



Isolasi Dan Penetapan Kadar Senyawa Flavonoid Pada Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) Menggunakan Metode Klt dan Spektrofotometri Uv-Vis

Munawir^{1*}, Dewi Natalia Sri Harmoni², Lalu Mariawan³, Almahera⁴

^{1,2,3,4} Universitas Nahdlatul Ulama Nusa Tenggara BaratIndonesia

Email: munawirfarm679@gmail.com ^{1*},natalia88vanggra@gmail.com ², lalumariawan@gmail.com ³, almahera459@gmail.com ⁴

Article Info

Received: 20 September 2024

Accepted: 30 September 2024

Abstrak: Daun katuk (*Sauropus androgynus*) dikenal memiliki banyak manfaat untuk kesehatan, salah satunya karena kandungan senyawa flavonoid yang memiliki berbagai aktivitas biologis, seperti antioksidan, antiinflamasi, dan antikanker. Daunnya juga dipercaya memiliki manfaat untuk meningkatkan produksi ASI. Telah dilakukan penelitian terhadap daun katuk meliputi isolasi dan identifikasi golongan senyawa flavonoid dari ekstrak metanol daun katuk (*Sauropus androgynus* L.) Merr. Daun katuk biasa dikenal dimasyarakat lombok yaitu daun sager Tujuan penelitian ini untuk mengetahui isolasi senyawa flavonoid pada ekstrak daun katuk menggunakan KLT dan spektrofotometri. Metode yang digunakan dalam penelitian ini kromatografi kertas dan diidentifikasi secara spektrofotometri ultraviolet-cahaya tampak. Hasil penelitian ini didapatkan nilai panjang gelombang sebesar 255,423 dengan nilai absorbansi 0.99% yang mendekati dari kriteria nilai absorbansi. Untuk uji KLT pada ekstrak daun katuk dengan perbandingan quersetin mendapatkan hasil sebesar 6,4 dan 7,6, uji kadar abu mendapatkan sekian, hasil kadar flavonoid sebesar 4,38% b/b. Dimana hasil ini bahwa pada ekstrak daun katuk terdapat kandungan senyawa flavonoid atau metabolit sekunder.

Kata Kunci: Daun Katuk, Isoalasi, Flavonoid, KLT, Spektrofotometri Uv-Vis

Citation: Munawir, M., Harmoni, D. N. S., Alfarizi, L. M., & Almahera, A. (2024). Isolasi dan Penetapan Kadar Senyawa Flavonoid Pada Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) Menggunakan Metode Klt dan Spektrofotometri Uv-Vis. *Medika: Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 4(2), 35-40. <https://doi.org/10.69503/medika.v4i2.970>

Pendahuluan

Indonesia memiliki kekayaan biodiversitas yang luar biasa, termasuk berbagai jenis tanaman obat tradisional yang telah lama digunakan dalam pengobatan herbal. Salah satu tanaman yang populer dan banyak dimanfaatkan adalah katuk (*Sauropus androgynus*). Tanaman ini dikenal luas karena daunnya yang dipercaya dapat meningkatkan produksi ASI pada ibu menyusui, serta memiliki berbagai manfaat kesehatan lainnya (Khan, dkk., 2019). Manfaat-manfaat ini diduga kuat berkaitan dengan kandungan senyawa bioaktif di dalamnya, salah satunya adalah flavonoid (Kumar, S, dkk., 2013)

Daun katuk (*Sauropus androgynus*) dikenal memiliki banyak manfaat untuk kesehatan, salah satunya karena kandungan senyawa flavonoid yang memiliki berbagai aktivitas biologis, seperti antioksidan, antiinflamasi, dan antikanker. Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik yang banyak terdapat pada tanaman, termasuk daun katuk. Flavonoid senyawa bioaktif alami yang termasuk dalam kelompok senyawa fenolik. Flavonoid terdiri dari struktur dasar



fenil-benzopiron (C6-C3-C6) dan ditemukan dalam berbagai tumbuhan. Senyawa ini memiliki sifat antioksidan, antiinflamasi, antikanker, dan antibakteri, sehingga sering digunakan dalam penelitian farmasi, pangan, dan kesehatan.

Flavonoid merupakan kelompok senyawa metabolit sekunder yang tersebar luas dalam tumbuhan. Senyawa ini dikenal memiliki beragam aktivitas farmakologi, seperti antioksidan, antiinflamasi, antikanker, dan antimikroba (Panche, A. N, dkk.,2016). Potensi flavonoid sebagai agen terapeutik telah mendorong berbagai penelitian untuk mengidentifikasi dan mengkuantifikasi keberadaannya dalam berbagai tanaman, termasuk daun katuk.

Flavonoid diklasifikasikan berdasarkan struktur kimianya menjadi beberapa subkelompok utama, seperti: Flavon (contoh: luteolin, apigenin), Flavonol (contoh: quercetin, kaempferol), Flavanon (contoh: naringenin, hesperidin), Flavanol (contoh: katekin, epikatekin), Antosianidin (contoh: sianidin, pelargonidin), Isoflavon (contoh: genistein, daidzein). Senyawa ini banyak ditemukan dalam buah-buahan, sayuran, biji-bijian, teh, cokelat, dan anggur merah. Flavonoid juga bertanggung jawab atas warna cerah pada banyak tumbuhan, seperti merah, biru, dan ungu. Flavonol adalah subkelompok flavonoid yang memiliki struktur inti flavonol dengan gugus hidroksil tambahan. Ciri khas Struktur flavonol biasanya memiliki lebih banyak gugus hidroksil dibandingkan flavonol biasa, yang meningkatkan sifat antioksidannya. Sumber alami ditemukan dalam berbagai tanaman, terutama dalam buah-buahan, sayuran, dan daun, meskipun tidak sepopuler quercetin. Quercetin adalah salah satu flavonol yang paling umum ditemukan dalam tumbuhan.

Berdasarkan Latar belakang diatas, maka peneliti tertarik melakukan penelitian dengan judul “Isolasi Dan Penetapan Kadar Senyawa Flavonoid Pada Daun Katuk (*Sauropus Androgynus*) Menggunakan Metode Klt Dan Spektrofotometri Uv-Vis”

Tujuan khusus dalam penelitian ini mengisolasi senyawa flavonoid pada ekstrak daun katuk menggunakan metode KLT dan Spektrometri Uv-Vis.

Metode

Pengambilan Dan Pengelohan Sampel

Sampel daun sager (*Breynia androgyna*) diambil di Lombok Timur pada pagi hari, dengan memilih daun yang masih muda berwarna hijau tua.

Persiapan Alat dan Bahan

Siapkan alat esktaksi maserasi yang terdiri dari Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah labu alas bulat, kondensor, statif, klem, kompor spirtus, kaki tiga, penangas, selang, benjana, batang pengaduk, tabung reaksi, rak tabung, waterbath, kain flanel neraca analitik, beaker glass, objek glass, corong pisah, deck glass, corong kaca, masker, sarung tangan, chamber, gelas ukur, plat KLT, spots, tabung reaksi, oven, lampu sinar UV, termometer, cawan uap, mikroskop, spektrofotometer UV-Vis. Siapkan bahan baku, yaitu daun katuk, yang telah di Rajang dengan ukuran sekitar 1,5 pelarut etanol 96% dengan perbandingan bahan terhadap pelarut 1:5

Ekstraksi

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan alat refluks dengan mencampurkan 100 gram simplisia kering daun katuk dengan 500 ml etanol dengan perbandingan simplisia : etanol (1:5). Kemudian diisolasi dengan metode maserasi dengan suhu 63-65° C selama 2 jam. Setelah itu disaring dalam keadaan panas menggunakan kain flanel untuk mendapatkan filtrat senyawa flavonoid dalam jumlah maksimal dan diuapkan dengan menggunakan kompor spirtus pada api kecil utuk menghilangkan pelarutnya yang kemudian menghasilkan ekstrak pekat.

Isolasi Senyawa Flavoid

Ekstrak bebas dari pelarut (ekstrak kental) kemudian dilakukan isolasi flavonoid dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah dengan pelarut n-heksana sebanyak 30 ml, untuk memisahkan senyawa-senyawa non polar masing-masing dilakukan tiga kali replikasi. Penambahan n-heksana menyebabkan terbentuknya 2 fase kedua pelarut yaitu fase polar dan non polar memiliki berat jenis dan kepolaran yang berbeda. Berat jenis fase non polar lebih kecil daripada fase polar, sehingga lapisan non polar berada dibagian atas dan lapisan polar berada dibagian bawah. Lapisan polar bagian bawah diambil, tampung dalam cawan porselin (yang sebelumnya sudah ditimbang), lalu diuapkan menggunakan water bath hingga mengental dan angkat cawan porselin lalu didinginkan. Kemudian dilakukan dan menghitung prosentase

rendemen, uji identifikasi flavonoid, KLT dan menentukan kadar flavonoid dengan Spektrofotometer UV-Vis.

Perhitungan Rendemen

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kental} \times 100\%}{\text{Berat Sampel}}$$

Keterangan : Y = Berat Ekstrak Kental

X = Berat sampel

Uji Kromatografi Lapis Tipis

Flavonoid yang sudah diketahui rendemennya, kemudian flavonoid yang didapat diidentifikasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis dengan cara membuat fase gerak untuk analisa kualitatif menggunakan metanol : kloroform : eter (5 : 4 : 1). Eluen tersebut bersifat sangat polar sehingga bisa memisahkan senyawa flavonoid dan jumlah banyak yang ditandai dengan munculnya noda. Menjenuhkan fase gerak, memasukkan kertas saring sebagai indikatornya agar seluruh permukaan bejana terisi uap eluen sehingga rambatan yang dihasilkan baik dan beraturan. Menunggu fase gerak siap digunakan. Mengaktifkan fase diam menggunakan plat KLT lapis silika gel aktif (dioven selama 3 menit dengan suhu 45°C) supaya palt KLT tidak lembab sehingga penyerapan bisa berlangsung dengan cepat. Memberi garis batas atas dan batas bawah pada plat KLT. Menotolkan eluen hasil pada garis batas bawah plat KLT, tunggu hingga kering. Memasukkan plat KLT kedalam chamber KLT yang telah berisi fase gerak yang sudah dijenuhkan terlebih dahulu. Menunggu hingga fase gerak mencapai garis batas atas plat KLT. Mengangkat plat KLT dari dalam chamber, tunggu hingga kering. Melihat dibawah sinar lampu UV pada panjang gelombang 254 nm. Menganalisa Rf dan membandingkan dengan nilai Rf standar (Rohyami, 2008).

Uji Spektrofotometer UV-Vis

Pembuatan Larutan Blanko

Mengambil 10 ml metanol masukan dalam tabung reaksi dan memasukan 3 ml metanol kedalam kuvet dan masukkan kuvet ke dalam Spektrofotometer UV-Vis. Pembuatan larutanblanko bertujuan untuk kalibrasi pada alat sehingga konsentrasi dimulai dari titik nol (Rohyami, 2008)

Pembuatan Larutan Induk Baku

Pembandingan Kuersetin Menimbang seksama sebanyak 50 mg kuersetin baku,dimasukan ke dalam labu ukuran 50 ml dan ditambahkan dengan sedikit pelarut. Lalu dikocok hingga larut, selanjutnya diencerkan dengan pelarut sampai garis tanda sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Memipet larutan induk kuarsetin sejumlah volume tertentu pada kuvet kemudian periksa pada panjang gelombang 300-400 nm, kemudian mencatat absorbansi yang dihasilkan oleh masing-masing panjang gelombang dan membuat kurva hubungan antara panjang gelombang dan absorbansi (Hanani, 2016).

Pembuatan Kurva Baku Pembandingan

Mengambil larutan baku 1000 ppm, kemudian diencerkan menjadi 10ppm, 20ppm, 30ppm, 40ppm, 50ppm. Dibaca absorbansi pada gelombang maksimal yang didapat, kemudian ditentukan regresi liniernya (Mustapa, 2014). Ditambahkan 2 ml aquadest dan 150 µL NaNO₂ 5%. Kemudian didiamkan selama 6 menit, lalu ditambahkan AlCl₃ 10% sebanyak 150 µL, kemudian didiamkan kembali selama 6 menit, larutan direaksikan dengan 2 ml NaOH 4% kemudian diencerkan dengan aquadest hingga volume 5 ml. Larutan dikocok hingga homogen, kemudian diukur absorbansi yang dihasilkan oleh konsentrasi pada panjang gelombang maksimum yang didapat dan membuat kurva hubungan antara konsentrasi baku dan absorbansinya (Agung, 2016).

Penentuan Kadar Senyawa Flavonoid

Larutan standar ekstrak dipipet sebanyak 500 μ L ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 2 mL aquadest dan 150 μ L NaNO₂ 5%. Kemudian diadukan selama 6 menit, sebanyak 150 μ L AlCl₃ 10% ditambahkan ke dalam larutan, kemudian didiamkan kembali selama 6 menit, larutan direaksikan dengan 2 mL NaOH 4% kemudian diencerkan dengan aquadest hingga volume 5 mL. Larutan dikocok hingga homogen, kemudian diukur absorbansi yang dihasilkan oleh konsentrasi pada panjang gelombang maksimum yang didapat dan membuat kurva hubungan antara konsentrasi baku dengan absorbansinya (Agung, 2016).

Analisis data

Analisis data dengan persamaan regresi linear menggunakan program microsoft excel kemudian dihitung kadar fenolik dan flavonoid totalnya

Perhitungan Kurva Baku

Linearitas ditentukan dengan persamaan regresi $y=a +bx$. Persamaan regresi ini dapat digunakan jika faktor korelasinya 0,99 dan $r\leq 1$ (Haresmita & Pradani, 2022).

Kadar Total Flavonoid KLT

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh sampel (cm)}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut (cm)}}$$

Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi Daun Katuk

Pada penelitian ini tentang isolasi dan penetapan kadar senyawa flavonoid pada daun Katuk (*Sauropus Androgynus*) ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa flavonoid pada daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) dan mengetahui berapa kadar senyawa flavonoid yang terkandung pada daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.). Senyawa flavonoid yang bersifat polar akan larut pada pelarut polar, yaitu etanol dengan menggunakan metode refluks.

Proses Ekstraksi

Pada penelitian ini, proses pertama yang dilakukan adalah membuat ekstrak daun katuk dengan cara mengisolasi senyawa flavonoid pada daun katuk menggunakan metode refluks yang dilakukan selama 2 jam. Pelarut yang digunakan yaitu etanol 95%, karena pelarut ini dapat melarutkan hampir semua senyawa organik yang ada pada sampel, mudah menguap sehingga mudah dibebaskan dari ekstrak, flavonoid bersifat polar sehingga harus dilarutkan dengan pelarut polar. Bantuan energi berupa panas pada refluks akan membantu proses pemecahan dinding sel sehingga senyawa flavonoid pada sampel dapat terekstraksi secara maksimal. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan penangas air untuk menjaga agar tidak terjadi kelebihan temperature selama pemanasan.



Gambar 1. Ekstrak Kental Daun Katuk

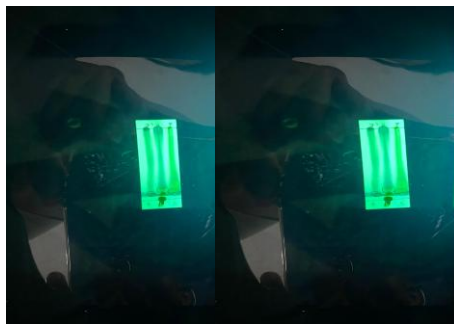
Tabel 1. Bobot Ekstra Kental dan % Rendemen Daun Sager

Sampel	Bobot Ekstrak	Kental Daun Sager %
Daun katuk	54,5	1,81

Identifikasi Flavonoid dengan KLT

Identifikasi berikutnya untuk mengetahui ada tidaknya senyawa flavonoid pada daun katuk dengan metode KLT. KLT merupakan suatu metode memisahkan komponen kimia berdasarkan prinsip absorpsi dan partisi, yang ditentukan oleh fase diam dan fase gerak. Fase diam yang digunakan adalah plat KLT berupa silika gel yang bersifat polar, yang terlebih dahulu dioven pada suhu 45°C selama 3 menit bertujuan untuk menghilangkan kandungan air yang terdapat pada plat sehingga daya serap plat menjadi maksimal, sedangkan fase gerak yang digunakan adalah campuran metanol : kloroform : eter dengan perbandingan (5:4:1).

Pada uji flavonoid daun katuk menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), munculnya warna hijau pada hasil pengamatan dibawah sinar UV bisa terindikasi adanya senyawa tertentu. Flavonoid, yang merupakan kelompok senyawa polifenol, sering kali menunjukkan warna berbeda saat dianalisis menggunakan KLT, tergantung pada strukturnya dan interaksinya dengan pereaksi atau sinar UV. Warna hijau yang terlihat mungkin disebabkan oleh flavonoid tertentu yang ada dalam daun jeruk purut, seperti flavon, flavonol, atau flavanon. Untuk memastikan bahwa warna hijau tersebut benar-benar berasal dari flavonoid, langkah konfirmasi lebih lanjut diperlukan. Metode seperti spektroskopi UV-Vis, dapat digunakan untuk mengidentifikasi jenis senyawa secara lebih spesifik.



Gambar 2. Hasil KLT daun katuk

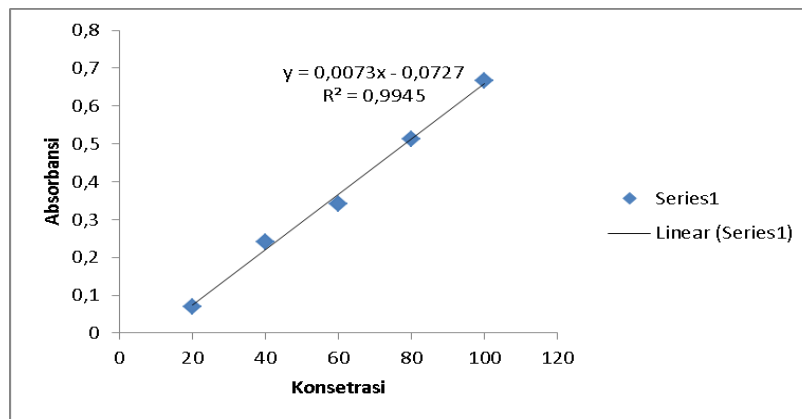
Tabel 2. Nilai Rf Quersetin Daun Katuk

Sampel	Nilai Rf
Daun katuk	6,4
Quersetin	7,6

Penetapan kadar flavonoid dengan Spektro UV-Vis

Penetapan kadar flavonoid dilakukan dengan penambahan aluminium klorida (AlCl₃) 10%. Aluminium klorida sendiri memiliki tujuan untuk memberi efek batotokromik yakni pergeseran ke arah Panjang gelombang yang lebih tinggi sehingga mengubah Panjang gelombang larutan standar flavonoid pada ekstrak daun jeruk purut untuk masuk dalam rentang Panjang gelombang UV-Visibel yaitu 433 nm. Proses yang dilakukan yakni dengan menambahkan natrium asetat IM. Penstabil reaksi natrium asetat berfungsi untuk menstabilkan reaksi dan penambahan methanol hingga tanda batas, lalu di kocok dan diabaikan bereaksi selama 30 menit agar reaksi antara larutan dengan pereaksi atau reagen yang ditambahkan berlangsung sempurna (Azizah et al., 2020).

Prinsip dari metode ini adalah AlCl₃ membentuk kompleks yang stabil dengan C-4 gugus keto, kemudian dengan C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol. Penambahan aluminium klorida akan membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus orthohidroksil pada cincin A atau B dari flavonoid (Chang et al., 2002). Hasil pengukuran menggunakan absorbansi spektrofotometri menghasilkan nilai 0,233; 0,353; 0,375. Kadar flavonoid total dalam sampel daun katuk adalah 4,38% b/b.



Gambar 3. Kurva Kalibrasi Kadar Flavonoid Daun Katuk

Berdasarkan grafik dapat dilihat bahwa kurva kalibrasi dengan persamaan regresi untuk absorbansi asam galat pada konsentrasi 1, 2, 3, dan 4 ppm sebesar $y = 0,073x + 0,0727$ dan kuarsetin sebesar $y = 0,668x + 0,513$ larutan standar senyawa fenol dan flavonoid diperoleh hubungan yang linier antara absorbansi dengan konsentrasi. Pada pengukuran absorbansi yang ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,99, nilai (r) ini mendekati angka 1 yang menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier untuk keperluan akurasi data. Sehingga dari hasil penelitian ini diperoleh kadar fenolik total pada ekstrak etanol daun katuk adalah sebesar 4,38% b/b.

Dalam penelitian sebelumnya, senyawa fenolik diketahui memiliki berbagai efek biologis sebagai antioksidan, melindungi struktur sel, antiinflamasi, dan sebagai antiseptik (Primadini, 2010). Sedangkan manfaat flavonoid antara lain untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektifitas vitamin C, antiinflamasi, mencegah keropos tulang dan sebagai antibiotik (Haris, 2011). Menurut penelitian Kurniasari (2006) menyatakan bahwa sejumlah tanaman obat yang mengandung flavonoid telah di laporkan telah memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi dan antikanker

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun katuk mengandung senyawa golongan flavonoid nilai panjang gelombang sebesar 255,423 dengan nilai absorbansi 0.99% yang mendekati dari kriteria nilai absorbansi. Untuk uji KLT pada ekstrak daun katuk dengan perbandingan quersetin mendapatkan hasil sebesar 6,4 dan 7,6, uji kadar abu mendapatkan sekian, hasil kadar flavonoid sebesar 4,38% b/b. Dimana hasil ini bahwa pada ekstrak daun katuk terdapat kandungan senyawa flavonoid atau metabolit sekunder.

Daftar Rujukan

- Chapman & Hall. Havsteen, B. H. (2002). The Biochemistry And Medical Significance Of The Flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, 96(2-3), 67-202.
- D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2017). *Principles of Instrumental Analysis*. Cengage Learning.
- Harborne, J. B. (1996). *The Flavonoids: Advances in Research Since 1986*.
- Heyne, K. (1987). *Tumbuhan berguna Indonesia*. Jilid II. Yayasan Penelitian dan Pengembangan Farmasi Indonesia.
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, 2013, 162750.
- Kurniasari, I. (2006). *Metode Cepat Penentuan Flavonoid Total Meniran (Phyllanthus niruri L) Berbasis Teknik Spektrofotometri Inframerah dan Kemometri*. Bogor: IPB.
- Kusumawati, D. H., Wibowo, M. A., Putri, E. F., & Wahyuni, N. S. (2017). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) dengan Metode DPPH. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 14(1), 6-12
- Primadini, R.,D. (2010). Uji Aktivitas Pengkhelatan Besi Pada Ekstrak Metanol Tanaman Obat Pegagan (*Centella asiatica*), Bunga Merak (*Caesalpinia pulcherimma*) dan Sendilaw Udang (*Commersonia batramia*). *Skripsi*. Bengkulu : Universitas Bengkulu

- Ratnasari, E. I., Suhartatik, N., & Setianingsih, T. (2021). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Surabaya*, 11(1), 65-70.
- Sherma, J., & Fried, B. (2003). *Handbook of Thin-Layer Chromatography*. Marcel Dekker. Skoog,