aluminium klorida 10 %, 0,1 ml natrium asetat 1 M dan 2,8 ml air suling. larutan ini dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit, kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang serapan maksimum dengan menggunakan spektrofotometer sinar tampak dan perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Kadar senyawa flavanoid ditentukan dengan persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi. Hasil yang diperoleh diperhitungkan dengan faktor pengenceran sehingga diperoleh konsentrasi flavanoid yang terdapat dalam ekstrak air daun ubi kayu (Pourmorad, *et al.*, 2006).

Analisis Data

a. Linearitas Kurva Baku

Linearitas ditentukan dengan persamaan regresi $y = a + bx$. Persamaan regresi ini dapat digunakan jika faktor korelasinya 0,99 dan $r \leq 1$.

Penetapan Kadar

Data luas area dimasukkan dalam persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva kalibrasi yaitu $y = a + bx$ maka didapatkan konsentrasi senyawa (Harmita, 2004).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian tentang penetapan kadar flavonoid rutin pada daun ubi kayu (*Manihot utilissima* Pohl) telah dilakukan pada bulan Oktober 2017 sampai bulan Februari 2018. Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah daun ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) yang diambil di

daerah jl. Andalas Kecamatan Padang Timur Kota Padang Provinsi Sumatera Barat. Identifikasi tumbuhan telah dilakukan di Herbarium ANDA Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Andalas Padang, Sumatera Barat. Tujuan identifikasi adalah untuk mengetahui identitas sampel yang akan digunakan. Berdasarkan hasil identifikasi tersebut dapat diketahui kepastian bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) famili Euphorbiaceae.

Sebelum ekstraksi dilakukan, sampel terlebih dahulu di rajang halus dengan tujuan untuk memperluas bidang permukaan dan mempercepat proses penetrasi pelarut kedalam sel tanaman dan juga proses pelarutan senyawa-senyawa yang terkandung didalam sampel. Ekstraksi daun ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) dilakukan dengan metode maserasi karena pengerjaannya lebih mudah, tidak memerlukan perlakuan khusus, tidak memerlukan panas sehingga dapat mencegah terjadinya kerusakan zat termostabil akibat suhu tinggi dan karena sampel yang digunakan yaitu berupa daun. Daun segar ubi kayu ditimbang sebanyak 1 kg lalu dilakukan pencucian, kemudian dirajang dengan tujuan untuk mempermudah proses pengeringan dan penggilingan, kemudian pengeringan dengan cara diangin-anginkan selama 2 minggu sampai kering dengan tujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama, dan selanjutnya dilakukan penghalusan, sehingga diperoleh serbuk kering sebanyak 100 g untuk dimaserasi.

Pelarut yang digunakan adalah etanol karena pelarut ini relatif kurang toksik dibanding pelarut organik lainnya. Disamping itu juga berdasarkan sifatnya sebagai pelarut universal yang mampu

melarutkan hampir semua zat, baik yang bersifat polar, semipolar maupun nonpolar. Etanol yang digunakan adalah etanol 70 % karena sampel yang digunakan adalah sampel kering yang memiliki kandungan air yang relatif sedikit. Kadar air sebanyak 30 % dalam etanol berfungsi untuk membantu memecahkan dinding sel sehingga penetrasi etanol kedalam sel lebih cepat dan optimal (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

Maserasi dilakukan selama 1 hari dengan 3 kali pengulangan. Proses maserasi ini dilakukan dengan menggunakan botol kaca berwarna gelap dan ditempat yang terlindung cahaya. Hal ini bertujuan untuk menghindari terjadinya penguraian struktur zat aktif terutama untuk senyawa yang kurang stabil terhadap cahaya. Satu bagian serbuk kering simplisia dimaserasi dalam botol gelap tertutup dengan 10 bagian pelarut, direndam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Pisahkan maserat dengan cara penyaringan menggunakan kain flanel, ulangi proses penyarian sekurang-kurangnya dua kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama.

Kumpulkan semua maserat, maserat diuapkan dengan penguap vakum sampai didapat ekstrak kental. Sehingga hasil yang diperoleh dari ekstrak kental dari proses maserasi pada penelitian ini sebanyak 27,1832 g ekstrak kental dengan nilai persen rendemen yang diperoleh adalah 27,1832%. Setelah didapatkan ekstrak kental, selanjutnya, daun ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) dilakukan pemeriksaan yang meliputi pemeriksaan uji fitokimia, parameter spesifik dan parameter nonspesifik (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

Susut pengeringan yaitu pengukuran sisa zat setelah pengeringan pada temperatur 105° C selama 30 menit atau sampai berat konstan. Tujuan dari

penentuan susut pengeringan adalah memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000). Pada penentuan susut pengeringan ekstrak daun ubi kayu didapatkan persentase rata-rata adalah 9,8769 %.

Kadar air yaitu pengukuran kandungan air yang berada didalam bahan, dilakukan dengan cara yang tepat. Tujuan dilakukan penetapan kadar air adalah untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air didalam bahan (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000). Pada penetapan kadar air ekstrak daun ubi kayu didapat persen rata-rata 9,63 %.

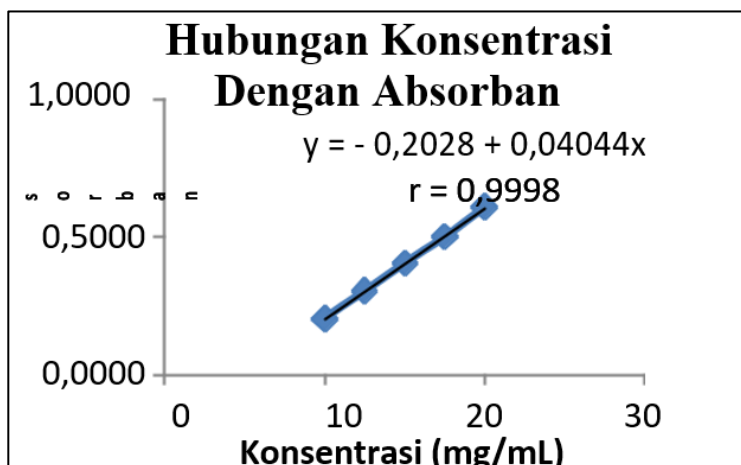
Karakterisasi spesifik yang dilakukan adalah uji organoleptis ekstrak. Hasil uji organoleptik ekstrak daun ubi kayu yang dihasilkan adalah berwarna hijau kehitaman, rasanya pahit, bau khas aromatis dan bentuknya kental dan selanjutnya dilakukan uji kandungan kimia ekstrak dengan pemeriksaan skrining fitokimia mengandung flavonoid dan uji kromatografi lapis tipis.

Penetapan kadar flavonoid rutin pada penelitian ini menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi $AlCl_3$. Prinsip dari metode ini adalah $AlCl_3$ membentuk kompleks yang stabil dengan C-4 gugus keto, lalu dengan C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol. Dalam penambahan aluminium klorida membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus orthohidroksil pada cincin A atau B dari flavonoid (Chang *et al.*, 2002). Digunakan larutan standar rutin sebagai pembanding karena kebanyakan flavonoid yang paling sering ditemukan dalam tanaman dalam

bentuk glikosida seperti kuersetin 3-rutinosida.

Pada penentuan kadar flavonoid rutin ditambahkan etanol 80% yang berfungsi sebagai meningkatkan konsentrasi, sedangkan penambahan $AlCl_3$ 10% yang berfungsi untuk memberikan efek batokromik dengan melakukan pergeseran kearah panjang gelombang yang lebih tinggi sehingga mengubah panjang gelombang larutan standar rutin untuk masuk kedalam rentang panjang gelombang UV- Vis 400-800 nm. Terjadinya efek batokromik menghasilkan warna yang lebih kuning. Setelah itu penambahan natrium asetat 1M berfungsi sebagai penstabil, kemudian di tambahkan air suling dan di amkan selama 30 menit yang bertujuan agar reaksi antara larutan standar rutin dengan pereaksi – pereaksi yang ditambahkan dapat berlangsung sempurna.

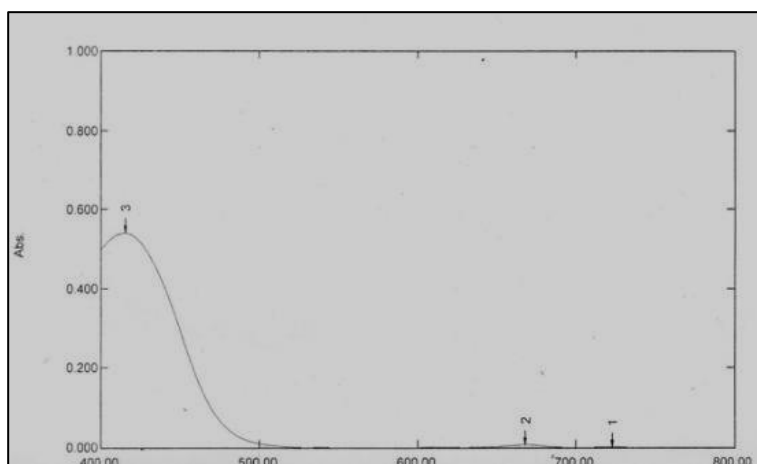
Penentuan panjang gelombang maksimum rutin pada konsentrasi 15 ppm di dapatkan panjang gelombang maksimum rutin 416 nm dengan absorban 0,404. Setelah didapatkan panjang gelombang maksimum rutin kemudian dibuat kurva kalibrasi larutan standar rutin dengan konsentrasi 10, 12,5, 15, 17,5 , 20 ppm larutan ini diukur pada panjang gelombang 416 nm. Dari hasilnya Pembuatan kurva kalibrasi larutan standar rutin berguna untuk menentukan kadar senyawa flavonoid rutin dalam sampel melalui persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi rutin. Dari pengukuran didapatkan kurva kalibrasi dengan persamaan regresi linier $y = 0,04044x - 0,2028$ dengan harga koefisien (r) yaitu 0,9998 (Gambar 1). Nilai r yang mendekati satu membuktikan bahwa persamaan regresi tersebut linier (Harmita 2004).



Gambar 1. Kurva kalibrasi rutin pembanding pada panjang gelombang 416 nm

Ekstrak di timbang 100 mg dimasukkan kedalam labu ukur 25 ml kemudian tambahkan etanol 80 % sampai tanda batas hingga didapatkan konsentrasi 4000 ppm. Dari konsentrasi 4000 ppm kemudian dipipet 2,5 ml masukkan kedalam labu ukur 10 ml lalu tambahkan etanol 80 % sampai tanda batas hingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Kemudian dilakukan

tiga kali perlakuan yang sama Tujuan dilakukan tiga kali perlakuan yang sama untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat. Dari konsentrasi 1000 ppm yang dilakukan dengan tiga kali perlakuan yang sama di dapatkan panjang gelombang dan absorban berturut-turut: untuk konsentrasi 1000 ppm yang pertama didapatkan panjang gelombang 415,50 nm.



Gambar 2. Spektrum serapan flavonoid rutin dalam ekstrak daun ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) pengulangan ke -2.

Hasil pengukuran kandungan flavonoid pada ekstrak daun ubi kayu adalah 4,979 g/100 g, 4,992 g/ 100g, 4,992 g/ 100g, kadar rata-ratanya adalah 4,987 g/100g

dimana kadar tersebut dihitung sebagai kadar flavonoid rutin yang terdapat pada daun ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz). Hasil pengukuran kandungan flavonoid

didapatkan % kadar yaitu 4,979%, 4,992%, 4,992% dengan nilai rata ratanya adalah

4,987%.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa hasil penetapan kadar flavonoid pada ekstrak daun ubi kayu (*Manihot esculenta* Crants) dengan metode spektrofotometri sinar tampak. Kadar rata-rata flavonoid ekstrak daun ubi kayu adalah 4,987 gram/100 gram dimana kadar tersebut dihitung sebagai kadar flavonoid rutin yang terdapat pada daun ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz). Hasil pengukuran kandungan flavonoid didapatkan adalah 4,987%.

DAFTAR RUJUKAN

- Bakhtiar, A. (1992). *Isolasi Rutin dari Ubi Kayu (Manihot utilissima) Menggunakan Resin Amberlit XAD4*. Padang: Andalas University
- Bernadi. (2000). *Uji Aktivitas Ekstrak Daun Singkong (Manihot utilissima Pohl) yang Mengandung Rutin sebagai Bahan Tabir Matahari*. (Skripsi). Surabaya.
- Chang, CC., Yang, M., Wen, HM., Chern, JC.(2002). Estimation of Total Flavanoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods, China. *Jurnal of Food and Drug Analysis*. 10, (3), 178-182.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. (Edisi 1). Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia*. (edisi1). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1985). *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Harmita. (2004). Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1 (3), 117-135
- Kar, A. (2014). *Farmakognosi & Farmakobioteknologi* Vol. 1 Edisi 2). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J., Shahabimajd, N. (2006). Antioxidant Activity, Phenol and Flavanoid Content of Some Selected Iranian Medicinal Plants. *African Journal of Biotechnology*. 5 (11), 1142-1145.
- Nurdiana, A.R. 2013. *Uji Ekstrak Daun Singkong (Manihot utilissima) terhadap jumlah Neutrofil pada Proses Penyembuhan Luka tikus*. (Skripsi). Jember.
- Rani, P. S., Nagasowjanya, G., Ajitha, A., & Maheswarao, V. U. (2015). Aquametry – the moisture content determination. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4,(8), 556-580.
- Soetanto, E. 2001. *Membuat Patilo dan Krupuk Ketela*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Watson, D.G. (2009) *Analisis farmasi: Buku Ajar untuk Mahasiswa Farmasi dan Praktisi Kimia Farmasi*. (Edisi 2). Penerjamah: W.R. Syarief. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.