

PENDAHULUAN

Keanekaragaman tumbuhan Indonesia merupakan kekayaan alam yang patut disyukuri. Tumbuhan merupakan salah satu sumber daya alam yang sangat penting dalam upaya pengobatan dan upaya mempertahankan kesehatan masyarakat. Hingga saat ini menurut perkiraan badan kesehatan dunia (WHO), 80% penduduk dunia masih menggantungkan dirinya pada pengobatan tradisional termasuk penggunaan obat yang berasal dari tumbuhan. Lamtoro (*Leucaena leucocephala* (Lamk.) De Wit.) adalah salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai obat (Sartinah dkk., 2010:147).

Lamtoro yang dikenal dengan sebutan petai cina merupakan sejenis pohon polong-polongan. Daun lamtoro mengandung banyak zat aktif, seperti alkaloid, saponin, flavonoid dan tanin. Flavonoid sebagai salah satu golongan fenolik yang banyak terdapat pada jaringan tanaman dapat berperan sebagai antioksidan. Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga pasti ditemukan pula hampir pada setiap telaah ekstrak tumbuhan. Oleh karena itu, perlu untuk mengetahui cara mengenali, mengisolasi, dan mengidentifikasi flavonoid (Markham, 1988:1; Redha, 2010:196; dan Wibowo, 2013:86-87).

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron atau reduktan yang dapat menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dihambat. Reaksi oksidasi terjadi karena adanya senyawa oksigen reaktif. Secara umum senyawa oksigen reaktif dipicu oleh beberapa faktor lingkungan, seperti pestisida,

senyawa hasil pemanggangan daging berlemak, dan bahan aktif pangan (Winarsi, 2007:26).

Telah banyak penelitian mengenai tanaman lamtoro baik bijinya maupun daunnya, diantaranya daun lamtoro telah diteliti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* sedangkan bijinya memiliki aktivitas antioksidan (Nurhasanah: 1; dan Sartinah dkk.,2010: 147). Namun, belum ada penelitian mengenai daun lamtoro yang mengandung flavonoid dan berpotensi sebagai antioksidan.

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan bagaimana mengisolasi senyawa flavonoid dari daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) yang berpotensi sebagai antioksidan.

Tujuan dari penelitian ini adalah memperoleh senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan dari daun lamtoro. Dari penelitian ini diharapkan dapat membuktikan bahwa daun lamtoro mengandung senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan. Pada penelitian ini dipakai daun tumbuhan lamtoro karena pengambilan daun tidak akan terlalu merusak tanaman.

BAB I

TINJAUAN PUSTAKA

1.1. Lamtoro (*Leucaena leucocephala* (Lamk.) De Wit)

1.1.1. Klasifikasi

Tumbuhan *Leucaena leucocephala* di klasifikasikan sebagai berikut (Cronquist, 1981: 592; Jones *et al.*, 1997:175):

Kerajaan : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Anakkelas : Rosidae

Ordo : Fabales

Famili : Mimosaceae

Genus : *Leucaena*

Spesies : *L. leucocephala*

Sinonim : *Leucaena glauca* (Willd.) Benth. (1842)

Nama Umum : Petai cina (Indonesia), leucaena (Inggris)
lamtoro (Jawa), pelending (Sunda)

1.1.2. Morfologi

Leucaena leucocephala (**Gambar I.1**) merupakan semak atau pohon hingga setinggi 20 m, dengan kulit keabu-abuan dan lentisel yang menonjol. Daun majemuk

bipinnatus dengan 3-10 pasang pinna, dengan panjang berbeda-beda hingga 35 cm; stipula berukuran kecil; pinnae mempunyai panjang sekitar 10 cm; anak daun bersebelahan, 5-20 pasang per pinna, berbentuk pita lonjong, (6-)8-16(-21) mm x 1-2(-5) mm, pangkal anak daun sedikit kuneatus asimetris, ujung tajam atau apiculatus pendek, kedua permukaan tidak berambut. Perbungaan bongkol; tangkai perbungaan sepanjang 2-5 cm, setiap bongkol dengan diameter 2-5 cm, putih; kelopak seperti cawan dengan panjang sekitar 2,5 mm, mahkota seperti spatula dengan panjang 4,5-5 mm; stamen 10, bebas, putih krim hingga putih kehijauan; filamen sepanjang 8-10 mm. Buah polong tipis, lurus, 14-26 cm x 1,5-2 cm, coklat pada saat matang, berbiji 15-30. Biji ovoid pipih, 6-10 mm x 3-4,5 mm, coklat (Jones *et al.*, 1997:176-177).



Gambar I.1 *Leucaena leucocephala* (Lamk.) de Wit. (Jones *et al.*, 1997:177)
Cabang berbunga dan berbuah

1.1.3. Ekologi

Lamtoro lebih menyukai tanah yang dalam dengan sumber drainase yang baik dengan $\text{pH} > 5$, dan mempunyai toleransi rendah pada aluminium yang dapat larut. Ia mempunyai performa optimal pada tanah berkapur, tetapi dapat

ditemukan pada tanah bergaram dan pada tanah alkaline (basa) hingga pH 8. *Leucaena* tidak cocok pada tanah asam dengan pH < 4,8 atau pada kondisi-kondisi yang penuh air (Jones *et al.*, 1997:177).

1.1.4. Penyebaran tumbuhan

Lamtoro tumbuh di pusat diversitas genetik Guatemala tersebar secara luas di seluruh Meksiko dan Amerika Tengah hingga Amerika Selatan sebelum tahun 1500 sebelum Masehi. Dibawa oleh kapal-kapal layar Spanyol ke Filipina awal tahun 1600an, dan ia menyebar secara pantropikal (ke seluruh daerah tropis) pada abad ke-19. *Leucaena* ditemukan di seluruh Asia Tenggara, di banyak pulau. *Leucaena* biasa mendominasi vegetasi pada tanah-tanah berkapur (Jones *et al.*, 1997:175).

1.1.5. Tinjauan kimia

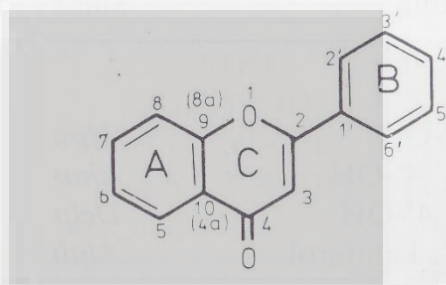
Biji lamtoro mengandung mimosin, leukanin, protein, dan leukanol. Daun lamtoro mengandung banyak zat aktif, seperti alkaloid, saponin, flavonoid dan tanin. Komposisi rata-rata daun per 100 gram zat kering berdasarkan berbagai sumber adalah: nitrogen(2,9-4,3 gram), fosfor(0,1-0,3 gram), kalium(1,5-2,5 gram), kalsium(0,5-2,2 gram), magnesium(0,2-0,4 gram). (Jones *et al.*, 1997:176; Wibowo, 2013:87).

1.1.6. Penggunaan tradisional

Biji lamtoro digunakan sebagai obat diabetes. Daunnya digunakan untuk mengobati disentri, cacingan, mengobati luka akibat tertusuk bambu. Ekstrak petroleum eter daun lamtoro telah dibuktikan mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Sartinah dkk., 2010:151; Wibowo, 2013:87).

1.2. Flavonoid

Dalam tumbuhan, aglikon flavonoid (yaitu flavonoid tanpa gula terikat) terdapat dalam berbagai bentuk struktur. Golongan flavonoid digambarkan pada **Gambar I.2**, semuanya mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi $C_6-C_3-C_6$, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tak dapat membentuk cincin ketiga. Agar mudah, cincin diberi tanda A, C, dan B; atom karbon dinomori menurut sistem penomoran yang menggunakan angka biasa untuk cincin A dan C, serta angka 'beraksen' untuk cincin B (sistem penomoran untuk khalkon dimodifikasi) (Markham, 1988:1).



Gambar I.2 Struktur flavonoid (Markham, 1988:28)

1.2.1. Penyebaran jenis flavonoid di alam

Flavonoid merupakan kandungan khas tumbuhan hijau dengan mengecualikan alga dan lumut. Flavonoid sebenarnya terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar, bunga, buah, dan biji. Hanya sedikit yang terdapat pada hewan, misalnya dalam kelenjar bau berang-berang, 'propolis' (sekresi lebah), dan dalam sayap kupu-kupu; itu pun dengan anggapan bahwa flavonoid tersebut berasal dari tumbuhan yang menjadi

makanan hewan tersebut dan tidak dibiosintesis di dalam tubuh mereka (Markham, 1988:10).

1.2.2. Sifat kelarutan flavonoid

Aglikon flavonoid adalah polifenol dan karena itu mempunyai sifat kimia senyawa fenol, yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Tetapi bila dibiarkan dalam larutan basa dan terdapat oksigen, banyak yang akan terurai. Karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih atau suatu gula, flavonoid merupakan senyawa polar, suatu golongan akan melarutkan golongannya sendiri, maka umumnya flavonoid larut dalam pelarut polar seperti etanol (EtOH), metanol (MeOH), butanol (BuOH), aseton, dimetil-sulfoksida (DMSO), dimetilformamida (DMF), air, dan lain-lain (Markham, 1988:15).

1.3. Antioksidan

Senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*electron donors*). Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan digolongkan menjadi 3 kelompok, yaitu antioksidan primer, antioksidan sekunder, dan antioksidan tersier (Winarsi, 2007:20).

1.3.1. Antioksidan primer

Antioksidan primer disebut juga antioksidan endogenus atau antioksidan enzimatis. Antioksidan primer bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru, atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif. Contoh antioksidan primer diantaranya

enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase. Enzim katalase dan glutathion peroksidase bekerja dengan mengubah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 sedangkan SOD bekerja dengan cara mengkatalisis reaksi dismutase radikal anion superoksida menjadi H_2O_2 . Aktivitas enzim-enzim tersebut sangat dipengaruhi oleh adanya ion logam, seperti besi, tembaga, seng, mangan, dan selenium (Winarsi, 2007:79).

1.3.2. Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan eksogenus atau non-enzimatis. Senyawa antioksidan non-enzimatis bekerja dengan cara menangkap radikal bebas, kemudian memotong reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar. Contoh antioksidan sekunder antar lain vitamin E, vitamin C, beta karoten, dan flavonoid (Winarsi, 2007:80).

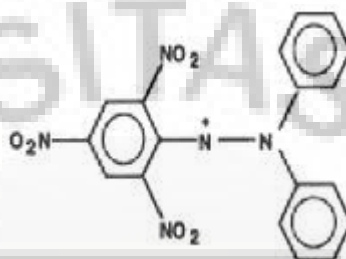
1.3.3. Antioksidan tersier

Antioksidan tersier bekerja dengan memperbaiki sel-sel dari jaringan yang rusak akibat serangan radikal bebas. Kelompok antioksidan tersier ini meliputi sistem enzim, seperti metionin sulfoksida reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel. Kerusakan DNA yang terinduksi senyawa radikal bebas dicirikan oleh rusaknya untai tunggal dan ganda, baik gugus non-basa maupun basa (Winarsi, 2007:81).

1.4. DPPH (1,1-difenil-2-pikrihidrazil)

Molekul DPPH (**Gambar I.3**) merupakan suatu molekul radikal bebas yang stabil karena adanya delokalisasi elektron terhadap molekul tidak mengalami

dimerisasi seperti yang terjadi pada kebanyakan radikal bebas lainnya. Jika larutan DPPH dicampur dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen, maka DPPH akan mengalami reduksi yang ditandai dengan perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Jumlah molekul DPPH yang tereduksi ini sebanding dengan jumlah molekul pereduksi (Molyneux, 2003:212).



Gambar I.3 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (Molyneux, 2003:212)

1.5. Metode Ekstraksi

Pengambilan bahan aktif dari suatu tanaman dapat dilakukan dengan proses ekstraksi. Dalam proses ekstraksi ini, bahan aktif akan terlarut oleh zat penyari yang sesuai sifat kepolarannya. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan yang mentah, daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna (Ansel, 1989:607). Metode ekstraksi terbagi menjadi dua cara, ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas.

1.5.1. Ekstraksi cara dingin

Ekstraksi cara dingin yaitu ekstraksi tanpa dilakukan proses pemanasan, hanya pada suhu ruangan. Yang termasuk ekstraksi cara dingin yaitu:

a. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan (kamar). Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada kesetimbangan (Depkes RI, 2000:10).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan (Depkes RI, 2000:11).

1.5.2. Ekstraksi cara panas

Ekstraksi cara panas dilakukan dengan disertai proses pemanasan. Yang termasuk ekstraksi cara panas yaitu:

a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada suhu titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI, 2000: 11).

b. Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI, 2000:11).

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada suhu 40°-50°C (Depkes RI, 2000:11).

d. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada suhu penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, suhu terukur 90°-98°C) selama waktu tertentu (Depkes RI, 2000:11).

e. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama ≥ 30 menit dan suhu sampai titik didih air (Depkes RI, 2000:11).

1.6. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan metode pemisahan campuran menjadi beberapa fraksi yang berbeda susunannya. Fraksinasi diperlukan untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama lainnya. Fraksinasi merupakan suatu prosedur pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolarannya. Metode pemisahan yang banyak digunakan adalah metode ekstraksi cair-cair dan kromatografi (Harborne, 1987:7).

1.6.1. Ekstraksi cair-cair

Ekstraksi cair-cair merupakan suatu proses pemurnian dengan prinsip *like dissolve like* yang berarti suatu senyawa akan larut dalam pelarut yang kepolarannya sama, sedangkan yang kepolarannya berbeda akan terpisah.

Ekstraksi cair-cair menggunakan suatu alat yaitu corong pisah. Dalam proses ekstraksi cair-cair terjadi perpindahan solut dari satu fase ke fase lain. Fase yang digunakan adalah dua cairan yang tidak saling bercampur, biasanya digunakan air dan pelarut organik (Harborne, 1987:8).

1.7. Kromatografi

Teknik kromatografi merupakan cara untuk memisahkan suatu campuran. Dalam kromatografi, komponen-komponen terdistribusi dalam dua fase yaitu fase gerak dan fase diam (Khopkar, 2010:135-136). Terdapat beberapa macam kromatografi yaitu kromatografi kolom, kromatografi lapis tipis (KLT), dan kromatografi lapis tipis-preparatif (KLT-preparatif).

1.7.1. Kromatografi lapis tipis (KLT)

KLT merupakan sistem kromatografi yang pemakaiannya paling luas pada fitokimia, karena dapat diterapkan hampir pada setiap golongan senyawa, kecuali pada kandungan yang bersifat atsiri. Cara ini dapat dipakai pada pemeriksaan pendahuluan ekstrak kasar dari kebanyakan senyawa dan juga sebagai cara pada pemisahan dan deteksi pendahuluan (Harborne, 1987:337).

Jarak yang ditempuh senyawa pada kromatografi biasanya dinyatakan dengan R_F . Bilangan R_F diperoleh dengan mengukur jarak antara titik awal dan pusat bercak yang dihasilkan senyawa, kemudian jarak ini dibagi dengan jarak antara titik awal dan garis depan (jarak yang ditempuh cairan pengembang). Bilangan ini selalu berupa pecahan dan terletak antara 0,01 dan 0,99 (Harborne, 1987:11).

1.7.2. Kromatografi lapis tipis-preparatif

Kromatografi Lapis Tipis-Preparatif adalah cara yang ideal untuk pemisahan cuplikan kecil (50 mg sampai 1g) dari senyawa tidak mudah menguap. Cuplikan yang akan dipisahkan ditotolkan berupa garis secara horizontal dan dikembangkan secara tegak lurus (vertikal) pada garis cuplikan sehingga campuran akan berpisah menjadi beberapa pita. Penjerap yang mengandung pita dikerok dari plat kaca kemudian dilarutkan dengan pelarut polar (Gritter dkk., 1991:140).

1.8. Spektrofotometri UV-visible

Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer merupakan alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi. Spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang (Khopkar, 2010:225).

Spektrofotometri serapan merupakan pengukuran suatu interaksi antara radiasi elektromagnetik dan molekul atau atom dari suatu zat kimia. Teknik yang sering digunakan dalam analisis farmasi meliputi spektrofotometri serapan ultraviolet, sinar tampak, inframerah, dan serapan atom (Depkes RI,1995:1061).

Spektroskopi serapan ultraviolet dan sinar tampak merupakan cara untuk menganalisis struktur flavonoid. Spektrofotometer UV-visible dapat digunakan untuk mengidentifikasi flavonoid. Kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada

inti flavonoid dapat ditentukan dengan menambahkan pereaksi ('pereaksi geser') kedalam larutan cuplikan dan mengamati pergeseran puncak serapan yang terjadi (Markham, 1988:38).

