

## **BAB II**

### **LANDASAN TEORI**

#### **2.1 Yakon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob)**

Tumbuhan Yakon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) atau dikenal juga sebagai tumbuhan insulin, merupakan suatu tanaman perdu tegak, yang memiliki tunas dan tumbuh menjalar diatas permukaan tanah. Tanaman ini biasanya ditemukan pada daerah curam seperti di tepian tebing, tepi sungai, dan diatas pegunungan. Tanaman Yakon dengan mudah dapat tumbuh pada ketinggian sekitar 5 sampai dengan 1500 meter diatas permukaan laut, dan suka terhadap cahaya atau terhadap paparan sinar matahari secara langsung (Roselino *et al.*, 2012).

Tumbuhan ini memiliki ciri-ciri yaitu, memiliki daun tunggal dan berseling seperti jari-jari yang melebar, dengan panjang sekitar 25 sampai dengan 30 cm disertai lebar 15 sampai dengan 25 cm. Pada bagian daun dan pangkalnya berbentuk runcing, tepian daun dengan bentuk gerigi, tekstur daun kasar terdapat bulu-bulu halus. Terdapat bunga majemuk dengan warna hitam dan bagian kelopak berwarna kuning, tangkainya bulat. Memiliki buah berbentuk kotak yang apabila masih muda berwarna hijau dan ketika mulai menua berubah warna menjadi warna coklat dengan biji yang bulat dan keras. Akarnya berupa umbi akar putih kotor dengan bentuk akar tunggang (Hidayat & Napitupulu, 2015).



**Gambar 2. 1 Pohon dan Akar Yakon**

**Sumber: (Philippine Medical Plants, 2007)**



**Gambar 2. 2 Bagian-bagian Tumbuhan Yakon**

**Sumber: (Fernandez *et al.*, 2007)**

Berikut merupakan taksonomi tumbuhan dari Tumbuhan Yakon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob) menurut Fernandez *et al.* (2007) yaitu:

Kerajaan : *Plantae*

Divisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Magnoliopsida*

Bangsa : *Asterales*

Suku : *Asteraceae*

Marga : *Smallanthus*

Spesies : *Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob

## 2.2 Kandungan dan Manfaat Tumbuhan Yakon

Tumbuhan Yakon biasa dimanfaatkan sebagai alternatif pengobatan diabetes, karena pada bagian daunnya diketahui berperan sebagai modulator pada dislipidemia dan sindrom metabolik karena terkandung  $\beta$  fruktooligosakarida dalam daunnya, serta memiliki kemampuan mengatur metabolisme kolesterol yang dapat mengurangi penyerapan kolesterol di usus halus melalui proses asimilasi (Baroni *et al.*, 2008).

Kandungan senyawa aktif diantaranya seperti senyawa, flavonoid, kafein, asam klorogenat, dan asam ferulat diketahui terkandung dalam bagian daun dan batang Yakon (Baroni *et al.*, 2008). Kandungan protein dan senyawa fenolik Daun dan batang Yakon menurut penelitian Baroni *et al.* (2008) juga cukup banyak dimiliki tumbuhan Yakon pada bagian daun dan batangnya dimana senyawa fenolik

pada tanaman Yakon memiliki aktivitas farmakologis diantaranya sebagai agen antiinflamasi, antimikroba, dan antioksidan (Lisnawati & Damayhanti, 2016).

Selain hasil dari penelitian tersebut, terdapat juga pernyataan dari beberapa studi bahwa teh yang terbuat dari Tumbuhan Yakon telah diujikan dapat meningkatkan konsentrasi insulin pada plasma darah serta menurunkan kadar glukosa darah pada hewan uji Tikus yang menderita diabetes (Baroni *et al.*, 2008).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Baroni *et al.* (2008) hal tersebut memperkuat etnobotani yang sering dilakukan masyarakat perdesaan khususnya daerah Jawa Tengah yang memanfaatkan tanaman Yakon dengan mengolah bagian batang dan daunnya untuk dijadikan rebusan minuman atau dikeringkan kemudian diseduh dan dikonsumsi untuk menurunkan serta mengontrol kadar gula darah atau dikenal sebagai obat antidiabetes.

### **2.3 Skrining Fitokimia**

Skrining Fitokimia yaitu bagian dari farmakognosi yang mempelajari tentang tata cara mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam tumbuhan serta mengetahui pula metode analisisnya. Bidang dalam analisisnya sendiri meliputi senyawa-senyawa yang terkandung dalam tumbuhan diantaranya seperti struktur kimia, biosintesis, metabolisme, dan penyebarannya secara ilmiah dan kegunaan biologisnya (Koch *et al.*, 2015). Adapun golongan senyawa-senyawa metabolit sekunder yaitu Alkaloid, Tanin, Flavonoid, Saponin, Steroid dan Triterpenoid (Harborne, 1987).

## 1. Alkaloid

Salah satu metabolit sekunder yang sering ditemukan pada tumbuhan dalam jumlah tinggi yaitu Alkaloid, yang memiliki susunan basa nitrogen (satu atau dua atom nitrogen) (Harborne, 1987). Prinsip pembentukan alkaloid terbentuk menjadi 3 bagian yaitu, elemen tanpa N yang ditemukan dalam molekul alkaloid, elemen N yang terlibat dalam pembentukan alkaloid, dan reaksi yang terjadi untuk pengikatan khas tiap elemen alkaloid (Sirait, 2007). Alkaloid umumnya beracun bagi manusia, tetapi memiliki efek fisiologis yang cukup menonjol sehingga dimanfaatkan untuk pengobatan (Harborne, 1987).

## 2. Tanin

Tanin terdiri dari senyawa fenolik dan merupakan salah satu zat organik yang sangat kompleks, tanin juga tersebar luas dalam tumbuhan yang merupakan suatu senyawa polifenol, larut dalam air dan memiliki rasa pahit atau sepat. Tanin ditemui pada bagian-bagian tumbuhan seperti pada daun, batang, kulit kayu, dan buah-buahan (Endarini, 2016).

## 3. Flavonoid

Sekumpulan senyawa fenolik yang paling banyak terdapat di alam disebut juga sebagai Flavonoid. Penyebabnya karena banyaknya tipe tingkatan hidroksilasi, alkoksilasi dan glikoisida pada struktur Flavonoid. Dalam flavonoid terdapat glikosida yang mempunyai karakteristik cincin

piran yang mana cincin tersebut dapat menghubungkan antara 3 rantai karbon yang memakai salah satu cincin benzene. Selain itu, flavonoid juga membentuk lapisan C6-C3-C6 sebagai suatu kerangka karbon (Shabur, 2019).

Flavonoid di alam kerap kali dijumpai dalam bentuk glikosidanya, senyawa-senyawa tersebut merupakan suatu zat berwarna ungu, biru, merah, dan sebagian berwarna kuning (Endarini, 2016).

#### **4. Saponin**

Saponin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang mudah diidentifikasi karena memiliki kemampuan dalam menghasilkan busa. Senyawa ini cenderung bersifat polar karena terdapat komponen senyawa glikosida (Harborne, 1987).

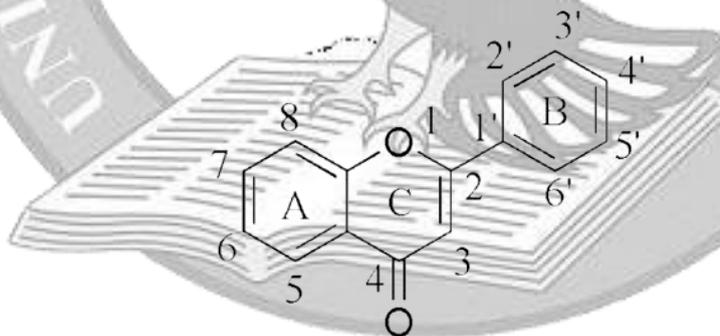
#### **5. Steroid dan Triterpenoid**

Steroid memiliki empat cincin kerangka karbon dasar yang menyatu dan merupakan terpenoid lipid. Struktur senyawa dari steroid juga beragam. Adanya gugus fungsi yang teroksidasi terikat pada cincin sehingga terjadi oksidasi cincin karbon yang menyebabkan perbedaan pada tiap struktur steroid (Samejo *et al.*, 2013).

Triterpenoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder berbentuk siklik atau asiklik yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan diturunkan dari hidrokarbon C<sub>30</sub> asiklik, yaitu skualena dan juga memiliki gugus alkohol, aldehida, atau asam karboksilat (Widiyati., 2006).

#### 2.4 Senyawa Flavonoid

Salah satu metabolit sekunder yang memiliki peranan penting pada tumbuhan adalah flavonoid yang merupakan turunan dari *2-phenyl-benzyl- $\gamma$ -pyrone* dengan biosintesis menggunakan jalur fenilpropanoid (Mierziak *et al.*, 2014). Struktur dasar flavonoid terdiri dari dua gugus aromatik yang digabungkan oleh jembatan karbon (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) (Uzel *et al.*, 2005). Flavonoid pada tumbuhan berperan memberi warna, rasa, dan aroma pada bagian tumbuhan seperti biji, bunga, dan buah (Mierziak *et al.*, 2014).

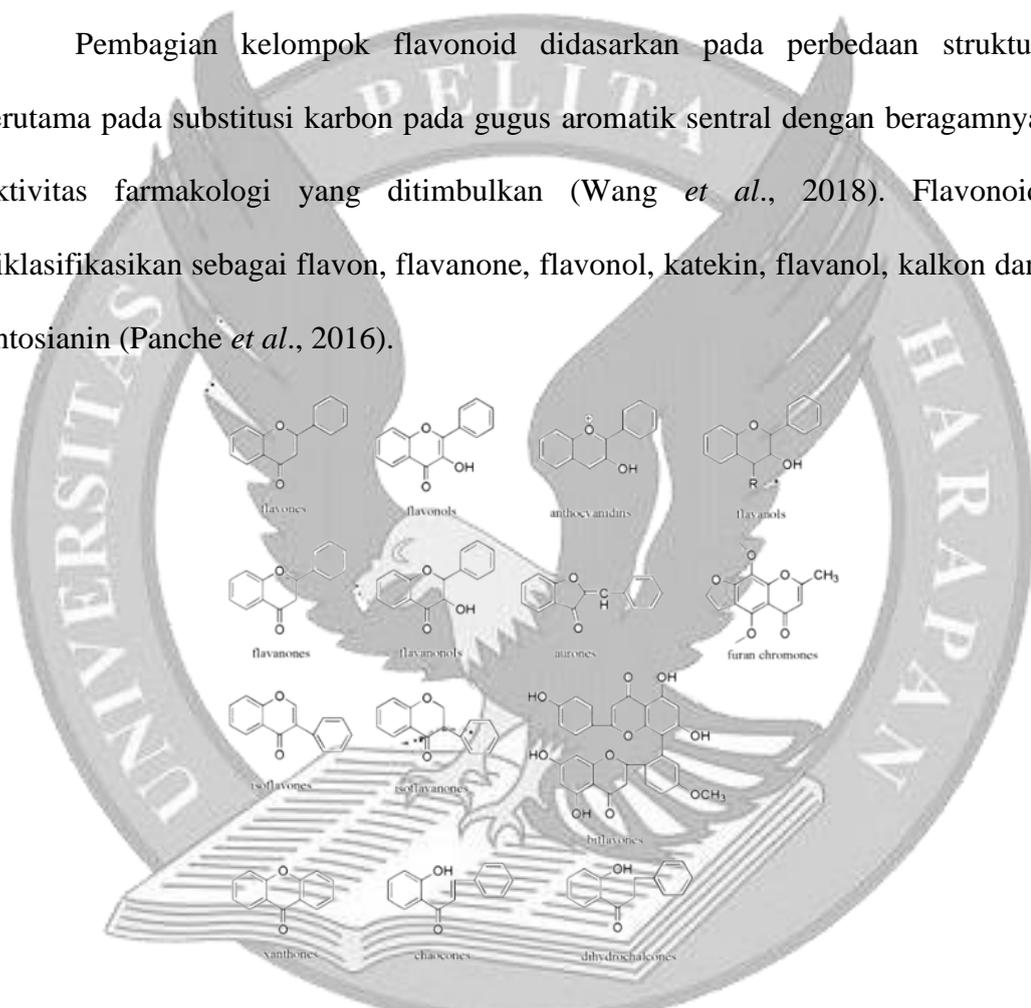


Gambar 2. 1 Struktur Flavonoid

Sumber: (Wang *et al.*, 2018)

Senyawa golongan fenol terbesar yang terdapat pada semua tumbuhan hijau salah satunya adalah flavonoid (Markham, 1988). Dari semua bagian tumbuhan, seperti daun, batang, kulit batang, akar, buah, bunga, dan biji terdapat flavonoid (Harborne, 1987). Flavonoid memiliki sifat polar maka dari itu flavonoid cukup larut dalam pelarut polar contohnya etanol (Markham, 1988).

Pembagian kelompok flavonoid didasarkan pada perbedaan struktur terutama pada substitusi karbon pada gugus aromatik sentral dengan beragamnya aktivitas farmakologi yang ditimbulkan (Wang *et al.*, 2018). Flavonoid diklasifikasikan sebagai flavon, flavanone, flavonol, katekin, flavanol, kalkon dan antosianin (Panche *et al.*, 2016).



**Gambar 2. 2 Struktur dan Klasifikasi Flavonoid**

Sumber: (Wang *et al.*, 2018)

### 2.4.1 Klasifikasi Flavonoid

Penggolongan senyawa flavonoid digolongkan berdasarkan perbedaan penyebaran gugus hidroksil dan substituen cincin heterosiklik yang mengandung oksigen. Sifat, khasiat, dan tipe flavonoid ditentukan dari bagian atom C<sub>3</sub> yang terdapat perbedaan oksidasi. Selain itu adanya perbedaan pada pola hidroksilasi dan substitusi atom C<sub>3</sub> juga menentukan klasifikasi dari senyawa flavonoid yaitu flavon, flavanon, flavonol, flavonolol, isoflavon, auron, chalkon. Berdasarkan klasifikasi tersebut bagian terbesar adalah flavon dan flavanol (Markham, 1988).

Klasifikasi flavonoid berdasarkan keragaman rantai C menurut Robinson (1995), diantaranya yaitu;

#### 1. Flavon

Pada flavon tidak terdapat gugusan 3-hidroksi, dengan hal tersebut mempengaruhi gerakan kromatografi, serapan UV, dan reaksi warna. Terdapat juga dalam glikosidanya namun lebih sedikit dibanding golongan lainnya.

#### 2. Flavonon

Golongan flavonon merupakan golongan yang tersebar luas di alam, senyawa ini terdapat pada bagian tumbuhan yaitu daun, bunga, dan kayu. Terdapat dua glikosida yang lazim yaitu hesperidin dan naringin.

### **3. Isoflavonon**

Isomer flavon merupakan isoflavon yang jumlahnya sangat sedikit, sebagai fitoaleksin (senyawa pelindung pada tumbuhan sebagai pertahanan dari serangan penyakit). Contoh isoflavon seperti daidzein menghasilkan warna biru cerah bila diuap dengan ammonia dan disinari UV.

### **4. Flavonol**

Senyawa ini dijumpai sebagai glikosida, seperti aglikon flavonoid (kuersetin, mirisetin, dan kamferol) dan 3-glikosida yang memiliki khasiat sebagai antiinflamasi dan antioksidan.

### **5. Flavanolol**

Senyawa ini sangat sedikit dibandingkan dengan senyawa flavonoid yang lain, maka dari itu senyawa ini cenderung diabaikan karena tidak memiliki warna dan konsentrasinya juga rendah, dan memiliki khasiat sebagai antioksidan.

### **6. Antosianin**

Senyawa pewarna yang tersebar luas di alam dan terpenting adalah antosianin, umumnya antosianin merupakan turunan dari sianidin atau

struktur aromatik tunggal, dengan adanya pengurangan atau penambahan gugus hidroksil melalui proses glikosilasi dan metilasi.

#### **7. Auron**

Senyawa ini dalam larutan basa memiliki warna merah, terdapat dalam bunga dan biofita berupa pigmen kuning emas. Apabila disinari UV dan diuap dengan ammonia warna kuning kuat akan berubah menjadi jingga merah, serta tampak bercak kuning pada kromatografi kertas.

#### **8. Leukoantosianidin**

Senyawa ini terdapat pada tumbuhan berkayu dan jarang sekali terdapat sebagai glikosida seperti apiferol dan melaksidin. Leukoantosianidin juga merupakan senyawa tanwarna.

#### **9. Khalkon**

Senyawa ini merupakan pigmen fenol kuning bila disinari UV dengan kromatografi kertas akan timbul warna coklat kuat.

#### **10. Katekin**

Senyawa ini terdapat pada setiap tumbuhan dan umumnya tumbuhan yang berkayu. Turunan dari senyawa ini yang memiliki khasiat antioksidan kuat yaitu epigalokatekin galat.

### 2.4.2 Khasiat Flavonoid

Dalam perkembangannya, hingga tahun 2011 ditemukan lebih dari 9000 flavonoid dan telah digunakan untuk suplemen kesehatan (Wang *et al.*, 2018). Dalam bidang kesehatan, flavonoid berperan sebagai anti bakteri, anti oksidan, anti-inflamasi, dan antidiabetes (Panche *et al.*, 2016).

#### a. Antioksidan

Flavonoid sebagai antioksidan memiliki mekanisme secara langsung dan tidak langsung, mekanisme secara langsung yaitu dengan cara mendonorkan ion hidrogen yang dapat menetralkan efek beracun dari radikal bebas, sedangkan mekanisme secara tidak langsung yaitu dengan meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui mekanisme lainnya (Sumardika & Jawi, 2011). Salah satu mekanisme peningkatan ekspresi gen yaitu aktivasi *nuclear factor erythroid 2 related factor 2* (Nrf2) atau gen yang berperan dalam sintesis enzim antioksidan endogen seperti gen SOD (Sumardika & Jawi, 2011).

#### b. Antibakteri

Khasiat antibakteri dari senyawa flavonoid memiliki mekanisme dengan cara berikatan dengan adhesin, merusak dinding sel, dan merusak membrane sel Nugraha *et al.* (2017). Struktur yang berperan sebagai antibakteri yaitu cincin beta dan gugus -OH pada flavonoid (Cowan, 1999). Semakin tinggi kandungan flavonoid maka aktivitas antibakteri akan semakin baik (Manik *et al.*, 2014).

### **c. Anti-inflamasi**

Mekanisme flavonoid dalam menghambat proses terjadinya inflamasi pada luka yaitu melalui berbagai cara seperti menghambat permeabilitas kapiler, menghambat pelepasan serotonin dan histamin ke tempat terjadinya radang, metabolisme asam arakidonat dengan cara menghambat kerja siklogenase, serta sekresi enzim lisosom yang merupakan mediator inflamasi penghambatan mediator inflamasi ini dapat menghambat proliferasi dari proses radang, sel neutrophil, dan sel endothelial (Negara *et al.*, 2014).

### **d. Antidiabetes**

Flavonoid mampu meregenerasi sel pada pulau Langerhans, sehingga dikatakan memiliki aktivitas antidiabetes (Prameswari *et al.*, 2014). Selain itu, melalui ikatan hidrosilasi dna substitusi pada cincin  $\beta$  sehingga dapat menghambat enzim alfa glukooksidase (Ho *et al.*, 1999). Flavonoid sebagai antidiabetes yaitu dengan cara membersihkan radikal bebas berlebih melalui pemutusan rantai reaksi radikal bebas, sehingga dapat mencegah komplikasi diabetes mellitus (Prameswari *et al.*, 2014).

## 2.5 Ekstrak dan Ekstraksi

Ekstrak diperoleh dari suatu proses pengambilan zat aktif dengan menggunakan pelarut tertentu yang disebut ekstraksi, kemudian dilakukan proses penguapan pelarut untuk memperoleh suatu ekstrak yang kental atau pekat. Adapun hasil dari ekstrak yang diperoleh dapat berbentuk ekstrak kering atau ekstrak kental tergantung dari jumlah pelarut yang digunakan (Marjoni, 2016).

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan penyari tertentu. Ekstrak adalah sediaan kering, cair, atau kental yang dibuat dengan cara menyari simplisia nabati dengan metode yang sesuai, di luar pengaruh langsung cahaya matahari (Kementerian Kesehatan RI, 2017). Ada beberapa jenis ekstrak yakni: ekstrak cair, ekstrak kental dan ekstrak kering. Ekstrak cair jika hasil ekstraksi masih bisa dituang, biasanya kadar air lebih dari 30%. Ekstrak kental jika memiliki kadar air antara 5-30%. Ekstrak kering jika mengandung kadar air kurang dari 5% (Voight., 1994).

Sedangkan menurut Sembiring (2007) ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu zat atau senyawa, umumnya proses ini dilakukan dengan menggunakan pelarut sesuai dengan komponen-komponen yang terkandung di dalamnya terhadap komponen yang ada dalam sampel. Adapun bahan yang akan dilakukan proses ekstraksi berupa bahan kering dalam bentuk serbuk atau simplisia.

Metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut dibedakan menjadi dua cara yaitu: cara dingin dan cara panas. Cara dingin terbagi menjadi dua yaitu; maserasi dan perkolasi, sedangkan cara panas terbagi menjadi lima jenis yaitu; refluks, soxhlet, digesti, infus dan dekok (Depkes RI, 2000).

Tujuan dari ekstraksi bahan alam yaitu untuk menarik atau memisahkan komponen kimia yang terdapat dalam sampel. Senyawa seperti antioksidan dan antimikroba umumnya diekstrak dengan menggunakan pelarut. Dalam fase ekstraksi, awalnya sel mengalami pembengkakan pada dindingnya dan kerangka selulosa dinding sel melonggar yang menyebabkan pori-pori sel mengalami pelebaran, sehingga pelarut dapat mudah masuk ke dalam sel tumbuhan (Voight, 1995).

## **2.6 Maserasi**

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang paling sederhana. Maserasi berasal dari bahasa latin *macerare* berarti mengairi dan melunakkan. Prinsip dari metode maserasi adalah terlarutnya kandungan simplisia dari sel yang rusak terbentuk ketika proses penghalusan. Ketika waktu maserasi berakhir, artinya telah tercapai keseimbangan antara bahan yang diekstraksi yang masuk kedalam cairan dengan bagian dalam sel, maka segera berakhirnya proses difusi (Voight., 1994).

Maserasi artinya dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserasi pertama, begitupun seterusnya. Sedangkan,

maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). (Depkes RI, 2000).

Selama proses maserasi (perendaman) dilakukan pengocokkan secara berulang, perlakuan pengocokkan dapat mempercepat keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi didalam cairan. Sedangkan apabila tanpa pengocokkan selama maserasi mengakibatkan penurunan pada perpindahan bahan aktif. Jadi, semakin besar perbandingan pelarut terhadap simplisia, akan diperoleh hasil yang lebih banyak (Voight., 1994).

## **2.7 Pelarut**

Salah satu faktor penentu dalam proses ekstraksi adalah pelarut, sehingga pemilihan pelarut juga harus memperhatikan banyak faktor (Guenther, 2006). Dua hal penting yang harus diperhatikan ketika memilih pelarut; yaitu pelarut harus tidak berbahaya dan beracun serta mempunyai daya larut yang tinggi. Pelarut yang digunakan dipastikan dapat melarutkan suatu ekstrak yang diinginkan saja, mempunyai kelarutan yang tinggi, tidak berpengaruh dalam perubahan kimia pada komponen ekstrak, dan titik didih tidak boleh terlalu dekat dari kedua bahan tersebut (Guenther, 2006).

Prinsip polarisasi menurut Harborne (1987) suatu senyawa dapat larut dalam pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang sama. Salah satu senyawa polar adalah flavonoid karena memiliki sejumlah gula yang terikat yang mengakibatkan flavonoid cenderung larut pada pelarut-pelarut polar (Harborne, 1987).

Pelarut polar yang banyak digunakan salah satunya adalah etanol karena merupakan pelarut universal yang biasanya digunakan untuk mengekstrak komponen polar yang terdapat pada bahan alam. Suatu teknik yang dapat mengambil komponen polar pada bahan alam yaitu ekstraksi melalui proses pemisahan (Santana *et al.*, 2009). Etanol menurut Sudarmadji (2003) merupakan pelarut yang apabila dibandingkan dengan pelarut organik lainnya, etanol dapat mengekstrak senyawa aktif lebih banyak, komponen dalam etanol terdiri dari 70% etil alkohol dan 30% air, yang memiliki titik didih rendah yaitu 79°C sehingga pada proses pemekatan hanya memerlukan panas yang lebih sedikit.

Kepolaran tinggi pada pelarut polar dimiliki oleh air, meskipun air konstanta dielektrik yang dimiliki oleh air paling besar (paling polar) tetapi penggunaannya dalam ekstraksi sebagai pelarut jarang digunakan karena mempunyai beberapa kekurangan seperti, menyebabkan reaksi fermentatif (kerusakan bahan aktif lebih cepat), menyebabkan bengkaknya sel, dan air mudah terkontaminasi (Hardiningtyas, 2009).

## **2.8 Spektrofotometri UV-Vis**

Metode pengukuran cahaya dengan sistem kimia yang dilakukan pada suatu panjang gelombang disebut juga dengan metode Spektrofotometri Sinar Tampak (UV-Vis) (Day *et al.*, 2002). Panjang gelombang yang dimiliki oleh sinar UV yaitu pada kisaran  $\lambda$  200 – 400nm, dan panjang gelombang pada sinar tampak (visible) yaitu kisaran  $\lambda$  400-750 nm. Besaran energi yang diserap dan diteruskan dapat

diukur dengan metode ini. Pengukuran larutan yang mengandung zat nantinya akan dilewati oleh sinar radiasi monokromatik dimana zat tersebut dapat menyerap sinar radiasi (Harmita, 2006).

Alat yang digunakan pada metode spektrofotometri yaitu spektrofotometer dimana pada molekul yang diukur melibatkan energi elektronik yang besar, sehingga pada analisis kuantitatif lebih banyak dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran absorban pada suatu panjang gelombang dapat menentukan konsentrasi analit yang terkandung didalam larutan dengan hukum Lambert-Beer (Gandjar & Rohman, 2007).

Hukum yang menyatakan adanya hubungan linear antara absorban dengan konsentrasi larutan yang diuji dan berbanding terbalik dengan transmittan adalah hukum Lambert-Beer. Terdapat beberapa batasan pada hukum tersebut menurut Gandjar dan Rohman (2007) yaitu:

1. Penggunaan sinar yang dianggap monokromatis
2. Terjadinya penyerapan yaitu adanya penampang yang sama dalam suatu volume
3. Senyawa yang menyerap pada larutan tidak bergantung pada senyawa yang lain
4. Fluorensensi atau fosforisensi tidak terjadi
5. Indeks bias tidak bergantung dengan konsentrasi larutan

Menurut Gandjar dan Rohman (2007) Hukum Lambert-Beer dinyatakan dalam persamaan:

$$A = a.b.c$$

Diketahui sebagai berikut:

A = absorbansi

a = absorpsivitas molar

b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi

## 2.9 Prinsip Kerja Spektrofotometri UV-Vis

Lampu tungsten dan lampu deuterium menghasilkan cahaya polikromatis kemudian menuju monokromator melalui lensa spektrofotometer dan nantinya cahaya difilter pada fotometer. Perubahan cahaya polikromatis menjadi monokromatis akan diubah oleh monokromator kemudian sampel yang mengandung zat dalam suatu konsentrasi akan dilewati oleh berkas-berkas cahaya. Maka, akan terdapat cahaya yang diabsorpsi dan yang dilewatkan. Kemudian detektor akan menerima cahaya yang dilewatkan tersebut, dan cahaya yang diterima oleh detektor akan dihitung dan dapat diketahui besaran cahaya yang diserap oleh sampel. Perbandingan cahaya yang diserap dengan konsentrasi zat yang ada dalam sampel sebanding sehingga secara kuantitatif akan diketahui konsentrasi zat dalam sampel (Triyati, 1985).

Beberapa faktor yang perlu diperhatikan dalam analisis Spektrofotometri Uv-Vis menurut Gandjar dan Rohman (2007) yaitu:

1. Pembentukan molekul yang dapat menyerap sinar Uv-Vis

Apabila senyawa yang diukur tidak dapat menyerap dalam daerah tertentu, maka dapat direaksikan dengan suatu pereaksi atau diubah menjadi senyawa lain.

2. Waktu Operasional (*operating time*)

Cara untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil, untuk mengukur hasil reaksi atau pembentukan warna, tahapan ini dilakukan dengan menghubungkan antara absorbansi larutan dengan waktu pengukuran.

3. Pemilihan Panjang Gelombang

Pada analisis kuantitatif panjang gelombang yang digunakan adalah panjang gelombang yang memiliki nilai absorbansi maksimal. Dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara panjang gelombang suatu konsentrasi pada larutan baku dengan absorbansi.

4. Pembuatan kurva baku

Dilakukan dengan membuat berbagai deret konsentrasi dari seri larutan baku yang akan dianalisis.

## 5. Pembacaan absorbansi pada sampel atau cuplikan

Hasil absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer baiknya antara 0,2 sampai 0,8 atau kisaran 15%-70% apabila dibaca transmittan.

### 2.10 Metode Analisis Kuantitatif Penentuan Kadar Flavonoid

Spektrofotometer UV-Vis merupakan salah satu instrumen yang paling sering digunakan dalam mendeteksi atau menganalisis kadar senyawa seperti flavonoid berdasarkan absorbansi cahaya yang dihasilkan (Irawan, 2019).

Metode kolorimetri digunakan dalam penetapan kadar flavonoid dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis, prinsipnya yaitu berdasarkan pada warna yang terbentuk dari pereaksi  $AlCl_3$  dengan pembandingnya yaitu kuersetin. Kuersetin yang merupakan salah satu jenis flavonoid golongan flavonol dipilih sebagai baku pembanding yang dapat bereaksi dengan  $AlCl_3$  dan membentuk kompleks (Permadi *et al.*, 2015). Metode kolorimetri dipilih karena lebih mudah, sederhana, dan cenderung cepat (Nugraha *et al.*, 2016). Senyawa kompleks stabil yang berwarna kuning tajam akan terbentuk dari reaksi antara kuersetin dengan  $AlCl_3$  sehingga akan bergesernya panjang gelombang serapan dari daerah UV ke daerah visibel (Lindawati & Ni'ma, 2022).

Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin dilakukan dengan *running* larutan kuersetin pada rentang panjang gelombang  $\lambda$  400 - 450 nm. Hasil

*running* menunjukkan panjang gelombang maksimum standar baku kuarsetin berada pada panjang gelombang  $\lambda$  435 nm (Aminah *et al.*, 2017).

## 2.11 Kuersetin

Salah satu golongan senyawa flavonoid yaitu kuersetin yang memiliki rumus molekul  $C_{15}H_{10}O_7$  dengan berat molekul 302.236 g/mol, dengan titik lebur  $316^\circ\text{C}$ . Aktivitas farmakologi juga dimiliki oleh kuersetin yaitu sebagai agen antiinflamasi dan antioksidan, contohnya apabila aktivitas antioksidan yang dimiliki vitamin C adalah 1, maka aktivitas antioksidan pada kuersetin yaitu 4,7 (Agestia & Sugrani, 2009). Menurut Agestia dan Sugrani (2009) senyawa flavonol terbesar adalah kuersetin, dimana sekitar 60-70% kuersetin dan glikosidanya berasal dari flavonoid.

Metode kolorimetri digunakan untuk mengukur kandungan flavonoid total dengan menggunakan kuersetin sebagai standar. Kandungan seluruh senyawa flavonoid total ditulis dalam satuan milligram atau setara dengan kuersetin per 1 gr berat ekstrak. Digunakannya kuersetin sebagai standar karena termasuk senyawa flavonoid golongan flavonol yang dapat membentuk kompleks warna dengan  $\text{AlCl}_3$ , karena flavonol mempunyai gugus keto pada C-4 dan pada atom C-3 atau C-5 memiliki gugus hidroksil yang bersebelahan dari flavon dan flavonol (Musdalipah *et al.*, 2021).