

PENENTUAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOLIK DAUN KEPEL (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI

Diniatik

Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada

ABSTRAK

Daun Kepel telah dimanfaatkan untuk mengatasi asam urat, dan mampu menurunkan kadar kolesterol, buahnya sehingga berkhasiat sebagai antioksidan dan daunnya sekarang dipercaya untuk mengatasi penyakit diabetes. Laporan penelitian mengindikasikan bahwa senyawa yang berperan pada aktivitas ini adalah golongan senyawa flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan data kadar flavonoid dalam daun kepel. berdasarkan kadar rutin sebagai standard. Daun Kepel diperoleh dari Propinsi Yogyakarta. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi, sebagai penyari adalah etanol 70%. Penetapan kadar flavonoid total menggunakan metode spektrofotometri dengan larutan pembanding rutin, pereaksi geser $AlCl_3$. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar flavonoid total dengan metode spektrofotometri dalam daun kepel adalah 9,3 % (b/b), 9,9% (b/b) dan 10,1 % (b/b).

Kata kunci : *Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th., flavonoid total, rutin, spektrofotometri.

PENDAHULUAN

Daun kepel dimanfaatkan secara empiris dimanfaatkan untuk mengatasi asam urat, dan menurunkan kadar kolesterol. buahnya juga mempunyai vitamin C yang tinggi sehingga berkhasiat sebagai antioksidan dan daunnya sekarang dipercaya untuk mengatasi penyakit diabet (Anonim, 2013; Sunarni, 2007). Aktivitas sebagai antioksidan dengan menggunakan DPPH dari ekstrak n butanol dan etil asetat bunga, ekstrak etil asetat buah yang lebih tinggi dibanding isolat dari fraksi aktif ekstrak n butanol bunga (Tisnadjaja dkk, 2006), secara in vivo dilaporkan adanya aktivitas antihiperurisemia ekstrak etanol dan ekstrak heksan dari daun kepel yang potensinya setara dengan alopurinol pada uji penghambatan xantin oksidase dengan menggunakan tikus (Purwantiningsih dkk, 2010). Penggunaan empiris di masyarakat dan hasil penelitian yang diuraikan diatas sangat berkaitan dengan kandungan senyawa dalam tanaman ini. Hasil analisis mutu daun kepel yang diambil dari beberapa daerah, mengandung saponin, alkaloid, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan glikosida. Analisa daun kepel yang umurnya lebih dari 100 tahun terdapat di Purworejo, dihasilkan kandungan fitokimia yang lebih

lengkap dibandingkan dengan tanaman yang lebih muda. Daun kepel yang berasal dari daerah Jawa Barat (Bogor dan Gunung Nagara, Garut), kandungan taninnya tidak terdeteksi, sedangkan daun yang berasal dari Jawa Tengah semua mengandung tannin (Anonim, 2013).

Pada penelitian ini diharapkan dapat diketahui kadar flavonoid total dari ekstrak etanol daun kepel.

METODE PENELITIAN

Determinasi tumbuhan. Tanaman kepel yang digunakan dalam penelitian dideterminasi di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Hasil determinasi menyatakan bahwa spesimen tumbuhan tersebut adalah benar – benar tanaman *Stelechocarpus burahol*, (Bl.) Hook f. & Th. dari famili Annonaceae. Hasil determinasi tersebut berdasarkan buku Flora of Java Vol II (Backer & Van Den Brink, 1965).

Pengumpulan alat dan bahan. Simplisia daun *S. burahol* diambil kabupaten Banyumas, Jawa Tengah. Pengeringan

dilakukan dengan meletakkan bahan yang telah dicuci bersih pada tampah, kemudian ditutupi dengan kain hitam supaya tidak terkena sinar matahari langsung. Setelah itu dijemur dibawah sinar matahari sampai kering. Simplisia yang telah kering (dengan memperhatikan persyaratan kandungan air maksimal dalam simplisia) diserbuk dan ditempatkan dalam botol coklat yang kering. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini etanol, etil asetat, aquades, aseton, methanol pa., pembanding rutin. Alat yang digunakan dalam penelitian ini: alat maserasi, alat gelas, rotary evaporator, kompor listrik, corong pisah, spektrofotometer UV, mikropipet, kertas saring.

Pembuatan ekstrak ekstrak etanol daun *S. burahol*. Simplisia daun ditimbang +3 kg dibuat serbuk melalui proses penggilingan dan pengayakan. Serbuk kering ditimbang +500 gram kemudian dimaserasi. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Pada penelitian ini untuk meningkatkan efektifitas ekstraksi dilakukan pengadukan dan remaserasi, dimaserasi selama 2 x 24 jam dengan perbandingan antara simplisia dengan etanol 50% adalah 1:5 untuk hari pertama, dan 1:4 untuk hari kedua. Caranya yaitu serbuk simplisia sebanyak 500 gram dimaserasi dengan etanol 70% sebanyak 5 Liter, kemudian dienap-tuangkan dan diperas. Ampas yang diperoleh dimaserasi lagi dengan etanol sebanyak 2 Liter. Disaring dengan kain flanel. Ekstrak cair etanol diuapkan sampai diperoleh konsistensi kental yang masih bisa dituang kemudian ditimbang. Pembuatan ekstrak etanol daun *S. burahol* dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto.

Penentuan kadar flavonoid total. Prinsip metode ini adalah bahwa flavonoid ditetapkan kadarnya sebagai aglikon dengan cara hidrolisis, dilakukan pengukuran spektrofotometri pada panjang gelombang maksimum, setelah direaksikan dengan $AlCl_3$ untuk meningkatkan selektifitasnya dan ditambah heksanametilentetramin.

Larutan uji untuk ekstrak, ditimbang dengan saksama lebih kurang 0,1-1 g ekstrak,

dilarutkan dalam 10 ml etanol 80%, disentrifus 1000 x gravitasi selama 10 menit. Bagian supernatan (beningan) dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml, residu diekstraksi dua kali, tiap kali dengan 5 ml etanol 80%. Supernatan (beningan) dikumpulkan ke dalam labu ukur yang sama, ditambahkan etanol 80% sampai tanda.

Larutan uji untuk ekstrak cair, diukur seksama sejumlah volume ekstrak cair, diencerkan dengan etanol 80% sampai kadar yang sesuai untuk kolorimetri.

Larutan pembanding, ditimbang saksama pembanding lebih kurang 10 mg pembanding, dilarutkan dalam etanol 80%, diencerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan etanol 80% hingga kadar 25, 50 dan 100 $\mu\text{g/ml}$.

Pengukuran: dipipet secara terpisah 0,5 ml larutan uji dan larutan pembanding, ditambahkan pada masing-masing 1,5 ml etanol P, 0,1 ml aluminium klorida P 10%, 0,1 ml natrium asetat 1M dan 2,8 air suling. Dikocok dan diiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Diukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum. Dilakukan pengukuran blangko dengan cara yang sama, tanpa penambahan aluminium klorida, dibuat koreksi seperlunya. masukkan ke dalam labu alas bulat. (Anonim, 2009)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman. Tanaman kepel (*S. burahol*) yang digunakan dalam penelitian dideterminasi di laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Tujuan determinasi untuk mendapatkan kebenaran identitas dengan jelas dari tanaman yang diteliti dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan utama penelitian. Hasil determinasi menyatakan bahwa spesimen tumbuhan tersebut adalah benar – benar tanaman *Stelecharpus burahol*, (Bl.) Hook f. & Th. dari famili Annonaceae. Hasil determinasi tersebut berdasarkan buku *Flora of Java Vol II* (Backer and Van Den Brink, 1965).

Pengumpulan Bahan dan Pembuatan Simplisia Daun Kepel (*S. burahol*). Pada penelitian ini menggunakan tanaman kepel (Gambar 1) yang diambil di Kecamatan Mlati, Kabupaten Sleman Yogyakarta. Daun segar tanaman kepel diambil pada bulan Mei pada pagi hari. Daun yang dipetik adalah daun kepel segar berumur sedang di ambil dari pohonnya yang berumur 30 tahun sejak penanaman, daun di ambil setelah pasca panen buah. Daun yang diambil ialah yang sudah tua, karena diharapkan diperoleh kandungan kimia yang sudah optimal (Anonim, 1985). Pengambilan dilakukan pada tempat dan waktu tertentu untuk menghindari bermacam – macam kandungan kimia dikarenakan perbedaan kondisi lingkungan, keadan tanah, dan iklim.



Gambar 1. Tanaman kepel (*S. burahol*)

Daun kepel segar yang didapatkan, dicuci dengan air yang mengalir untuk membersihkan kotoran atau kontaminan yang berupa tanah, atau materi lain pada daun tersebut. Dipilih daun (15 kg) yang bagus untuk selanjutnya dianginanginkan. Sebagian daun kepel dikeringkan di bawah sinar matahari yang ditutupi kain hitam, untuk keperluan ekstraksi dengan etanol. Selama pemanasan, bahan ditata tidak bertumpuk dan dibolak – balik agar pemanasan merata serta proses pengeringan berlangsung cepat. Daun kepel sudah kering di hari ketujuh. Daun kepel sisanya dibuat dalam bentuk perasan (Anonim, 1985).

Pengeringan dilakukan hingga kadar air kurang dari 10% atau sampai daun mudah untuk dihancurkan ketika diremas. Tujuan dari pengeringan adalah mencegah pertumbuhan jamur atau mikroorganisme dan

penguraian senyawa aktif oleh reaksi enzimatis dan proses hidrolisis karena kandungan air yang tinggi, agar simplisia yang dihasilkan tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu yang relatif lama. Simplisia kering yang diperoleh selanjutnya diserbuk dengan menggunakan blender untuk memperkecil luas permukaan sehingga kontak permukaan partikel simplisia dengan penyari semakin besar dan penyarian lebih optimal. Simplisia selanjutnya diayak menggunakan ayakan mesh 20/40 yang berarti sebanyak 100% simplisia kering lolos pada ayakan mesh 20, kemudian sebanyak 40% dari 100% simplisia kering lolos ayakan mesh 40, sehingga dari 500 gram simplisia kering daun dan kulit batang kepel sebanyak 300 gram lolos ayakan mesh 20 dan sebanyak 40 gram lolos ayakan 200. Pada umumnya proses penyaringan ini penting dalam proses ekstraksi, karena dengan adanya pengecilan ukuran partikel akan memperluas permukaan kontak serbuk dengan penyari sehingga ekstraksi menjadi lebih maksimal dan kandungan zat aktif dapat tersari secara optimal.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kepel

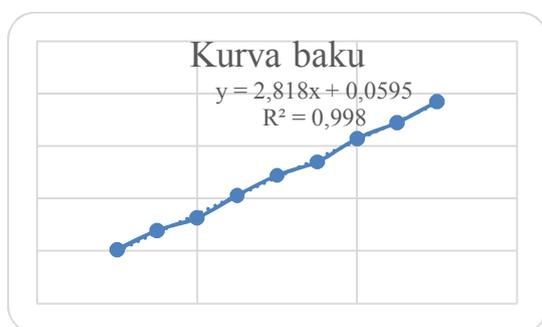
. Metode penyarian yang digunakan adalah maserasi. Metode ini merupakan metode yang paling sederhana karena mudah dilakukan, murah, tidak memerlukan peralatan yang canggih. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Pada penelitian ini untuk meningkatkan efektifitas ekstraksi dilakukan pengadukan dan remaserasi, dimaserasi selama 2 x 24 jam dengan perbandingan antara simplisia dengan etanol 50% adalah 1:5 untuk hari pertama, dan 1:4 untuk hari kedua. Caranya yaitu serbuk simplisia sebanyak 750 gram dimaserasi dengan etanol 70% sebanyak 3,75 Liter, kemudian dienaptungkan dan diperas. Ampas yang diperoleh dimaserasi lagi dengan etanol 70% sebanyak 3 Liter. Pada penelitian ini penyari yang digunakan yaitu etanol 70%. Penyari etanol 70% dapat menarik senyawa-senyawa relatif polar seperti senyawa fenol, flavonoid, saponin, dan senyawa polar lain yang terkandung dalam daun kepel, sedangkan etanol yang

digunakan merupakan etanol teknis yang ada dipasaran yang memungkinkan diperoleh kembali saat diuapkan dengan rotary evaporator. Dipilih etanol karena lebih selektif, tidak beracun, netral, absorpsi baik, dapat mencegah pertumbuhan kapang dan kuman, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Sari yang diperoleh diuapkan di atas penangas air hingga konsistensi kental. Penguapan dilakukan untuk menghilangkan larutan penyari agar tidak mempengaruhi uji selanjutnya seperti yang tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen Ekstrak Etanol

Jenis	Bobot simplisia basah (kg)	Bobot simplisia kering (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
Ekstrak etanol 70%	3	750	150,23	20,03

Pembuatan kurva baku rutin. Dibuat kurva baku dengan menimbang 10,0 mg standar rutin yang dilarutkan dalam 5 ml etanol 80%. Panjang gelombang maksimal yang diperoleh adalah 415,5 nm. Data kurva baku bisa dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Gambar regresi liner kurva baku rutin

Tabel 2. Data Kurva Baku Rutin

Konsentrasi (mg/ml)	Absorbansi
0,050	0,205
0,075	0,279
0,100	0,326
0,125	0,412
0,150	0,489
0,175	0,540
0,200	0,629
0,225	0,690
0,250	0,770

Penetapan kadar flavonoid total pada ekstrak etanol daun kepel. Sebelum ditentukan kadar flavonoidnya dilakukan dulu uji kualitatif adanya flavonoid, dengan menggunakan pengamatan dibawah sinar UV 366. Pada gambar 3 dibawah terdapat pada ekstrak etanol fluoresensi biru (rf 0,4), hijau kekuningan (rf 0,55), kuning (rf 0,6), lembayung (rf 0,65), kuning (rf 0,7), lembayung (rf 0,75), biru (rf 0,8), biru (rf 0,85) dan coklat paling ujung (rf 0,9). Dugaan flavonoid ada pada bercak no 1 sampai 8, yang paling ujung berwarna coklat bukanlah flavonoid.



Gambar 3. Analisis kualitatif adanya flavonoid dari ekstrak etanol, hasil hidrolisis eter dan air sisa dengan fase gerak BAW (n butanol: asam asetat:air=4:1:5) fase atas dilihat di sinar UV 366

Dengan demikian dilanjutkan penetapan kadar dengan menggunakan kurva baku yang sudah dibuat diatas, yaitu $y=2,818x+0,059$, dapat ditentukan kadar flavonoid total dari ekstrak etanol daun kepel. Pada table 2 dibawah diperoleh kadar flavonoid total ekstrak etanol daun kepel relative terhadap rutin yaitu rata-rata 9,8% b/b. Metode penetapan kadar ini mengacu suplemen farmakope herbal (Anonim, 2009), tidak seperti yang diacu penelitian-penelitian sebelumnya yang mengacu buku parameter standar ekstrak yang menggunakan metode hidrolisis yang difraksinasi, sehingga proses kerjanya jauh lebih singkat dan mudah (Diniatik dkk, 2013). Kadar flavonoid total yang cukup besar (9,8 % b/b) sangat bisa diaktikan dengan beberapa uji aktivitas untuk melengkapi penelitian terkait daun kepel. Beberapa penelitian seperti uji pelarutan batu

kalsium dari fraksi air dan fraksi etanol daun kepel sudah dilakukan dan berkorelasi positif dengan kadar flavonoid yang cukup signifikan pada penelitian ini (Hidayati, 2004).

Tabel 2. Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Kepek Relative Terhadap Pembanding Rutin

Bobot ekstrak (mg)	Absorbansi	Kadar mg/ml	Kadar flavonoid total % (b/b)
100,1	0,640	0,204	10,2 %
100,2	0,621	0,198	9,9%
100,3	0,581	0,186	9,3%

KESIMPULAN

1. Rendemen ekstrak etanol daun kepek sebesar 20,03%
2. Kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol daun kepek adalah 9,3 % (b/b), 9,9% (b/b) dan 10,1 % (b/b)

DAFTAR PUSTAKA

Anonim, 2013, Kepek, Balitro Bogor,

Diniatik, Hapsari, I., Tiara, M., Meidyawati, A., Nurhidayat, S., 2013, Determination and Validation Method of Total Flavonoid Content and Total Phenolic Content of Ethanolic Extract of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) Leaves as Natural Preservatives Candidate by using Spectrophotometric Method, *Prosiding International Seminar NETS*, Universitas Muhammadiyah Purwokerto

Hidayati, 2004, Uji Daya Melarutkan Fraksi Air dan Fraksi Etanol Infusa Daun Kepek (*Stelecocharpus burahol*, Hook) Terhadap Batu Ginjal Kalsium

Purwantiningsih, Hakim, A.R., Purwatini, I., 2010, Activity Of The Kepek *Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook.F. & Th.] Leaves Extract And Xantine Oksidase Inhibitory Study, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol. 2, Issue. 2, hal 122-127

Sunarni, 2007, Flavonoid antioksidan penangkap radikal dari daun kepek (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.), *Majalah Farmasi Indonesia*, 18(3), 111 – 116

Syukri, M., 2007, Asam Urat dan Hiperuresemia, *Majalah Kedokteran Nusantara*, Volume 40 No. 1.

Tisnadjaja, D., Saliman, E., Silvia, Simanjuntak, P., 2006, Pengkajian Burahol (*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook & Thomson) sebagai Buah yang Memiliki Kandungan Senyawa Antioksidan, *Biodiversitas*, Volume 7, Nomor 2, Halaman: 199-202