

PERBANDINGAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOLIK DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* L.) BERDASARKAN VARIASI KONSENTRASI PELARUT SECARA SPEKTROFOTOMETER UV-VIS

Danang Yulianto, Selvi Ratna Savitri
Akademi Analis Farmasi AI - Islam, Yogyakarta

ABSTRACT

Background: Testing or analysis of total flavonoid levels of herbal ethanolic extract of beluntas (*Pluchea indica* L.) leaves has been carried out. Beluntas leaf (*Pluchea indica* L.) is a traditional medicinal plant that is not widely known by the public about its benefits for various diseases.

Objective: to determine an overview of total flavonoid levels between different of variation concentration.

Method: Extraction of the compound of beluntas (*Pluchea indica* L.) leaves was carried out by maceration method using 100 mL of aquadest and 100 mL of ethanol - aquades mixture with ethanol 96% (v / v) concentrations, ethanol 70% (v / v), ethanol 50% (v / v), and ethanol 30% (v / v) for 24 hours respectively. Phytochemical screening continued with Thin Layer Chromatography (TLC). While the measurement of the levels of flavonoid compounds in the sample was conducted out by the UV-Vis spectrophotometer method

Result: Phytochemical screening using TLC on beluntas (*Pluchea indica* L.) leaves is known to contain flavonoids respectively. The measurement results of total flavonoids in aquadest extract amounted to 1.94% (b / b), whereas in ethanol extract 96% - aquadest was 16.62% (b / b), ethanol extract - aquadest 70% by 33.80% (b / b), 50% ethanol - aquades was 30.29% (b / b) and 30% ethanol - aquades was 15.27% (b / b). The results of measurements of total flavonoid levels in beluntas (*Pluchea indica* L.) leaves stated that the highest total flavonoid content obtained in 70% ethanol extract was 33.80% (b / b), followed by 50% ethanol was 30.29% (b / b), 96% ethanol 16.62% (b / b), 30% ethanol was 15.27% (b / b), and 30% distilled water was 1, 94% (b / b).

Keywords: *Pluchea indica* L, Flavonoid, TLC, UV-Vis Spectrophotometer.

PENDAHULUAN

Indonesia kaya akan keanekaragaman hayati yang dapat digali lebih dalam lagi menjadi sumber komponen bahan alam yang berguna untuk berbagai pengobatan. Hal ini sejalan dengan pemikiran masyarakat umum yang mulai menghindari bahan kimia sintesis dan lebih mengutamakan bahan alami dalam pengobatan (Kardinan dan Kusuma, 2000).

Salah satu tumbuhan yang mengandung senyawa obat yaitu

beluntas (*Pluchea indica* L.). Beluntas umumnya tumbuh liar di daerah kering pada tanah yang keras dan berbatu, atau ditanam sebagai tanaman pagar. Tumbuhan ini memerlukan cukup cahaya matahari atau sedikit naungan, banyak ditemukan di daerah pantai dekat laut sampai ketinggian 1.000 mdpl. Daun beluntas mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, minyak atsiri, natrium, kalium, aluminium, kalsium, magnesium, dan fosfor. Sedangkan akarnya mengandung flavonoid dan tanin (Dalimartha, 1999).

Flavonoid berpotensi sebagai antioksidan dan mempunyai aktivitas sebagai anti bakteri, anti inflamasi, anti alergi dan anti thrombosis (Lipinski, 2011).

Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air yang dapat diekstraksi dengan etanol dan tetap ada dalam pelarut tersebut setelah difraksinasi dengan pelarut non polar. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang dapat berubah warna bila ditambah basa atau amonia sehingga mudah dideteksi pada kromatogram atau dalam larutan (Harborne, 1996).

Kandungan flavonoid dalam tanaman beluntas berpotensi sebagai antioksidan yang terkait dengan beberapa aktivitas seperti antiinflamasi dan antibakteri. Potensi ini didukung dengan kemudahan isolasi dan penentuan kadar flavonoid menggunakan metode kromatografi serta spektrofotometer UV-Vis. Penelitian flavonoid sebagai pengobatan dengan menggunakan bahan alam telah menjadi fokus penelitian para ilmuwan, karena itu perlu dilakukan penelitian kandungan flavonoid dalam tumbuhan beluntas. Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan hasil konsentrasi pelarut ekstraksi yang berbeda dengan mengukur nilai rendemen ekstrak daun beluntas dengan kadar flavonoidekstrak terhadap pembandingan kuersetin. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran tentang perbandingan kadar ekstraksi antara variasi konsentrasi yang berbeda.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan adalah metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Spektrofotometer UV - Vis. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu bagian bahan alam (LPPT) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta Unit 1.

Alat yang digunakan

Blender (philips), timbangan analitik (denver instrument xl-610), ayakan stirer (ishtarhitzstir), erlenmeyer (pyrex), corong gelas (pyrex), gelas ukur (pyrex), gelas beaker (herma), cawan porselin, oven (memmert), tabung reaksi (pyrex), plat klt, kertas saring (analytical chromatography), nampan, kertas timbang, sentrifugasi, pipa kapiler, siring, kuvet, sonikasi (branson 3800), mikro pipet (acura), labu ukur (pyrex), pisau, talenan, karet, pipet tetes, batang pengaduk, blue tip, yellow tip, spektrofotometer UV-Vis 1800 (Shimadzu 03972), labu godog, refluk, labu takar, chamber, kompor listrik, kuvet.

Bahan

Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.), Etanol, Natrium nitrit (NaNO_3) 5%, Natrium Hidroksida (NaOH) 1M, $\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ 10%, Akuades, Baku Standar Kuersetin, Asam Klorida 4 N, Dietil - eter, Gas Nitrogen, Metanol 200 μl , Butanol, Asam Asetat (CH_3COOH), Pereaksi Alumunium Klorida (AlCl_3), Alumunium Klorida (AlCl_3) 10%, Asam Klorida (HCl) 2 N.

Tahap Penyiapan dan Pengambilan Sampel Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.)

Daun beluntas diperoleh dari Dusun Legundi RT 04/RW 03, Kecamatan Panggang, Kabupaten Gunungkidul. Sampel daun beluntas (*Pluchea indica* L.) yang diambil merupakan daun beluntas berwarna hijau yang dipetik pada sore hari. Daun yang sudah dipetik dikumpulkan kemudian dipisahkan daunnya. Setelah itu dilakukan sortasi basah untuk menghilangkan tanah dan pengotor

lainnya yang masih menempel pada sampel.

Pengolahan Sampel

Daun beluntas (*pluchea indica* L.) yang telah diambil dilakukan pengubahan bentuk dengan cara dipotong-potong kecil, selanjutnya dikeringkan dengan cara dioven pada suhu 45°C selama 2 hari. Setelah kering sampel ditimbang dan dicatat berat kerinyanya kemudian di serbukkan (diblender). Serbuk simplisia yang telah didapat diayak dengan ayakan setelah itu ditimbang kembali berat serbuk, berat sampel serbuk yang diperoleh. Simpan serbuk simplisia dalam wadah bersih, kering dan terhindar dari sinar matahari untuk proses ekstraksi selanjutnya.

Pembuatan Ekstrak Kental

Sejumlah 20,15 gram serbuk simplisia daun beluntas (*Pluchea indica* L.) diekstraksi secara maserasi selama 24 jam pada suhu 15°C-20°C pada masing-masing pelarut etanol 96%, 70%, 50%, dan 30% sebanyak 100 ml dengan beberapa kali *stirer* (pengadukan) selama 30 menit lalu disaring. Filtrat yang terkumpul lalu diuapkan dengan oven pada suhu 45°C hingga diperoleh ekstrak kental etanolik kering 96%, 70%, 50% dan 30%.

Uji Kualitatif Flavonoid Dengan Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis.

Dilakukan uji kualitatif flavonoid dengan menggunakan KLT. Di timbang sampel sebanyak 50 mg, kemudian di masukkan kedalam labu, di tambahkan 10 ml asam klorida (HCl) 4 N. Kemudian dihidrolisis atau direfluk pada suhu 100°C dengan pendingin balik selama 30 menit, didinginkan dan di ekstraksi dengan 5 ml dietil - eter, di ambil fase dietil - eter, diuapkan dengan

gas nitrogen di tambahkan dengan metanol 200 µl di lakukan penotolan sampel sebanyak 10 µl pada fase diam plat KLT, sertakan pembanding rutin hydrate 95%. Kemudian masukkan plate ke dalam chamber jenuh menggunakan fase gerak butanol : asam asetat : air (3:1:1) eluasikan hingga batas, keringkan plat, bercak diamati dibawah sinar UV. Kemudian disemprot dengan reagen $AlCl_3$ dan sitroborat yang akan memberikan warna kuning (Mabry *et al.*, 1970).

Uji Kuantitatif Flavonoid

a. Pembuatan Larutan Kurva Standar Kuersetin

Ditimbang sebanyak 10,0 mg baku standar kuersetin di tambahkan 0,3 ml natrium nitrit ($NaNO_3$) 5%. Setelah 5 menit di tambahkan 0,6 ml alumunium klorida ($AlCl_3$) 10% di tunggu 5 menit, di tambahkan 2ml natrium hidroksida ($NaOH$) 1M. Di tambahkan dengan akuades hingga 10 ml dengan labutakar. Pindahkan ke dalam kuvet, tetapkan serapan pada panjang gelombang λ 510 nm.

b. Pembuatan Larutan Sampel Uji Total Flavonoid Dengan Spektrofotometer UV-Visible

Pembuatan sampel uji total flavonoid merujuk pada prosedur Chang *et al.*, (2002) dengan beberapa konsentrasi pelarut akuades, etanol 96%, etanol 70%, etanol 50%, dan etanol 30% menggunakan kuersetin sebagai standar. Di timbang dengan seksama 50 mg sampel uji ekstrak etanolik daun beluntas, di masukkan dalam labu godog, di tambahkan 10 ml asam klorida (HCl) 2N. Direfluk selama 30 menit kemudian didinginkan. Di ekstraksi dengan 10 ml dietil - eter, di ambil fase dietil - eter.

Di ulangi ekstraksi 2 kali, di uapkan fase dietil-eter dengan hembusan gas nitrogen hingga kering. Di tambahkan 0,3 ml natrium nitrit (NaNO_3) 5%. Setelah 5 menit di tambahkan 0,6 ml natrium hidroksida (NaOH) 1M. Di tambahkan dengan akuades hingga 10 ml dengan labu takar. Di pindahkan ke dalam kuvet tetapkan serapan pada panjang gelombang λ 510 nm. Larutan sampel dibuat dua kali replikasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Susut Pengerinan

Sampel daun yang digunakan sebagai bahan uji, telah teridentifikasi sebagai daun beluntas (*Pluchea*

indicha L.) oleh LPPT UGM Unit Bahan Alam.

Proses pengeringan terhadap daun beluntas dilakukan dengan mensortasi daun tersebut untuk menghilangkan kotoran seperti debu ataupun serangga yang menempel yang nantinya dapat mengganggu proses dan hasil ekstraksi, kemudian sampel daun dimasukkan kedalam oven pada suhu 45- 50°C selama 2 hari. Tujuan dari pengeringan ini dimaksudkan untuk mengurangi kadar air, sehingga dapat mencegah pembusukan oleh jamur atau bakteri serta reaksi enzimatik tidak berlangsung. Bobot susut kering daun beluntas tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil perhitungan persen susut kering Daun beluntas
(*Pluchea indicha* L.)

NO	Sampel	Berat Basah (gram)	Berat Kering (gram)	Susut Kering (%)	Rata- Rata
1	Daun Beluntas	20,05	3,43	82,89	83,44
2	Daun Beluntas	20,01	3,20	84,00	
3	Daun Beluntas	20,02	3,39	83,06	82,95
4	Daun Beluntas	20,01	3,43	82,85	
5	Daun Beluntas	20,05	3,66	81,74	82,20
6	Daun Beluntas	20,02	3,47	82,66	

Hasil Penetapan Ekstrak

Sampel daun beluntas yang telah dihaluskan diekstraksi dengan metode maserasi mengingat daun beluntas memiliki tekstur yang lunak dan tidak membutuhkan proses pemanasan. Pemanasan senyawa organik dapat menyebabkan kadar flavonoid berkurang. Konsentrasi pelarut yang digunakan pada maserasi adalah akuades, etanol 96%, etanol 70%, etanol 50%, dan etanol 30% masing masing sebanyak 100 ml. Pemilihan etanol karena lebih selektif, kapang sulit tumbuh dalam etanol 20% keatas, tidak beracun, netral,

absorbsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air dalam segala perbandingan, memerlukan panas yang lebih sedikit untuk proses pemekatan, dan zat pengganggu yang larut terbatas (Tenriugi, *et al.*, 2008).

Selain itu pelarut etanol dipilih sebagai cairan penyari karena senyawa yang akan diekstraksi adalah senyawa flavonoid. Ekstraksi senyawa flavonoid dari jaringan tumbuhan dalam bentuk glikosida menggunakan pelarut metanol atau etanol (Andersen, 2006; Markham, 1988). Hasil maserasi yang diperoleh kemudian disaring untuk memisahkan

residu dan filtratnya. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan dengan menggunakan oven (*rotary evaporator*) dibawah titik didih pelarut 40°C - 50°C

sehingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang didapat berwarna hijau tua, dengan persen rendemen yaitu dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Rendemen Ekstrak Daun Beluntas

No	Simplisia	Berat Cawan (g)	Berat Sampel (g)	Berat Cawan dan Berat Ekstrak (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)	Rata-Rata (%)
1	DaunBeluntasEkstrak Aquadest	135,42	5,00	136,05	0,63	12,6	11,96
2	DaunBeluntasEkstrakAquadest	159,03	5,03	159,60	0,57	11,33	
3	Daun Beluntas Ekstrak Etanol 96%	37,91	5,05	38,39	0,48	9,50	10,21
4	Daun Beluntas Ekstrak Etanol 96%	89,01	5,03	89,56	0,55	10,93	
5	Daun Beluntas Ekstrak Etanol 70%	44,99	5,02	45,35	0,36	7,17	10,24
6	Daun Beluntas Ekstrak Etanol 70%	57,29	5,03	57,96	0,67	13,32	
7	Daun Beluntas Ekstrak Etanol 50%	33,13	5,01	33,75	0,62	12,37	13,24
8	Daun Beluntas Ekstrak Etanol 50%	56,58	5,03	57,29	0,71	14,11	
9	Daun Beluntas Ekstrak Etanol 30%	45,02	5,04	45,66	0,64	12,69	12,40
10	Daun Beluntas Ekstrak Etanol 30%	38,98	5,03	39,59	0,61	12,12	

Hasil Uji Kualitatif Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanolik Daun Beluntas (*Plucheaindicha* L.)

Identifikasi golongan senyawa kimia flavonoid menggunakan KLT F254 dengan fase gerak fase gerak butanol - asam asetat -air (3:1:1) kemudian

disemprot pereaksi spesifik $AlCl_3$, tampak 2 bercak berpendar kuning kehijauan dibawah UV - Visible dengan nilai R_f flavonoid terdeteksi 0,83. Hasil skrining fitokimia pada ekstrak etanolik daun beluntas, menunjukkan bahwa sampel positif mengandung senyawa flavonoid dapat ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Kualitatif Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanolik Daun Beluntas(*Pluchea indicha* L.)

Sampel	AlCl ₃ Uv Visible	Hasil Pengamatan Flavonoid
Ekstrak Etanolik Daun Beluntas 70%	Warna Kuning	+

Penentuan Kadar Flavonoid

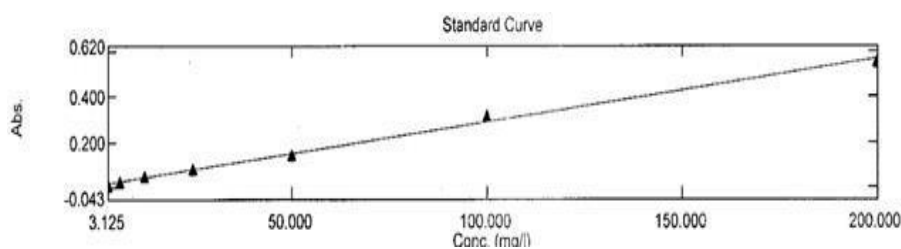
Penentuan kadar flavonoid dengan menggunakan metode Chang, (2002) dan sebagai pembanding yaitu baku standar kuersetin. Pemakaian kuersetin dalam spektrofotometer UV - Vis sebagai pembanding rutin dikarenakan kuersetin merupakan senyawa yang paling luas penyebarannya dan 25% terdapat pada tumbuhan.

Optimasi panjang gelombang dengan pengukuran menggunakan spektrofotometri UV - Vis menyatakan bahwa panjang gelombang maksimum berada pada λ 510 nm. Spektrofotometer UV - Vis merupakan suatu metode yang digunakan untuk identifikasi struktur dari suatu senyawa. Metode ini digunakan untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid

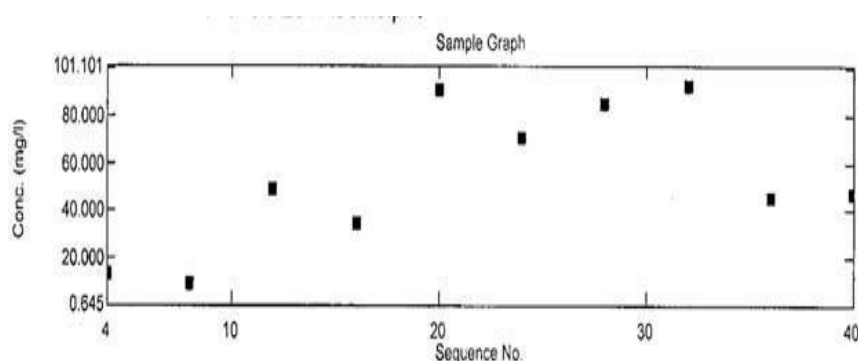
yang didapat dari hasil pemisahan senyawa Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Hasil pengukuran absorbansi larutan standar kuersetin pada beberapa konsentrasi yaitu 50.000, 100.000, 150.000 dan 200.000 (ppm) diperoleh hubungan yang linear antara absorbansi dengan konsentrasi yaitu sebesar 0,99608. Dari hasil perhitungan, diperoleh nilai *intersep* sebesar 0,00276706 dan nilai *slope* sebesar 0,0120987 sehingga persamaan kurva baku adalah $y = 0,00276706 x + 0,0120987$. Persamaan tersebut digunakan sebagai pembanding dalam analisis kuantitatif pada pengukuran kandungan senyawa flavonoid kuersetin terhadap ekstrak etanolik daun beluntas.

Gambar 1. Kurva Linier Konsentrasi Kuersetin λ 510 nm



Gambar 2. Kurva Sampel Ekstrak Daun Beluntas



Tabel 4. Hasil Pengukuran Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanolik Daun Beluntas Total Flavonoid Ekuivalen Kuersetin Metode Spektrofotometri UV – Vis

Sampel	Replikasi	Berat sampel (g)	Ditambah larutan (ml)	FP (x)	Konsentrasi. Sampel (ppm)	Hasil Pembacaan (ppm)	Total Flavonoid Ekuivalen Kuersetin (% b/b)	Rata-Rata (% b/b)
Aquades	1	0,0638	10	10	638	13,399	2,100	1,94
	2	0,0509	10	10	509	9,017	1,772	
Etanol 30%	1	0,0576	10	20	288	48,496	16,839	15,27
	2	0,0507	10	20	253,5	34,718	13,695	
Etanol 50%	1	0,0589	10	20	294,5	91,327	31,011	30,29
	2	0,0478	10	20	239	70,687	29,576	
Etanol 70%	1	0,0504	10	20	252	85,175	33,800	33,80
	2	0,0549	10	20	274,5	92,79	33,803	
Etanol 96%	1	0,0555	10	20	277,5	45,747	16,485	16,62
	2	0,056	10	20	280	46,91	16,754	

Flavonol merupakan salah satu jenis flavonoid yang paling banyak ditemukan dalam bunga maupun daun tumbuhan, hanya sedikit sekali yang ditemukan pada bagian tanaman yang berada di bawah permukaan tanah.

Flavonol terdiri atas kuersetin, kaempferol, dan mirisetin. Kuersetin umumnya merupakan komponen terbanyak dalam suatu tanaman. Hasil pengujian flavonoid secara kuantitatif diperoleh ekstrak yang paling tinggi mengandung flavonoid terhadap pembandingan kuersetin adalah ekstrak etanol konsentrasi 70%.

Hal ini sesuai dengan yang dinyatakan (Indraswari, 2008) dalam judul penelitiannya Optimasi Pembuatan Ekstrak Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) Menggunakan Metode Maserasi Dengan Parameter Kadar Total Senyawa Fenolik dan Flavonoid yang menyatakan konsentrasi etanol yang paling optimal pada ekstraksi adalah 70%, dikarenakan etanol dengan konsentrasi 70% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana bahan

pengganggu hanya skala kecil yang turut kedalam cairan pengekstraksi. Sedangkan untuk ekstrak yang paling rendah berada pada ekstrak akuades karena akuades bukan pelarut yang sesuai dalam mengekstrak senyawa flavonoid.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Kandungan susut kering pada daun beluntas yang dapat diidentifikasi dengan menggunakan metode gravimetri sebesar 83,44 gram, 82,99 gram, 82,20 gram.
2. Uji kandungan flavonoid dapat dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis menghasilkan spot positif warna kuning divisible dengan nilai Rf 0,83.
3. Rendemen ekstrak daun beluntas yang diperoleh ekstrak aquadest sebesar 11,96%, ekstrak etanol 96% sebesar 10,21%, ekstrak etanol 70% sebesar 10,24%, ekstrak etanol 50% sebesar 13,24 dan ekstrak etanol 30% sebesar 12,40%. Dari data yang telah diperoleh rendemen

ekstrak yang paling besar pada rendemen ekstrak etanolik 50%.

4. Konsentrasi pelarut yang memberikan hasil paling optimal pada flavonoid total dari daun beluntas (*Pluchea indicha* L.) terhadap pembanding kuersetin yaitu pelarut etanolik 70% sebesar 33,80 (% b/b).

DAFTAR PUSTAKA

- Andersen, O.M. and Markham K.R., 2006 *Flavonoid: Chemistry, Biochemistry, and Applications*. Taylor & Francis Group. United States of America.
- Chang, C.C., Yang, M.H., Wem, H.M., Chern, J.C. 2002, *Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods*, *Journal of Food and Drug Analysis*, Vol. 10, No.3, 2002. hal 178-182.
- Dalimartha, S., 1999, Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid I, Trubus Agriwidya : Jakarta.
- Dewick, P.P., 2002, *Medicinal Natural Products, A Biosynthetic Approach*, John Wiley and Sons, Ltd., School of Pharmaceutical Sciences University of Nottingham, UK. hal 149
- Dewick, M., 2002, *Medicinal Natural Products*, Second Edition, John Wiley & Sons. School of Pharmaceutical Sciences University of Nottingham.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Edisi II, 69-76 diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Imam Sudiro. Institut Teknologi Bandung Press, Bandung
- Indraswari A. *Optimasi Pembuatan Ekstrak Daun Dewandaru (Eugenia uniflora L.) Menggunakan Metode Maserasi dengan Parameter Kadar Total Senyawa Fenolik dan Flavonoid*. Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. 2008. hal: 6
- Kardinan, A., Kusuma F., R. 2004. Meniran Penambah Daya Tahan Tubuh Alami. Agromedia pustaka : Jakarta.
- Lipinski, B. 2011, Hydroxyl Radical and Its Scavengers in Health and Disease, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, hal 11:1-9.
- Mabry, T.J., Markham, K.R. & Thomas, M.B. 1970. *The systematic identification of flavonoid*, 41-54, 165-171, Springer-Verlag, New York - Heidelberg Berlin
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Edisi 2. ITB : Bandung
- Tenriugu, A.D.P, Alam G, Attamim F. 2008. Standarisasi Mutu Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) dan Uji Efek Antioksidan Dengan Metode DPPH (Jurnal). Di Akses 14 Juni 2017