

**ANALISIS KANDUNGAN RUTIN PADA DAUN SINGKONG DAN OLAHANNYA
MENGUNAKAN PEREAKSI GESER**

Laporan Tugas Akhir

Ade Kurnia Saeful

11171004



**Universitas Bhakti Kencana
Fakultas Farmasi
Program Strata I Farmasi
Bandung
2021**

ABSTRAK

**Analisis Kandungan Rutin Pada Daun Singkong Dan Olahannya Menggunakan
Pereaksi Geser**

Oleh:

Ade Kurnia Saeful

11171004

Tanaman singkong (*Manihot utilissima* pohl) dapat dijadikan sebagai sumber makanan di Indonesia. Selain umbinya yang dijadikan sebagai kudapan, daunnya dapat dijadikan sebagai hidangan yang bernutrisi. Salah satu kandungan yang terdapat dalam daun singkong adalah rutin. Rutin mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, sehingga mempunyai manfaat juga bagi kesehatan. Pengolahan makanan dapat berpengaruh terhadap kandungan di dalamnya. Tujuan pada penelitian ini adalah mengetahui perbedaan kandungan rutin pada daun singkong sebelum dan sesudah diolah menggunakan metode spektrofotometri sinar tampak. Penetapan kadar rutin dalam sampel menggunakan metode adisi. Kemudian pengujian kandungan rutin ini menggunakan prinsip reaksi geser yaitu dengan penambahan reagen $AlCl_3$. Sebelum dilakukan kadar rutin pada daun singkong dilakukan validasi metode meliputi parameter linearitas $r = 0,9944$, $BD = 0,6618 \mu g/mL$ $BK = 2,2061 \mu g/mL$, presisi intraday secara berturut-turut yaitu 0,7144%, 0,8181% dan 0,988% . Perolehan kembali berada pada rentang (100-110%). Pada konsentrasi 0,3 $\mu g/mL = 100\%$, 0,4 $\mu g/mL = 109\%$, dan 0,5 $\mu g/mL = 104\%$, Kemudian kadar rutin pada daun singkong segar = 1,94gram / 100gram kukus = 1,7gram/ 100gram dan rebus 1,22gram/ 100gram. Bahwa kadar rutin lebih banyak pada daun singkong segar dan lebih kecil pada daun singkong dengan cara direbus. Dapat disimpulkan bahwa pengolahan daun singkong dapat mengurangi kadar rutin.

Kata Kunci : daun singkong, rutin, Pereaksi geser

ABSTRACT

Analysis of Rutin Content in Cassava Leaves and Their Processes Using Shear Reagents

Oleh:

Ade Kurnia Saeful

11171004

Cassava (*Manihot utilissima* pohl) can be used as a food source in Indonesia. In addition to the tuber that is used as a snack, the leaves can be used as a nutritious dish. One of the ingredients contained in cassava leaves is rutin. Rutin has activity as an antioxidant, so it has health benefits as well. Food processing can affect the content in it. The purpose of this study was to determine the differences in the rutin content of cassava leaves before and after processing using visible light spectrophotometry. Determination of rutin levels in the sample using the addition method. Then this rutin content test uses the shear reaction principle, namely by adding $AlCl_3$ reagent. Prior to rutin levels of cassava leaves, method validation was carried out including linearity parameters $r = 0.9944$, $BD = 0.6618$ g/mL $BK = 2.2061$ g/mL, intraday precision respectively 0.7144%, 0,8181% and 0.9888% . Earnings are in the range (100-110%). At a concentration of 0.3 g/mL= 100%, 0.4 g/mL= 109%, and 0.5 g/mL= 104%, then rutin levels in fresh cassava leaves = 1.94gram / 100gram steamed = 1,7gram/100gram and boiled 1.22gram/100gram. That rutin levels are more in fresh cassava leaves and smaller in cassava leaves by boiling. It can be concluded that the treatment of cassava leaves can reduce the levels of rutin.

Keywords: cassava leaves, rutin, shear reagent

LEMBAR PENGESAHAN

**ANALISIS KANDUNGAN RUTIN PADA DAUN SINGKONG DAN
OLAHANNYA MENGGUNAKAN PEREAKSI GESER**

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan Sarjana Farmasi

Ade Kurnia Saeful

11171004

Bandung, 4 Agustus 2021

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



(apt. Winasih Rachmawati, M.Si.)
NIDN. 0412097702



(Anne Yulianti, M.Si.)
NIDN. 0411059101

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmaanirrahiim

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Dengan mengucapkan puji dan syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan segala karunia dan rahmat-Nya sehingga dapat melakukan laporan penelitian yang berjudul: “Analisis kandungan rutin pada daun singkong dan olahannya menggunakan spektrofotometri sinar tampak ” . Kelancaran proses penulisan laporan penelitian ini berkat bimbingan, arahan dan petunjuk serta kerjasama dari berbagai pihak, baik pada tahap persiapan, ataupun penyusunan.

Ucapan terimakasih serta penghargaan yang setinggi-tingginya penulis sampaikan kepada yang terhormat:

1. Keluarga tercinta, yang menjadi penyemangat dalam menulis selama menempuh pendidikan.
2. apt.Winasih Rachmawati,M.Si, dan Anne Yuliantini, M.Si selaku dosen pembimbing utama dan dosen pembimbing serta yang selama ini telah membimbing, memberi masukan, saran dan nasehatnya selama proposal.
3. Kepada dosen pengajar dan staf akademik atas bantuan yang telah diterima selama mengikuti perkuliahan di Universitas Bhakti Kencana Bandung.
4. Teman – teman lab 9 yang selalu senantiasa memberi dukungan dan semangat kepada saya dalam menyelesaikan tugas ini.
5. Teman-teman angkatan 2017 yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu karena telah memberikan semangat dan bantuan selama proses pembelajaran dikampus

Penulisan laporan tugas akhir ini menyadari bahwa masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun.

Harapan penulis semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca. Atas perhatiannya penulis ucapkan terima kasih

Bandung, 6 Juni 2021

Ade Kurnia Saeful

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	ii
DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI.....	iv
DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR LAMPIRAN.....	vi
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG.....	vii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
I.2. Rumusan masalah	2
I.3. Tujuan dan manfaat penelitian	2
I.4. Tempat dan waktu Penelitian	2
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
II.1 Tanaman Singkong	3
II.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Singkong	3
II.2.1 Kandungan Kimia Daun Singkong.....	5
II.3.1 Budidaya Singkong.....	6
II.4.1 Manfaat dan Khasiat.....	6
II.2 Senyawa Rutin.....	7
II.3 Spektrofotometer UV-Vis.....	8
II.4 Validasi Metode.....	10
II.4.1. Kecermatan (Akurasi).....	10
II.4.2. Keseksamaan (Presisi).....	11
II.4.3. Linieritas	12
II.4.4. Uji Selektivitas.....	12
II.4.5. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi	13
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	14
BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN	15
IV.1. Persiapan dan Pengolaan Sampel	15
IV.3. Penapisan Fitokimia	15
IV.4. Pembuatan Reagen	16
IV.5. Pembuatan Larutan Induk Rutin 1000 ppm.....	16
IV.6. Pembuatan Larutan Blangko	16

IV.7.	Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Rutin	16
IV.8.	Penentuan Kurva Kalibrasi Rutin	16
IV.9.	Validasi Metode.....	17
IV.9.1	Uji Lineritas	17
IV.9.2	Uji Sensitivitas (BD & BK).....	17
IV.9.3	Akurasi.....	17
IV.9.4	Presisi.....	17
IV.10.	Penentuan Kadar Rutin Dalam Larutan Sampel.....	18
DAFTAR PUSTAKA		28

DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI

Gambar 2.1 Manihot Utilisima Folium.....	3
Gambar 2. 2 Struktur Senyawa Rutin	7
Gambar 2.3 Diagram Skematik Spektrofotometer UV-Vis	8
Gambar 2.4 Kisaran Panjang Gelombang Suatu Bahan Optik Transparan	10
Gambar 5. 1 penentuan panjang gelombang serapan maksimum rutin	20
Gambar 5. 2 uji selektivitas Rutin.....	21
Gambar 5. 3 grafik regnesi linier	22
Gambar 5. 4 grafik regnesi linier	25
Gambar 5. 5 kadar rutin dalam sampel	26

DAFTAR TABEL

Tabel II.1 Rentang Rata-Rata % Recovery Yang Dapat Diterima.....	11
Tabel V. 1 Penapisan Fitokimia	19
Tabel V. 2 Parameter Linieritas Rutin	23
Tabel V. 3 Data presisi <i>interday</i> Rutin.....	24
Tabel V. 4 Data Presisi Estraday Rutin.....	24
Tabel V. 5 Data Akurasi Rutin.....	25
Tabel V. 6 Statistik.....	26

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat determinasi.....	31
Lampiran 2. Pembuatan Estrak daun singkong.....	32
Lampiran 3. pembuatan reagen.....	33
Lampiran 4. Pembuatan larutan induk rutin 1000 ppm	34
Lampiran 5. Pembuatan Kurva Kalibrasi.....	34
Lampiran 6. Pembuatan penapisan fitokimia	37
Lampiran 7. Presisi	37
Lampiran 8. Akurasi	38
Lampiran 9. Uji selektivitas rutin	40
Lampiran 10. Penentuan kadar rutin dalam sampel.....	41
Lampiran 1 1 Surat pernyataan bebas plagiasi	45
Lampiran 1 2 Surat Persetujuan untuk dipublikasikan di media online	46
Lampiran 1 3 Hasil cek turnitin LPPM	47
Lampiran 1 4 Persetujuan pembimbing.....	48

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

AlCl_3 : Aluminium klorida

Na Asetat : Natrium asetat

Ppm : *parts per million*

BAB I. PENDAHULUAN

I.1. Latar belakang

Indonesia mempunyai potensi sumber daya alam yang sangat berlimpah terutama yang berasal dari hewan maupun dari tanaman yang bisa dijadikan sebagai sumber makanan. Salah satu tanaman yang sering dimanfaatkan sebagai bahan makanan adalah tanaman singkong (*Manihot utilissima* pohl) atau ketela pohon atau ubi kayu yang termasuk ke dalam famili Euphorbiaceae. Tanaman singkong merupakan tanaman tahunan dan tumbuhan tegak yang berupa semak atau pohon kecil dan akar-akarnya dapat menebal membentuk umbi yang banyak mengandung zat tepung (Yusuf and Untari 2005).

Bagian singkong yang sering dimanfaatkan masyarakat adalah bagian umbinya, sedangkan bagian daunnya masih terbatas dimanfaatkan sebagai sayuran terutama bagian batangnya, sedangkan bagian daun bagian bawah digunakan sebagai pakan ternak. Daun singkong telah banyak digunakan di masyarakat untuk mengobati diare dan sakit kepala (Sastroamidjojo S 2001). Daun singkong diketahui mengandung senyawa aktif flavonoid dan fenolik (Nur Faezah, H, and Y 2013). Flavonoid dan fenol merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan dan mempunyai banyak fungsi, salah satunya adalah sebagai antioksidan. Senyawa antioksidan menghambat aktivitas radikal bebas dalam tubuh dengan memberikan elektron pada molekul radikal bebas untuk menstabilkan molekul tersebut. Banyak flavonoid, termasuk rutin, kuersetin, phyllanthin, oktagonin, chrysin, miristin, katekin dan turunannya, dan proanthocyanidins oligomer telah terbukti efektif dalam studi in vitro Menghambat oksidasi dari *low density lipoprotein* (LDL) (Miller 1996)

Salah satu flavonoid yang terkandung dalam daun singkong adalah flavonoid rutin (Salawu et al. 2011). Rutin bisa juga disebut rutin, kuersetin-3-rutin atau sophoroside. Biasanya dapat dilewatkan melalui pelarut ekstraksi. Rutin yang dipisahkan dari tumbuhan. Rutin mudah dihidrolisis menjadi aglikonnya yaitu kuersetin. Kelarutan senyawa rutin dalam berbagai pelarut telah dipelajari secara ekstensif, dan kelarutan rutin dalam etanol murni lebih tinggi daripada Etanol: Air (50:50) (Nicoli S, Dall G a, Colom P 1993), Penelitian lain menunjukkan bahwa rutin lebih larut dalam etanol ketika suhu naik sampai 60°C, (Zi J, Peng B 2007), tetapi penelitian lain menunjukkan bahwa kelarutan rutin dalam metanol lebih tinggi daripada etanol (Krewson BCF 1952). Data kelarutan ini dapat digunakan untuk mengetahui kelarutan ekstrak daun singkong yang mengandung rutin. Bahruddin, Sirait, dan

Moesdarsono (2007) mengemukakan bahwa daun muda daun singkong mengandung 0,71% (b/b) rutin, daun tua mengandung 0,35% (b/b), dan daun kuning mengandung 0,16% (b/b). w). b/b)

Kandungan rutin dalam daun singkong dipengaruhi oleh usia tanaman, warna daun, ketebalan daun, besar tangkai, dan letak daun (Bahrudin dkk, 1990). Selain itu pengolahan daun singkong juga dapat mempengaruhi kadungan rutin didalamnya. Oleh karena itu pada penelitian ini akan dilakukan pengujian untuk mengetahui perbedaan kandungan rutin pada daun singkong sebelum dan sesudah diolah menggunakan metode spektrofotometri sinar tampak.

I.2. Rumusan masalah

Bedasarkan latar belakang diatas, maka peneliti merumuskan suatu permasalahan yaitu:

Apakah terdapat perbedaan kandungan senyawa rutin pada daun singkong sebelum dan yang sudah diolah

I.3. Tujuan dan manfaat penelitian

I.3.1. Tujuan

Mengetahui perbedaan kandungan senyawa rutin pada daun singkong sebelum dan yang sudah diolah

I.3.2. Manfaat

Dapat memberi informasi mengenai kandungan yang ada pada daun singkong baik yang sudah olah maupun yang belum diolah

I.4. Tempat dan waktu Penelitian

Penelitian ini mulai dilakukan pada bulan Februari – Mei 2021 di laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Tanaman Singkong

Ubi kayu (*Manihot utilisima* atau *Manihot esculenta crantz*) merupakan salah satu tanaman yang tersebar luas di Indonesia dan telah dibudidayakan di banyak negara di dunia. Singkong merupakan tanaman berumur panjang yang tumbuh di daerah tropis, sangat mudah beradaptasi dengan lingkungan tetapi sensitif terhadap suhu rendah. Tanaman singkong memiliki daya adaptasi yang luas. Inilah sebabnya mengapa singkong dapat ditanam kapan saja sepanjang tahun, tetapi risiko kegagalannya kecil

Tanaman singkong memiliki beberapa keunggulan, antara lain dapat tumbuh pada semua jenis tanah, selama tanah cukup gembur tidak memerlukan tanah yang subur, tetapi sebaliknya tidak tumbuh baik pada tanah yang terlalu lembab. Di Indonesia, singkong merupakan makanan pokok setelah beras dan jagung. Keunggulan daun singkong sebagai bahan nabati adalah kandungan proteinnya yang tinggi, atau dapat digunakan untuk keperluan lain, seperti bahan obat. Kayu dapat digunakan sebagai pagar taman atau sering digunakan sebagai kayu bakar untuk memasak di lingkungan pedesaan. Dengan berkembangnya teknologi, singkong digunakan sebagai bahan dasar dalam industri makanan dan bahan baku dalam industri pakan. Selain itu, juga digunakan dalam industri farmasi (Prihatman 2017)

II.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Singkong



Gambar 2.1 Manihot Utilisima Folium

Berdasarkan hasil identifikasi tumbuhan oleh (Medanense 2016) dan literatur pengantar dari (Rukmana 2002), Taksonomi singkong diuraikan sebagai berikut :

Kingdom : Plantae (tumbuh-tumbuhan)

Divisio : Spermatophyta (tumbuhan Berbiji)
Sub Divisio : Angiospermae (Berbiji tertutup)
Classis : Dicotyledoneae (biji berkeping dua)
Ordo : Euphorbiales
Familia : Euphorbiaceae
Genus : Manihot
Spesies : *Manihot utilisima* Pohf

Bagian singkong terdiri dari batang, daun, bunga dan umbi. Batang tanaman singkong berkayu dan beruas-ruas, warna batang bervariasi, ada yang masih muda dan umumnya berwarna hijau, jika sudah tua menjadi putih, abu-abu, atau abu-abu kehijauan. Batangnya mengandung empulur berwarna putih, lunak dan berstruktur seperti gabus (Purwono 2009). Daun singkong diketahui mengandung senyawa aktif flavonoid dan fenolik. Flavonoid dan fenol merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan dan memiliki banyak fungsi, salah satunya adalah sebagai antioksidan. Senyawa antioksidan menghambat aktivitas radikal bebas dalam tubuh dengan cara mendonorkan elektron pada molekul radikal bebas dan menstabilkan molekul tersebut (Nur Faezah et al. 2013).

Hal ini dapat terjadi karena klorofil yang banyak terkandung dalam daun itu memiliki kemampuan sebagai anti peradangan, anti-oksidan dan zat yang bersifat sebagai menyembuhkan luka (Solikhah R., Purwantoyo, and Rudyatmi 2019) kadar klorofil akan meningkat ketika bertambahnya umur sampai daun berkembang penuh dan kemudian kadar klorofil menurun karena daunnya semakin tua (Setiawati et al. 2016). Pada saat daun sudah tua diindikasikan bahwa ada senyawa lain yang berperan sebagai barrier utama untuk reaksi oksidasi yaitu flavonoid. Hal ini sesuai dengan penelitian (Solikhah R. et al. 2019) yang menyatakan bahwa pada daun muda, kandungan flavonoid masih rendah, kemudian semakin meningkat dengan semakin tuanya daun, dimana fotosintesis terjadi secara optimal.

II.2.1 Kandungan Kimia Daun Singkong

Daun singkong mengandung banyak senyawa murni dari jenis flavonoid seperti rutin, kersetin, dan sebagainya (Tsumbu et al 2011). Batangnya mengandung senyawa fenol (Yi et al 2010)). Ekstrak fenolik cortex umbi singkong juga memiliki aktivitas antioksidan (Yang, Dari, and Melonguane 2014) flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman (Rajalakshmi, D., & Narasimhan 1996). Tanaman obat yang mengandung flavonoid telah dilaporkan memiliki aktivitas, antibakteri, antioksidan, antivirus, antiinflamasi, antialergi, antidiabetes, dan antikanker. Efek antioksidan senyawa ini disebabkan oleh penangkapan radikal bebas melalui donor atom hidrogen dari gugus hidroksil flavonoid (Neldawanti 2013).

Meningkatnya kadar klorofil seiring bertambahnya umur sampai daun berkembang penuh dan kemudian kadar klorofil menurun ketika daun semakin tua (Setiawati et al. 2016) pada saat daun sudah tua diindikasikan bahwa ada senyawa lain yang berperan sebagai barrier utama untuk reaksi oksidasi yaitu flavonoid.

Kemudian memiliki kandungan protein yang cukup tinggi, yang setara dengan sumber energi karbohidrat, 4 kalori per gram protein. Sumber vitamin A per 100 gramnya mencapai 3.300 RE, sehingga baik untuk kesehatan mata. Kandungan serat yang tinggi dapat melancarkan buang air besar dan mencegah kanker usus besar dan penyakit jantung. Kandungan vitamin C setiap 100 gram daun singkong dapat mencapai 275 mg yang dapat menghindari sariawan. Asupan vitamin C dapat lebih menjaga kekebalan tubuh. Kandungan daun singkong 6 kali lipat dari umbi, 6,2%, dan karoten hanya ada di daun, tapi tidak di umbi sama sekali. Daun singkong juga mengandung 84,4 gram air dan 67 gram bagian yang dapat dimakan. Kandungan protein tertinggi pada daun singkong adalah daun muda berumur enam bulan. Semakin tua daun singkong, semakin sedikit kandungan protein pada daunnya. (Prihandana and Noerwijati 2011)

II.3.1 Budidaya Singkong

Singkong merupakan tanaman yang mudah tumbuh yang dikenal oleh petani di Jawa, Sumatera, dan pulau-pulau lain di Indonesia. Singkong bisa hidup di tanah yang relatif miskin, tidak membutuhkan terlalu banyak pupuk atau pestisida, dan bisa menghasilkan setidaknya 7-9 ton per hektar. Dalam hal penanaman, sistem penanaman di daerah yang berbeda mungkin berbeda karena faktor geografis, tetapi dalam hal cara penanaman dan cara panen, kira-kira sama, yaitu berdasarkan iklim. Berdasarkan daya adaptasinya, singkong dapat bertahan hidup secara luas di daerah yang cukup ekstrim, biasanya beriklim tropis, seperti Indonesia. Singkong merupakan tanaman yang fleksibel karena dapat tumbuh dan berproduksi di daerah dataran rendah maupun dataran tinggi, mulai dari ketinggian 10-1500 m dpl. Selain itu, singkong juga sangat cocok untuk dikembangkan di lahan tandus, subur, dan langka air.. Umum panen singkong dibagi menjadi dua kelompok yaitu genjah (6-8 bulan) dan dalam (8-12 bulan). Kriteria utama umur panen ubi kayu adalah kadar pati optimal, yakni pada saat tanaman berumur 7-9 bulan yang ditandai dengan pertumbuhan daun berkurang, warna daun mulai agak menguning, dan banyak daun yang rontok (Purwono dan Heni Purnamawati 2007)

II.4.1 Manfaat dan Khasiat

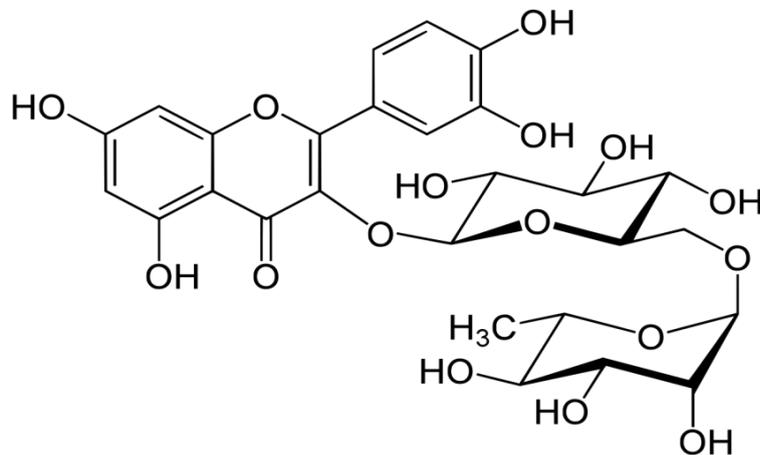
Daun singkong banyak manfaatnya dan daun ini harganya cukup ekonomis sehingga daun singkong banyak dimanfaatkan sebagai obat antara lain untuk anti kanker, mencegah konstipasi dan anemia, serta meningkatkan daya tahan tubuh. Kandungan yang ada adalah vitamin dan mineralnya rata-rata lebih tinggi dibandingkan dengan sayuran daun lain. Vitamin A dan C pada daun singkong berperan sebagai antioksidan yang mencegah proses penuaan dan meningkatkan daya tahan tubuh terhadap serangan penyakit. Kandungan kalsium yang tinggi sangat baik untuk mencegah tulang seperti rematik dan asam urat.

Daun singkong juga dapat membantu pemulihan kulit dan tulang menurut berbagai analisis dapat meningkatkan daya ingat, mood, kinerja otak dan metabolisme asam amino lain. Dalam 100 gram daun singkong mengandung 3.300 RE vitamin A yang baik untuk mencegah sariawan dan meningkatkan kekebalan tubuh, membantu menangkal radikal bebas dan melindungi sel dari kerusakan oksidasi. Yang tidak kalah penting kandungan serat pada daun singkong yang cukup tinggi sehingga dapat membantu melancarkan buang air besar Khasiat dari daun singkong antara lain untuk

demam, sakit kepala, diare dan mata sering kabur. Selain itu, daun singkong juga dapat menambah nafsu makan. Daun singkong yang dikonsumsi secara rutin juga dapat mencegah aterosklerosis (penimbunan lemak di dinding pembuluh darah) yang bisa berdampak pada serangan jantung (Prihandana and Noerwijati 2011)

II.2 Senyawa Rutin

Rutin merupakan bentuk glikosida dari flavonoid kuersetin dengan ikatan gula rutinosida dan banyak dijumpai di berbagai buah dan sayuran misalnya; apel, anggur merah, teh, singkong dan bawang merah. Nama lain dari rutin adalah rutoside dan quersetin-3-rutinoside (G. S. Kelly 2011) Rumus struktur dan padatan dari Rutin ditunjukkan pada gambar II.2



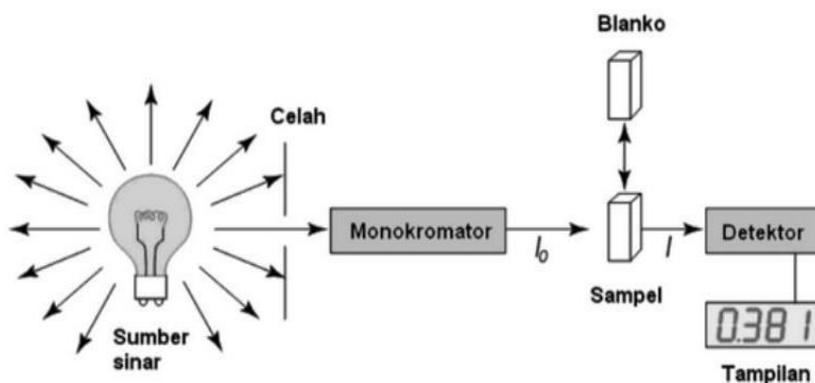
Gambar 2. 2 Struktur Senyawa Rutin

Senyawa rutin didalam dunia pengobatan digunakan sebagai penguat susunan kapiler, menurunkan permeabilitas dan fraggilitas pembuluh darah (Rie.T.R 1964). Selain itu rutin digunakan juga untuk mencegah terjadinya shock antihistamik dan berdasarkan fungsi biologinya rutin banyak digunakan untuk menyembuhkan beberapa penyakit antara lain; Pendarahan selaput jala, hipertensi, karena naiknya fragilitas kapiler, hemofili, migrain, pendarahan gusi dan sebagainya. Efek farmakologis rutin yang lain dapat mengobati penyakit yang disebabkan oleh kerapuhan kapiler telah diketahui Zemplen pada tahun 1944. Glikolisida ini secara kolektif disebut juga Vitamin Permeabilitas atau Vitamin P. Rutin adalah bioflavonoid kapiler yang dapat berinteraksi dengan beberapa jenis metabolit dan system enzim sehingga memberikan efek terhadap sistem vascular (Jenkins 1957).

Rutin mengandung tidak kurang dari 95% - 100,5% $C_{27}H_{30}O_{16}$ dihitung terhadap zat anhidrat dan rutin berbentuk serbuk hablur halus berwarna kuning pucat berbau khas dan tidak berasa. Kristal rutin mengikat tiga molekul air yang meleleh pada temperature 185 C dan 192C dan mengurai pada temperature 211C dan 215C. bila pengeringan dilakukan pada suhu 95C-97C masih terkandung 2 molekul H_2O , jika pemanasan dilakukan pada suhu 100C selama 12 jam dan tekanan 10 mmHg baru didapatkan rutin anhidrat. Akan tetapi bila rutin anhidrat ini dibiarkan diudara terbuka akan menyerap dua setengah molekul H_2O dari udara. Kristal rutin tanpa air akan menjadi cokelat pada 125°C. rutin larut dalam 10.000 air yang panas, 650 bagian dalam pelarut etanol (95%) dan 60 bagian dalam pelarut “etano” (95%) panas. “Rutin” larut juga pada pelarut gliserol, methanol dan isopropanol, mudah larut dalam merk Hawlett Packard 8452 diode array untuk mendapatkan spektrumnya.(Harbone.J.B 1987).

II.3 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer adalah instrumen yang selalu menyampaikan informasi tentang kekuatan cahaya yang diserap sebagai fungsi panjang gelombang. “Spektrofotometer” berkas ganda dapat digunakan untuk penyerapan molekul dan bekas tunggal. Secara umum, instrumen yang menguntungkan untuk spektrofotometer serapan adalah sistem berkas ganda. Prinsip instrumen ini adalah bahwa sumber cahaya memancarkan cahaya melalui monokromator, dan monokromator akan menggambarkan cahaya datang dari sumber cahaya dan menjadi pita panjang gelombang yang diperlukan. Dalam spektrofotometri, “hukum Lambert-Beer” menyatakan bahwa besaran radiasi cahaya yang diserap larutan sampel adalah konsentrasi zat fungsi dari eksponensial (Gandjar, I.G., dan Rohman 2017)



Gambar 2.3 Diagram Skematik Spektrofotometer UV-Vis

(Gandjar, I.G., dan Rohman 2017)

II.3.1 Instrumen “Spektrofotometer UV-Vis”

1) Sumber cahaya

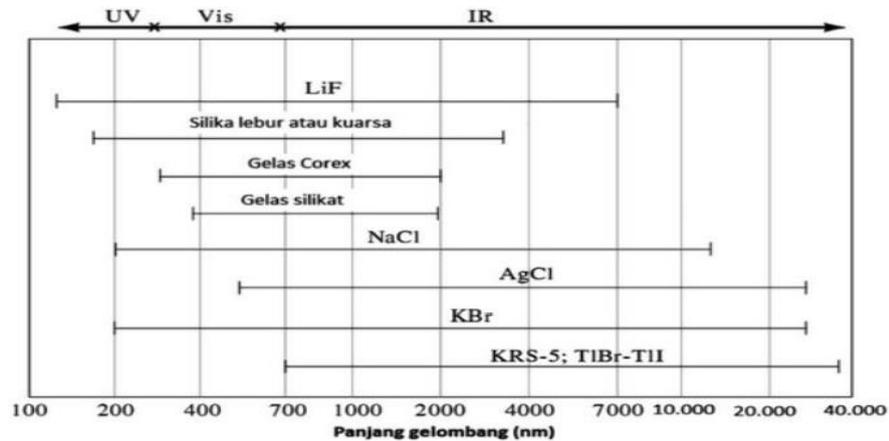
Sumber cahaya utama yang digunakan pada spektroskopi yaitu sumber sinar kontinu dan sumber garis. Sumber sinar kontinu mengemisikan cahaya dengan intensitas yang kontinu serta relatif stabil pada kisaran panjang gelombang yang luas, serta umum digunakan pada instrumen 16 spektrofotometrik serapan molekuler ataupun pada fluoresensi (Gandjar, I.G., dan Rohman 2017)

2) Monokromator

Untuk analisis secara kuantitatif, yang digunakan sinar harus memiliki sifat monokromatik yaitu cahaya dengan panjang gelombang satu tertentu. Hal tersebut dapat terjadi dengan cara menghabiskan sinar polikromatik, yaitu cahaya dengan sebagian panjang gelombang, dengan suatu monokromator. Beberapa elemen suatu monokromator yang terdiri dari “elemen pendispersi”, celah masuk (entrance slit), dan celah keluar (exit slit). Peranan elemen pendispersi yaitu untuk mendispersikan radiasi yang jatuh kepadanya sesuai dengan panjang gelombang (Gandjar, I.G., dan Rohman 2017)

3) Kuvet

Sel atau kuvet yang digunakan sebagai wadah sampel harus memiliki jendela daerah yang dituju yang transparan. Berbagai kisaran transmitans untuk bahan optik menunjukkan kisaran panjang gelombang fungsional untuk berbagai bahan optik yang digunakan pada daerah UV, sinar tampak serta inframerah (Gandjar, I.G., dan Rohman 2017)



Gambar 2.4 Kisaran Panjang Gelombang Suatu Bahan Optik Transparan

(Gandjar, I.G., dan Rohman 2017)

4) Detektor

Detektor berfungsi untuk mengukur intensitas radiasi yang melewatinya. Ada 2 jenis detektor yaitu yang mempunyai respon terhadap foton dan yang mempunyai respon terhadap panas (Gandjar, I.G., dan Rohman 2017).

II.4 Validasi Metode

Validasi metode melambangkan rangkaian suatu prosedur untuk memenuhi standar eksperimental tes dengan beberapa penilaian terhadap parameter berdasarkan perocan untuk mengkonfirmasi dan memastikan suatu metode analisis sudah sesuai dan memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita 2004). Beberapa parameter dari validasi metode yaitu:

II.4.1. Kecermatan (Akurasi)

Akurasi atau kecermatan” merupakan ukuran korelasi hasil dari analisis yang dilakukan dengan analit yang sesungguhnya. Akurasi dapat dinyatakan dalam “persen perolehan kembali (*Recovery*) dari analit yang dimasukkan dan dapat dihitung dengan rumus:

$$Recovery = \frac{\text{Hasil Analisis}}{\text{Nilai Sebenarnya}} \times 100\%$$

faktor yang dapat mempengaruhi kecermatan adalah salah satunya sebaran galat sistematik seluruh tahap dalam analisis. Maka dari itu galat harus dihindari dengan cara

menggunakan alat yang telah dikalibrasi, menggunakan pereaksi serta pelarut yang baik, dan lainnya (Harmita 2004).

Dapat ditentukan dengan dua cara dalam Pada parameter akurasi dapat ditentukan dengan dua cara yaitu dengan metode penambahan baku (standars addition method) serta menggunakan metode simulasi (*spiked-placebo recovery*). Pada simulasi metode dilakukan dengan cara dalam campuran bahan pembawa ditambahkan analit bahan murni yang selanjutnya 19 hasilnya dibandingkan dan dianalisis dengan ditambahkan kadar analit , sedangkan pada metode penambahan baku dengan cara sampel terlebih dahulu dianalisis lalu sampel yang dianalisis ditambahkan sejumlah analit dan dicampurkan lalu dianalisis kembali ('Harmita 2004')

Tabel II.1 Rentang Rata-Rata % Recovery Yang Dapat Diterima

Analit pada matriks sampel (%)	Rata-rata recovery yang diperbolehkan
100	98-102%
>10	98-102%
>1	97-103%
>0,1	95-105%
0,01	90-107%
0,001	90-107%
0,0001 (ppm)	80-110%
0,00001 (100 ppb)	80-110%
0,000001 (10ppb)	60-115%
0,0000001 (1 ppb)	40-120%

II.4.2. Keseksamaan (Presisi)

Akurasi atau presisi adalah ukuran penerapan antara hasil tes individu, diukur dengan distribusi nilai rata-rata berulang pada sampel. Akurasi dapat diukur dengan standar koefisien variasi. Presisi dapat dikatakan sebagai repeatability atau keterulangan. Metode yang dilakukan analisis berulang kali pada interval pendek di bawah kondisi yang sama disebut Reprodusktifitas , sedangkan reprodusktifitas adalah

metode yang dilakukan dalam kondisi yang berbeda. Jika standar deviasi relatif atau koefisien varians yang diberikan adalah 2% atau kurang, akurasiya memenuhi syarat. Namun, kriteria ini bisa fleksibel karena bergantung pada beberapa komponen seperti situasi laboratorium jumlah sampel dan konsentrasi analit, yang digunakan (Harmita 2004).

Presisi dapat dihitung dengan cara:

- a) Simpangan baku (standar Deviasi)

$$SD = \frac{\sqrt{\Sigma^2}}{\dots}$$

- b) Simpangan baku Relatif (Koefisien Variasi)

$$KV = \dots \times 100\%$$

II.4.3. Linieritas

Linieritas menggambarkan kemampuan dari suatu metode analisis yang membangikan respon langsung atau setiap adanya perubahan yang terjadi pada salah satu variabel maka akan diikuti dengan perubahan dengan jumlah yang sama dan sejajar pada variabel lainnya. Linieritas dihitung secara matematik dari data analit dalam sampel yang diperoleh dan dinyatakan dalam garis regresi. Perhitungan linieritas secara matematik melalui persamaan garis lurus antara hasil analisis terhadap konsentrasi analit. Sampel yang dianalisis yaitu minimal berjumlah 21 blanko yang terdiri delapan. Parameter pada linieritas yang dipakai “koefisien korelasi” atau “r pada regresi linier $Y = a + bX$ ”. Ikatan linier yang baik yaitu jika $r = +1$ ataupun -1 dan $b = 0$ nilai tergantung dari arah garis, sedangkan nilai a menyatakan kerentanan dari analisis “instrumen yang digunakan” (Harmita 2004).

II.4.4. Uji Selektivitas

Selektivitas adalah suatu metode kemampuannya yang hanya dapat mengukur zat tertentu saja secara teliti dan seksama dengan adanya komponen lain yang barangkali tersedia di dalam matriks sampel. Selektivitas bisa dinyatakan seringkali sebagai derajat penyimpangan (degree of bias) metode yang dilakukan terhadap sampel yang punya kandungan bahan yang ditambahkan berupa hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing, cemaran, lainnya, dan hasil analisis dibandingkan bersama sampel yang tidak punya kandungan bahan lain yang ditambahkan. Metode selektivitas dapat ditentukan bersama memperbandingkan hasil asumsi sampel yang mengandung cemaran, hasil urai,

senyawa sejenis, senyawa asing lainnya atau pembawa plasebo bersama hasil asumsi sampel tanpa penambahan bahan-bahan tadi. Penyimpangan hasil jikalau ada merupakan selisih dari hasil uji keduanya. Apabila cemaran dan hasil urai tidak dapat diidentifikasi atau tidak dapat diperoleh, maka selektivitas dapat ditunjukkan bersama langkah menganalisis sampel yang mengandung cemaran atau hasil uji urai bersama metode yang hendak diuji lantas dibandingkan bersama memanfaatkan metode lain untuk pengujian kemurnian layaknya kromatografi, asumsi kelarutan fase, dan Differential Scanning Calorimetry. Derajat kesesuaian kedua hasil asumsi tersebut merupakan ukuran selektivitas. Pada metode asumsi yang melibatkan kromatografi, selektivitas ditentukan melalui perhitungan energi resolusinya

(Rs).(Harmita 2004)

II.4.5. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas deteksi menggambarkan jumlah konsentrasi terendah dari suatu analit ketika sampel yang masih menerima dideteksi dan masih memberikan respon yang signifikan dibanding dengan blanko. Batas kuantitasi menggambarkan kuantitas terendah dari analit dalam sampel yang bisa memenuhi kriteria. Batas deteksi dan batas kuantitasi dapat ditentukan dari garis regresi linier dari kurva kalibrasinya yang telah dibuat sebelumnya ("Harmita 2004").

- a) Batas Deteksi dapat dihitung dengan rumus :

$$Q = \frac{3\sigma}{S}$$

- b) Batas Kuantitasi dapat dihitung dengan cara :

$$Q = \frac{10\sigma}{S}$$

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

Pada penelitian ini dilakukan pengujian secara eksperimental untuk menganalisis senyawa rutin pada daun singkong olahannya menggunakan metode spektrofotometri sinar tampak. Penelitian diawali dengan cara pengumpulan sampel, daun singkong, pengolahan daun singkong dengan cara direbus dan dikukus sampel, ekstraksi dengan etanol 70%, pengujian kandungan rutin dengan pereaksi geser ($AlCl_3$), pembuatan larutan induk, penentuan panjang gelombang serapan maksimum, validasi metode yang meliputi Linieritas, akurasi, presisi, uji selektifitas dan penetapan kadar rutin dalam sampel menggunakan metode adisi.