



PENENTUAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAUN SAPUTANGAN (*Maniltoa grandiflora* (A. Gray) Scheff) DAN KEMAMPUANNYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN

DETERMINATION OF TOTAL FLAVONOID CONTENT OF SAPUTANGAN LEAVES (*Maniltoa grandiflora* (A. Gray) Scheff) AND ITS ABILITY AS ANTIOXIDANT

Jhon Patar Sinurat^{1*}, Reh Malem Br Karo², Rinaldo Berutu³

^{1,2,3} Program Studi Laboratorium Medik Fakultas Farmasi, Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam,

ABSTRAK

Pendahuluan: Tumbuhan Saputangan dimanfaatkan sebagai tanaman hias. Daun saputangan mengandung senyawa flavonoid berdasarkan hasil skrining fitokimia yang dilakukan. Senyawa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan yang dapat melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dan dapat memperlambat munculnya penyakit kronis. Untuk menentukan kadar senyawa flavonoid total di dalam daun saputangan dan mengukur aktivitas antioksidannya. **Tujuan:** Penentuan kadar flavonoid total menggunakan metode Spektrofotometri UV-Visibel dan mengukur IC₅₀ sebagai antioksidan daun saputangan menggunakan metode DPPH (Diphenyl Picryl Hidrazil). **Metode:** Skrining menggunakan FeCl₃, NH₃, Alkali dan Pb (CH₃COO)₂. Proses maserasi dilakukan menggunakan etanol dan direndam dalam maserator selama lebih dari 24 jam. Pengukuran kadar flavonoid total menggunakan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang kuersetin maksimum yaitu 442 nm. **Hasil:** Persamaan regresi linier untuk kurva kalibrasi kuersetin yang dihasilkan adalah persamaan $y = 0,0155x + 0,0387$ dengan nilai korelasi (R^2) sebesar 0,9943. Regresi linier antioksidan daun saputangan terhadap persentase hambatan adalah $y = 0.6899x + 1.5616$ dengan korelasi (R^2) sebesar 0.9895. Daun Saputangan mengandung senyawa flavonoid yang terbukti berdasarkan hasil skrining. Berat ekstrak setelah dipartisi menggunakan etil asetat dan n-heksana adalah 50 gr. Kadar flavonoid total pada daun saputangan adalah 33,87 mg QE/g ekstrak atau 33,87%. Nilai IC₅₀ sebesar 70,2108 ppm yang dikategorikan sebagai antioksidan pada tingkat sedang. **Kesimpulan:** Kandungan flavonoid total adalah 3,87 mg QE/g ekstrak atau 33,87% sebagai antioksidan pada tingkat sedang.

Kata Kunci: skrining flavonoid, maserasi, partisi, kadar flavonoid total antioksidan

ABSTRACT

Introduction: Saputangan plants only used as ornamental plants. In fact, saputangan leaves contained flavonoid compounds based on the results of phytochemical screening. Flavonoid compounds have antioxidant activity that can protect the body from free radical attacks and can slow the emergence of chronic diseases. So it is necessary to determine the levels of total flavonoid compounds in saputangan leaves and measured antioxidant activity. **Objective:** Determination of total flavonoid content using UV-Visible Spectrophotometry method and measuring IC₅₀ as an antioxidant in saputangan leaves using the DPPH (Diphenyl Picryl Hydrazil) method. **Method:** Screening is using FeCl₃, NH₃, Alkali and Pb(CH₃COO)₂. The maceration process was carried out using ethanol and soaked in a macerator for more than 24 hours. Measurement of total flavonoid levels using a UV-Visible spectrophotometer at a maximum quercetin wavelength of 442 nm. **Results:** The linear regression equation for the resulting quercetin calibration curve is the equation $y = 0.0155x + 0.0387$ with a correlation value (R^2) of 0.9943. The linear regression of the antioxidant saputangan against the percentage of inhibition was $y = 0.6899x + 1.5616$ with a correlation (R^2) of 0.9895. Saputangan leaves contained flavonoid compounds that are proven based on screening results. Meanwhile, the weight of the extract after partitioning using ethyl acetate and n-hexane was 50 gr. Total flavonoid content in saputangan leaves was 33.87 mg QE/g extract or 33.87%. IC₅₀ value of 70.2108 ppm which was categorized as an antioxidant at a moderate level. **Conclusion:** The total flavonoid content was 3.87 mg QE/g extract or 33.87% categorized.

Keywords: screening of flavonoid, maceration, partition, total flavonoid content and antioxidant

Alamat Korespondensi:

Jhon Patar Sinurat: Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam, Jl. Sudirman No.38 Lubuk Pakam Kab.Deli Serdang 20512. No. HP: 082295484565. Jhonpatar12@gmail.com

PENDAHULUAN

Senyawa flavonoid merupakan metabolit sekunder yang memiliki kerangka karbon C6-C3-C6 dan tersebar luas pada tumbuhan tingkat tinggi. Flavonoid sebagian besar diperoleh dari beberapa famili tumbuhan tetapi diketahui tersebar luas pada famili Fabaceae. Flavonoid biasanya berada pada batang, daun dan buah tanaman (1).

Tumbuhan daun saputangan atau *Maniltoa grandiflora* (A. Gray) Scheff merupakan jenis tumbuhan yang merupakan famili Fabaceae dan genus *Maniltoa*. Tanaman ini biasanya digunakan sebagai tanaman hias yang dapat mengurangi polusi dengan menyerap polutan seperti karbon monoksida (2).

Beberapa senyawa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan dan mampu menghambat aktivitas bakteri. Antioksidan dari bahan alami dapat melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dan dapat memperlambat terjadinya penyakit kronis yang disebabkan oleh peningkatan spesies oksigen reaktif (ROS) seperti hipertensi, diabetes, gagal jantung, stroke, aterosklerosis, dan penyakit kronis lainnya (3).

Berdasarkan hasil skrining yang dilakukan oleh Sinurat JP (2018), dinyatakan bahwa daun *M. grandiflora* mengandung senyawa flavonoid, fenolik dan terpenoid (4). Penelitian yang dilakukan oleh Elin Novia Sembiring et al (2018) yang menentukan kadar flavonoid total dalam daun *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb adalah 31,05 mg QE/g dan nilai IC₅₀ (Antioksidan) total flavonoid terhadap DPPH adalah 79,802 g/ml, termasuk dalam kategori antioksidan kuat (5). Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Krisna (2014) menunjukkan bahwa ada kaitan antara kadar flavonoid total kulit buah kakao terhadap persentase peredaman radikal bebas rata-rata sebesar 0.2371% dan nilai IC₅₀ sebesar 57.42% (6).

Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik untuk menentukan kadar flavonoid total daun *M. grandiflora* menggunakan spektrofotometer UV-Visible. Selain itu, uji kemampuan senyawa flavonoid sebagai antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH.

METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dimulai pada bulan Maret –September 2021 di laboratorium

Kimia Organik dan Laboratorium Kimia Kualitatif dan Kuantitatif Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam.

Peralatan

Maserator (Schott/ Duran), Rotary Evaporator (Büchi R-114), Corong Pisah (Duran), Spektrofotometer UV-Visible (Shimadzu), Penangas Air, Inkubator dan Pipet Mikro.

Bahan

Etanol, Etil asetat, n-Heksana, Metanol, DPPH, Quercetin, Besi (III) Klorida, Amoniak, Natrium Hidroksida, Asam Sulfat, Timbal (II) Asetat, Aluminium(III) Klorida.

Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun saputangan atau *Maniltoa grandiflora* (A. Gray) *Scheff* yang diperoleh dari lingkungan sekitar Universitas Sumatera Utara Medan.

Prosedur

Skrining Flavonoid

a. FeCl₃ 5%

Serbuk sampel dilarutkan menggunakan pelarut etil asetat, disaring dan ditetaskan oleh FeCl₃ 5%. Perubahan warna filtrat menjadi hitam menandakan keberadaan senyawa flavonoid.

b. Amoniak

Serbuk sampel dilarutkan dengan etanol, ditotolkan di atas permukaan plat TLC. Kemudian permukaan TLC diupkan menggunakan amoniak sampai muncul noda berwarna kuning yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

c. Pereaksi Basa

Ekstrak etanol ditetaskan NaOH 10% sehingga memunculkan larutan warna kuning pekat. Kemudian akan menjadi larutan tidak berwarna setelah penambahan H₂SO₄ pekat membuktikan adanya flavonoid.

d. Timbal (II) Asetat

Ekstrak etanol ditambahkan beberapa tetes larutan timbale (II) asetat sehingga terbentuk larutan warna kuning yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid (7).

Maserasi

Serbuk daun saputangan sebanyak 2000 g dimaserasi selama ±24 jam dengan pelarut etanol sebanyak 8 liter pada suhu kamar. Maserasi dilakukan secara berulang-ulang menggunakan pelarut etanol hingga skrining flavonoid memberikan hasil. Ekstrak etanol yang diperoleh dipekatkan menggunakan rotary

evaporator pada suhu 60°C dengan putaran 80 rpm.

Partisi

Sampel dilarutkan dalam akuades, kemudian dipartisi menggunakan pelarut etil asetat. Bagian dari etil asetat diuapkan dan kemudian dilarutkan dalam metanol. Lalu dilakukan partisi menggunakan pelarut n-heksana dan fraksi n-heksana diuapkan dalam rotary evaporator pada suhu 70°C dengan putaran 40 rpm untuk mendapatkan flavonoid total (8).

Kadar Flavonoid Total

a. Larutan Standart Quercetin

Sebanyak 10 mg quercetin ditimbang dan dilarutkan dalam 10 ml etanol sebagai larutan induk. Kemudian dilakukan pengenceran quercetin dalam konsentrasi 100, 80, 60, 40 dan 20 ppm sebagai larutan quercetin pembanding. Kemudian ditambahkan 0,1 ml AlCl₃ 10%, 0,1 ml CH₃COONa 1M dan 2,8 ml aquadest. Larutan diinkubasi selama 30 menit.

b. Lamda Maksimum dan Kurva Kalibrasi Quercetin

Ditentukan salah satu konsentrasi larutan quercetin untuk diukur absorbansi pada panjang gelombang 400-800 nm. Panjang gelombang yang

menunjukkan nilai serapan tinggi merupakan panjang gelombang maksimum. Masing-masing larutan pembanding diukur sebanyak 3 kali. Setelah diperoleh absorbansi dari masing-masing larutan pembanding, dibuat kurva kalibrasi sehingga diperoleh persamaan regresi linear.

c. Flavonoid Total

Sebanyak 25 mg sampel ditimbang dan dilarutkan dalam 25 ml etanol sehingga diperoleh konsentrasi 1000 mg/ml. Kemudian sampel diambil sebanyak 0.5 ml, lalu ditambahkan 0,1 ml AlCl₃ 2%, 0,1 ml CH₃COONa 1 M. Setelah diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Jumlah flavonoid total ditentukan sebagai mg Quercetin Ekuivalen per g sampel.

Antioksidan

Sebanyak 1 ml larutan DPPH 0,3 mM ditambahkan 2,5 ml senyawa flavonoid dengan konsentrasi 20 ppm, dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit pada ruang gelap. Setelah itu diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum 516 nm. Dilakukan prosedur kerja yang sama untuk menguji antioksidan senyawa flavonoid dengan konsentrasi 40, 60, 80 dan 100 ppm dan terhadap blanko

(metanol) Besarnya konsentrasi larutan sampel untuk meredam 50% DPPH ditentukan pada nilai IC_{50} yang dihitung berdasarkan persen peredaman beragam konsentrasi menggunakan persamaan regresi linier (9).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining Flavonoid

Skrining terhadap senyawa flavonoid dalam ekstrak daun *M. grandiflora* mengkonfirmasi bahwa daun saputangan mengandung senyawa

flavonoid. Senyawa kristin yang merupakan turunan senyawa flavon mengalami penguraian oleh basa menjadi molekul asetofenon yang berwarna kuning setelah penambahan NaOH 10%. Penambahan pereaksi asam sulfat pekat akan menyebabkan munculnya reaksi redoks antara asam sulfat pekat dengan flavonoid sehingga terbentuk senyawa kompleks berwarna merah tua hingga coklat kehitaman. Hasil skrining ditampilkan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Skrining Flavonoid

No	Pereaksi	Hasil	Pengamatan
1	FeCl ₃ 5%	+	Hitam
2	NH ₃	+	Kuning
3	NaOH 10% + H ₂ SO ₄ p	+	Coklat
4	Pb(CH ₃ COO) ₂	+	Krim

Maserasi dan Partisi

Maserat yang diperoleh setelah dilakukan penguapan dalam rotary evaporator sebanyak 200 g. Maserat yang diperoleh berwarna coklat kemerahan. Kemudian maserat dilarutkan dalam aquadest dan dilakukan partisi menggunakan pelarut etil asetat dan selanjutnya partisi menggunakan n-heksana. Ekstrak diperoleh sebanyak 50 gr setelah hasil partisi diuapkan dan dikeringkan. Metode maserasi dipilih dalam mengekstrak sampel karena metode ini

tergolong sederhana namun sangat efisien dalam menghasilkan maserat yang diikuti dengan pemilihan pelarut yang sesuai. Teknik partisi sangat berguna dalam melakukan proses ekstraksi cair-cair sehingga didapatkan ekstrak yang lebih spesifik metabolit sekundernya (10).

Kadar Flavonoid Total

a. Lamda Maksimum

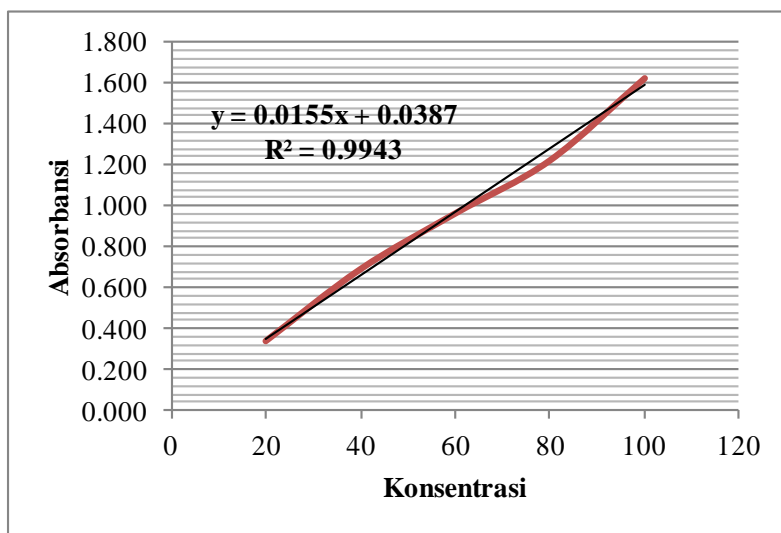
Penentuan panjang gelombang serapan maksimum baku kuersetin dibuat pada konsentrasi 20 ppm yang

dilakukan pada menit ke-20 setelah ditambahkan reagen AlCl_3 , CH_3COONa 1 M, lalu diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga diperoleh panjang gelombang maksimum 442 nm (11).

Penggunaan reagen AlCl_3 akan membentuk kompleks asam yang stabil jika bereaksi dengan gugus keton C-4, gugus hidroksil C-3 atau C-5 dari flavon dan flavonol (3).

b. Kurva Kalibrasi Quercetin

Kurva kalibrasi baku quercetin diukur pada konsentrasi 20,40,60,80, dan 100 ppm pada panjang gelombang 442 nm. Nilai absorbansi quercetin ditampilkan pada tabel 2. Persamaan regresi linear yang diperoleh dalam menentukan kurva kalibrasi quercetin yaitu $y = 0.0155x + 0.0387$ dengan nilai korelasi (R^2) sebesar 0.9943 yang ditampilkan pada gambar 1.



Gambar 1. Kurva Kalibrasi Quercetin

c. Flavonoid Total

Kadar senyawa flavonoid total dalam ekstrak daun saptungan sebesar 33.87 mg QE/g ekstrak atau sebesar 33.87%. Syahwar *et al.* (2010) melaporkan bahwa aktivitas antioksidan berkorelasi terhadap kandungan kadar senyawa flavonoid total dalam tumbuhan. Kadar flavonoid total semakin relevan dengan aktivitas

antioksidan. Aktivitas penangkapan radikal pada flavonoid berkaitan dengan jumlah dan posisi ikatan gugus hidroksil pada molekul. Semakin banyak jumlah hidroksil yang tersubstitusi senyawa flavonoid, maka akan semakin meningkatkan aktivitas antioksidan. Data mengenai absorbansi sampel, konsentrasi quercetin dan kadar flavonoid ditampilkan pada tabel 2.

Tabel 2. Kadar Flavonoid Total

No	Berat ekstrak (gr)	Absorbansi (y)	Konsentrasi (x)	Kadar Flavonoid Total
1	0.026	0.568	34.148	33.743
2	0.025	0.569	34.226	34.363
3	0.026	0.568	34.174	33.504
Kadar Rata-rata				33.87 mg QE/g ekstrak
Persentase				33.87%

Antioksidan

Senyawa flavonoid total dilakukan uji antioksidan menggunakan metode DPPH untuk memperoleh nilai IC_{50} yang diukur pada spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang maksimum 515 nm. Konsentrasi blanko dan sampel ditentukan untuk mendapatkan absorbansi yang ditampilkan pada tabel 3. Sementara kurva dan persamaan regresi linier ditampilkan pada gambar 2. Nilai IC_{50}

didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi. Prinsip kerja dari pengukuran ini adalah adanya radikal bebas stabil yaitu DPPH yang dicampurkan dengan senyawa antioksidan yang memiliki kemampuan mendonorkan hidrogen, sehingga radikal bebas dapat diredam.

Tabel 3. Konsentrasi Terhadap Persen Peredaman

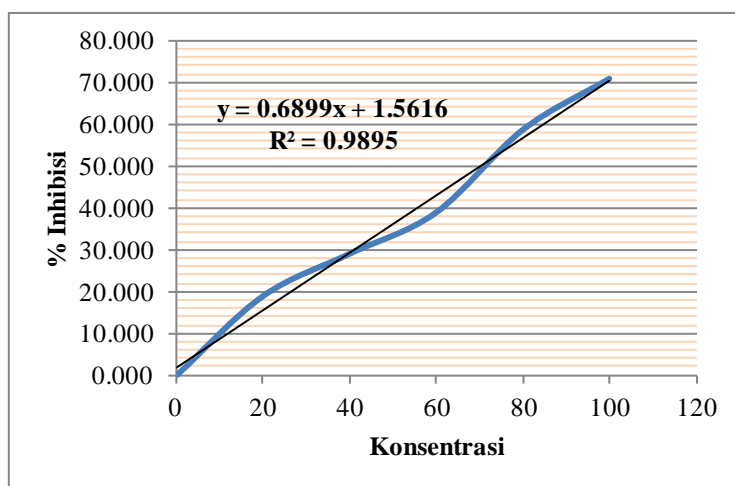
No	Konsentrasi	Persen Peredaman
1	Blanko	0.000
2	20 ppm	18.953
3	40 ppm	29.052
4	60 ppm	38.903
5	80 ppm	58.604
6	100 ppm	70.823

Persamaan regresi linear yang diperoleh berdasarkan data konsentrasi terhadap % inhibisi yaitu $y = 0.6899x + 1.5616$ dengan korelasi R^2 sebesar 0.9895. Persamaan regresi linier difungsikan untuk menentukan IC_{50} dari senyawa flavonoid total dalam meredam

radikal bebas DPPH. Sehingga diperoleh nilai IC_{50} flavonoid total ekstrak daun saputangan sebesar 70.2108 ppm yang menunjukkan bahwa flavonoid total dalam ekstrak daun saputangan dapat bertindak sebagai zat antioksidan dengan kekuatan pada level

medium. Perbedaan dalam masing-masing struktur flavonoid dan substituenya mempengaruhi stabilitas radikal fenoksil, sehingga hal ini

mempengaruhi tinggi rendahnya sifat antioksidan dari senyawa flavonoid (12).



Gambar 2. Kurva Antioksidan

KESIMPULAN

Ekstrak daun sputangan mengandung senyawa flavonoid yang dibuktikan berdasarkan hasil skrining menggunakan pereaksi Besi (III) klorida, Amoniak, Natrium Hidroksida dan asam sulfat pekat dan timbal asetat. Hasil pengukuran kadar flavonoid total dalam daun *M.grandiflorase* sebesar 33.87 mg QE/g ekstrak 33.87%. Sementara hasil pengukuran antioksidan ekstrak metanol daun sputangan dalam meredam DPPH menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 70.2108 ppm yang dikategorikan sebagai antioksidan pada level medium.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih dan mengapresiasi dukungan finansial dari Kementerian Pendidikan Kebudayaan, Riset Dan Teknologi. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset Dan Teknologi Indonesia dalam menyelenggarakan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Awouafack MD, Tane P, Morita H. Isolation and Structure Characterization of Flavonoids. *Flavonoids - from Biosynth to Hum Heal*. 2017;3(8):46.
2. Hidayati N, Mansur M, Juhaeti T. Variation in Carbondioxide

- (CO₂) Absorption of Tree Species in “Ecopark”, Cibinong, in Relation to Green House Gas Mitigation. *Bul Kebun Raya*. 2013;16(1):38–50.
3. Januarti IB, Taufiq H, Sulistyaningsih S. The Correlation of Total Flavonoid and Total Phenolic with Antioxidant Activity of Single Bulb Garlic (*Allium Sativum*) from Tawangmangu and Magetan. *J Pharm Sci Community*. 2020;16(2):96–103.
 4. Sinurat JP, Siregar S. Antibakteri Senyawa Fenolik dari Daun Saputangan (*Maniltoa Grandiflora* (A. Gray) Scheff). *J Penelit Farm Herb*. 2019;1(2):17–21.
 5. Sembiring EN, Elya B, Sauriasari R. Phytochemical Screening, Total Flavonoid and Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Different Parts of *Caesalpinia Bonduc* (L.) Roxb. *Pharmacogn J*. 2018;10(1):123–7.
 6. Krisna, S.A.I. Santi, R. Rustini SN. Senyawa Steroid pada Daun Gayam (*Inocarpus Fagiferus* Fosb) dan Aktivasnya sebagai Antioksidan terhadap Difenilpikril Hidrazil (DPPH). *J Kim*. 2015;8(2):251–6.
 7. De Silva GO, Abeysundara AT, Aponso MMW. Extraction Methods, Qualitative and Quantitative Techniques for Screening of Phytochemicals from Plants. *Am J Essent Oils Nat Prod*. 2017;5(2):29–32.
 8. Abu F et al. Antioxidant Properties of Crude Extract, Partition Extract, and Fermented Medium of *Dendrobium Sabin* Flower. *Evidence-Based Complement Altern Med*. 2017;2017(7):9.
 9. Aryal S, Baniya MK, Danekhu K, Kunwar P, Gurung R, Koirala N. Total Phenolic Content, Flavonoid Content and Antioxidant Potential of Wild Vegetables from Western Nepal. *Plants*. 2019;8(4).
 10. Moldoveanu S, David V. *Modern Sample Preparation for Chromatography*. USA: Elsevier; 2015. 224-233 p.
 11. Winahyu DA et al. Penetapan Kadar Flavonoid pada Kulit Batang Kayu Baru dengan Metode Spektrofotometri UV-

- VIS. J Anal Farm. 2019;4(1):29–36.
12. Chandra S et al. Assessment of Total Phenolic and Flavonoid Content, Antioxidant Properties, and Yield of Aeroponically and Conventionally Grown Leafy Vegetables and Fruit Crops: A Comparative Study. Evidence-Based Complement Altern Med. Hindawi Publishing Corporation; 2014;4(1):9.