

**ANALISIS KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK
ETANOL DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum* Wight)
DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

DRAFT PROPOSAL



Oleh :

CINDY SEPTI MULIA
2020112031

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2023**

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Masyarakat Indonesia telah menggunakan bahan alam secara turun temurun sebagai obat tradisional untuk mengatasi berbagai penyakit (Elfahmi,2014). Penggunaan tumbuhan obat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit telah lama dilakukan manusia. Hal ini mendorong para ahli untuk mengkaji kandungan tumbuhan tersebut yang berperan sebagai sumber obat. Sampai saat ini masih banyak potensi tumbuhan obat yang belum diteliti. Dari 250.000-500.000 spesies tumbuhan, hanya sedikit yang telah dikaji secara fitokimia dan lebih sedikit lagi yang telah mengkaji aktivitas biologis dan farmakologisnya. Kandungan kimia yang memberikan efek fisiologi dan farmakologi lebih dikenal dengan senyawa aktif. Senyawa aktif ini merupakan hasil metabolisme sekunder dari tumbuhan itu sendiri dimana penyebaran dan jumlahnya dalam tiap bagian tumbuhan tidak sama.

WHO pada tahun 2008 mencatat bahwa 68% penduduk dunia masih menggantungkan sistem pengobatan tradisional yang mayoritas melibatkan tumbuhan untuk menyembuhkan penyakit dan lebih dari 80% penduduk dunia menggunakan obat herbal untuk mendukung kesehatan mereka (Saifudin,Rahayu, & Teruna, 2011)

Kecenderungan masyarakat untuk kembali ke alam meneguhkan peran penting tumbuhan sebagai sumber obat bahkan berpotensi nilai ekonomis tinggi. Namun isu besar yang berbasis herbal memiliki mutu yang terukur, mampu mendorong derajat kesehatan dan terjamin keamanan, terbebas dari bahan dan mikroba berbahaya serta bagaimana menaikkan nilai ekonomi sehingga menjadi negara produsen yang bermatabat (Saifudin, Rahayu, & Teruna, 2011)

Dalam rangka mengembangkan obat tradisional diperlukan pengendalian mutu simplisia yang akan digunakan untuk bahan baku obat atau sediaan galenik. Pengendalian mutu simplisia dapat dilakukan salah satunya dengan cara melakukan standar disasisimplisia. Standardisasi perlu dilakukan untuk menjaga kualitas bahan baku obat alam baik berupa simlisia maupun yang berbentuk

ekstrak atau sediaan galenik (Hariyati, 2005). Standardisasi dalam kefarmasian tidak lain adalah serangkaian parameter, prosedur dan cara pengukuran yang hasilnya merupakan unsur-unsur terkait paradigma mutu kefarmasian, mutu dalam artian memenuhi syarat standar (kimia, biologi dan farmasi), termasuk jaminan (batas-batas) stabilitas sebagai produk kefarmasian umumnya. Persyaratan mutu ekstrak terdiri dari berbagai parameter standar umum dan parameter standar spesifik. Pemerintah melakukan pembinaan dan pengawasan serta melindungi konsumen untuk tegaknya trilogi “mutu-keamanan-manfaat”. Pengertian standardisasi juga berarti proses menjamin bahwa produk akhir (obat, ekstrak atau produk ekstrak) mempunyai nilai parameter tertentu yang konstan dan ditetapkan (dirancang dalam formula) terlebih dahulu (Anonim, 2000).

Salah satu tanaman yang mempunyai banyak manfaat yaitu daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight). Daun salam merupakan tanaman yang telah banyak dikenal masyarakat, dan biasanya banyak dimanfaatkan sebagai bumbu dapur atau rempah-rempah penyedap masakan karena memiliki aroma khas. Selain itu, daun salam sering dimanfaatkan masyarakat untuk pengobatan alternatif karena tumbuhan ini banyak terdapat di masyarakat dan mudah didapatkan.

Kandungan daun salam terdiri atas senyawa *steroid, fenolik, saponin, flavonoid, dan alkaloid*. Daun salam memiliki kandungan senyawa utama yaitu *flavonoid*. Flavonoid adalah senyawa *polifenol* yang memiliki manfaat sebagai antivirus, antimikroba, antiinflamasi, antiplatelet, antiinflamasi, antitumor, dan antioksidan terhadap sistem pertahanan tubuh (Marzouk, 2016). Flavonoid yang terkandung dalam daun salam yaitu kuersetin dan fluoretin (Prahastuti, *et al.*, 2011).

Oleh karena memiliki kandungan senyawa kimia yang banyak, daun salam sering digunakan untuk mengobati penyakit gastritis, diare, tekanan darah tinggi, dan kolesterol dengan menurunkan kadar kolesterol total dan masih banyak penyakit lainnya (Kemenkes, *et al.*, 2011). Selain itu, daun salam juga mengandung beberapa vitamin diantaranya vitamin C, vitamin A, vitamin E, vitamin B6, vitamin B12, thiamin, riboflavin, niacin dan asam folat. Beberapa

mineral yang terkandung di dalam daun salam yaitu zat besi, fosfor, kalsium, magnesium, selenium, seng, natrium dan kalium (Harismah dan Chusniatun,2016).

Syarifuddin K.A (2022) dalam jurnal penelitian tentang “Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Tempuyung (*Sonchus arvensis*) Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis”. Pada penelitian tersebut Flavonoid merupakan salah satu golongan senyawa yang terbukti dapat digunakan sebagai antioksidan dan antikanker. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 70%. Kemudian dilakukan uji kualitatif flavonoid dengan penambahan Mg dan HCL pekat. Pada uji fenol ditambahkan FeCl₃. Pada uji kuantitatif dengan kuersetin sebagai pembanding dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Diukur serapannya dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 300-600 nm. Dari hasil penelitian diperoleh kadar flavonoid total ekstrak etanol tempuyung (*Sonchus arvensis*) dari ekstrak etanol 70% sebesar 3,3671 mg QE/g ekstrak atau 0,33671% ada panjang gelombang 430 nm.

Berdasarkan dari efek permasalahan ini, maka penulis ingin melihat bagaimana spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk mengetahui kandungan kadar Flavonoid total ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight).

1.2. Rumusan Masalah

Berapakah kadar senyawa flavonoid total pada ekstrak etanol daun salam muda dan ekstrak daun salam tua dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis?.

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar senyawa flavonoid total dari ekstrak etanol daun salam muda dan ekstrak daun salam tua menggunakan metode Spektrofotometer UV-Vis.

1.4. Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan dan pengembangan ilmu pengetahuan tentang kandungan flavonoid pada daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight)
2. Sebagai sumber informasi kepada masyarakat tentang kadar flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) yang bisa dimanfaatkan sebagai obat tradisional.
3. Penelitian ini diharapkan dapat sebagai pedoman penelitian selanjutnya dalam pengembangan ilmu fitofarmaka dan sebagai sumber informasi tambahan bagi penelitian selanjutnya mengenai penelitian daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight).

1.5. Hipotesa

H_0 : Kadar flavonoid total ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) tidak dapat di analisis dengan metode Spektrofotometri UV-Vis.

H_1 : Kadar flavonoid total ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) dapat di analisis dengan metode Spektrofotometri UV-Vis.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Biologi Tumbuhan Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight).

2.1.1. Klasifikasi Tumbuhan

Menurut (Hardiyanti, 2010), klasifikasi daun salam sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*

Superdivisi : *Spermatophyta*

Divisi : *Magnoliopsida*

Sub Kelas : *Rosidae*

Ordo : *Myrtales*

Famili : *Mytaceae*

Genus : *Syzygium*

Spesies : *Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp



Gambar 1. Daun Salam (Sumono A,Wulan A, 2009)

2.1.2. Morfologi Daun Salam

Daun salam tumbuh menyebar di hutan-hutan Asia Tenggara, mulai dari dataran rendah sampai pegunungan dengan ketinggian 1.800 meter di atas permukaan laut (Kurniawati, 2010). Tinggi pohon salam dapat mencapai 25 m. Pohon daun salam tumbuh dengan batang bulat, rimbun, dan berakar tunggang. Daun tunggal, letak berhadapan, panjang tangkai daun 0,5-1 cm. Daun berbentuk lonjong, ujung meruncing, pangkal meruncing, tepi rata, menyirip, permukaan

atas licin berwarna hijau tua, permukaan bawah hijau muda, panjang 5-15 cm, lebar 3-8 cm, jika daun diremas mengeluarkan bau harum. Bunga majemuk tersusun dalam malai yang keluar dari ujung ranting, berwarna putih, dan harum. Buahnya bulat, diameter 8-9 mm, buah berwarna coklat ketika dimasak (Dalimartha, 2000)

2.1.3. Asal Tumbuh Daun Salam

Tumbuhan salam dalam nama ilmiah adalah *Syzygium polyanthum*, atau sering disebut dengan *Eugenia Polyantha* Wight. Dalam masyarakat sumatera dikenal dengan nama meselangan, sedangkan dalam masyarakat jawa dikenal sebagai manting. Salam menyebar di Asia Tenggara, yang bermula dari Burma, Indocina, Thailand, Semenanjung malaya, Sumatera, Kalimantan dan Jawa. Pohon ini ditemukan tumbuh liar di hutan-hutan primer dan sekunder, mulai dari tepi pantai hingga ketinggian 1.000 m (di Jawa), 1.200 m dan 1.300 m dpl (di Thailand), kebanyakan merupakan pohon penyusun tajuk bawah. Disamping itu salam di tanam di kebun-kebun pekarangan dan lahan lahan tani yang lain, terutama untuk diambil daunnya.

2.1.4. Manfaat Daun salam

Daun salam memiliki banyak manfaat salah satunya daun salam juga memiliki khasiat untuk menurunkan kolesterol, hipertensi, diabetes melitus, diare, dan gastritis. Bahkan bukan hanya daunnya saja yang berkhasiat, kulit batang dan akarnya tanaman ini memiliki manfaat sebagai obat gatal-gatal (Riansari, 2008). Dalam pemanfaatannya untuk pengobatan, bagian tanaman salam yang digunakan adalah bagian daun, kulit dan akar. Secara empiris, air rebusan daun salam digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan penyakit kolesterol tinggi, kencing manis, hipertensi, gastritis, dan diare. Sebagai bahan obat tradisional, *Syzygium polyanthum* digunakan sebagai obat diabetes melitus, gangguan lambung, mengatasi penyakit haemorrhoids, penyakit kulit seperti kudis, penyegar, hipertensi dan kolesterol.

Secara ilmiah telah terbukti bahwa *Syzygium polyanthum* memiliki bioaktivitas sebagai antimikroba, antioksidan, antidiabetes, dan anti kolesterol

(Herbie,2015). Pemanfaatan daun salam selain dikonsumsi sebagai olahan makanan dan minuman, ekstrak etanol daun salam juga dapat diformulasikan sebagai zat aktif dalam sediaan semipadat yang tujuannya untuk menangkal radikal bebas pada kulit berfungsi sebagai pembawa untuk obat-obat topikal, sebagai pelunak kulit atau pelindung (Wardani, 2009).

2.2. Kandungan Kimia Daun Salam

Daun salam menunjukkan adanya kehadiran senyawa flavonoid,terpenoid dan fenolik. Ekstrak etanol daun salam banyak mengandung golongan flavonoid dan fenol. Diketahui kandungan flavonoid sebesar 14,87 mg setara kuersetin 100 g ekstrak (Har dan Ismail, 2012). Menurut Farmakope Herbal Indonesia (2009), daun salam mengandung flavonoid total tidak kurang dari 0,40% dihitung sebagai kuersetin.

Berdasarkan penelitian Har dan Ismail (2012), dengan uji kualitatif pada plat KLT diketahui terdapat senyawa antioksidan aktif yang ditunjukkan sebagai warna kuning saat disemprot dengan larutan DPPH. Ekstrak daun salam memiliki kemampuan dalam menghambat radikal bebas. Pada konsentrasi 50 ppm ekstrak daun salam mampu menghambat 82% radikal bebas (Kusuma *et al.*, 2011). Menurut Othman (2014), ekstrak daun salam yang diuji menggunakan metode DPPH menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang baik.

Pada uji dengan pereduksi Ferri (Fe) menunjukkan bahwa daun salam memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa aktif dalam daun salam berperan sebagai donor elektron dan bisa bereaksi dengan radikal bebas, sehingga mengkonversikannya ke produk yang lebih stabil dan menghentikan reaksi radikal. Dalam reduksi Ferri (Fe), reduktor (antioksidan) dalam sampel akan mengurangi ion Fe^{3+} (Safriani *et al.*, 2011; Safriani *et al.*, 2015).

Senyawa antioksidan yang larut dalam air yang bertanggung jawab yaitu flavonoid dan fenolik (Othman, 2014). Ekstrak daun salam memiliki kemampuan dalam mencegah rusaknya sel,sehingga tidak terjadi peroksidasi lipid dan produksi MDA menurun (Sulistiyani *et al.*, 2014)

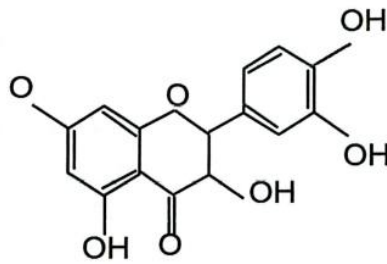
Kandungan flavonoid dalam daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) yaitu kuersetin. Flavonoid adalah senyawa antioksidan polifenol alami, terdapat pada tumbuhan, buah-buahan dan minuman (teh dan wine) yang dapat menurunkan kadar kolesterol dan kadar trigliserida dalam darah, melindungi pembuluh arteri dari kerusakan, mengurangi jumlah penimbunan kolesterol dipermukaan endotel pembuluh darah arteri (Siregar, 2015).

Daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) mempunyai kandungan senyawa bioaktif flavonoid kuersetin, tanin dan saponin yang dapat mengurangi kerusakan endotel dengan cara menurunkan kadar kolesterol dan LDL melalui peningkatan sintesa asam empedu. Produksi asam empedu memerlukan kolesterol sebagai bahan bakunya sehingga dengan meningkatnya sekresi asam empedu, kadar kolesterol dalam darah akan menurun (Siregar, 2015).

Flavonoid kuersetin, tanin dan saponin juga berperan sebagai antioksidan dalam menekan terjadinya oksidasi LDL sebagai hasil reaksi inflamasi. Flavonoid juga berperan sebagai antioksidan yang menekan pelepasan radikal O₂ yang reaktif sehingga menekan terjadinya kerusakan endotel dengan menghambat inisiasi dari reaksi rantai oksidasi dan sebagai anti inflamasi yang dapat menghambat reaksi inflamasi, sehingga mencegah makin banyaknya makrofag. Antioksidan juga mengurangi toksisitas LDL yang teroksidasi terhadap sel endotel dan juga mengurangi degradasi oksidatif akibat nitrit oksida (Siregar, 2015).

2.3. Flavonoid

Flavonoid menurut Cook dan Samman (1996) dan Markham (1988) merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Keberadaan flavonoid di dalam daun dipengaruhi oleh proses fotosintesis. Oleh sebab itu, daun muda tumbuh belum terlalu banyak mengandung flavonoid. Flavonoid termasuk ke dalam golongan senyawa fenolik. Struktur kimia flavonoid adalah C₆-C₃-C₆.



Gambar 2. Struktur Flavonoid (Markham, 1988)

Kerangka flavonoid terdiri dari satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah. Cincin tengah flavonoid berupa heterosiklik yang mengandung oksigen. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri 15 atom karbon dengan dua cincin benzen (C_6) terikat pada suatu rantai propana (C_3) sehingga membentuk suatu susunan $C_6-C_3-C_6$. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur senyawa flavonoid, yaitu:

1. Flavonoida atau 1,3-diarilpropana

Beberapa senyawa flavonoida yang ditemukan di alam adalah antosianin sebagai pewarna pada tumbuhan kemudian ada flavonol, flavanon, khalkon yang berguna sebagai antikanker, auron, dan flavon. Golongan flavanon mempunyai gugus fungsi OH terikat, CH alifatik, C=O, C=C aromatik, C-O, dan C-H aromatik. Flavanon digunakan sebagai antibakteri atau antivirus.

2. Isoflavon atau 1,2-diarilpropanan

Isoflavon terdiri atas struktur dasar $C_6-C_3-C_6$ yang secara alami disintesis oleh tumbuh-tumbuhan dan senyawa asam amino aromatik fenilalanin atau tirosin. Isoflavon digunakan sebagai antiinflamasi, antikanker, antivirus, antialergi, penyakit kardiovaskuler, dapat melindungi proses osteoporosis pada tulang sehingga tulang tetap padat dan antikolesterol.

3. Neoflavonoid atau 1,1-diarilpropana

Neoflavonoid meliputi jenis flavonoid O-glikosida, flavonoid C-glikosida, flavonoid sulfat, dan biflavonoid. Biflavonoid atau biflavonil atau flavandioli merupakan dimer campuran antara flavon dengan flavanon atau dengan auron.

Hingga kini jumlah biflavonoid yang diisolasi dan dikarakterisasi dari alam terus bertambah, tetapi yang diisolasi dan dikarakterisasi dari alam terus bertambah, tetapi yang diketahui bioaktivitasnya masih terbatas. Biflavonoid yang banyak diteliti adalah ginkgetin, isoginkgetin, amentoflavon, morelloflavon, robustaflavon, hinokiflavon, dan ochnaflavon. Senyawa biflavonoid berperan sebagai antioksidan, antiinflamasi, antikanker, antialergi, antimikroba, antifungi, antibakteri, antivirus, pelindung terhadap iradiasi UV, vasorelaksan, penguat jantung, anti hipertensi, anti pembekuan darah dan mempengaruhi metabolisme enzim.

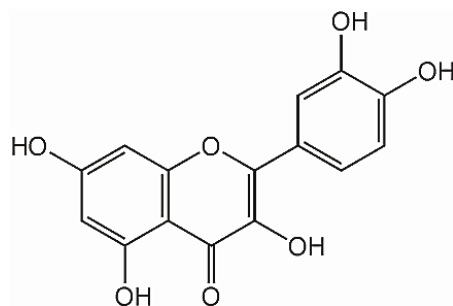
Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar kayu, kulit batang, kulit tepung sari, nektar, bunga, buah, dan biji. Hanya saja sedikit saja catatan yang melaporkan adanya flavonoid pada hewan, misalnya dalam kelenjar bau berang-berang, propolis (sekresi lebah) dan didalam sayap kupu-kupu, itupun dengan anggapan bahwa flavonoid tersebut berasal dari tumbuhan yang menjadi makanan hewan tersebut dan tidak dibiosintesis dalam tubuh mereka (Neldawati, 2013: 77).

Kandungan total flavonoid diukur berdasarkan keberadaan kuersetin didalam ekstrak tanaman. Analisis kandungan flavonoid dilakukan dengan penambahan pereaksi FeCl_3 . Sebagai asam lewis, AlCl_3 akan membentuk ikatan kompleks dengan gugus hidroksil dari senyawaan flavonoid. Perubahan ini diidentifikasi melalui absorbansi pada daerah sinar tampak melalui alat spektrofotometer. Semakin banyak kandungan senyawa flavonoid dalam suatu ekstrak maka secara visual warna kuning yang terbentuk akan semakin pekat (Neldawati, 2013: 77).

Senyawa flavonoid dialam umumnya sangat jarang ditemukan dalam bentuk aglikonnya. Menurut Harborne bahwa flavonoid dalam tumbuhan sering terdapat sebagai glikosida (flavonoid glikosida) dan jarang sekali ditemukan dalam bentuk tunggal/aglikon flavonoid. Oleh karena itu, untuk menganalisis flavonoid lebih baik untuk menghidrolisis glikosida yang terikat pada flavonoid tersebut sebelum memperhatikan kerumitan glikosida yang mungkin terdapat dalam ekstrak awal (Ridho, 2013: 7).

Penambahan HCl bertujuan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikon flavonoid dengan cara menghidrolisis o-glikosil. Glikosil yang terhidrolisis ini akan tergantikan dengan atom H⁺ dari asam yang memiliki sifat keelektronegatifan yang kuat. Serbuk Mg yang ditambahkan menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah. Ion magnesium ini diduga akan berikatan dengan senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak sehingga muncul larutan yang berwarna merah (Ridho, 2013: 7).

Kuersetin adalah senyawa kelompok flavonol terbesar, kuersetin dan glikosidanya berada dalam jumlah sekitar 60-75% dari flavonoid. Kuersetin dipercaya dapat melindungi tubuh dari beberapa jenis penyakit degeneratif dengan cara mencegah terjadinya proses peroksidasi lemak. Kuersetin memperlihatkan kemampuan mencegah proses oksidasi dari Low Density Lipoproteins (LDL) dengan cara menangkap radikal bebas dan menghelat ion logam transisi. Ketika flavonol kuersetin bereaksi dengan radikal bebas, kuersetin mendonorkan protonnya dan menjadi senyawa radikal (Sutir, 2012: 21). Kuersetin Seringkali terdapat dalam jumlah substansial dalam jaringan tanaman, sebagai antioksidan kuat, penghelat logam, peredam radikal, dan mencegah oksidasi dari lipoprotein densitas rendah (Haeria, 2014: 181).



Gambar 3. Struktur Kuersetin (Haeria, 2014)

Analisis kualitatif flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Spektrum serapan ultra violet dan serapan tampak merupakan cara tunggal yang paling bermanfaat untuk mengidentifikasi struktur flavonoid. Flavonoid mengandung sistem aromatis yang terkonjugasi dan dapat menunjukkan pita serapan kuat pada daerah UV-Vis. Metode tersebut juga dapat digunakan untuk melakukan uji secara kuantitatif untuk menentukan jumlah

flavonoid yang terdapat dalam ekstrak yang dilakukan dengan mengukur nilai absorbansinya. Absorbansi sebagai analisa kuantitatif dilakukan berdasarkan Hukum Lambert-Beer. Absorbansi dengan kadar flavonoid memiliki hubungan yang linear yaitu semakin tinggi absorbansi yang terukur maka kadar flavonoid yang terkandung didalam suatu tanaman juga semakin tinggi (Neldawati, 2013: 78). Menurut Dirjen POM (2014) range nilai absorbansi yang baik yaitu berkisar antara 0,2-0,8 di daerah ultraviolet atau cahaya tampak.

Kadar flavonoid didalam suatu tanaman berbeda-beda diantara setiap bagian, jaringan, dan umur tanaman, serta dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan. Faktorfaktor ini adalah temperatur, sinar ultraviolet dan tampak, nutrisi, ketersediaan air, dan kadar CO₂ pada atmosfer (Neldawati, 2013: 81).

Berdasarkan penelitian Rohman (2007) menyatakan bahwa daun mengkudu dengan kadar flavonoid 0,75 % memiliki efek aktivitas antioksidan sedang. Dan pada penelitian Pervin (2016) menyatakan bahwa sampel kulit batang *Amoora cucullata* dengan kadar flavonoid $663,60 \pm 0,18$ mg QE/g atau 66,360 % memiliki efek aktivitas antioksidan tinggi. Hal ini berdasarkan pernyataan Erukainure (2011) bahwa semakin tinggi kandungan flavonoid total suatu bahan, maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Beberapa penelitian menunjukkan adanya hubungan antara kadar total flavonoid yang terkandung dengan aktivitas antioksidannya.

2.4. Ekstraksi

2.4.1. Definisi Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan kedalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhriani, 2014).

2.4.2. Tujuan Ekstraksi

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik dan memisahkan senyawa yang mempunyai kelarutan berbeda-beda dalam berbagai pelarut komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam baik dari tumbuhan, hewan, dan biota laut dengan menggunakan pelarut organik tertentu. Proses ekstraksi ini didasarkan pada kemampuan pelarut organik untuk menembus dinding sel secara osmosis yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dalam pelarut organik dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara didalam dan diluar sel, mengakibatkan terjadinya difusi pelarut organik yang mengandung zat aktif keluar sel. Proses ini berlangsung terus menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif didalam dan diluar sel (Dirjen POM, 2000).

2.4.3. Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi menggunakan pelarut dapat dilakukan secara dingin yaitu maserasi dan perkolasi, dan secara panas yaitu refluks, soxhlet, digesti, infus, dan dekok (Dirjen POM, 2000).

Ada beberapa metode ekstraksi menurut Dirjen POM yaitu:

a. Cara Dingin

1) Maserasi

Maserasi adalah proses penyarian simplisia menggunakan pelarut dengan perendaman dan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi larutan zat aktif didalam sel dan diluar sel maka larutan terpekat didesak keluar. Proses ini berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan didalam dan diluar sel. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, metanol, etanol-air atau pelarut lainnya. Remaserasi berarti dilakukan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana yang mudah diusahakan. Metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil.

2) Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan. Menurut Mukhriani (2014) pada metode perkolasi, serbuk sampel yang dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogenya maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu.

b. Cara Panas

1) Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna. Menurut Mukhriani (2014) bahwa pada metode refluks, sampel dimasukkan bersama pelarut kedalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali kedalam labu.

2) Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya digunakan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Menurut Mukhriani (2014) pada metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur dibawah suhu refluks. Keuntungan dari

metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih.

3) Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

4) Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 86-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit).

5) Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama ($\geq 30^\circ\text{C}$) dan temperatur sampai titik didih air.

2.5. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan yang diperoleh dengan mengekstrak zat aktif dari simplisia nabati, simplisia hewani atau simplisia mineral yang berasal dari bahan bumi lainnya menggunakan pelarut yang sesuai. Kemudian, semua atau hampir semua pelarut dalam proses ekstraksi diuapkan dan masa atau serbuk yang terisi diperlukan sedemikian rupa sehingga memenuhi standar baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 1995). Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuannya melarutkan zat aktif dalam jumlah maksimum dan seminimum mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Ditjen POM, 2000).

Menurut Voight (1995), ekstrak dapat dikelompokkan menjadi 4 macam berdasarkan sifatnya, yaitu ekstrak encer, ekstrak kental, ekstrak kering, dan ekstrak cair. Ekstrak encer adalah sediaan yang memiliki konsistensi cair dan dapat dituang. Ekstrak kental adalah sediaan yang terlihat seperti sirup dalam keadaan dingin. Kandungan air ekstrak kental ini harus dibawah 30%. Tingginya kandungan air menyebabkan ketidakstabilan sediaan akibat adanya cemaran

bakteri. Ekstrak kering adalah sediaan yang memiliki konsistensi kering dan mudah dituang. Sebaiknya, ekstrak kering memiliki kandungan air tidak lebih dari 5%. Ekstrak cair adalah ekstrak yang dibuat sedemikian rupa sehingga 1 bagian simplisia sesuai dengan 2 bagian ekstrak cair.

2.6. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri merupakan analisa kimia kuantitatif didalam kimia analisis dengan mengukur berapa jauh energi radiasi yang diserap oleh absorbansi terisolasi suatu panjang gelombang. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi. Jadi spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi yang relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang (Khopkar, 2010: 225).

Spektrofotometri Ultra Violet Visible (UV-Vis) adalah teknik analisis Spektrofotometri yang menggunakan sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dan sinar tampak dengan menggunakan instrumen spektrofotometer. Prinsip dari spektrofotometer ultra violet visible (UV-Vis) adalah penyerapan sinar tampak untuk ultra violet dengan suatu molekul dapat menyebabkan terjadinya eksitasi molekul dari tingkat energi dasar ketinggian energi yang paling tinggi. Pengabsorbsian sinar ultra violet atau sinar tampak oleh suatu molekul umumnya menghasilkan eksitasi elektron bonding, akibatnya panjang absorpsi maksimum dapat dikolerasikan dengan jenis ikatan yang ada didalam molekul (Hendayana, 1994). Spektrofotometer ultra violet visible (UV-Vis) dapat digunakan untuk mengukur serapan cahaya pada daerah UV (100-200 nm) dan daerah sinar tampak (200-800 nm). Prinsip dasar analisis kuantitatif adalah hukum Lambert Beer.

$$A = -\log T = \epsilon \cdot b \cdot C = a \cdot b \cdot C$$

Keterangan :

A = Absorbansi

T = Transmittansi

ϵ = Absorptivitas molar, L cm⁻¹. mol⁻¹ (jika konsentrasi dalam satuan mol/Liter)

a = Absorptivitas, L cm⁻¹. gram⁻¹ (jika konsentrasi dalam satuan gram/liter)

b = Panjang sel, cm

C = Konsentrasi

Alat untuk mengukur transmittan atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang disebut spektrofotometer. Spektrofotometer terdiri atas spektrometer dan fotometer. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi. Spektrofotometer meliputi sumber tenaga radiasi stabil, monokromator, sel pengabsorpsi, dan detektor radiasi.

Kadar flavonoid dalam sampel herbal dapat ditentukan dengan berbagai metode. Metode yang diakui oleh Departemen Agama RI adalah spektrofotometri UV yang berdasar pada prinsip kolorimetri. Absorbansi dari warna yang terbentuk diukur dengan spektrometer UV. Kadar kuersetin dihitung sebagai kadar flavonoid total dalam sampel. Perhitungan ini berdasarkan pada hukum Lambert-Beer yang menunjukkan hubungan lurus antara absorbans dan kadar analat (Neldawati, 2013: 79).

Analisis kadar flavonoid merupakan pengukuran total flavonoid yang terkandung dalam sampel. Analisis kadar flavonoid dilakukan dengan spektrofotometri UV-Vis menggunakan aluminium klorida (AlCl₃), standar yang digunakan adalah kuersetin. Kuersetin merupakan salah satu jenis flavonoid yang umum digunakan sebagai standar dalam penentuan kadar flavonoid, yang secara biologis amat kuat, memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi (Pakaya, 2015) dan glikosidanya berada dalam jumlah sekitar 60-70% dari flavonoid (Kelly, 2011: 170).

Prinsip spektrofotometri UV-Vis dengan radiasi pada rentang panjang gelombang 200-800 nm dilewatkan melalui suatu larutan senyawa. Elektron-elektron pada ikatan didalam molekul menjadi tereksitasi sehingga menempati

keadaan kuantum yang lebih tinggi dan dalam proses menyerap sejumlah energi yang melewati larutan tersebut. Semakin longgar elektron tersebut ditahan dalam ikatan molekul, semakin panjang gelombang (energi lebih rendah) radiasi yang diserap (David, 2010: 105).

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan selama kurang lebih 3 bulan di Laboratorium Penelitian Kimia Farmasi Universitas Perintis Indonesia, Padang.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), oven, blender, batang pengaduk, cawan porselin, corong, gelas arloji, erlenmeyer, gelas kimia, inkubator, kuvet, magnetic stirrer, mikropipet, labu ukur, pipet tetes, pipet volume, *rotary evaporator*, timbangan analitik, botol maserasi atau bejana berwarna gelap, tabung reaksi, vial.

3.2.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Daun salam tua dan daun salam muda, Aluminium foil, etanol 70%, Aluminium klorida (AlCl_3) 10%, asam klorida, logam magnesium, natrium asetat 1 M, larutan standar kuersetin, aquades.

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun salam muda dan daun salam tua sebanyak 3 kg yang diambil dari Desa Pasar Baru, Kecamatan Bayang, Kabupaten Pesisir Selatan, Sumatera Barat

3.3.2. Identifikasi Sampel

Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Andalas Padang.

3.3.3. Penyiapan Sampel

Daun salam muda sebanyak 3 kg yang sudah dikumpulkan, dicuci dengan air mengalir sampai bersih. Selanjutnya daun salam muda dirajang, kemudian dikeringkan di tempatkan yang tidak terkena langsung sinar matahari selama \pm 12 hari dalam suhu ruang. Setelah daun salam kering, lalu dihaluskan menggunakan blender sampai menjadi serbuk. Kemudian diperoleh serbuk halus dari daun salam, serbuk halus siap untuk dianalisis lebih lanjut (Lasmin dkk, 2016). Selanjutnya mengulangi perlakuan diatas untuk sampel daun salam tua.

3.3.4. Pembuatan Ekstrak

Sampel daun salam muda yang telah diserbukkan ditimbang sebanyak 1 kg, dimasukkan kedalam wadah maserasi. Ditambahkan pelarut etanol 70% hingga simplisia terendam seluruhnya. Dibiarkan selama 24 jam terlindung dari cahaya, sambil sesekali diaduk. Kemudian larutan ekstraksi hasil maserasi disaring untuk memisahkan filtrat dan ampas. Selanjutnya ampas dimaserasi kembali dengan menggunakan cairan penyari etanol 70% yang baru. Hal ini dilakukan selama 3 hari berturut-turut. Ekstrak etanol 70% yang diperoleh dipisahkan dengan alat *rotary evaporator*. Kemudian mengulangi langkah perlakuan diatas untuk sampel daun salam tua.

3.4. Uji Karakteristik Ekstrak

3.4.1. Penentuan Rendemen Ekstrak

Rendemen dari ekstrak etanol daun salam muda dan daun salam tua dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat bahan yang diekstrak}} \times 100\%$$

3.4.2. Uji Susut Pengerinan

Susut pengerinan adalah pengukuran terhadap zat sisa setelah dilakukan pengerinan pada suhu 105°C selama 30 menit sampai berat zat konstan. Susut

pengeringan ini untuk mengetahui besar batasan maksimal atau rentang senyawa yang hilang pada proses pengeringan.

Uji susut pengeringan dilakukan dengan menggunakan krus porselen dan tutupnya yang sudah dibersihkan dan dikeringkan pada suhu 105°C didalam oven sebagai porselen kosong (A). Timbang sebanyak 5 g ekstrak etanol daun salam muda, masukan kedalam krus porselen dan kemudian ratakan dengan menggoyangkan krus porselen secara perlahan. Kemudian timbang sebagai berat krus porselen ditambah sampel sebelum dikeringkan (B). Selanjutnya krus porselen yang telah ditutupi dimasukkan kedalam oven dengan suhu 105°C selama 30 menit. Setelah itu, krus porselen yang telah ditutup didinginkan di dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang sebagai berat krus porselen ditambah sampel setelah dioven (C). Kemudian mengulangi perlakuan tersebut untuk sampel ekstrak etanol daun salam tua. Persentase susut pengeringan dapat dihitung sebagai berikut (Dirjen POM, 2000)

$$\% \text{ Susut pengeringan} = \frac{(B-A)-(C-A)}{(B-A)} \times 100\%$$

Dimana : A = Berat krus kosong (g)

B = Berat krus + sebelum sampel dipanaskan (g)

C = Berat krus + setelah sampel dipanaskan (g)

3.4.3. Kadar Abu Total Ekstrak

Menimbang sampel ekstrak etanol daun salam muda sebanyak 4 g yang sudah kering dan sudah diketahui kadar airnya. Dimasukkan kedalam cawan porselin yang sudah dipijar dan diketahui berat kosntannya. Setelah itu sampel ekstrak etanol daun salam muda dan daun salam tua tersebut dimasukkan kedalam oven dengan suhu 600°C selama 3 jam. Setelah sampel ekstrak etanol daun salam muda menjadi abu, Kemudian sampel didinginkan didalam desikator dan ditimbang berat abu yang diperoleh. Selanjutnya mengulangi perlakuan tersebut untuk sampel ekstrak etanol daun salam tua.

$$\% \text{ Kadar abu} = \frac{\text{Berat abu diperoleh}}{\text{Berat awal}} \times 100\%$$

3.5. Pembuatan Larutan Standar Kuersetin

Larutan induk dibuat dengan cara melarutkan 10 mg kuersetin (pembanding) ditimbang dan dilarutkan dalam etanol 70%, Kemudian dicukupkan volumenya dalam labu ukur 100 ml hingga tanda batas sehingga diperoleh larutan induk 100 ppm sebagai larutan standar. Kemudian dipipet 2 ml, 3 ml, 4 ml 5 ml dan 6 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan etanol 70% sehingga diperoleh konsentrasi 20, 30, 40, 50, 60 ppm sebagai kuersetin pembanding.

3.6. Analisis Kualitatif

Sebanyak 30 mg ekstrak etanol daun salam muda ditambahkan 0,1 g bubuk logam magnesium serta 5 tetes HCl pekat. Reaksi positif mengandung flavonoid yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning jingga sampai merah. Kemudian mengulangi langkah perlakuan diatas untuk sampel daun salam tua.

3.7. Analisis Kuantitatif

3.7.1. Pengukuran Panjang Gelombang Serapan Maksimum Kuersetin

Dari larutan induk dengan konsentrasi 100 ppm, ukur panjang gelombang serapan maksimum kuersetin dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm. Panjang gelombang serapan maksimum yang diperoleh ditentukan dari nilai absorban tertinggi.

3.7.2. Pembuatan Kurva Standar Kuersetin

Sebanyak 100 ppm dipipet 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml, dan 6 ml dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan etanol 70% sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 20, 30, 40, 50, 60 ppm. Masing-masing konsentrasi larutan diambil sebanyak 0,5 ml dan dimasukkan ke tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan dengan 1,5 ml etanol 70%, kemudian ditambahkan 0,1 ml aluminium klorida (AlCl_3) 10%, 0,1 ml natrium asetat 1 M dan 2,8 ml aquadest. Kemudian larutan dikocok dan didiamkan selama 30 menit, absorbansi dari larutan pembanding diukur dengan Spektrofotometri UV-Vis panjang

gelombang 400-800 nm. Setelah diperoleh absorbansi dari masing-masing larutan perbandingan, dibuat kurva kalibrasi dan diperoleh regresi persamaan linear.

3.7.3. Penentuan Kadar Flavonoid Total Pada Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight)

Ditimbang 0,5 g ekstrak daun salam muda kemudian ditambahkan 10 ml aquadest. Dikocok sampai homogen, kemudian diambil 0,5 ml larutan ekstrak daun salam muda dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 1,5 ml etanol 70%; 0,1 ml aluminium klorida ($AlCl_3$) 10%; 0,1 natrium asetat 1 M pada tabung reaksi. Kemudian larutan dikocok dan didiamkan selama 30 menit. Kemudian menyaring kembali larutan untuk memisahkan residu dan filtrat. Kemudian memasukkan filtrat kedalam kuvet kemudian absorbansi diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Perlakuan ini dilakukan sebanyak 3 kali. Selanjutnya mengulangi langkah perlakuan tersebut untuk sampel daun salam tua.

3.8. Analisis Data

3.8.1. Analisis Kadar Flavonoid

Kadar flavonoid dalam sampel herbal dapat ditentukan dengan berbagai metode. Metode yang diakui Departemen Kesehatan RI adalah spektrofotometri UV yang berdasarkan pada prinsip kolorimetri. Absorbansi dari warna yang terbentuk diukur dengan spektrofotometri UV-Vis. Kadar kuersetin dihitung sebagai kadar flavonoid total dalam sampel. Perhitungan ini berdasarkan pada hukum Lambert-Beer yang menunjukkan hubungan perbandingan lurus antara absorbansi dan kadar analit. Untuk menentukan kadar flavonoid pada berbagai jenis makanan berdasarkan nilai absorbansi digunakan data larutan standar. Data larutan standar ini digunakan untuk membuat persamaan regresi yang digunakan untuk kadar flavonoid.

$$y = a + bx$$

Keterangan :

y = Nilai absorbansi

x = Kadar flavonoid

a = Konstanta

b = Konstant

Kadar flavonoid dapat dihitung menggunakan rumus :

$$\mathbf{F = \frac{c \times v}{m} \times 100 \text{ gram}}$$

Keterangan :

F = Kadar flavonoid (mg/100 gram)

C = Konsentrasi Kuersetin (mg/L)

V = Volume (L)

m = Berat sampel (gram)

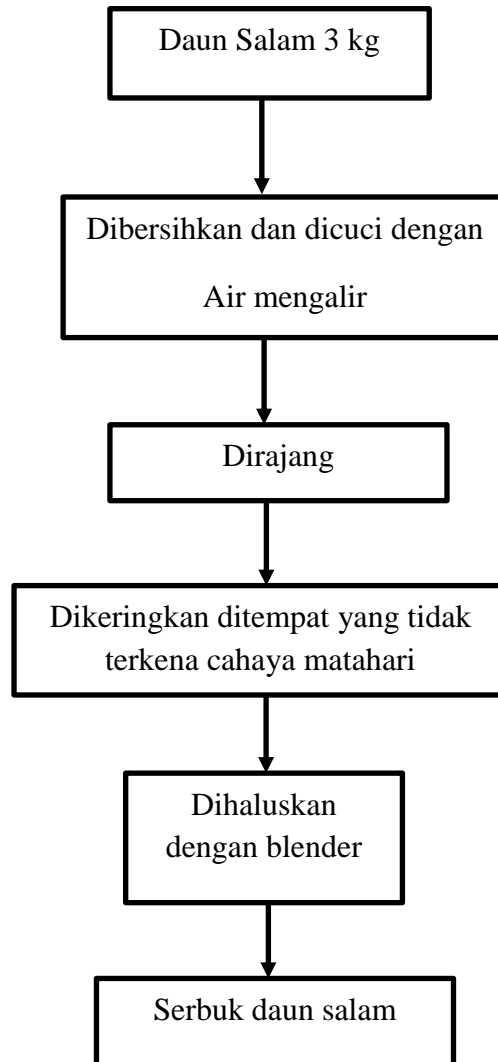
DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A., E.H. Hakim dan L. Makmur,1990. *Flavonoid dan Phyto Medica, Kegunaan dan Prospek*, Phyto Medica, Vol. I.
- Alzubedy, B. A. H. H., Alhamdany, S.O.M., Alkazaly, R. K. M., Alzubedy M. A. A., Kareem, Z. A., Alsadie, H. A. K. H., Sadoon, A. H. (2016). *Biological effect of lawsonia inermis plant*. Al-Mustansiriyah Journal of science. 27(4): 1-5.
- Anonim. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta : Departemen Kesehatan RI.
- Cook, N. C. dan Samman, S. 1996. *Metabolism, Cardioprotective Effect, And Dietary Sources*. Review Flavonoids-Chemistry &:66-76.
- Dalimartha, S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia, Jilid 2*. Jakarta:Trubus Agriwidya.
- David.2010. *Buku Ajar untuk Mahasiswa Farmasi dan Praktisi Kimia Farmasi Edisi 2*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Departemen Kesehatan RI. 1995. *Materia Medika (Edisi VI)*. Jakarta:Diktorat Jendral POM-Depkes RI.
- Ditjen POM.2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta:Departemen Kesehatan RI.
- Elfahmi., Herman,W., Oliver K., 2014. *Jamu: Indonesian Traditional Herbal Medicine Towards Rational Phytopharmacological Use*. Journal Of Herbal Medicine, Volume IV, P. 51– 73.
- Erukainure OL, Oke OV, Ajiboye AJ.2011. *Nutritional Qualities and Phytochemical Constituents of Clerodendrum Volubile, A Tropical Nonconventional Vegetable*. International Food Research Journal 18(4):1393-1399.
- Haeria.2014. *Kimia Produk Alami*. Makassar: Alauddin University Press.
- Harbie, T. 2015. *Tanaman Berkhasiat Obat 226 Tumbuhan Obat Untuk Menyembuhkan Penyakit dan Kebugaran Tubuh*.Cetakan Pertama 2015.
- Harbone, J. B.1996. *Metode Fitokimia Penentuan cara modern menganalisis tumbuhan*. Bandung:ITB.

- Harismah, K. dan Chusniatun, 2016. *Pemanfaatan Daun Salam (Eugenia Polyantha) Sebagai Obat Herbal Dan Rempah Penyedap Makanan*. *Warta Lpm*, Pp. Vol .19 No. 2 110-118.
- Hardiyanti, W.R. 2010. *Efek Antimikroba Ekstrak Daun Salam (Eugenia polyantha Wight.) Terhadap Bakteri Escherichia Coli dengan Metode Difusi Agar*. Tugas akhir. Skripsi. Malang:Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Hariati, S. 2005. *Standardisasi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia,Salah Satu Tahapan Penting dalam pengembangan Obat Asli Indonesia*. *Info POM Badan Pengawasan Obat dan Makanan*, Vol 6 No. 4,hal 1-5.
- Kelly, S. G.2011. *Quersetin*. *Alternative Medicine Review*. Journal volume 16, Nomor 2.
- Khopkar, S. M.2010. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Kurniawati, Nia. 2010. *Sehat dan Cantik Alami Berkat Khasiat Bumbu Dapur*.Bandung:PT Mizan Pustaka.
- Lashmin, Yulia, K. (2016). *Pengaruh konsentrasi pigmen warna dari daun pacar kuku (Lawsonialnermis L.) terhadap efesiensi dye sensitized solar cell (DSSC)*. Skripsi, Program Sarjana, Universitas Islam Negeri Alaudin. Makassar.
- Markham, K.R.. 1988. *Techniques of Flavonoid Identification (Cara-cara Mengidentifikasi Flavonoid)*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Bandung : Penerbit ITB.
- Mukhriani.2014. *Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif*. *Makassar: Jurnal kesehatan*. Vol. VII No. 2.
- Mukhriani.2014. *Farmakognosi Analisis*. Makassar: Alauddin University Press. Hal: 34-35.
- Mukhriani, M., Nonci, F. Y., & Munawarah, S. 2017. *Analisis Kadar Flavonoid Total Pada Ekstrak Daun Sirsak (Annona Muricata L.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis*. Makassar:Jurnal Farmasi UIN Alauddin Makassar, 3(2), 37-41.
- Neldawati, Ratnawulan, Gusnedi. 2013. *Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavanoid Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat*. Padang: Pillar Physics, Vol 2.

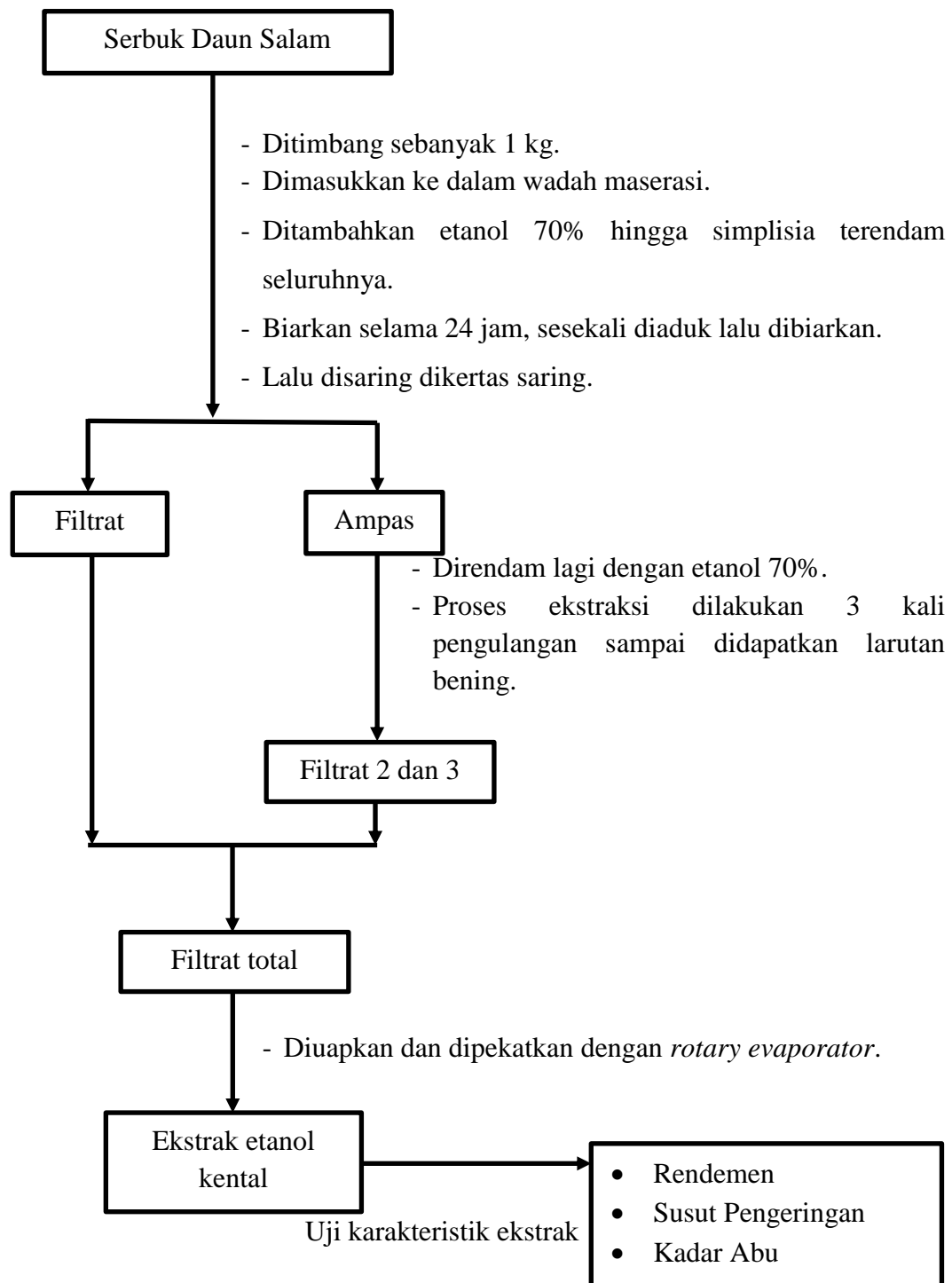
- Prahastuti, S., Tjahjani, S. dan Hartini, E., 2011. *The Effect Of Bay Leaf Infusion (Syzygium Polyanthum (Wight) Walp) To Decrease Blood Total Cholesterol Level In Dyslipidemia Model Wistar Rats*. Jurnal Medika Planta, P. Vol. 1 No.4.
- Riansari, A. 2008. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Salam (Eugenia Polyantha) Terhadap Kadar Kolestrol Total serum Tikus Jantan Galur Wistar Hiperlipidemia*. Skripsi. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Ridho, Ery Al, dkk. 2013. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum dengan Metode DPPH (2,2 Diifenil-1-Pikrilhidrazil)*. Pontianak: Universitas Tanjung pura.
- Rohyami Y, Shabur, T.J. 2008. *Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daging Buah Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa Boerl) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis, vol 5*. Jogjakarta: Prosiding Seminar Nasional Farmasi UII.
- Rusdi. 1988. *Tumbuhan sebagai Sumber Bahan Obat*, Padang: Universitas Andalas
- Saifudin, A., Rahayu, V., & Teruna, H.Y. 2011. *Standardisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta : Graha Ilmu.
- Syarifuddin, K. A., Yusriyani, Y., & Dewi, A. 2022. *Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Tempuyung (Sonchus arvensis) Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis*. Fito Medicine: Journal Pharmacy and Sciences, 13(2), 69-76.
- Sumono, A. dan Wulan, S.D.A. 2009. *Kemampuan air rebusan daun salam (Eugenia polyantha W.) dalam menurunkan jumlah koloni bakteri Streptococcus sp*. Majalah Farmasi Indonesia, 20(3), 112- 117.
- Sutir, Fitriadi. 2012. *Analisis Kandungan Senyawa Flavonoid Total dalam Sediaan Cair Kasumba Turate (Carthamus tinctorius Linn.) secara Spektrofotometri UV-Vis*. Makassar: Universitas Hasanudin.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Penerjemah: S. N. Soewandhi. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.

Lampiran 1. Tahap Penyiapan Sampel Daun Salam Muda dan Daun Salam Tua



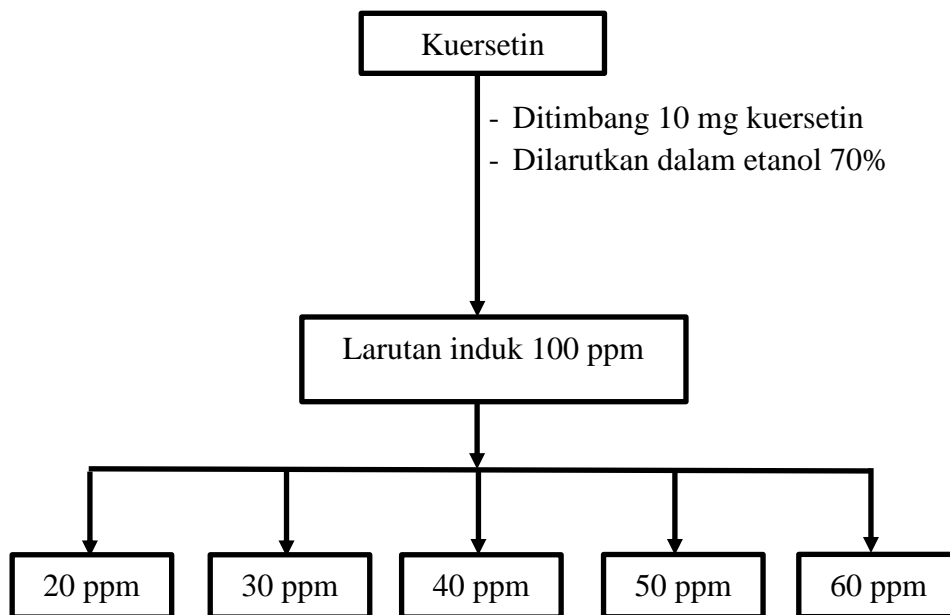
Gambar 4. Skema Kerja Tahap Penyiapan Sampel Daun Salam Muda dan Daun Salam Tua.

Lampiran 2. Tahap Ekstraksi Sampel Daun Salam Muda dan Daun Salam Tua.



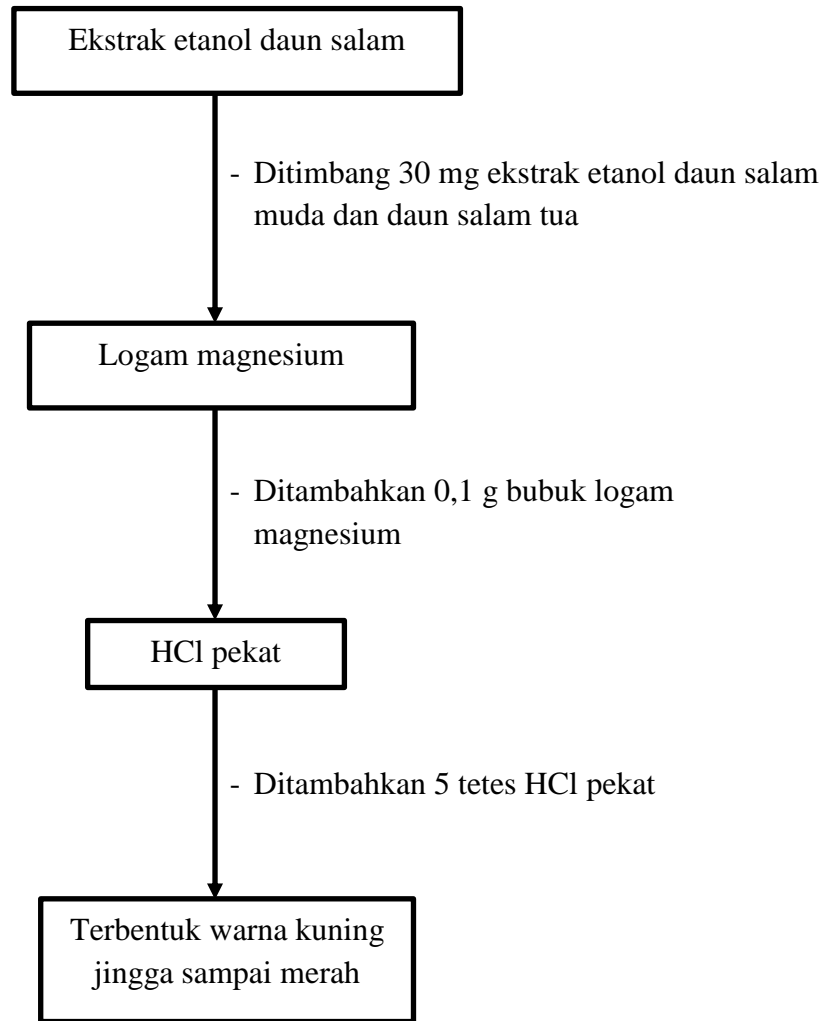
Gambar 5. Skema Tahap Ekstraksi Sampel dan Uji Karakteristik Ekstrak Daun Salam Muda dan Daun Salam Tua.

Lampiran 3. Pembuatan Larutan Standar Kuersetin



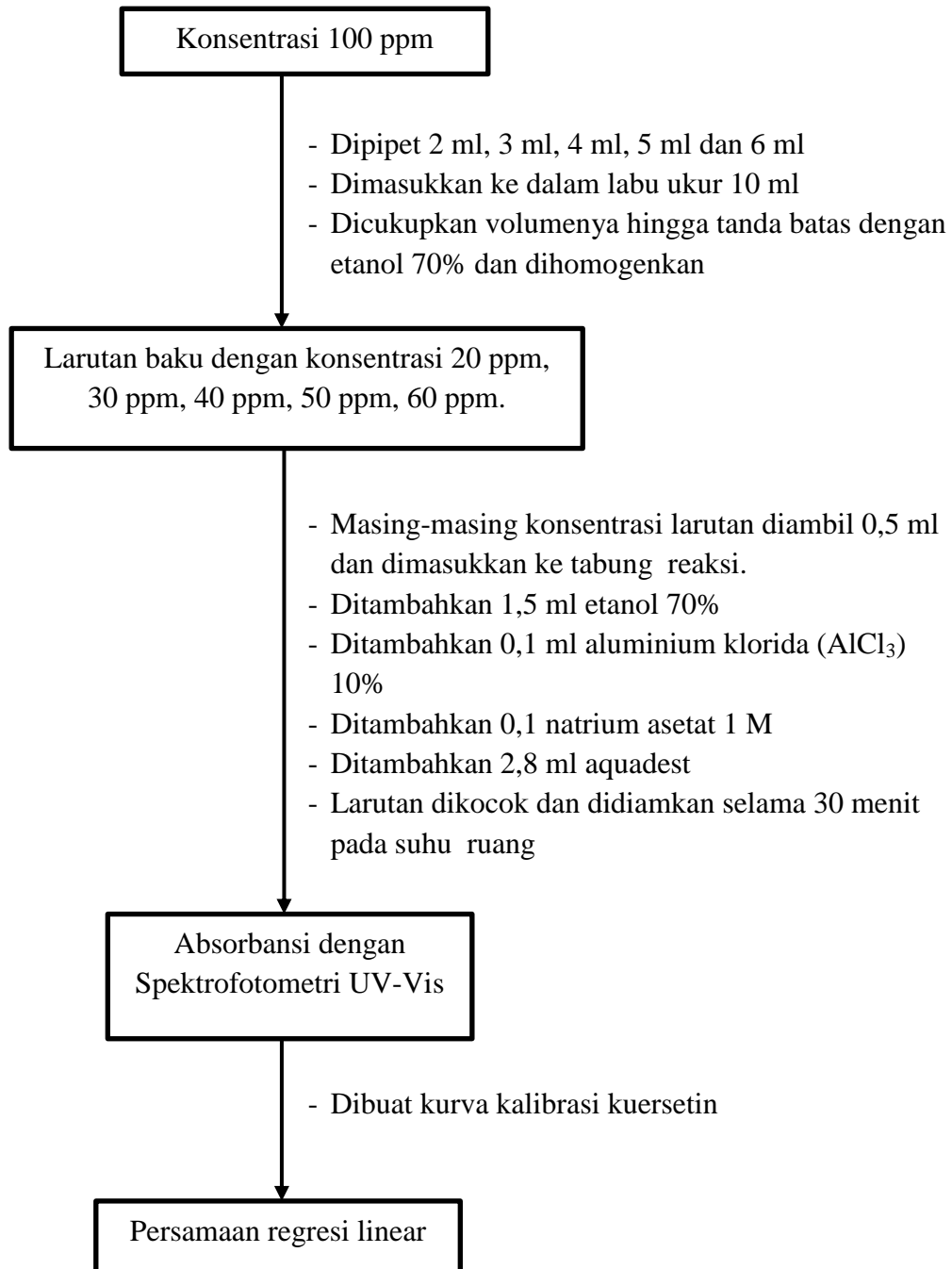
Gambar 6. Skema Pembuatan Larutan Standar Kuersetin

Lampiran 4. Analisis Kualitatif Daun Salam Muda dan Daun Salam Tua



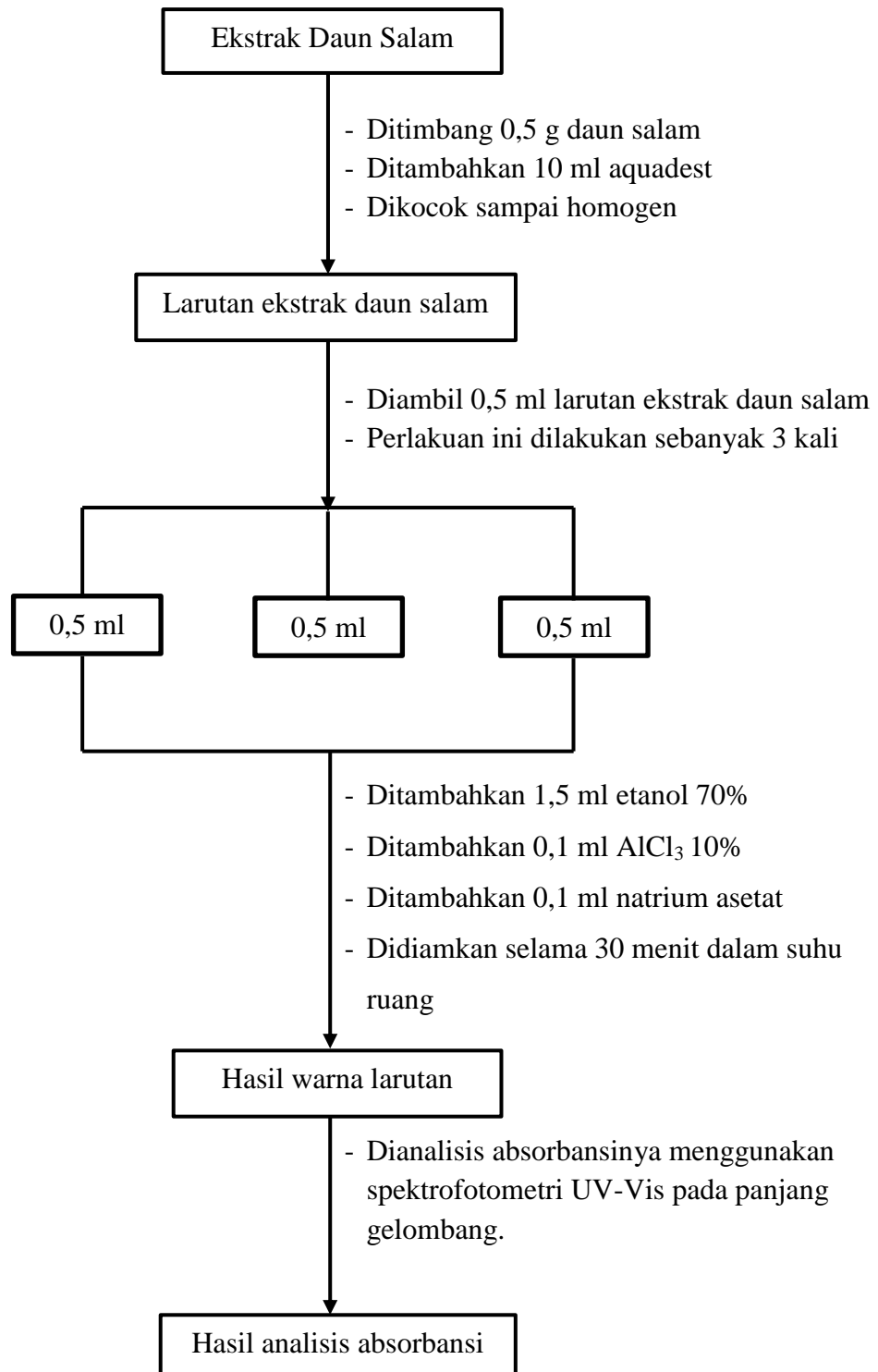
Gambar 7. Skema Identifikasi Flavonoid Pada Sampel.

Lampiran 5. Analisis Kuantitatif



Gambar 8. Skema Pembuatan Kurva Kalibrasi Kuersetin

Lampiran 6. Analisis Kuantitatif



Gambar 9. Skema Pengukuran Kadar Flavonoid Total pada Ekstrak Daun Salam Muda dan Daun Salam Tua

