

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang Masalah

Tanaman Beluntas (*Pluchea indica* L.) termasuk family *Asteraceae* yang telah dimanfaatkan sebagai pangan dan obat tradisional. Beluntas merupakan salah satu jenis tanaman yang sudah lama dikenal dan ditanam di Indonesia. Pemanfaatan bagian dari tanaman seperti akar, batang, daun, bunga, kulit dan buah digunakan sebagai obat (Depkes RI, 2008). Bioaktivitas daun beluntas antara lain sebagai antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, antinosiceptor, antituberkulosis, antiproliferasi sel kanker, antidiare, dan antitusif (Suriyaphan, 2014).

Ekstrak metanol daun beluntas mengandung sejumlah senyawa fitokimia seperti tanin, sterol, flavonoid, dan fenol hidrokuinon (Widyawati, *et al.*, 2010). Kandungan fitokimia daun beluntas yang telah diisolasi berupa senyawa fenolik antara lain 1,3,4,5-tetra-*O*-caffeoylquinic acid, 3,4,5-tri-*O*-caffeoyl quinic acid, chlorogenic acid, dan ferulic acid (Emadeldin dan Sayed, 2013). Ekstrak metanol daun beluntas mengandung flavonoid golongan flavonol (quersetin, kaemferol, mirisetin, luteolin, apigenin) (Andarwulan, *et al.*, 2010).

Ekstraksi simplisia dapat dilakukan dengan berbagai metode ekstraksi baik cara dingin maupun cara panas. Penelitian Damar, *et al.*, (2014) melaporkan bahwa flavonoid dari daun kayu kapur (*Melanolepsis multiglandulosa* Reinch f) yang diekstraksi secara maserasi memiliki kadar lebih tinggi dibandingkan secara *soxhlet*. Penelitian Widyatno (2010) melaporkan bahwa flavonoid dari daun kumis

kucing (*Orthosiphon aristatus* (BL) Miq) yang diekstraksi secara maserasi dan perkolasi memiliki kadar lebih tinggi dibandingkan secara *soxhlet*. Kedua penelitian tersebut menunjukkan bahwa flavonoid yang terdapat pada daun kayu kapur dan daun kumis kucing tidak stabil terhadap pemanasan.

Penelitian Verawati, *et al.*, (2016) melaporkan bahwa kandungan fenolik daun pilandang (*Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd) yang diekstraksi secara *soxhlet* memiliki kadar lebih tinggi dibandingkan maserasi. Penelitian lainnya Utami, *et al.*, (2015) melaporkan bahwa kandungan fenolik dan flavonoid daun sukun (*Artocarpus altitis fosberg*) yang diekstraksi secara refluks memiliki kadar lebih tinggi dibandingkan maserasi. Hal tersebut menunjukkan bahwa kadar fenolik dan flavonoid yang terdapat dalam daun pilandang dan daun sukun stabil terhadap pemanasan. Berubahnya suhu selama proses ekstraksi mempengaruhi kelarutan suatu senyawa karena adanya pengaruh massa jenis (massa jenis sangat sensitif terhadap perubahan suhu), semakin tinggi suhu pada proses ekstraksi maka dapat mempercepat perpindahan massa dan meningkatkan hasil ekstraksi (Bimakr, *et al.*, 2011).

Widyawati, *et al.*, (2010) melaporkan bahwa ekstrak metanol daun beluntas yang diekstraksi secara *soxhlet* mengandung flavonoid total 304,42 mg, dan fenolik total 116,38 mg. Penelitian Muryanti dan Uning (2012) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun beluntas yang diekstraksi secara *soxhlet* mengandung flavonoid total 236,52 mg, dan fenolik total 108,22 mg. Berdasarkan kedua penelitian tersebut, komponen flavonoid dan fenolik terbesar dalam daun beluntas terdapat dalam ekstrak metanol. Penetapan kadar flavonoid dan fenolik total

dalam ekstrak metanol menggunakan berbagai metode ekstraksi dingin dan panas belum pernah dilaporkan sebelumnya. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka penulis melakukan penelitian mengenai perbandingan berbagai metode ekstraksi terhadap kadar flavonoid dan fenolik total ekstrak metanol daun beluntas (*Pluchea indica* L.).

### **B. Perumusan Masalah**

Rumusan masalah penelitian ini adalah :

1. Apakah perbedaan metode ekstraksi akan menghasilkan kadar flavonoid dan fenolik total yang berbeda pada ekstrak metanol daun beluntas (*Pluchea indica* L.)?
2. Metode ekstraksi manakah yang menghasilkan kadar flavonoid dan fenolik total paling besar pada ekstrak metanol daun beluntas ?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Mengetahui ada atau tidaknya perbedaan kadar flavonoid dan fenolik total ekstrak metanol daun beluntas (*Pluchea indica* L.) pada berbagai metode ekstraksi.
2. Menetapkan metode ekstraksi yang menghasilkan kadar flavonoid dan fenolik total paling besar pada ekstrak metanol daun beluntas.

### **D. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini nantinya diharapkan mampu memberikan informasi dalam menentukan metode ekstraksi paling baik untuk menghasilkan kadar flavonoid dan fenolik total terbesar pada ekstrak metanol daun beluntas (*Pluchea indica* L.).

## E. TINJAUAN PUSTAKA

### 1. Tanaman Beluntas (*Pluchea indica* L.)

Beluntas adalah tanaman perdu kecil, tumbuh liar di daerah kering pada tanah yang keras dan berbatu di daerah dataran rendah hingga dataran tinggi pada ketinggian 1000 meter di atas permukaan laut, biasanya ditanam sebagai tanaman pagar, tumbuh tegak, tinggi mencapai 0,5-2 meter dan kadang-kadang lebih. Percabangannya banyak, berusuk halus, daun bertangkai pendek dan letak berseling, helaian daun bulat telur sungsang, ujung bulat melancip, warnanya hijau terang, bila diremas baunya harum, dan rasanya getir. Bunganya majemuk, cabang-cabang perbungaannya banyak, bunga bentuk bonggol dengan panjang mahkota 3,5-5 mm, bergagang atau duduk serta berwarna putih kekuningan sampai ungu. Beluntas memiliki buah seperti bentuk gasing dengan panjang 1 mm, kecil, keras, coklat, sudut-sudut putih. Bijinya kecil dan berwarna coklat keputihan (Dalimartha, 1999). Morfologi tanaman, bunga, daun dan batang beluntas dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1. Tanaman beluntas (1a); Bunga beluntas (1b); Daun dan batang Beluntas (1c) (dokumentasi pribadi).**

a. Klasifikasi

Klasifikasi beluntas (*Pluchea indica* L.) dalam sistematika tanaman adalah sebagai berikut :

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Bangsa : Asterales

Suku : Asteraceae

Marga : *Pluchea*

Spesies : *Pluchea indica* (L) Less (Pujowati, 2006).

b. Kandungan Kimia

Kandungan kimia daun beluntas antara lain fenol, flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, dan vitamin C (Andarwulan, *et al.*, 2008; Traithip, 2005; Van Valkenburg dan Bunyaphatsara, 2001; Widyawati, 2004). Senyawa fenolik pada daun beluntas adalah 1,3,4,5-tetra-*O*-caffeoylquinic acid, 3,4,5-tri-*O*-caffeoyl quinic acid, chlorogenic acid, dan ferulic acid (Emadeldin dan Sayed, 2013). Senyawa flavonoid yang terkandung pada daun beluntas merupakan golongan flavonol (quersetin, kaemferol, mirisetin, luteolin, apigenin) (Andarwulan, *et al.*, 2010).

c. Manfaat

Bioaktivitas daun beluntas antara lain sebagai antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, antinosiceptor, antituberkulosis, antiproliferasi sel kanker, antidiare, dan antitusif (Suriyaphan, 2014). Akar dan bunga beluntas



mempunyai aktivitas antiinflamasi dan antiulcer (Emadeldin dan Sayed, 2013).

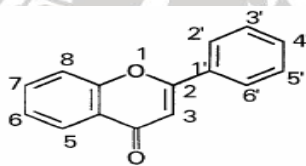
Ekstrak daun beluntas berpotensi sebagai antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  3,3 mg/L dibandingkan dengan antioksidan sintesis BHT dengan nilai  $IC_{50}$  5,7 mg/L dan alfa tokoferol suksinat dengan nilai  $IC_{50}$  156,3 mg/L (Widyawati, *et al.*, 2010). Ekstrak etanol daun beluntas konsentrasi 25% mempunyai daya hambat yang setara dengan kontrol positif chlorhexidine 0,12% terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* (Nahak, 2012). Konsentrasi hambat minimal ekstrak daun beluntas terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* resisten methicilin adalah 20% sedangkan bakteri *Pseudomonas aeruginosa multi resistant* adalah 52% (Sulistyaningsih, 2009). Konsentrasi hambat minimal ekstrak daun beluntas terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah 25% (Susanti, 2006). Ekstrak metanol daun beluntas memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker leher rahim (HeLa) dengan nilai  $IC_{50}$  31,21  $\mu$ g/mL (Puspitasari, *et al.*, 2015).

## 2. Senyawa Flavonoid

Flavonoid berasal dari kata flavon yang merupakan nama dari salah satu jenis flavonoid terbesar jumlahnya dan sering ditemukan di alam. Beberapa golongan flavonoid yang bersifat polar merupakan senyawa yang larut dalam air. Jenis flavonoid dalam jaringan tumbuhan yang didasarkan pada telaah sifat kelarutan dan reaksi warna meliputi antosianin, proantosianin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavonol, kalkon, auron, flavonon, dan isoflavon. Flavonoid alam ditemukan dalam bentuk glikosida, yaitu suatu bentuk kombinasi antara gula dan

alkohol. Flavonoid merupakan kandungan khas tumbuhan hijau. Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kulit kayu, tepung sari, nektar, bunga, buah, dan biji. Flavonoid juga terkandung pada hewan, misalnya dalam kelenjar bau berang-berang, propolis (sekresi lebah), dan di dalam sayap kupu-kupu, dengan anggapan bahwa flavonoid tersebut tidak mengalami biosintesis di dalam tubuh hewan (Markham, 1988).

Senyawa flavonoid adalah senyawa-senyawa polifenol yang memiliki 15 atom karbon ( $C_6-C_3-C_6$ ), terdiri dari dua cincin benzena yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri dari tiga atom karbon (Gambar 2) (Harborne, 1996).



**Gambar 2. Struktur umum senyawa flavonoid (Markham, 1988).**

Flavonoid dalam tumbuhan terdapat sebagai bentuk *O*-glikosida dan *C*-glikosida. Bentuk flavonoid *O*-glikosida, satu gugus hidroksil (OH) flavonoid (lebih) terikat pada satu gula (lebih) dengan ikatan hemiasetal yang tidak tahan asam, biasanya pada posisi 3 atau 7. Bentuk *C*-glikosida memiliki gula yang terikat pada atom karbon flavonoid dan dalam hal ini gula terikat langsung pada inti benzena dengan ikatan karbon-karbon yang tahan asam, dan hanya ditemukan pada atom C nomor 6 dan 8 dalam inti flavonoid. Glukosa merupakan gula yang paling umum terlibat, selain itu juga terdapat galaktosa, ramnosa, xilosa, dan arabinosa (Markham, 1988).

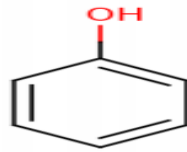
Senyawa flavonoid kuersetin pada daun jati belanda mempunyai aktivitas sebagai antioksidan (Umar, 2008). Penelitian lainnya menyebutkan senyawa flavonoid yang terkandung pada daun mahoni mempunyai aktivitas sebagai antimikroba dan hepatoprotektor (Naveen, *et al.*, 2014). Daun beluntas mengandung flavonoid golongan flavonol (kuersetin) yang bersifat sebagai antioksidan (Andarwulan, *et al.*, 2010), dapat menurunkan kolesterol sehingga flavonoid ini sangat menguntungkan dalam penanggulangan penyakit jantung koroner/*athero sclerosis* (Ricardo, *et al.*, 2001).

### 3. Senyawa Fenolik

Fenolik merupakan senyawa yang banyak ditemukan pada tumbuhan. Fenolik memiliki cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksi (OH<sup>-</sup>) dan gugus-gugus lain penyertanya. Senyawa ini diberi nama berdasarkan nama senyawa induknya (fenol). Senyawa fenolik di alam sangat luas, dan mempunyai variasi struktur yang luas, mudah ditemukan di semua tanaman, daun, bunga dan buah. Ribuan senyawa fenolik alam telah banyak diketahui strukturnya antara lain flavonoid, fenol monosiklik sederhana, fenil propanoid, polifenol (lignin, melanin, tanin), dan kuinon fenolik (Nair, 2008).

Fenol (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>OH) merupakan senyawa organik yang mempunyai gugus hidroksil yang terikat pada cincin benzena. Senyawa fenol memiliki beberapa nama lain seperti asam karbolik, fenat monohidroksibenzena, asam fenat, asam fenilat, fenil hidroksida, oksibenzena, benzenol, monofenol, fenil hidrat, fenilat alkohol, dan fenol alkohol (Nair, 2008). Fenol memiliki kerangka struktur seperti pada Gambar 3 (Harborne, 1987).





**Gambar 3. Struktur Fenol (Harborne, 1987)**

Fenol adalah zat kristal yang tidak berwarna dan memiliki bau yang khas. Senyawa fenol dapat mengalami oksidasi sehingga dapat berperan sebagai reduktor. Fenol bersifat lebih asam bila dibandingkan dengan alkohol, tetapi lebih basa daripada asam karbonat karena fenol dapat melepaskan ion  $H^+$  dari gugus hidroksilnya. Lepasnya ion  $H^+$  menjadikan anion fenoksida  $C_6H_5O^-$  dapat melarut dalam air. Fenol mempunyai titik leleh  $41^\circ C$  dan titik didih  $181^\circ C$ . Fenol memiliki kelarutan yang terbatas dalam air yaitu 8,3 gram/100 mL (Fessenden dan Fessenden, 1992).

Senyawa fenolik pada daun sawo mempunyai aktivitas antiinflamasi (Ganguly, *et al.*, 2013). Penelitian Wulan (2012) melaporkan senyawa fenolik golongan asam p-kumarat pada daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) mempunyai aktivitas antioksidan. Isolat fenolik golongan fitol dari *Lolium multiflorum* Lam. menginduksi apoptosis pada sel leukemia limfoid manusia (Komiya dan Hibasami, 2001). Menurut penelitian Rana, *et al.*, (2010) ekstrak alkoholik tanaman alfafa mengandung polifenol dalam jumlah besar dan sangat berpotensi sebagai antioksidan melalui mekanisme pengikat radikal bebas yang terlibat dalam berbagai patofisiologi penyakit. Daun beluntas mengandung senyawa fenolik yang mempunyai aktivitas sebagai antiproliferatif, dapat menghambat pertumbuhan sel kanker kolon, antidiare, dan antitusif (Suriyaphan, 2014).

#### 4. Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstraksi adalah proses penyarian senyawa kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Secara sederhana ekstraksi merupakan istilah yang digunakan untuk setiap proses yang didalamnya komponen-komponen pembentuk suatu bahan berpindah dari bahan ke cairan (pelarut). Metode sederhana ekstraksi adalah mencampurkan seluruh bahan dengan pelarut, lalu memisahkan larutan dengan padatan tidak terlarut. Masing-masing metode mempunyai keuntungan dan kerugian, karena kelarutan zat padat dalam zat cair (daya larut) dipengaruhi oleh: jenis zat pelarut, jenis zat terlarut, temperatur, dan tekanan (Sukardjo, 1989).

##### a. Cara dingin

##### 1) Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan. Prosesnya adalah merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai pada temperatur kamar, dan terlindung dari cahaya. Cairan penyari akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Kristianti, 2008). Pengadukan yang dilakukan

dapat meningkatkan kecepatan ekstraksi. Maserasi dilakukan pada suhu kamar ( $27^{\circ}\text{C}$ ), sehingga tidak menyebabkan degradasi metabolit yang tidak tahan panas. Metode ini dilakukan selama 3 hari, dilanjutkan remaserasi selama 2 hari (Depkes RI, 2006).

Keuntungan metode maserasi dibandingkan metode perkolasi, refluks dan *soxhlet* adalah sederhana, relatif murah, tidak memerlukan peralatan yang rumit, terjadi kontak antara sampel dan pelarut yang cukup lama dan dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas. Kerugiannya adalah prosesnya membutuhkan waktu yang cukup lama. Ekstraksi secara menyeluruh juga dapat menghabiskan sejumlah besar volume pelarut yang dapat berpotensi hilangnya metabolit. Beberapa senyawa juga tidak terekstraksi secara efisien jika kurang terlarut pada suhu kamar ( $27^{\circ}\text{C}$ ), tidak dapat digunakan untuk bahan-bahan yang mempunyai tekstur keras seperti benzoin, tiraks, dan lilin (Kristianti, 2008).

## 2) Perkolasi

Perkolasi adalah penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Teknik perkolasi adalah serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder, bagian bawah diberi sekat berpori. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif dari sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh. Gerak ke bawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan cairan di atasnya, dikurangi dengan daya kapiler yang cenderung untuk menahan

(Kristianti, 2008). Alat yang digunakan untuk perkolasi disebut perkolator (Depkes RI, 1986).

Keuntungan metode perkolasi dibandingkan dengan metode maserasi, refluks dan *soxhlet* adalah adanya aliran cairan penyari menyebabkan adanya pergantian larutan dan ruang di antara butir-butir serbuk simplisia membentuk saluran kapiler tempat cairan penyari. Hal ini dapat meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi sehingga penyarian lebih sempurna. Kerugiannya adalah kontak antara pelarut dan serbuk tidak merata atau terbatas sehingga tidak melarutkan komponen secara efisien (Kristianti, 2008).

b. Cara Panas

1) *Soxhlet*

Metode *soxhlet* adalah metode ekstraksi dengan pemanasan dan perendaman sampel. Hal itu menyebabkan terjadinya pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel. Dengan demikian, metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan terlarut ke dalam pelarut organik. Larutan itu kemudian menguap ke atas dan melewati pendingin udara yang akan mengembunkan uap tersebut menjadi tetesan yang akan terkumpul kembali. Bila larutan melewati batas lubang pipa samping *soxhlet* maka akan terjadi sirkulasi. Sirkulasi yang berulang itulah yang menghasilkan ekstrak yang baik (DepKes RI, 2006).

Prinsip *soxhlet* yaitu penyarian yang dilakukan berulang-ulang sehingga penyarian lebih sempurna dan pelarut yang digunakan relatif sedikit. Bila penyarian telah selesai maka pelarutnya dapat diuapkan

kembali dan sisanya berupa ekstrak yang mengandung komponen kimia tertentu. Penyarian dihentikan bila pelarut yang turun melewati pipa kapiler tidak berwarna (Kristianti, 2008).

Keuntungan metode *soxhlet* dibandingkan dengan maserasi, perkolasi, dan refluks adalah dapat digunakan untuk sampel dengan tekstur yang lunak dan tidak tahan terhadap pemanasan secara langsung, pelarut yang digunakan lebih sedikit, dan pemanasannya dapat diatur. Kerugiannya adalah tidak cocok untuk senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan (senyawa termolabil) (Kristianti, 2008).

## 2) Refluks

Ekstraksi secara refluks pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap, uap tersebut akan diembunkan dengan pendingin tegak dan akan kembali menyari zat aktif dalam simplisia tersebut. Ekstraksi ini biasanya dilakukan 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam (DepKes RI, 2006).

Prinsip metode refluks adalah pelarut volatil yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi, namun akan didinginkan dengan kondensor sehingga pelarut yang tadinya dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor dan turun lagi ke dalam wadah reaksi sehingga pelarut akan tetap ada selama reaksi berlangsung (Kristianti, 2008).

Keuntungan refluks dibandingkan dengan maserasi, perkolasi, dan *soxhlet* adalah dapat digunakan untuk mengekstraksi sampel-sampel



dengan tekstur kasar dan tahan terhadap pemanasan langsung. Kerugian metode refluks adalah membutuhkan volume total pelarut yang besar (Kristianti, 2008).

## **5. Cairan Penyari**

Faktor penting dalam ekstraksi adalah pemilihan cairan penyari. Cairan penyari yang digunakan dalam ekstraksi harus dapat menarik komponen aktif dalam campuran. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria selektivitas, sifat pelarut, kemampuan untuk mengekstraksi, tidak bersifat racun, kemudahan untuk diuapkan, dan harganya yang relatif murah (Gamse, 2002). Jenis penyari yang biasa digunakan adalah air, etanol dan metanol (Depkes RI, 2000).

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah metanol. Metanol merupakan zat cair bening yang mudah menguap, mudah terbakar, beracun dengan bau yang khas (berbau lebih ringan daripada etanol), dan mudah larut dalam air. Metanol sering disebut pula metil alkohol dengan rumus kimia ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ). Metanol merupakan alkohol paling sederhana. Metanol termasuk dalam pelarut polar yang dapat melarutkan flavonoid, fenolik, glikosida, alkaloid, dan saponin (Depkes RI, 1986).

## **6. Spektrofotometri**

Spektrofotometri adalah metode analisis yang didasarkan pada pengukuran serapan monokromatis oleh larutan berwarna pada panjang gelombang spesifik menggunakan monokromator prisma atau kisi difraksi dengan detektor fototube. Spektrofotometer adalah instrumen yang digunakan untuk mengukur transmittan atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Kelebihan

spektrofotometer dengan fotometer adalah panjang gelombang dari sinar putih dapat lebih dideteksi dan cara ini diperoleh dengan alat pengurai seperti prisma, grating atau celah optis. Syarat suatu senyawa atau obat dapat diukur dengan alat spektrofotometer adalah senyawa atau zat tersebut harus mempunyai gugus auksokrom dan gugus kromofor (Gandjar dan Rohman, 2007).

Spektrofotometri UV-Vis adalah teknik analisis spektroskopik yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer (Mulja dan Suharman, 1995). Spektrum ini timbul dari transisi elektron suatu molekul. Bagian dari molekul yang bertanggung jawab dalam transisi ini adalah kromofor (Schirmer, 1982).

Apabila cahaya putih mengenai larutan bening dengan panjang gelombang tertentu akan diserap (absorpsi) secara selektif dan lainnya akan diteruskan (transmisi). Absorbansi adalah perbandingan intensitas cahaya yang diserap dengan intensitas cahaya yang datang. Cahaya akan diserap jika energi cahaya tersebut sesuai dengan energi yang dibutuhkan untuk mengalami perubahan dalam molekul. Nilai absorbansi tergantung pada kadar zat yang dikandungnya, semakin banyak kadar zat yang terkandung dalam sampel maka semakin banyak molekul yang menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu sehingga nilai absorbansi akan berbanding lurus dengan konsentrasi. Hal ini sesuai dengan hukum dasar analisis kuantitatif spektrofotometri UV-Vis Lambert-Beer yang menyatakan bahwa nilai absorbansi zat terlarut adalah proporsional dengan konsentrasi sebagai berikut:

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Keterangan :

A = Absorbansi

$\epsilon$  = Koefisien absorpsi molar ( $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ )

b =Tebal kuvet (cm)

c = Konsentrasi solut ( $mol \cdot L^{-1}$ ) (Gandjar dan Rohman, 2007).

Prinsip spektrofotometri yaitu spektrum elektromagnetik dibagi dalam beberapa daerah cahaya. Suatu daerah akan diabsorpsi oleh atom atau molekul dan panjang gelombang cahaya yang diabsorpsi dapat menunjukkan struktur senyawa yang diteliti. Spektrum elektromagnetik meliputi suatu daerah panjang gelombang yang luas dari sinar gamma gelombang pendek berenergi tinggi sampai pada panjang gelombang mikro (Skoog, 1971).

Penetapan kadar flavonoid total menggunakan metode spektrofotometri seperti yang dilakukan oleh Chang, *et al.*, (2002). Prinsip metode ini adalah terbentuknya kompleks antara  $AlCl_3$  dengan flavonoid yang menghasilkan reaksi warna, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah *visible* (tampak) ditandai dengan warna larutan yang dihasilkan menjadi lebih kuning, sedangkan penambahan kalium asetat bertujuan untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah *visible* (tampak).

Penetapan kadar fenolik total dengan reagen Folin Ciocalteu berdasarkan reaksi reduksi-oksidasi (Ahmad, *et al.*, 2015). Reagen Folin Ciocalteu (*molybdotungstate*) mengoksidasi gugus hidroksil  $OH^-$  dari senyawa golongan fenolik membentuk kompleks senyawa berwarna biru. Senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin Ciocalteu hanya dalam suasana basa, sehingga pada pengujian ditambahkan  $Na_2CO_3$  untuk membentuk suasana basa dan reaksi dapat berjalan lebih cepat (Agustiningsih, *et al.*, 2010).

Keuntungan utama metode spektrofotometri adalah metode ini memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana angka yang terbaca langsung dicatat oleh detector dan tercetak dalam bentuk angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan. Sensitivitas spektrofotometer yang digunakan akan mempengaruhi hasil absorbansi suatu sampel (Gandjar dan Rohman, 2007).

## **F. Landasan Teori**

Tanaman beluntas (*Pluchea indica* L.) dikenal sebagai obat tradisional. Penggunaan beluntas umumnya bagian daun, baik yang masih segar ataupun dikeringkan. Daun beluntas mengandung flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, fenolik, minyak atsiri, natrium, aluminium, kalium, kalsium, magnesium, dan fosfor (Andarwulan, *et al.*, 2010). Beberapa kandungan senyawa aktif dalam daun beluntas yang telah diisolasi memiliki bioaktivitas seperti antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, antinociceptor, antituberkulosis, antiproliferasi sel kanker, antidiare, dan antitusif (Suriyaphan, 2014).

Senyawa flavonoid dan fenolik dapat diperoleh menggunakan metode ekstraksi cara panas maupun dingin. Hasil penelitian Prayogo (2016) kandungan flavonoid daun kersen (*Muntingia calabura* L.) yang diekstraksi secara perkolasi menghasilkan kadar flavonoid paling besar dibandingkan dengan maserasi, *soxhlet* dan refluks berturut-turut sebesar 61,83; 39,27; 30,18 dan 14,78 mg/gram ekstrak. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa flavonoid yang terdapat pada daun kersen

tidak tahan terhadap pemanasan. Perbedaan metode ekstraksi dapat mempengaruhi kadar flavonoid dan fenolik yang diperoleh. Karakteristik senyawa flavonoid dan fenolik yang ada di dalam suatu bahan tanaman terkait erat dengan stabilitasnya terhadap pemanasan.

### **G. Hipotesis**

Ada perbedaan kadar flavonoid dan fenolik total dari ekstrak metanol daun beluntas (*Pluchea indica* L.) pada metode ekstraksi dingin dan panas. Metode ekstraksi yang menghasilkan kadar flavonoid dan fenolik total terbesar adalah metode dingin.

