

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman lamtoro

1.1. Nama lain. Tanaman lamtoro memiliki nama ilmiah berupa (*Leucaena glauca* Bth.) merupakan tanaman yang mudah ditemukan dan tumbuh di wilayah Indonesia terutama di sekitar pekarangan rumah. Tanaman lamtoro memiliki sebutan di masing-masing daerah, antara lain: pete selong, pete cina (Sumatra), lamtoro kemlandingan (Jawa), peuteuy selong, kemlandingan (Sunda). Sedangkan sebutan tanaman ini di luar negeri yaitu wild tamarind (Inggris), dan yin he huan (Cina) (Hariana, 2008).

1.2. Klasifikasi tanaman lamtoro



Gambar 1. Tanaman Lamtoro (*Leucaena glauca* Bth.)

Klasifikasi tanaman lamtoro sebagai berikut (Steenis, C.G.G.J.V, Bloembergen, H, Eyma, P.J, 1992):

Kingdom	: Plantae
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Fabales
Famili	: Mimosaceae
Genus	: <i>Leucaena</i>
Species	: <i>Leucaena glauca</i> Bth.
Sinonim	: <i>Leucaena leucocephala</i>

1.3. Morfologi tanaman lamtoro. Tanaman lamtoro mempunyai nodul akar yang digunakan untuk mengikat nitrogen dan menghasilkan daun sebagai sumber bahan organik. Tanaman lamtoro mempunyai pohon yang tingginya antara 2-20 meter. Tanaman lamtoro memiliki nodul, lentisel, dan cabang rendah berwarna cokelat atau keabu-abuan. Ranting tanaman lamtoro berbentuk torak silinder dengan ujung yang berambut rapat. Tanaman ini memiliki daun ganda dan menyirip majemuk, helai daun berjumlah 3–10 pasang. Daun penumpu berbentuk segitiga dan kecil. Setiap sirip memiliki 5–20 pasang yang saling berhadapan, bentuk garis panjang dengan ujung runcing dan pangkal miring. Permukaannya halus dan ujung-ujungnya berjumbai (Rivai, 2021).

Tanaman lamtoro memiliki bunga majemuk berupa kepala bertangkai panjang yang berkelompok membentuk malai dengan 2–6 kepala, setiap kepala berisi 100–180 kepala bunga dan membentuk bola berwarna putih atau kekuningan dengan diameter 12–21 mm pada tangkai yaitu 2–5 cm. Tanaman lamtoro memiliki mahkota tunggal dan bunga kecil berbentuk tabung kelopak. Sepuluh benang sari membentuk bunga lamtoro. Buahnya polong berbentuk pita lurus, pipih dan tipis serta berwarna hijau sampai coklat kehijauan namun setelah kering menjadi variasi coklat tua dan membelah diri sepanjang kampuhnya. Buah lamtoro terdiri dari 15–30 biji yang terdapat melintang pada tanaman kacang-kacangan. Bijinya bulat telur sungsang atau bulat, terbalik, dan telur coklat tua mengkilap (Rivai, 2021).

1.4. Kandungan senyawa tanaman lamtoro. Tanaman lamtoro mengandung banyak senyawa kimia di antaranya protein, lemak, kalsium, fosfor, besi serta vitamin (A, B₁, dan C). Biji lamtoro mengandung mimosin, leukanin, protein, dan leukanol (Hariana, 2008). Daun lamtoro mengandung beberapa metabolit sekunder yang digunakan untuk pengobatan tradisional pada berbagai penyakit pada manusia terdiri dari mimosin, squalene, fitol, dan lektin. (Rivai, 2021).

1.4.1. Mimosin. Mimosin dengan rumus kimia (β -N-(3-hydroxy-4-pyridone)- α -amino-propenoic acid) termasuk golongan asam amino aromatic. Kandungan mimosin di dalam daun lamtoro kering lebih tinggi yaitu berkisar antara 1,40–7,19 g/100g. Sedangkan pada daun lamtoro yang masih kehijauan berkisar 0,70–3,59 g/100g. Daun lamtoro mengandung senyawa mimosin berkisar 2%-6% dan bervariasi tergantung dengan tingkat kematangannya. Selain terkandung di dalam

daun, senyawa ini pada genus *Leucaena* juga terdapat pada biji. Mimosin adalah asam amino non protein yang mempunyai struktur hampir sama dengan tirosin, serta terdapat pada beberapa spesies mimosa dalam genus *Leucaena* (Laconi dan Widiyastuti, 2010).

1.4.2. Squalene. Squalene dengan rumus kimia $C_{30}H_{50}$ dengan rumus empiris $C_{30}H_{50}$ yang terdiri dari 6 molekul isoprena. Kandungan senyawa squalene yang terkandung di dalam daun lamtoro sebesar 41,02% (Awe *et al.*, 2013).

1.4.3. Fitol. Fitol memiliki rumus kimia $C_{20}H_{40}O$ dengan kerangka karbon C_{20} yang berasal dari empat satuan isopren. Fitol merupakan senyawa diterpene yang terkandung di dalam daun lamtoro sebesar 33,80% (Awe *et al.*, 2013). Diterpen termasuk senyawa yang lebih sukar menguap dibanding dengan golongan monoterpenoid dan seskuiterpenoid (Moektiwardoyo, 2010).

1.4.4. Lektin. Lektin merupakan senyawa yang terkandung di dalam daun lamtoro. Lektin termasuk protein bioaktif yang dapat diisolasi dari daun lamtoro. Lektin juga termasuk protein heterogen yang secara spesifik dan reversibel mengikat karbohidrat. Lektin tanaman dapat mengikat ligan selain karbohidrat, seperti lipid dan ATP sehingga memungkinkan aplikasi bioteknologi dan biomedis potensial (Patriota *et al.*, 2022).

1.5. Manfaat dan khasiat tanaman lamtoro. Khasiat yang dimiliki dari daun lamtoro di antaranya diuretik, obat cacing, susah tidur, luka, patah tulang, abses paru, dan bisul. Penyakit kencing manis, cacingan, bengkak (edem), dan radang ginjal dapat diobati dengan biji tanaman lamtoro. Akar tanaman lamtoro digunakan sebagai obat pencakar saat haid (Hariana, 2008). Menurut Rivai (2021) yang dikutip dari bukunya bahwa tanaman lamtoro secara farmakologi dimanfaatkan sebagai antidiabetes, pereda nyeri, pencegah kanker, obat cacing, antioksidan, dan larvasida. Pengobatan tradisional menggunakan daun lamtoro bermanfaat untuk membantu menyembuhkan penyakit rematik, penurunan tekanan darah, dan pereda nyeri pada perut. Secara diuresis, daun lamtoro dapat menurunkan tekanan darah (Ramadhian *et al.*, 2021). Pada umumnya daun lamtoro sebagai obat luka dan bengkak dengan cara dikunyah atau diremas-remas, kemudian ditempelkan pada bagian yang bengkak atau luka (Dalimartha, 2009).

2. Simplisia

2.1. Pengertian simplisia. Berdasarkan Farmakope Indonesia Edisi II (2017), menyatakan bahwa simplisia merupakan bahan khusus yang belum diolah dan telah dikeringkan serta digunakan sebagai obat. Simplisia dapat dimanfaatkan sebagai bahan kering maupun serbuk. Menurut sumbernya ada tiga jenis simplisia, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan. Simplisia nabati adalah bagian tumbuhan, tumbuhan tanpa cacat, atau eksudat tumbuhan (isi sel yang timbul secara tiba-tiba dari tumbuhan). Simplisia hewani adalah simplisia yang berasal dari makhluk hidup, meliputi semua makhluk hidup dan beberapa bagian tubuh serta zat yang tidak murni tetapi dibuat oleh makhluk hidup. Menurut Saputri dan Pitaloka (2004), simplisia pelikan akan berubah menjadi simplisia pelikan atau bahan galian yang sudah ditangani langsung oleh masyarakat tetapi belum merupakan zat majemuk murni.

2.2. Pengumpulan simplisia. Kadar senyawa aktif dalam simplisia dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain bagian tanaman yang digunakan, umur tanaman atau bagian yang dipetik, waktu panen, dan iklim, sehingga pengumpulan simplisia memerlukan kehati-hatian yang lebih untuk potensi berkembang (Suharmiati dan Maryani, 2003).

2.3. Pengeringan simplisia. Tujuan pengeringan simplisia adalah untuk mendapatkan produk yang awet dan dapat disimpan dalam waktu yang cukup lama. Ini juga dapat menghentikan reaksi enzimatik dan mengurangi jumlah air dalam simplisia, yang keduanya dapat menghentikan simplisia dari kerusakan. Simplisia dapat dikeringkan di bawah sinar matahari langsung atau dengan pengering seperti oven. Menurut Suharmiati dan Maryani (2003), beberapa faktor yang harus diperhatikan selama proses pengeringan antara lain: luas permukaan bahan, suhu, kelembaban, arus angin, dan waktu pengeringan. Simplisia dipilah kering mengikuti proses pengeringan untuk memisahkannya dari pengotor dan benda asing lainnya yang tertinggal di dalam simplisia kering (Departemen Kesehatan RI, 1985).

2.4. Serbuk simplisia. Blender digunakan untuk menghaluskan simplisia yang telah melewati sortasi kering guna meningkatkan kontak antara permukaan simplisia dengan pelarut dan memudahkan pelarut menembus simplisia sehingga dapat menarik simplisia yang lebih aktif (Husni *et al.*, 2018). Simplisia halus diayak menggunakan ayakan Mesh

No.60 untuk mengayak serbuk simplisia yang diperoleh. Menurut Farmakope Herbal Indonesia (2017) nomor ayakan tersebut menghasilkan kategori serbuk halus agar senyawa yang ada pada daun lamtoro dapat tertarik dengan sempurna.

3. Metode penyarian

3.1. Pengertian ekstraksi. Prosedur ekstraksi melibatkan pemindahan massa zat aktif dari sel ke pelarut untuk membuat larutan zat aktif dalam pelarut. Menurut Lisnawati dan Prayoga (2020), ekstraksi secara umum akan semakin baik semakin besar permukaan kontak serbuk simplisia dengan pelarut. Suka larut suka, artinya pelarut polar akan melarutkan senyawa polar sedangkan pelarut nonpolar akan melarutkan senyawa nonpolar, sesuai dengan prinsip ekstraksi. Hal ini kemungkinan terjadi karena bahan semakin lama terurai dinding sel dan membran semakin lama direndam sehingga jumlah ekstrak yang dihasilkan semakin banyak (Yennie *et al.*, 2013).

Proses penyerbukan mengakibatkan dinding sel tidak lagi utuh sehingga memudahkan cairan penyari masuk ke dalam sel (osmosis) selama proses ekstraksi. Zat aktif akan terlarut di dalam sel oleh cairan penyari yang masuk, sehingga terjadi perbedaan konsentrasi antara cairan penyari di luar sel dengan larutan zat aktif di dalam sel. Pilihan cairan pelarut yang layak dengan prioritas tinggi, nilai sederhana dan tidak sulit didapat, benar-benar stabil secara sintetik, memiliki respons yang tidak memihak, tidak mudah terbakar, memiliki sifat tertentu dan diizinkan oleh peraturan (Najib, 2018).

3.2. Metode ekstraksi. Metode dingin dan metode panas adalah dua jenis metode ekstraksi. Ekstraksi dingin relatif aman untuk bahan yang tidak tahan terhadap pemanasan karena dilakukan pada suhu ruangan, akibatnya bahan aktif dalam sampel tahan penyimpanan dan sulit terurai. Sejumlah besar senyawa diantisipasi akan diekstraksi melalui ekstraksi dingin, meskipun beberapa senyawa memiliki kelarutan yang terbatas dalam pelarut ekstraksi pada suhu kamar (Nurhasnawati *et al.*, 2017). Ekstraksi dingin terdiri dari maserasi dan perkolasi. Sedangkan metode panas untuk ekstraksi dilakukan untuk melepaskan obat yang tidak dimurnikan yang mengandung minyak dan mengandung bagian senyawa dengan batas tinggi pada tegangan panas yang khas. Ekstraksi panas meliputi digesti, reflux, soxhletation, infus, dan decoction (Idroes *et al.*, 2019).

3.2.1. Maserasi. Metode ekstraksi sederhana yang dikenal sebagai maserasi memanfaatkan pelarut yang terkandung dalam wadah. Setelah itu simplisia dimasukkan ke dalam wadah dan didiamkan pada suhu ruang tanpa terkena sinar matahari sambil diaduk-aduk. Zat terlarut akan masuk ke dalam sel melalui dinding sel dan isinya, yang merupakan prinsip dasar maserasi. Isi sel akan larut akibat perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel. Sampai terjadi keharmonisan fiksasi antara susunan di dalam sel dan di luar sel, susunan dengan fokus tinggi akan dipindahkan dan digantikan oleh cairan yang dapat larut dengan fiksasi rendah. Kesederhanaan peralatan yang digunakan dalam maserasi merupakan keuntungan. Namun, terdapat kelemahan antara lain waktu ekstraksi yang lama, konsumsi pelarut yang tinggi, dan ketidakmampuan untuk menggunakan senyawa dengan tekstur keras (Natsir et al., 2019).

Menurut Purwati dan Rastuti (2009), remaserasi adalah modifikasi maserasi dimana pelarut ditambahkan kembali mengikuti penyaringan maserasi awal dan seterusnya untuk memaksimalkan ekstraksi zat aktif yang terkandung dalam simplisia. Biasanya, remaserasi dilakukan tiga kali sebelum senyawa yang diinginkan diperoleh. Remaserasi menggunakan pelarut yang berbeda dengan maserasi, tetapi prinsipnya sama. Remaserasi dilakukan untuk mendapatkan bagian dinamis yang tak terhitung jumlahnya yang masih terbenkakai dalam proses maserasi utama. Remaserasi memiliki keuntungan menghasilkan ekstrak yang lebih banyak, tetapi juga memiliki kelemahan yaitu membutuhkan waktu yang lama dan membutuhkan pelarut yang lebih banyak (Atun, 2014).

3.2.2. Perkolasi. Perkolasi adalah ekstraksi yang berlangsung pada suhu kamar dan menggunakan pelarut yang selalu baru atau selalu diganti untuk mengurangi risiko pengotor dan melindungi senyawa termolabil seperti flavonoid dalam sampel dari kerusakan (Marcellia *et al.*, 2021). Aturan perembesan adalah serbuk simplisia dimasukkan ke dalam bejana bulat dan berongga dengan alas yang dapat ditembus. Perkolasi memiliki keuntungan menghasilkan ekstrak pekat, membutuhkan lebih sedikit pelarut, dan melanjutkan ekstraksi kapan pun diperlukan tanpa menambah volume pelarut. Di sisi lain, salah satu kekurangannya adalah membutuhkan waktu yang sangat lama (Wewengkang dan Rotinsulu, 2021).

3.3. Pelarut ekstraksi. Etanol termasuk alkohol rantai tunggal dengan rumus kimia C_2H_5OH dan rumus empiris C_2H_6O memiliki berat molekul 46,1 merupakan pelarut bersifat polar atau semi polar yang dapat membentuk ikatan hydrogen antara molekul-molekulnya sehingga mudah larut dalam air. Etanol memiliki sifat mudah menguap dan tidak berwarna. Titik didih dari etanol $78,3^{\circ}C$ dan dapat membeku pada suhu $-117,3^{\circ}C$ (Hambali *et al.*, 2008). Etanol jika digunakan sebagai pelarut untuk maserasi akan memperoleh hasil yang maksimal, namun ekstrak yang diperoleh sedikit dikarenakan sifat dari etanol yang mudah menguap ketika dievaporasi (Sa'adah dan Nurhasnawati, 2015). Pelarut etanol merupakan pelarut universal yang dapat menarik senyawa-senyawa yang larut dalam pelarut non polar maupun polar serta memiliki indeks polaritas sebesar 5,2 (Snyder, 1997; Padmasari *et al.*, 2013). Menurut Farmakope Herbal Indonesia (2017), konsentrasi etanol yang sering digunakan untuk ekstraksi yaitu 70% dan 96%. Pemilihan konsentrasi etanol 70% karena efektif dalam menghasilkan jumlah senyawa yang optimal dan bahan pengganggu hanya skala kecil yang turut ke dalam cairan pengekstraksi (Kurniawati, 2017), sedangkan dipilih konsentrasi etanol 96% karena bersifat lebih selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki, didapatkan absorpsi ekstraksi yang baik, kapang dan khamir sulit tumbuh, mudah menguap dan mendapatkan ekstrak kental lebih cepat dibandingkan pelarut etanol 70% (Misna dan Diana, 2016).

4. Skrining fitokimia

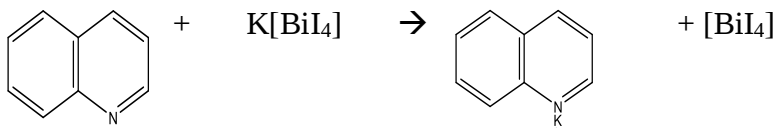
Serbuk dan ekstrak daun lamtoro dilakukan skrining fitokimia untuk mendeteksi kandungan kimia yang berada didalamnya meliputi uji alkaloid, uji flavonoid, uji tanin, dan uji saponin.

4.1. Alkaloid. Alkaloid merupakan senyawa kimia yang terkandung di dalam tanaman lamtoro bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen (Mursiti *et al.*, 2013). Pada umumnya, alkaloid basa kurang larut dalam air dan larut dalam pelarut organik. Sifat basa ini tergantung keberadaan pasangan elektron tunggal dalam nitrogen. Berdasarkan struktur kimia alkaloid bahwa sebagian alkaloid memiliki struktur nitrogen heterosiklik yang kompleks. Alkaloid ada yang mengandung oksigen dan tidak mengandung oksigen. Alkaloid yang mengandung oksigen berbentuk padat dan bisa dikristalkan seperti nikotin, sedangkan alkaloid yang tidak mengandung oksigen berbentuk

cair, mudah menguap, dan dapat diuapkan dengan air seperti sparteine (Amin *et al.*, 2021).

Uji alkaloid dilakukan penambahan kloroform, amoniak, dan asam sulfat pada serbuk dan ekstrak daun lamtoro. Penambahan kloroform bertujuan agar garam alkaloid larut dalam kloroform. Penambahan amoniak sebagai basa lemah yang bertujuan akan membebaskan alkaloid dari garamnya dan penambahan asam sulfat bertujuan mempermudah alkaloid untuk diendapkan (Marliana *et al.*, 2005).

4.1.1. Dragendorff. Pereaksi Dragendorff terdiri dari bismuth nitrat ($\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$) yang dilarutkan dalam HCl kemudian direaksikan dengan kalium iodide (KI). Pada saat ion Bi^{3+} dari bismuth nitrat ($\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$) bereaksi dengan kalium iodida (KI) berlebih maka akan membentuk kalium tetraiodobismutat ($\text{K}[\text{BiI}_4]$). Gugus nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodobismutat ($\text{K}[\text{BiI}_4]$) membentuk ikatan kovalen koordinat sehingga memberikan endapan berwarna jingga kemerahan. Endapan tersebut yang dinamakan kalium alkaloid (Marliana *et al.*, 2005). Reaksi pada uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorff ditunjukkan pada Gambar 3.

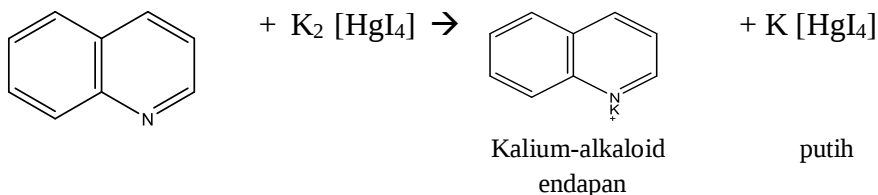
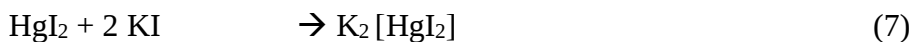
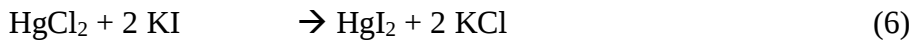


Kalium–alkaloid coklat
endapan kekuningan

Gambar 2. Reaksi Uji Dragendorff (Marliana *et al.*, 2005)

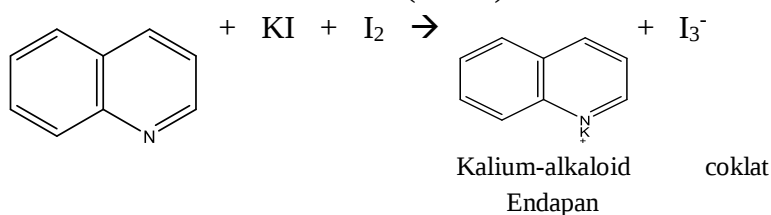
4.1.2. Mayer. Pereaksi mayer terdiri dari larutan merkuriem (II) klorida (HgCl_2) dengan kalium iodida (KI). Reaksi tersebut menghasilkan endapan merah merkuriem (II) iodida (HgI_2). Apabila kalium iodida (KI) ditambahkan berlebih maka akan membentuk kalium tetraiodomerkurat (II) ($\text{K}_2(\text{HgI}_4)$) sehingga terbentuk senyawa kompleks dan mengendap. Hal ini dikarenakan ion merkuri termasuk ion logam berat yang dapat mengendapkan senyawa alkaloid yang bersifat basa. Alkaloid memiliki atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas, sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam yaitu salah satunya kalium (logam alkali).

Gugus nitrogen pada alkaloid dapat bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraidomerkurat (II) ($K_2(HgI_2)$) dan akan membentuk kompleks kalium alkaloid yang memberikan endapan berwarna putih hingga kekuningan (Marliana *et al.*, 2005). Reaksi pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 3. Reaksi Uji Mayer (Marliana *et al.*, 2005).

4.1.3. Wagner. Pereaksi *Wagner* terdiri dari pencampuran iodin (I_2) dengan kalium iodida (KI) yang dilarutkan dalam akuades. Hasil positif dari uji alkaloid dengan pereaksi *Wagner* ini adalah endapan coklat. Endapan tersebut berasal dari pembentukan ion I_3^- dari reaksi iodin (I_2) dengan ion I^- yang berasal dari KI. Hal ini dikarenakan gugus nitrogen pada alkaloid dengan ion logam K^+ membentuk senyawa kompleks kalium-alkaloid yang mengendap melalui ikatan kovalen koordinasi (Marliana *et al.*, 2005). Reaksi pada uji alkaloid dengan pereaksi *Wagner* ditunjukkan pada Gambar 5.

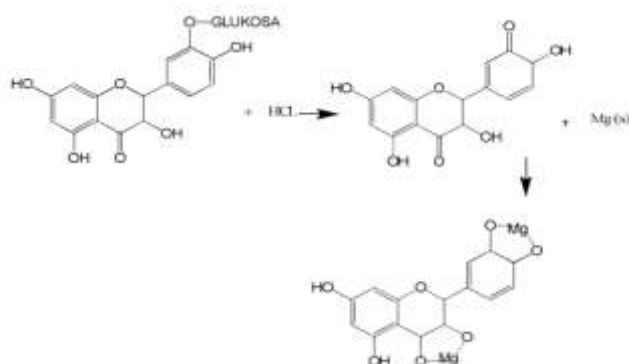
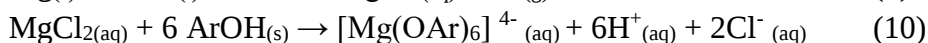
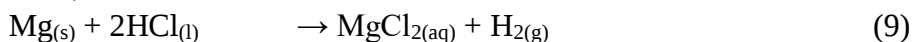


Gambar 4. Reaksi Uji Wagner (Marliana *et al.*, 2005)

4.2. Flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa kimia yang terkandung di dalam tanaman lamtoro. Flavonoid termasuk golongan polifenol (mengandung gugus hidroksi fenolik) yang memiliki sebanyak 15 atom karbon tersusun dalam konfigurasi $C_6-C_3-C_6$. Konfigurasi tersebut artinya kerangka karbon terdiri atas dua cincin benzene (C_6) disambungkan oleh rantai propane tiga karbon (C_3). Flavonoid memiliki berat molekul rendah dengan inti 2-fenil-kromon. Flavonoid berasal dari sintesis turunan asam asetat/fenilalanin menggunakan jalur asam shikimat. Flavonoid terbagi menjadi beberapa subkelas berdasarkan sifat struktural terdiri dari flavanols, flavanon, flavon, isoflavon,

anthocyanidins, dan flavonol. Flavonoid termasuk senyawa polar sehingga larut dalam pelarut seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilformamida. Semua pelarut tersebut jika dicampurkan dengan air menjadi pelarut yang baik untuk flavonoid glikosida. Sedangkan dalam bentuk aglikon seperti flavon, flavonol, flavanon lebih mudah larut dalam pelarut kloroform dan eter (Arifin dan Ibrahim, 2018).

Serbuk dan ekstrak daun lamtoro dilakukan uji flavonoid untuk mendeteksi kandungan kimia yang berada didalamnya. Uji ini dapat dilakukan dengan penambahan serbuk magnesium, larutan HCl, dan amil alkohol pada larutan sampel. Tujuan penambahan serbuk magnesium yaitu dapat menyebabkan terjadinya reduksi flavonoid menjadi senyawa kompleks $[Mg(OAr)_6]^{4-}$. Penambahan HCl pekat bertujuan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya yaitu o-glikosil (Arum *et al.*, 2012). Sedangkan penambahan amil alkohol bertujuan untuk membentuk lapisan cincin yang menunjukkan bahwa sampel mengandung flavonoid. Hasil positif jika sampel mengandung flavonoid yaitu dapat ditunjukkan dengan warna jingga atau kuning pada lapisan amil alkohol (Harborne, 1987). Warna jingga atau kuning yang dihasilkan tersebut disebabkan penambahan magnesium dan larutan HCl yang dapat mereduksi inti benzopiron sehingga terbentuk garam flavilium yang berwarna kuning atau jingga (Ergina *et al.*, 2014). Reaksi pada uji flavonoid dapat ditunjukkan pada Gambar 6 (Marliana *et al.*, 2005).

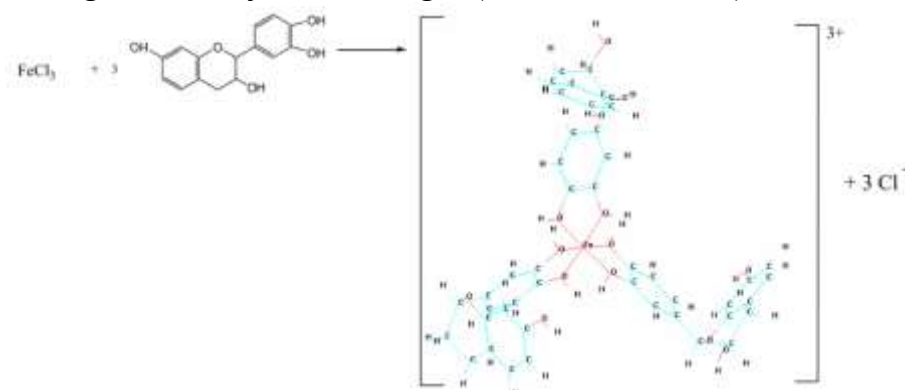


Gambar 5. Reaksi Flavonoid Serbuk Magnesium dan larutan HCl
(Marliana *et al.*, 2005).

4.3. Tanin. Tanin merupakan senyawa kimia yang terkandung di dalam tanaman lamtoro. Tanin termasuk senyawa polifenol dengan berat

molekul lebih dari 1000 g/mol, mudah dioksidasi menjadi suatu polimer, dan sebagian berbentuk amorf serta tidak mempunyai titik leleh. Tanin dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein. Struktur senyawa tanin terdiri dari cincin benzena (C6) yang berikatan dengan gugus hidroksil (-OH) (Noer *et al.*, 2018). Tanin mempunyai rasa yang sepat dan warnanya akan menjadi gelap jika terkena cahaya langsung atau dibiarkan di udara terbuka (Ismarani, 2012).

Serbuk dan ekstrak daun lamtoro dilakukan uji tanin untuk mendeteksi kandungan kimia yang berada didalamnya. Uji tanin ini dilakukan penambahan FeCl_3 dengan tujuan untuk menunjukkan adanya gugus fenol, jika terdapat senyawa fenol maka kemungkinan mengandung senyawa tanin. Hal ini dikarenakan tanin merupakan senyawa polifenol. Hasil positif mengandung senyawa tanin jika terjadi perubahan warna hijau kehitaman. Perubahan warna ini terjadi terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan FeCl_3 karena adanya ion Fe^{3+} sebagai atom pusat dan tanin memiliki atom O yang mempunyai pasangan elektron bebas yang bisa mengkoordinasikan ke atom pusat sebagai ligannya. Ion Fe^{3+} pada reaksi di atas mengikat tiga tanin yang memiliki 2 atom donor yaitu atom O pada posisi 4' dan 5' dihidroksi, sehingga ada enam pasangan elektron bebas yang bisa dikoordinasikan ke atom pusat. Atom O pada posisi 4' dan 5' dihidroksi memiliki energi paling rendah dalam pembentukan senyawa kompleks, sehingga memungkinkan menjadi sebuah ligan (Parwati *et al.*, 2014).

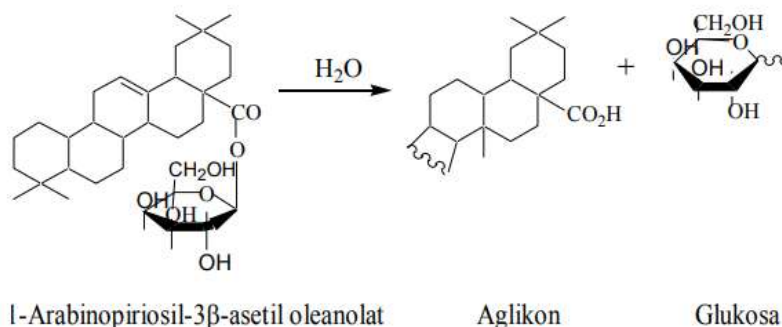


Gambar 6. Reaksi senyawa tanin terhadap FeCl_3 (Parwati *et al.*, 2014).

4.4. Saponin. Saponin merupakan senyawa kimia yang terkandung di dalam tanaman lamtoro. Saponin berasal dari kata “sapo” yang artinya sabun. Saponin disebut sebagai surfaktan alami dikarenakan struktur saponin yang seperti sabun atau detergen. Hal tersebut menyebabkan jika dilakukan uji saponin dengan cara pengocokan maka

timbul busa. Saponin termasuk senyawa glikosida kompleks terdiri dari senyawa hasil kondensasi suatu gula dengan suatu senyawa hidroksil organik yang apabila dihidrolisis akan menghasilkan gula (glikon) dan non-gula (aglikon) (Calabria, 2008; Hawley and Hawley, 2004).

Serbuk dan ekstrak daun lamtoro dilakukan uji saponin untuk mendeteksi kandungan kimia yang berada di dalamnya. Uji saponin ini dilakukan dengan penambahan air panas kemudian dikocok kuat selama 10 detik dan menghasilkan buih. Buih tidak akan hilang jika dilakukan penambahan HCl 2 N yang bertujuan untuk menambah kepolaran sehingga gugus hidrofil akan berikatan lebih stabil dan buih yang terbentuk menjadi stabil. Busa yang terbentuk menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya. Glikosida berfungsi sebagai gugus polar. Senyawa yang memiliki gugus polar bersifat aktif di permukaan sehingga saat dikocok dengan air, saponin dapat membentuk misel. Pada struktur misel gugus polar menghadap keluar karena mengikat air (hidrofil). Keadaan seperti busa inilah yang menunjukkan adanya saponin di dalam sampel. Reaksi pada uji saponin dapat ditunjukkan pada Gambar 8 (Marliana *et al.*, 2005).



Gambar 7. Reaksi hidrolisis saponin dalam air (Marliana *et al.*, 2005)

5. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri merupakan teknik pengukuran berdasarkan penyerapan cahaya pada panjang gelombang tertentu melalui suatu larutan mengandung kontaminan yang akan ditentukan konsentrasinya. Instrumen yang disebut Spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk mengukur jumlah (konsentrasi) sampel secara kuantitatif dalam kisaran ultraviolet-sinar tampak. Prinsip kerja dari spektrofotometri UV-Vis adalah seberapa banyak cahaya yang diabsorpsi oleh larutan sebanding dengan konsentrasi kontaminan dalam larutan (Lestari, 2009). Hasil

pengukuran dari instrumen ini berupa serapan (absorbansi) berdasarkan Hukum *Lambert – Bert* yang menghubungkan antara absorbansi cahaya dengan konsentrasi pada suatu bahan yang mengabsorpsi. Absorbansi dianalisis untuk memperoleh suatu kurva baku. Kurva baku ini memberikan gambaran nilai koefisien korelasi (r) dan persamaan regresi linear yaitu $y = ax + b$. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan kandungan senyawa dari suatu sampel yang dianalisis (Wahyuni dan Marpaung, 2020). Spektrofotometri UV-Vis melibatkan sumber radiasi elektromagnetik dekat dengan rentang panjang gelombang 200–400 nm serta sinar tampak dengan rentang panjang gelombang 400–800 nm (Suoth, 2022).

6. Validasi metode analisis

Validasi metode analisis merupakan suatu tindakan berdasarkan percobaan laboratorium untuk penilaian terhadap parameter tertentu dengan tujuan membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Setiap metode pengujian harus mampu mendapatkan hasil yang dapat dipercaya (Harmita, 2004). Oleh karena itu, sebelum menggunakan metode untuk pengujian kuersetin maka perlu dilakukan proses validasi (Riyanto, 2019; Alegre *et al.*, 2012). Menurut ICH (2005) dalam validasi metode analisis, parameter yang dapat diuji meliputi: linearitas, presisi, akurasi, *Limit of Detection* (LOD), *Limit of Quantification* (LOQ), spesifisitas dan robustness.

6.1. Linearitas. Linearitas merupakan suatu prosedur analisis yang menunjukkan hasil uji secara langsung terhadap konsentrasi analit pada sampel dalam rentang yang diberikan. Hubungan linear yang ada antara konsentrasi dan hasil pengukuran pengujian disebut sebagai linearitas. Linearitas dapat dicapai jika hasil pengukuran dapat ditransformasi dalam bentuk logaritma, akar kuadrat, atau bentuk transformasi lainnya. Namun, hubungan non-linear dapat digunakan jika linearitas tidak dapat dicapai (Kemenkes RI, 2020). Linearitas dapat ditetapkan menggunakan minimal lima konsentrasi (ICH, 2005).

6.2. Akurasi. Akurasi merupakan suatu prosedur analisis dengan melakukan pengujian berdasarkan tingkat kedekatan antara hasil pengujian dengan prosedur yang sedang divalidasi terhadap nilai yang benar. Akurasi dinyatakan dalam persentase perolehan kembali yang didapatkan menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya (Ravisankar *et al.*, 2015; ICH, 2005). Kriteria

diterimanya akurasi bergantung pada jenis pengujian dan keragaman serta sediaan yang diuji (Kemenkes RI, 2020).

6.3. Presisi. Presisi merupakan suatu prosedur analisis dengan melakukan pengujian berdasarkan tingkat kedekatan diantara hasil uji individu, prosedur diterapkan berulang kali terhadap sampling ganda atau sampel yang homogen. Presisi berdasarkan ukuran dengan tingkat reproduisibilitas atau repitibilitas dalam kondisi kerja yang normal. Simpangan baku relative dari serangkaian pengukuran adalah bagaimana presisi diukur (Kemenkes RI, 2020). Presisi metode analisis dapat dibagi menjadi tiga kategori, yaitu keterulangan (*repeatability*), ketertiruan (*reproducibility*), dan presisi antara (*intermediate precission*) (ICH, 2005).

6.4. Batas deteksi (LOD). Batas deteksi atau *Limit of Detection* (LOD) merupakan parameter dalam uji batas yang diukur yaitu jumlah konsentrasi terendah analit dalam sampel yang dapat dideteksi, namun tidak perlu kuantitatif dalam kondisi perlakuan yang ditentukan. Uji batas semata-mata dapat menunjang konsentrasi analit di bawah atau di atas aras tertentu. Umumnya, batas deteksi dinyatakan sebagai konsentrasi analit (misalnya persen) dalam sampel (Kemenkes RI, 2020).

6.5. Batas kuantitasi (LOQ). Batas kuantitasi atau *Limit of Quantification* (LOQ) merupakan karakteristik penetapan kuantitatif pada aras rendah dari senyawa dalam matriks sampel. Batas kuantitasi yang diukur adalah konsentrasi terendah dari analit dalam sampel yang ditetapkan dengan akurasi dan presisi yang dapat diterima dalam kondisi percobaan yang telah ditetapkan. Umumnya, batas kuantitasi dinyatakan sebagai konsentrasi analit (misalnya persen) dalam sampel (Kemenkes RI, 2020).

B. Landasan Teori

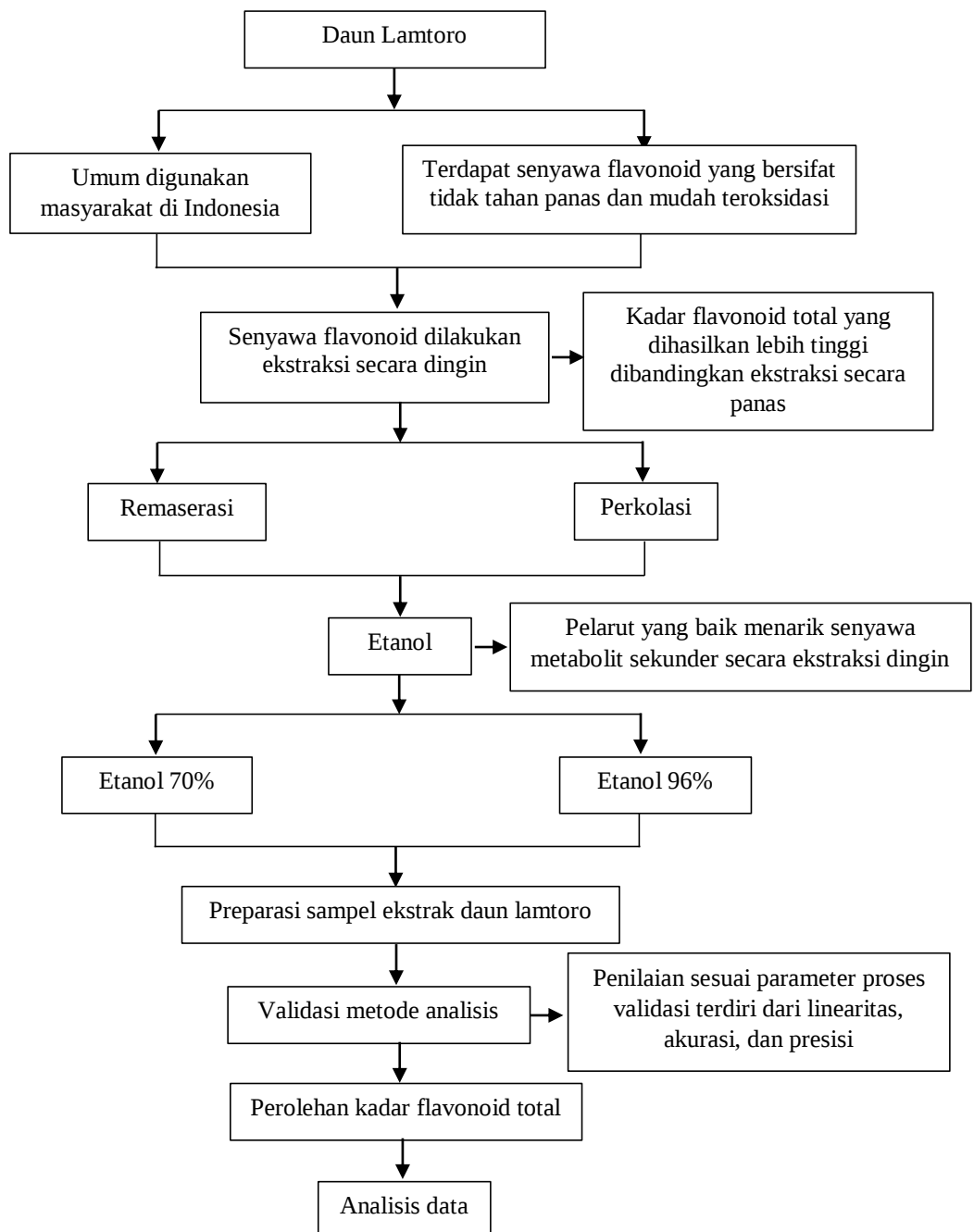
Daun lamtoro adalah bagian tanaman yang mengandung beberapa senyawa aktif. Herani *et al* (2017) melakukan penelitian dengan mengidentifikasi kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak daun lamtoro menggunakan uji tabung. Hasil uji tabung tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun lamtoro mengandung senyawa saponin, alkaloid, tanin, dan flavonoid. Daun lamtoro pada masyarakat digunakan untuk membantu menyembuhkan rasa sakit. Kandungan di dalam daun lamtoro yang berkhasiat sebagai analgesik yaitu flavonoid (Rahmawati, 2014).

Penelitian dari Sukmawati (2018) melakukan validasi metode analisis kuersetin pada daun gedi hijau secara spektrofotometri UV-Vis yang terdiri dari linearitas, akurasi, presisi, LOD, dan LOQ. Kelima parameter validasi metode analisis tersebut sudah sesuai dengan yang dipersyaratkan.

Berdasarkan penelitian dari Safitri *et al* (2018) menunjukkan bahwa ekstrak daun beluntas dilakukan ekstraksi menggunakan metode perkolasi menghasilkan kadar flavonoid paling tinggi dibandingkan menggunakan metode maserasi, sokletasi, dan refluks. Penelitian dari Fadlilaturrahmah *et al* (2020) melakukan ekstraksi daun kareho dengan metode perkolasi menghasilkan kadar flavonoid lebih besar daripada metode maserasi. Hal ini juga didapatkan dari penelitian Susanty *et al* (2019) bahwa metode ekstraksi untuk perolehan kandungan flavonoid ekstrak daun kelor dari metode perkolasi lebih tinggi daripada metode maserasi.

Menurut penelitian dari Yunita dan Khodijah (2020) menunjukkan bahwa kadar kuersetin ekstrak daun asam jawa paling tinggi dihasilkan dari konsentrasi pelarut etanol yang lebih tinggi yaitu etanol 96%. Penelitian dari Pujiastuti dan Zeba (2021) juga menyebutkan bahwa kadar flavonoid total ekstrak etanol 96% kulit buah naga merah lebih tinggi daripada ekstrak etanol 70%. Selanjutnya, penelitian dari Ramadhani *et al* (2022) melaporkan bahwa pelarut etanol 96% dapat menarik senyawa flavonoid lebih banyak pada daun tembakau.

C. Kerangka Berpikir



D. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada berikut dapat disusun beberapa hipotesis dalam penelitian yaitu:

1. Hasil validasi metode analisis diduga dapat memenuhi parameter validasi sehingga dapat digunakan analisis kadar flavonoid total pada ekstrak daun lamtoro.
2. Kadar flavonoid total ekstrak daun lamtoro yang dihasilkan dari masing-masing variasi metode ekstraksi dan konsentrasi pelarut etanol yaitu tidak kurang dari 2,03%.
3. Proses ekstraksi daun lamtoro dengan metode perkolasi menggunakan pelarut etanol 96% dapat menghasilkan kandungan senyawa flavonoid total paling tinggi daripada menggunakan metode maserasi dan pelarut etanol 70%.