

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Kulit batang Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) merupakan tanaman yang memiliki peluang digunakan sebagai bahan pengobatan pada infeksi antijamur terhadap *candida albicans* (Pangaliman dkk, 2012). Kulit batang rambutan mengandung tannin, saponin, flavonoid, *peptic substances* dan zat besi (Dalimarta, 2005). Penelitian Maisuthisakul dkk (2007) membuktikan bahwa tingginya senyawa fenol dan flavonoid dari beberapa tanaman menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat. Salah satu tanaman kulit buah rambutan mengandung fenol total 42,3 (mg GAE/g dw) dan flavonoid total 9,6 (mg RE/ gw) dan biji rambutan mengandung fenolik total 43,4 (mg GAE/ g dw) dan flavonoid total 13,3 (mg RE/gw). Penelitian Utami *et al* (2005) juga menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar senyawa fenol dan flavonoid maka aktivitas penangkap radikalnya semakin meningkat. ). Kulit kayu digunakan untuk mengatasi sariawan (Dalimartha, 2005).

Manfaat kulit batang rambutan tersebut belum banyak diketahui dan belum secara maksimal dirasakan manfaatnya oleh masyarakat. Sebagian besar kulit batang rambutan hanya berakhir sebagai limbah. Namun penelitian tentang aktivitas penangkap radikal ekstrak etanol, fraksi-fraksi kulit batang rambutan serta penetapan kadar fenolik dan flavonoid total perlu untuk dilakukan sehingga dapat diketahui kemanfaatan kulit batang rambutan.

Senyawa flavonoid dapat bersifat polar karena adanya gugus glikosida yang terkait pada flavonoid (bentuk yang umum ditemukan), bentuk ini cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air. Sebaliknya, aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavonon, flavon serta flavonol yang cenderung lebih mudah larut dalam pelarut eter dan kloroform (Andersen dan Markham, 2006). Tujuan dilakukan fraksinasi adalah untuk memisahkan senyawa-senyawa yang ada berdasarkan polaritasnya. Fraksi-fraksi yang diperoleh mungkin menunjukkan sifat kimia dan sifat senyawa yang lebih khas daripada ekstrak awalnya (Sarker dkk., 2006).

Mengingat pentingnya fungsi senyawa fenol dan flavonoid maka penelitian kadar senyawa fenol dan flavonoid total yang terkandung dalam kulit batang rambutan. Beberapa metode yang dapat digunakan untuk penetapan kadar suatu senyawa yaitu metode spektrofotometri UV-Visibel (Gandjar dan Rohman, 2008). Perbedaan metode, alat dan cara penetapan kadar suatu senyawa dapat memberikan hasil yang berbeda-beda sehingga metode penetapan kadar perlu dilakukan validasi. Dari permasalahan di atas maka, perlu dilakukan penelitian mengenai validasi metode penetapan kadar senyawa fenol dan flavonoid total pada fraksi kloroform ekstrak etanol dari kulit batang rambutan. Untuk mengetahui adanya senyawa fenol dan flavonoid dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Visibel sehingga dapat diketahui kadarnya.

## **B. Rumusan Masalah**

1. Apakah validasi metode penetapan kadar senyawa fenol dan flavonoid pada fraksi kloroform ekstrak etanol kulit batang rambutan menggunakan spektrofotometer UV-Visibel memenuhi syarat presisi, akurasi, linieritas, dan sensitivitas?
2. Apakah aplikasi metode penetapan kadar senyawa fenol dan flavonoid pada fraksi kloroform ekstrak etanol pada kulit batang rambutan dapat dilakukan?

## **C. Tujuan Penelitian**

1. Melakukan validasi metode penetapan kadar senyawa fenol dan flavonoid fraksi kloroform ekstrak etanol kulit batang rambutan menggunakan spektrofotometer UV-Visibel.
2. Mengaplikasi metode penetapan kadar senyawa fenol dan flavonoid pada fraksi kloroform ekstrak etanol dari kulit batang rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)

## **D. Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian ini yaitu untuk mengembangkan fraksi kloroform ekstrak etanol dari kulit batang rambutan. Sehingga masyarakat diharapkan dapat menggunakan produk herbal kulit batang rambutan sebagai alternatif dalam penyembuhan berbagai macam penyakit serta dapat menambah bukti ilmiah mengenai validasi penetapan kadar senyawa fenol dan flavonoid, serta untuk

membuktikan adanya senyawa fenol dan flavonoid pada fraksi kloroform ekstrak etanol dari kulit batang rambutan.

## E. Tinjauan Pustaka

### 1. Tanaman Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)

#### a. Deskripsi Tanaman Rambutan

Rambutan banyak ditanam sebagai pohon buah, kadang-kadang ditemukan tumbuh liar. Tinggi pohonnya 15-25 m dan bercabang banyak. Bentuk buahnya bulat lonjong dengan duri temple yang bengkok, lemas sampai kaku. Kulit buahnya berwarna hijau dan menjadi kuning atau merah kalau sudah masak. Dinding buah tebal. Biji berbentuk elips, terbungkus daging buah berwarna putih transparan yang dapat dimakan dan banyak mengandung air. Rasanya bervariasi dari masam sampai manis. Kulit biji tipis berkayu (Dalimartha, 2005).



(a)



(b)

Gambar 1. (a) Buah Rambutan (b) Pohon rambutan (Dokumen Pribadi)

**b. Klasifikasi tanaman**

Klasifikasi tanaman *Nephelium lappaceum* L. (Rukmana dkk., 2002) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Divisio : Magnoliophyta  
Class : Magnoliopsida  
Ordo : Sapindaceae  
Famili : Sapindaceae  
Genus : *Nephelium*  
Species : *Nephelium lappaceum* L

**c. Nama Daerah**

Rambuta, rambusa, barangkasa, bolangat, balatu, balatung, walatu, wulangas, lelamun, toleang (Sulawesi) Rambot, rambuteun, jailan, folui, bairabit (sumatera), banamon, beriti, sagalong, maliti, puson (Kalimantan), (Dalimartha, 2005).

**d. Kandungan Kimia**

Kandungan senyawa kimia tumbuhan rambutan yaitu kulit buahnya mengandung alkaloid, steroid, terpenoid, fenolik dan saponin (Wardhani dan Supartono, 2015). Biji rambutan mengandung lemak dan polifenol (Dalimartha, 2005). Penelitian Asrianti dkk., (2006) menunjukkan biji rambutan memberikan hasil positif terhadap golongan senyawa flavonoid dan penelitian Thitilerdecha dkk., (2008), menyebutkan bahwa biji rambutan memiliki senyawa fenolik. Daunnya mengandung

tannin dan saponin. Kulit buahnya mengandung flavonoid, tanin dan saponin. Biji rambutan mengandung lemak dan polifenol. Daunnya mengandung tanin dan saponin. Kulit batang mengandung tanin, saponin, flavonoid, *pectic substances* dan zat besi (Dalimartha, 2005).

**e. Khasiat**

Kulit buah digunakan untuk mengatasi disentri dan demam (Dalimartha, 2005). Penelitian Muhtadi dkk., (2014) menunjukkan kulit buah memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Biji rambutan mempunyai aktivitas antibakteri (Siahaan dkk, 2014). Kulit kayu digunakan untuk mengatasi sariawan. Daun digunakan untuk mengatasi diare dan menghitamkan rambut. Akar digunakan untuk mengatasi demam. Biji digunakan untuk mengatasi kencing manis (Dalimartha, 2005). Kandungan senyawa fenol dan flavonoid yang ditemukan pada tanaman dapat beraktivitas sebagai antioksidan (Hernani dan Rahardjo, 2006).

**2. Ekstraksi**

Ekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa macam metode, tergantung dari tujuan ekstraksi, jenis pelarut yang digunakan, serta senyawa aktif yang dikehendaki. Metode ekstraksi yang paling sederhana adalah perkolasi. Perkolasi adalah cairan penyarian dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Alat yang digunakan disebut percolator, dengan ekstrak yang telah dikumpulkan disebut perkolat (Ansel, 1989).

Perkolasi dilakukan dalam wadah berbentuk silindris atau kerucut (perkulator) yang memiliki jalan masuk dan keluar yang sesuai. Bahan ekstraksi yang dialirkan secara kontinyu dari atas, akan mengalir turun secara lambat melintasi simplisia yang umumnya berupa serbuk kasar. Melalui penyegaran bahan pelarut secara kontinyu, akan terjadi proses maserasi bertahap banyak. Jika pada maserasi sederhana tidak terjadi ekstraksi sempurna dari simplisia oleh karena akan terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan dalam sel dengan cairan disekelilingnya, maka pada perkolasi melalui simplisia bahan pelarut segar perbedaan konsentrasi tadi selalu dipertahankan. Dengan demikian ekstraksi total secara teoritis dimungkinkan (praktis jumlah bahan yang dapat diekstraksi mencapai 95%) (Voigt, 1995).

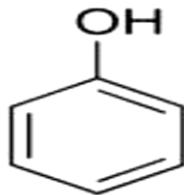
Perkolasi dilakukan dengan cara dibasahkan 10 bagian simplisia dengan derajat yang cocok, menggunakan 2,5 bagian sampai 5 bagian cairan penyari dimasukkan dalam bejana tertutup sekurang-kurangnya 3 jam. Massa dipindahkan sedikit demi sedikit ke dalam perkulator, ditambahkan cairan penyari. Perkulator ditutup dibiarkan selama 24 jam, sehingga simplisia tetap terendam. Filtrat dipindahkan ke dalam bejana, ditutup dan dibiarkan selama 1 hari dan disimpan pada tempat terlindung cahaya (Harborne, 1987).

### **3. Fenol dan Flavonoid**

#### **a. Fenol**

Polifenol merupakan senyawa turunan fenol yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan (Hernani dan Rahardjo, 2006). Senyawa fenolik memiliki ciri yaitu mempunyai cincin aromatik yang mengandung satu

atau dua gugus hidroksi dan bersifat mudah larut dalam air. Senyawa fenolik banyak terkandung dalam tanaman seperti pada buah, sayuran, kulit buah, batang tanaman, daun, biji dan bunga (Harborne, 1993). Struktur senyawa fenol dapat dilihat pada Gambar 2.

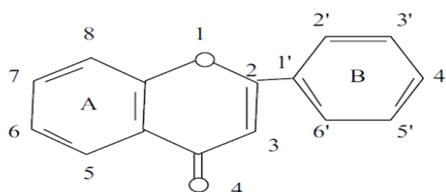


**Gambar 2. Struktur umum fenol (Marais dkk., 2006)**

Bukti kualitatif yang menunjukkan adanya fenol dapat menggunakan pereaksi  $\text{FeCl}_3$ . Fenol akan membentuk warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat akibat reaksi dengan besi (III) klorida (Harborne, 1987).

b. Flavonoid

Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi sehingga menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum sinar ultraviolet dan spektrum sinar tampak (Harborne, 1993). Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang tersebar luas di alam, sesuai struktur kimianya yang termasuk flavonoid yaitu flavonol, flavon, flavanon, katekin, antosianidin dan kalkon (Harborne, 1987). Struktur senyawa flavonoid dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3. Struktur Umum Flavonoid (Marais dkk., 2006)**

Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Artinya, kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C<sub>6</sub> (cincin benzen tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon. Masing-masing jenis senyawa flavonoid mempunyai struktur dasar tertentu. Flavonoid beberapa ciri struktur yaitu: Cincin A dari dari struktur flavonoid mempunyai pola oksigenasi yang berselang-seling yaitu pada posisi 2, 4 dan 6. Cincin B flavonoid mempunyai satu gugus fungsi oksigen pada posisi para atau dua pada posisi para dan meta atau tiga pada posisi satu di para dan dua di meta (Lenny, 2006). Cincin A selalu memiliki gugus hidroksil yang letaknya sedemikian hingga memberikan kemungkinan untuk terbentuk cincin heterosiklik dalam senyawa trisiklik (Sastrohamidjojo, 1996). Kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang ditemukan pada tanaman dapat beraktivitas sebagai antioksidan (Hernani dan Rahardjo, 2006).

#### **4. Uji Fitokimia**

Uji fitokimia adalah serangkaian cara untuk menentukan golongan senyawa aktif dari suatu tumbuhan. Menurut Robinson (1991) alasan dilakukan uji fitokimia adalah untuk menentukan ciri senyawa aktif penyebab efek racun atau efek yang bermanfaat, yang ditunjukkan oleh ekstrak tumbuhan kasar bila diuji dengan sistem biologis. Pemanfaatan prosedur uji fitokimia telah mempunyai peranan yang sudah berkembang dalam semua cabang ilmu tumbuhan.

Keanekaragaman dan jumlah struktur molekul yang dihasilkan oleh tumbuhan banyak sekali, demikian juga laju pengetahuan tentang hal tersebut. Kandungan kimia tumbuhan dapat digolongkan menurut beberapa cara. Pengolahan didasarkan pada asal biosintesis, sifat kelarutan dan adanya gugus fungsi kunci tertentu (Harborne, 1987).

## **5. Fraksinasi**

Fraksinasi merupakan suatu prosedur untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dengan yang lain pada tumbuhan berdasarkan perbedaan kepolaran. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan terlarut dalam pelarut polar, begitu juga senyawa yang bersifat non polar akan terlarut dalam pelarut non polar (Harborne, 1987).

Partisi cair-cair digunakan sebagai cara untuk memisahkan analit-analit dari komponen-komponen matriks yang mungkin mengganggu pada kuantifikasi atau deteksi analit untuk memekatkan analit yang ada dalam sampel dengan jumlah kecil sehingga tidak memungkinkan atau menyulitkan untuk deteksi atau kuantifikasinya (Gandjar dan Rohman, 2008).

Prinsip teknik partisi cair-cair adalah menggunakan dua pelarut yang tidak saling campur dalam corong pisah, kemudian senyawa akan terdistribusi ke dalam dua pelarut tersebut sampai pada keadaan seimbang. Metode ini relatif mudah dilakukan dan efektif pada langkah awal pemisahan senyawa terkandung dalam ekstrak bahan alam (Otsuka, 2006). Biasanya fase yang digunakan yaitu air dan fase yang lain adalah pelarut organik seperti kloroform atau petroleum eter. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan

tertarik pada fase air. Sementara senyawa-senyawa yang bersifat hidrofobik akan tertarik pada pelarut organik. Analit yang terekstraksi ke dalam pelarut organik akan mudah diperoleh kembali menggunakan penguapan pelarut (Rohman, 2009).

Kloroform merupakan salah satu pelarut digunakan untuk fraksinasi, rumus molekul :  $\text{CHCl}_3$ , berat molekul : 119,39 g/gmol, berat jenis : 1,479 g, wujud : cairan bening, mudah menguap, tidak berwarna, bau khas : rasa manis dan membakar, kelarutan : larut dalam lebih kurang 200 bagian air; mudah larut dalam *etanol mutlak P*, dalam *eter P*, dalam sebagian besar pelarut organik, dalam minyak atsiri dan dalam minyak lemak. Titik didih :  $61,2^\circ\text{C}$ , titik leleh :  $-63,5^\circ\text{C}$  (Depkes RI, 1979).

## 6. Validasi

Validasi adalah konfirmasi melalui bukti-bukti pemeriksaan dan telah sesuai dengan tujuan pengujian. Validasi harus dilakukan terhadap metode non-standar dan metode yang dikembangkan laboratorium (Riyanto, 2014). Untuk memperoleh hasil tersebut, semua variable yang terkait dengan metoda analisis harus dipertimbangkan seperti metode pengambilan sampel, tahap penyiapan sampel, jenis penjarap yang digunakan pada kromatografi, fase gerak, dan sistem deteksinya (Rohman, 2009). Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004). Metode uji yang berbeda

membutuhkan parameter validasi yang berbeda pula seperti pada Tabel I (Lister, 2005).

**Tabel I. Parameter validasi untuk masing-masing tipe metode analisis**

Parameter Validasi	Uji Kategori I	Uji Kategori II		Uji Kategori III	Uji Kategori IV Identifikasi
		Kuantitatif	Uji Batas		
Linieritas	Ya	Ya	Tidak	Ya	Tidak
Akurasi	Ya	Ya	*	Ya	Tidak
Presisi	Ya	Ya	Tidak	Ya	Tidak
Kisaran	Ya	Ya	*	Ya	Tidak
Selektivitas	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya
LOD	Tidak	Ya	Ya	*	Tidak
LOQ	Tidak	Ya	Tidak	*	Tidak

\*Mungkin dibutuhkan, tergantung pada uji masing-masing

Parameter validasi menurut *International Conference on Harmonization (ICH) Guidance for Validation of Analytical Procedures* (2006) adalah akurasi, presisi, spesifisitas, *Limit of Detection (LOD)*, *Limit of Quantitation (LOQ)*, dan linieritas. Beberapa parameter analisis dalam validasi metode analisis diuraikan dan didefinisikan sebagai berikut :

a. Presisi

Presisi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual. Presisi diukur sebagai simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi (CV). Presisi dapat dinyatakan sebagai keterulangan (*repeatability*) atau ketertiruan (*reproducibility*). Kriteria presisi diberikan

jika metode memberikan simpangan baku relatif atau koefisien variasi tidak lebih atau sama dengan 2% (Harmita, 2004).

Uji presisi (keseksamaan) dilakukan dengan menentukan parameter RSD (*Relative Standard Deviasi*) dengan rumus sebagai berikut (Gandjar dan Rohman, 2007) :

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

Keterangan :

SD = Standar Deviasi

$\bar{X}$  = Kadar rata-rata sampel

b. Akurasi

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan (Harmita, 2004). Uji akurasi ditentukan dengan dua cara yaitu metode simulasi dengan menempatkan analit ke dalam placebo (*spiked-placebo recovery*) dan metode penambahan baku pada sampel (*standard addition method*) (Snyder dkk., 1997). Jika metode simulasi tidak dapat dilakukan maka akurasi dapat diukur dengan metode penambahan baku (Lister, 2005). Kriteria nilai perolehan kembali yang dapat diterima berdasarkan besarnya konsentrasi analit dapat dilihat pada tabel II (Gonzales dkk., 2010).

**Tabel II. Nilai perolehan kembali suatu metode analisis yang dapat diterima berdasarkan besarnya konsentrasi analit**

% Analit	Frakasi Analit	Unit Konsentrasi	Rata-rata Perolehan Kembali (%)
100	1	100%	98 – 102
10	10 <sup>-1</sup>	10%	98 – 102
1	10 <sup>-2</sup>	1%	97 – 103
0,1	10 <sup>-3</sup>	0,10%	95 – 105
0,01	10 <sup>-4</sup>	100 ppm	90 – 107
0,001	10 <sup>-5</sup>	10 ppm	80 – 110
0,0001	10 <sup>-6</sup>	1 ppm	80 – 110
0,00001	10 <sup>-7</sup>	100 ppb	80 – 110
0,000001	10 <sup>-8</sup>	10 ppb	60 – 115
0,0000001	10 <sup>-9</sup>	1 ppb	40 – 120

Persen perolehan kembali dapat ditentukan dengan cara membuat sampel plasebo (eksipien obat, cairan biologis) kemudian ditambah analit dengan konsentrasi tertentu (biasanya 80% sampai 120% dari kadar analit yang diperkirakan), kemudian dianalisis dengan metode yang akan divalidasi. Bila tidak dimungkinkan membuat sampel plasebo karena matriknya tidak diketahui seperti obat-obatan paten, atau karena analitnya berupa suatu senyawa endogen misalnya metabolit sekunder pada kultur kalus, maka dapat dipakai metode adisi (Harmita, 2004).

Menurut ICH, uji akurasi dilakukan dengan 9 kali penetapan kadar dengan 3 konsentrasi yang berbeda (misal 3 konsentrasi dengan 3 kali replikasi). Perhitungan perolehan kembali (% *recovery*) dapat ditetapkan dengan rumus sebagai berikut (WHO, 1992) :

$$\% \text{ recovery} = \frac{A-B}{C} \times 100\%$$

Keterangan :

A : Konsentrasi sampel yang diperoleh setelah penambahan bahan baku

B : Konsentrasi sampel sebelum penambahan bahan baku

C : Konsentrasi bahan baku yang ditambahkan

c. Selektivitas

Selektivitas suatu metode adalah kemampuannya yang hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel. Selektivitas seringkali dapat dinyatakan sebagai derajat penyimpangan (*degree of bias*) metode yang dilakukan terhadap sampel yang mengandung bahan yang ditambahkan. Pada metode analisis yang melibatkan kromatografi, selektivitas ditentukan melalui perhitungan daya resolusinya ( $R_s$ ) (Harmita, 2004).

Uji selektivitas untuk memberikan kepastian bahwa respon yang dihasilkan hanya berasal dari analit yang dimaksud (Lister, 2005).

d. Linieritas

Linieritas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Linieritas biasanya dinyatakan dalam istilah sekitar arah garis regresi yang dihitung berdasarkan persamaan matematik data yang diperoleh dari hasil uji analit dalam sampel dengan berbagai konsentrasi analit. Sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi ( $r$ ) pada analisis regresi linier  $Y = a + bX$ . Hubungan linier yang ideal dicapai jika

nilai  $b = 0$  dan  $r = +1$  atau  $-1$  bergantung pada arah garis. Sedangkan nilai  $a$  menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan (Harmita, 2004).

e. Sensitivitas (kepekaan)

Batas deteksi (*LOD/limit of detection*) adalah konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi (Gandjar dan Rohman, 2007). Batas deteksi merupakan parameter uji batas (Harmita, 2004). Cara yang paling umum untuk menghitung LOD adalah menetapkan jumlah sampel yang dapat memberikan perbandingan sinyal terhadap gangguan atau *signal to noise* (S/N) 2:1 atau 3:1, dan yang lebih sering digunakan adalah 3:1 (Lister, 2005). Definisi LOD yang umum digunakan adalah kadar analit yang memberikan respon sebesar respon blanko,  $Y_B$ , ditambah simpangan baku blanko ( $S_B$ ). Jadi,  $Y - Y_B = 3S_B$  (Miller dan Miller, 1998).

Batas kuantitasi (*LOQ/limit of quantitation*) merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Harmita, 2004). LOQ seringkali didasarkan pada nilai *signal to noise* (S/N) = 10 (Snyder dkk., 1997). Batas kuantifikasi sering digunakan sebagai batas bawah untuk pengukuran kuantitatif yang tepat. Nilai  $Y_B + 10 S_B$  disarankan untuk batas kuantifikasi ini (Miller dan Miller, 1998).

## 7. Spektrofotometer

Spektrofotometri serapan ultraviolet dan serapan sinar tampak merupakan cara tunggal yang paling berguna untuk menganalisis flavonoid (Markham, 1988). Spektrofotometer UV-Visibel merupakan teknik spektroskopik yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan memakai instrument spektrofotometer. Spektrofotometer UV-Visibel melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis sehingga spektrofotometer UV-Visibel lebih banyak digunakan untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif (Mulja dan Suharman, 1995). Semua molekul mempunyai energi dan jika suatu molekul bergerak dari suatu tingkat energi ke tingkat energi yang lebih rendah maka beberapa energi akan dilepaskan. Energi ini hilang sebagai radiasi dan dikatakan telah terjadi emisi radiasi. Jika suatu molekul dikenai suatu radiasi elektromagnetik pada frekuensi yang sesuai sehingga energi molekul tersebut ditingkatkan ke level yang lebih tinggi maka terjadi peristiwa penyerapan absorpsi energi oleh molekul (Gandjar dan Rohman, 2008). Serapan cahaya oleh suatu molekul dalam daerah spektrum UV-Visibel tergantung pada struktur elektronik molekul (Mulja dan Suharman, 1995). Banyaknya sinar yang diabsorpsi pada panjang gelombang tertentu sebanding dengan banyaknya molekul yang menyerap radiasi (Gandjar dan Rohman, 2008).

## F. Landasan Teori

Kulit buah rambutan memiliki kandungan (Wardhani dan Supartono., 2015) positif terhadap golongan senyawa alkaloid, steroid, terpenoid, flavonoid dan saponin. Biji rambutan memiliki kandungan kimia flavonoid, fenolik (Khasanah, 2011) lemak dan polifenol (Dalimartha., 2005). Hasil penelitian (Thitilerdecha dkk., 2008) menyebutkan bahwa senyawa fenolik yang terdapat dalam biji rambutan mempunyai aktivitas antioksidan dan antibakteri. Kulit buah rambutan memiliki senyawa fenol dan flavonoid sebagai aktivitas antioksidan (Muhtadi dkk., 2014). Kandungan fenolik berperan penting dalam uji aktivitas antioksidan. semakin tinggi kandungan fenolik pada suatu sampel maka aktivitas antioksidannya juga semakin tinggi (Nurwaini dkk., 2006).

Hasil penelitian Pangalinan dkk (2012) menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit batang rambutan mempunyai aktivitas antijamur. Kandungan yang diduga memiliki aktivitas antijamur adalah flavonoid, tanin dan saponin. Kulit buah rambutan mengandung fenolik total 42,3 (mg GAE/g dw) dan flavonoid total 9,6 (mg RE/gw) dan biji rambutan mengandung fenolik total 43,4 (mg GAE/g dw) dan flavonoid total 13,3 (mg RE/gw) (Maisuthisakul, 2007). Kulit kayu digunakan untuk mengatasi sariawan (Dalimartha, 2005).

Analisis dapat dilakukan apabila metode yang digunakan telah divalidasi. Validasi perlu dilakukan agar hasil analisis yang diperoleh terpercaya, cermat, handal dan dapat dipertanggung jawabkan secara ilmiah. Suatu metode analisis harus divalidasi untuk melakukan verifikasi bahwa parameter-parameter kerjanya cukup untuk mengatasi masalah analitik.

### G. Hipotesis

Metode penetapan kadar fraksi kloroform ekstrak etanol dari kulit batang rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) memenuhi persyaratan uji validasi dan mengandung senyawa aktif golongan fenol dan flavonoid.

