PENENTUAN KADAR FLAVONOID DARI EKSTRAK ETANOL DAN ETIL ASETAT DAUN KESAMBI (*Schleichera oleosa*. L)

Nursamsiar[1*], Khairuddin[2], Megawati[1], Miska Basri Manga'ba[2], Nurfadillah G.S[1], Alfat Fadri[1], Syamsu Nur[1]

Informasi Penulis

[1]Depertemen Kimia Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Makassar, Indonesia 90242
[2]Depertemen Biologi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makssar, Makassar, Indonesia 90242

***Korespondensi**

Nursamsiar
n.siar@yahoo.co.id

ABSTRAK

Daun kesambi (*Schleichera oleosa* L.) merupakan tanaman yang mengandung senyawa saponin, tanin, alkaloida, steroid, fenolik, dan flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak etanol dan etil asetat daun kesambi (*Schleichera oleosa* L.) dengan atau tanpa hidrolisis. Ekstraksi dilakukan dengan metode refluks menggunakan pelarut etanol 70% dan etil asetat dengan atau tanpa penambahan asam asetat sebagai penghidrolisis sehingga diperoleh ekstrak etanol 70% dan etil asetat dengan atau tanpa hidrolisis. Penentuan kadar flavonoid total dari masing-masing sampel dilakukan secara kolorimetri menggunakan pereaksi $AlCl_3$ dan serapan masing-masing sampel diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-*Visible*. Hasil penelitian menunjukkan kadar total falvonoid untuk sampel ekstrak etanol tanpa hidrolisis sebesar 62,1±0,98 (mgEQ/g) sedangkan sampel yang dihidrolisis asam asetat sebesar 57±0,23 (mgEQ/g). Kadar total flavonoid untuk sampel ekstrak etil asetat tanpa hidrolisis sebesar 40,7±0,77 (mgEQ/g) sedangkan sampel yang dihidrolisis asam asetat sebesar 39,8±0,18 (mgEQ/g). Hasil ini menunjukkan tidak ada perbedaan kadar flavonoid total tiap sampel dengan atau tanpa proses hidrolisis ($p > 0,05$, $n = 3$).

Kata kunci : daun kesambi, flavonoid, hidrolisis, spektrofotometri UV-Vis

DETERMINATION OF TOTAL FLAVONOID FROM ETHANOL AND ETHYL ACETATE KESAMBI (*Schleichera oleosa*. L) LEAVES EXTRACT

ABSTRACT

Kesambi leaf (*Schleichera oleosa* L.) is a plant that contains saponins, tannins, alkaloids, steroids, phenolics, and flavonoids. This study aims to determine the total flavonoid levels contained in the ethanol and ethyl acetate extract of kesambi (*Schleichera oleosa* L.) leaves with or without hydrolysis. Extraction was carried out by reflux method using 70% ethanol and ethyl acetate solvents with or without the addition of acetic acid as hydrolysis in order to obtain 70% ethanol extract and ethyl acetate with or without hydrolysis. Determination of the total flavonoid levels from each sample was carried out colorimetrically using $AlCl_3$ reagent and the absorption of each sample was measured using a UV-Visible spectrophotometer. The results showed that the total falvonoid levels for the ethanol extract sample without hydrolysis were 62.1 ± 0.98 (mgEQ / g) while the acetic acid hydrolyzed samples were 57 ± 0.23 (mgEQ / g). The total level of flavonoids for ethyl acetate extract samples without hydrolysis was 40.7 ± 0.77 (mgEQ / g), while the samples hydrolyzed acetic acid were 39.8 ± 0.18 (mgEQ / g). These results indicate no difference in the total flavonoid levels of each sample with or without the hydrolysis process ($p>0.05$, $n=3$).

Keywords: kesambi leaves, flavonoids, UV-Vis spectrophotometry

PENDAHULUAN

Keanekaragaman tumbuhan di dunia merupakan sumber terbesar yang digunakan sebagai jamu dan masih sekitar 60-80% penduduk dunia mengandalkan obat-obatan nabati yang telah digunakan sejak zaman dahulu sebagai obat tradisional. (Muthukrishnan and Sivakkumar 2018). Beberapa penduduk dunia dan khususnya di Indonesia telah menggunakan obat tradisional untuk mengobati penyakit dengan pengolahan secara turun-menurun. Indonesia menjadi salah satu negara dengan kekayaan alam hingga berbagai jenis tumbuhan yang banyak digunakan sebagai obat tradisional. (Syahruni and Nur 2015).

Beberapa tanaman telah banyak dikembangkan menjadi obat tradisional salah satunya adalah tanaman kesambi (*Schleichera oleosa*. L). Tanaman kesambi yang merupakan keluarga dari *Sapindaceae* memiliki senyawa fitokimia seperti alkaloid, saponin, fenolik dan tannin, flavonoid, dan fitosterol (Bhatia 2013; Muthukrishnan dan Sivakkumar 2018) yang memiliki khasiat mulai dari batang, kulit batang, buah hingga daun kesambi yang digunakan sebagai obat kanker, antimikroba, antioksidan, peradangan kulit, jerawat, analgesic, antibiotic dan beberapa penyakit lainnya (Bhatia 2013; Ghosh et al. 2011; Hanifah 2020; Kyaw et al. 2019; Thind et al. 2010).

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam berbagai tanaman, termasuk di dalamnya tanaman obat. Flavonoid termasuk senyawa fenolik yang kaya akan gugus hidroksil dan dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan. Rao *et al* (2007) menyatakan bahwa efek antioksidan pada tanaman terutama disebabkan oleh senyawa fenolik, salah satunya flavonoid. Aktivitas antioksidan lazim dihubungkan dengan manfaatnya dalam terapi penyakit degeneratif, termasuk di dalamnya kanker (Birt.*et al*. 2001). Senyawa flavonoid diduga sangat bermanfaat dalam makanan karena berupa senyawa fenolik, senyawa ini yang bersifat antioksidan kuat. Banyak kondisi penyakit yang diketahui bertambah parah oleh adanya radikal bebas superoksida dan hidroksil, dan flavonoid memiliki kemampuan untuk menghilangkan secara efektif spesies pengoksidasi yang merusak ini. Oleh karena itu, makanan yang kaya flavonoid dianggap penting untuk mengobati penyakit-penyakit, seperti kanker dan penyakit jantung (Heinrich.*et al.* 2010).

Adanya informasi secara ilmiah tentang peranan flavonoid dalam berbagai jenis pengobatan terhadap penyakit sehingga diperlukan analisis secara kuantitatifnya. Hal ini dapat dijadikan rujukan agar kandungan flavonoid dapat dikorelasikan terhadap bioaktivitasnya khususnya pada tanaman kesambi.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian merupakan bahan kimia dengan *analytical grade* yaitu aluminium korida (*Merck*, Germany), aquadest (*Onemed, Indonesia*), asam asetat (*Merck*, Germany), etanol [1] 4± (*Bratachem, Indonesia*), HCl pekat (*Merck, Germany*, kuersetin (*Sigma Aldrich*), etanol p.a (*JT-Baker*), Etil Asetat (*Merck, Germany*), serbuk magnesium sulfat (*Sigma Aldrich*, Germany), natrium asetat (*Sigma Aldrich*, Germany) dan sampel ekstrak daun kesambi (*Schleichera oleosa* L.) yang diperoleh dari Desa Sicini, Dusun Siriya, Kecamatan Parigi, Kabupaten Gowa, Provinsi Sulawesi Selatan.

Proses Ekstraksi

Ekstraksi dengan Hidrolisis

Proses pembuatan ekstrak dengan hidrolisis dilakukan melalui penambahan asam asetat sebagai penghidrolis. Hidrolisis kandungan senyawa flavanoid dari suatu sampel dilakukan berdasarkan prosedur Hadjmohammadi dan Sharifi, (2009) sedikit modifikasi. Sebanyak 75 gram serbuk simplisia dimasukkan ke dalam labu alas bulat kemudian ditambahkan 350 mL etanol 70% dan 25 mL asam asetat 2 M kemudian direfluks pada suhu 60°C selama 3 jam. Setelah proses refluks selesai kemudian filtrat disaring dan residu direfluks kembali dengan menambahkan 350 mL etanol 70% dan 25 mL asam asetat 2 M hingga diperoleh filtrat yang jernih yang menandakan proses refluks selesai. Filtrat diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Residu asam asetat dari ekstrak dihilangkan dengan cara ekstrak disuspensikan dengan H_2O dan ditambahkan 25 mL etil asetat di dalam corong pisah dan selanjutnya dikocok. Campuran didiamkan hingga terjadi pemisahan antara fase air dengan fase etil asetat. Fase etil asetat ditampung dan selanjutnya fase air difraksinasi kembali dengan etil asetat hingga diperoleh fase yang jernih. Fase etil asetat dikumpulkan untuk selanjutnya dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak etanol yang terhidrolisis. Dilakukan dengan prosedur yang sama untuk pelarut etil asetat sehingga diperoleh ekstrak etil asetat yang terhidrolisis.

Ekstraksi Tanpa Proses Hidrolisis

Sebanyak 75 gram serbuk simplisia dimasukkan ke dalam labu alas bulat dan ditambahkan 350 mL etanol 70% dan selanjutnya sampel direfluks selama 3 jam pada suhu 60°C. Kemudian, filtrat disaring dan diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental etanol 70%.

Dilakukan prosedur yang sama dengan menggunakan pelarut etil asetat untuk memperoleh ekstrak etil asetat.

Analisis Kualitatif

Sebanyak 0,1 gram ekstrak etanol dan etil asetat daun kesambi dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan HCl 1 mL dan serbuk magnesium sulfat 10 mg lalu dihomogenkan. Sampel yang mengandung flavonoid memberikan warna merah bata.

Analisis Kuantitatif

Pembuatan Larutan Kurva Baku
Pembuatan seri larutan kuersetin dengan cara dipipet dari larutan stok 100 µg/mL sebanyak 0,1; 0,2; 0,3; 0,4, dan 0,5 mL. Masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL dan ditambahkan 0,2 mL $AlCl_3$ (10 %b/v), 0,1 mL natrium asetat 1 M dan dicukupkan dengan etanol p.a hingga 5 ml sehingga diperoleh konsentrasi 2; 4; 6; 8 dan 10 µg/mL, campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Masing-masing konsentrasi kuersetin yang diperoleh kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 450 nm. Selanjutnya dibuat kurva hubungan antara serapan terhadap konsentrasi (Do et al. 2014)

Penentuan Kadar Flavanoid Total
Analisis kadar flavonoid pada masing-masing sampel dilakukan dengan cara menimbang sampel sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan etanol p.a hingga 10 mL. Masing-masing sampel dipipet sebanyak 0,2 mL ke dalam labu ukur 5 mL dan ditambahkan 0,2 mL $AlCl_3$ (10 %b/v), 0,1 mL natrium asetat 1 M dan dicukupkan volumenya dengan etanol p.a hingga 5 mL. Kemudian dihomogenkan lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Masing-masing sampel diukur serapannya pada panjang gelombang 450 nm (Do et al. 2014).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan analisis kadar flavonoid total pada ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun kesambi (*S. oleosa* L.) dengan atau tanpa hidrolisis secara spektrofotometri UV-Vis. Penelitian ini bertujuan Untuk mengetahui pengaruh proses hidrolisis terhadap kadar flavonoid total yang terkandung dalam daun kesambi (*S. oleosa* L.) dan diduga memiliki banyak aktivitas farmakologi dalam pencegahan maupun pengobatan penyakit.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kesambi (*S. oleosa* L.) berasal dari Kabupaten Gowa Provinsi Sulawesi Selatan. Simplisia daun kesambi diekstraksi menggunakan metode refluks, dengan etanol 70% dan etil asetat sebagai larutan penyari. Pelarut etanol dan etil asetat dilaporkan memiliki kemampuan untuk menyari senyawa flavonoid dan polifenol dengan rentang polaritas yang luas mulai dari polar hingga non polar (Dai and Mumper 2010; Do et al. 2014; Nguyen et al. 2020). Pada proses ekstraksi tersebut dilakukan penambahan asam asetat yang bertujuan untuk menghidrolisis senyawa flavonoid terglikosilasi dalam masing-masing sampel. Hidrolisis dilakukan untuk memutuskan ikatan antara glikosida (gula) dengan senyawa flavonoid. Hasil yang diperoleh diperbandingkan dengan ekstrak tanpa adanya proses hidrolisis menggunakan asam. Data pada tabel 1 merupakan persen rendemen dari masing-masing ekstrak yang diperoleh dari hasil refluks.

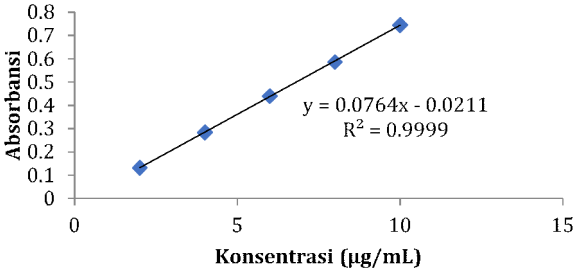
Masing-masing ekstrak yang diperoleh selanjutnya dilakukan pengujian identifikasi senyawa flavonoid secara kualitatif sebagai indetifikasi awal adanya kandungan senyawa flavonoid. Ekstrak etanol dan etil asetat setelah penambahan HCl pekat 1 mL dan ditambahkan serbuk magnesium sufat 10 mg lalu dihomogenkan hingga terjadi perubahan warna merah kecoklatan. Gambar 1 menunjukkan hasil analisis kualitatif ekstrak etanol 70% dan etil asetat yang mengandung flavonoid ditandai dengan warna merah kecoklatan.

Penentuan kadar flavonoid total dari ekstrak etanol dan etil asetat dilakukan dengan menggunakan persamaan regresi linear kurva

Tabel 1. Rendemen ekstrak etanol dan etil asetat

Pelarut	Sampel	Bobot		Rendemen (%)
		Simplisia (g)	Ekstrak (g)	
Etanol 70%	Ekstrak tanpa hidrolisis	75	3,5	4,6
	Ekstrak yang dihidrolisis	75	2,8	3,7
Etil Asetat	Ekstrak tanpa hidrolisis	75	3,68	4,9
	Ekstrak yang dihidrolisis	75	1,78	2,4

Gambar 1. Uji kualitatif ekstrak etanol daun kesambi (A) dan uji kualitatif ekstrak etil asetat daun kesambi (B).



Gambar 2. Grafik hubungan konsentrasi baku (kuersetin) terhadap absorbansi .

Tabel 2. Kadar flavonoid total pada ekstrak etanol dan etil asetat.

Ekstrak	Perlakuan	Kadar flavonoid (mgEQ/g)
Etanol 70%	Sampel tanpa hidrolisis	62,1±0,98
	Sampel yang dihidrolisis asam asetat	57±0,23
Etil asetat	Sampel tanpa hidrolisis	40,7±0,77
	Sampel yang dihidrolisis asam asetat	39,8±0,18

baku kuersetin. Larutan standar dibuat dalam lima seri konsentrasi yaitu 2 µg/mL, 4 µg/mL, 6 µg/mL, 8 µg/mL, 10 µg/mL dengan prinsip penetapan kadar flavonoid berdasarkan absorbansi larutan pada panjang gelombang 450 nm. Kurva baku tampak pada gambar 2.

Penentuan kadar flavonoid total ditentukan dengan menggunakan metode aluminium klorida. Aluminium klorida akan bereaksi dengan senyawa flavonoid membentuk kompleks stabil dengan gugus karbonil pada C4 dan hidroksil pada C3 (flavonol), C5 flavonol dan flavon. Hal ini juga akan membentuk kompleks asam labil dengan hidroksil dalam posisi orto pada cincin B flavonoid sehingga akan terjadi perubahan warna menjadi kuning setelah penambahan natrium asetat (Sembiring et al. 2017).

Berdasarkan hasil pengukuran kadar flavonoid menggunakan spektrofotometri visible dengan panjang gelombang maksimal 450 nm diperoleh kadar total flavonoid pada (Tabel 2**)** untuk sampel ekstrak etanol daun kesambi tanpa hidrolisis 132±0,98 (mgEQ/g) sedangkan sampel yang dihidrolisis asam asetat sebesar 57±0,23 (mgEQ/g) dan kadar total flavonoid untuk sampel ekstrak etil asetat tanpa hidrolisis sebesar 40,7±0,77 (mgEQ/g) sedangkan sampel yang dihidrolisis asam asetat sebesar 39,8±0,18 (mgEQ/g). Hasil penentuan kadar flavonoid menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kesambi memberikan kadar flavonoid yang besar dibandingkan dengan ekstrak etil asetat baik pada perlakuan tanpa hidrolisis maupun dengan perlakuan hidrolisis. Hal ini disebabkan konsentrasi air dalam pelarut organik meningkatkan polaritas dari pelarut pengekstraksi sehingga dapat membantu proses penarikan senyawa flavonoid dalam suatu sampel, yang mana diketahui bahwa flavonoid merupakan suatu senyawa yang polar sehingga lebih cenderung untuk tertarik pada pelarut organik polar berdasarkan prinsip *like dissolved like* (Do et al. 2014; Nguyen et al. 2020; Nur et al. 2019; Sembiring et al. 2017). Kadar flavonoid total pada masing-masing ekstrak juga terdapat perbedaan berdasarkan pada perlakuan dengan atau tanpa hidrolisis. Masing-masing ekstrak menunjukkan adanya kadar flavonoid tertinggi diperlihatkan pada sampel tanpa adanya perlakuan hidrolisis dengan asam selama proses ekstraksi. Hal ini dapat dipengaruhi karena pada perlakuan hidrolisis dengan asam terdapat proses pemisahalan melalui ekstraksi cair-cair dengan etil asetat. Proses pemisahan tersebut kemungkinan flavonoid yang terhidrolisis tidak tertarik secara maksimal pada pelarut etil asetat sehingg mempengaruhi kadar akhir dari flavonoid totalnya. Namun berdasarkan uji statistik ANOVA satu arah menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan yang signifikan antara kadar flavonoid total tehadap perlakuan hidrolisis dari masing-masing ekstrak ($p>0,05$, $n=3$).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian penentuan kadar flavonoid total dari ekstrak Etanol dan Etil asetat daun kesambi (*S. oleosa* L.) dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol dan etil asetat tanpa hidrolisis memiliki kadar flavonoid berturut-turut 62,1±0,98 dan 40,7±0,77 (mgEQ/g). Sedangkan kadar flavonoid dari ekstrak etanol dan etil asetat dengan proses hidrolisis meberikan kadar flavonoid total berturut-turur sebesar 57±0,23 dan 39,8±0,18 (mgEQ/g).

DAFTAR PUSTAKA

Bhatia, H., 2013. A Review on *Schleichera oleosa*: Pharmacological and Environmental Aspects. , J. Pharm. Res. **6**(1), 224–229. https://doi.org/ https://doi.org/10.1016/j.jopr.2012.11.003

Dai, J., Mumper, R.J., 2010. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant And Anticancer Properties. Molecules 15, 7313–7352. Https://Doi.Org/10.3390/Molecules15107313

Do, Q.D., Angkawijaya, A.E., Tran-Nguyen, P.L.,

Huynh, L.H., Soetaredjo, F.E., Ismadji, S., Ju, Y.-H., 2014. Effect of Extraction Solvent on Total Phenol Content, Total Flavonoid Content, And Antioxidant Activity of *Limnophila aromatica*. J. Food Drug Anal. 22, 296–302. Https://Doi.Org/10.1016/J.Jfda.2013.11.001

Ghosh, P., Mandal, A., Chakraborty, M., Chakraborty, P., Rasul, M., Saha, A., 2011. Triterpenoids From *Schleichera oleosa* Of Darjeeling Foothills And Their Antimicrobial Activity. Indian J. Pharm. Sci. 73, 231. Https://Doi.Org/10.4103/0250-474x.91568

Hadjmohammadi, M., and Sharifi, V., (2020). Investigation of optimum extraction conditions for determination of quercetin and kaempferol in coriander (*Coriandrum sativum* L.) by using experimental design and HPLC. J. Food Drug Anal. 17. https://doi.org/10.38212/2224-6614.2601

Hanifah, L., 2020. The Influence of Kesambi Leaf Extract (*Schleichera oleosa*) on Proliferation Granulosa Cell Goat Ovarium (*Caprus aegagrus hircus*) In Vitro. J. Biota 6, 19–25. https://Doi.Org/10.19109/Biota.V6i1.4372

Kyaw, C.M., Lae, K.Z.W., Win, N.N., Ngwe, H., 2019. Investigation of Phytochemical Constituents And Some Biochemical Properties of The Bark of *Schleichera oleosa* (Lour.) Oken. (GYO). J. Myanmar Acad. Arts Sci. 17, 477—495 .

Muthukrishnan, S., Sivakkumar, T., 2018. Physicochemical Evaluation, Preliminary Phytochemical Investigation, Fluorescence and Tlc Analysis of Leaves of *Schleichera oleosa* (Lour.) Oken. Indian J. Pharm. Sci. 80. https://Doi.Org/10.4172/Pharmaceutical-Sciences.1000387

Nguyen, V.T., Nguyen, M.T., Tran, Q.T., Thinh, P.V., Bui, L.M., Le, T.H.N., Le, V.M., Linh, H.T.K., 2020. Effect of Extraction Solvent on Total Polyphenol Content, Total Flavonoid Content, and Antioxidant Activity of Soursop Seeds (*Annona muricata* L.). Iop Conf. Ser. Mater. Sci. Eng. 736, 022063. https://Doi.Org/10.1088/1757-899x/736/2/022063

Nur, S. et al. (2019) 'Total phenolic and flavonoid compounds, antioxidant and toxicity profile of extract and fractions of paku atai tuber (*Angiopteris ferox* Copel)', Food Res. 3(6). doi: 10.26656/fr.2017.3(6).135.

Sembiring, E.N., Elya, B., Sauriasari, R., 2017. Phytochemical Screening, Total Flavonoid And Total Phenolic Content And Antioxidant Activity Of Different Parts Of *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. Pharmacogn. J. 10, 123–127. https://Doi.Org/10.5530/Pj.2018.1.22

Syahruni, R., Nur, S., 2015. Identifikasi Komponen Kimia Dan Uji Daya Antioksidan Ekstrak Buah Dengen (*Dillenia serrata* Thunb.). Jf Fik Uinam 3, 162–169.

Thind, T.S., Rampal, G., Agrawal, S.K., Saxena, A.K., Arora, S., 2010. Diminution Of Free Radical Induced Dna Damage By Extracts/Fractions From Bark Of *Schleichera oleosa* (Lour.) Oken. Drug Chem. Toxicol. 33, 329–336. https://Doi.Org/10.3109/01480540903483433.