

Skrining Fitokimia dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Menggunakan Metode Spektrofotometer UV-Vis

Evi Nurul Hidayati¹, Aisyiah², Cahya Dewi Kinanti³, Moh. Zahir Masrul⁴

^{1,2,3}Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Kusuma Husada Surakarta

⁴Program Studi Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,

Universitas Negeri Malang

Email : evi.nurul03@gmail.com¹, aaisyiah01@gmail.com², Cahyakinanti7@gmail.com³,
zahir19940124@gmail.com⁴

Abstrak : Indonesia merupakan negara dengan keanekaragaman hayati yang tinggi, baik di darat maupun laut, Salah satu kekayaan alam yang dimiliki Indonesia adalah tanaman. Indonesia merupakan negara yang memiliki berbagai jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan baik sebagai sumber pangan maupun sebagai obat. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah daun kelor (*Moringa oleifera*). Uji skrining fitokimia penting untuk dilakukan agar didapatkan informasi terkait metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak. Salah satu metabolit sekunder yang dipersyaratkan untuk menentukan kualitas suatu ekstrak etanol daun kelor adalah flavonoid. Oleh karena itu perlu dilakukan kuantifikasi kadar flavonoid yang terdapat pada ekstrak menggunakan metode Spektrofotometer UV Vis. Pada penelitian ini dilakukan uji skrining fitokimia dan penentuan kadar flavonoid ekstrak etanol daun kelor. Ekstrak etanol daun kelor ini memiliki kandungan saponin, flavonoid, steroid dan fenol. Adapun kadar flavonoid total ekstrak ini adalah 0,1%. Ekstrak etanol daun kelor yang diteliti terbukti memiliki beberapa kandungan senyawa metabolit sekunder sehingga memiliki kecenderungan untuk dapat memberikan aktivitas biologis yang dapat dimanfaatkan dalam pengobatan.

Kata Kunci: *Moringa oleifera* ; Skrining Fitokimia ; Kadar Flavonoid

Abstract : Indonesia is a country with high biodiversity, both on land and sea. One of Indonesia's natural riches is plants. Indonesia is a country that has various types of plants that can be used both as a source of food and as medicine. One plant that can be used as medicine is *Moringa oleifera* leaves. It is important to carry out a phytochemical screening test to obtain information regarding secondary metabolites contained in the extract. One of the secondary metabolites required to determine the quality of an ethanolic extract of *Moringa oleifera* leaves is flavonoids. Therefore, it is necessary to quantify the flavonoid levels contained in the extract using the UV Vis Spectrophotometer method. In this study, a phytochemical screening test was carried out and the flavonoid content of ethanolic extract of *Moringa oleifera* leaves was determined. Ethanolic extract of *Moringa oleifera* leaves contains saponin, flavonoid, steroid and phenol. The total flavonoid content of this extract is 0.1%. The ethanolic extract of *Moringa oleifera* leaves studied was proven to contain several secondary metabolite compounds so that it has a tendency to provide biological activity that can be utilized in medicine.

Keywords: *Moringa oleifera* ; Phytochemical Screening ; Flavonoid Content

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara dengan keanekaragaman hayati yang tinggi, baik di darat maupun laut, Salah satu kekayaan alam yang dimiliki Indonesia adalah tanaman. Indonesia merupakan negara yang memiliki berbagai jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan baik sebagai obat, kosmetik dan sumber pangan. Daun kelor adalah salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai imunomodulator dan sebagai bahan tambahan untuk *moisturizer* pada produk kosmetik (*Moringa oleifera*) (Anindi dkk, 2020 ; Wulandari, 2020 ; Susanty dkk, 2019).

Salah satu metabolit sekunder yang terdapat pada daun kelor adalah senyawa flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu golongan senyawa fenol alam yang terbesar dalam tanaman dan tersusun oleh 15 atom karbon sebagai inti dasarnya (Parwata, 2016).

Flavonoid memiliki khasiat sebagai antioksidan. Adapun golongan flavonoid yang memiliki aktivitas tersebut adalah flavon, flavonol, kateksin dan kalkon (Wulandari, dkk. 2013). Salah satu pemanfaatan daun kelor sebagai kosmetik adalah sebagai *moisturizer* dimana senyawa flavonoid memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang cocok digunakan untuk produk kecantikan (Susanty dkk, 2019). Skrining fitokimia merupakan salah satu upaya untuk menganalisa adanya senyawa metabolit pada tumbuhan. Skrining fitokimia meliputi uji flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin, senyawa fenol, steroid dan terpen (Parwata, 2017). Skrining fitokimia merupakan analisa kualitatif, sedangkan salah satu analisa kuantitatif yang dapat dilakukan pada ekstrak etanol daun kelor adalah penentuan kadar flavonoid total menggunakan metode Spektrofotometer UV-Vis (Kemenkes, 2017).

Pada proses pengembangan sediaan farmasi berbasis herbal, perlu dilakukan skrining fitokimia dan uji penentuan kadar flavonoid total guna mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman karena senyawa tersebut berpotensi mampu memberikan efek farmakologis sebagai obat maupun sebagai kosmetik. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan uji skrining fitokimia dan penentuan kadar flavonoid total ekstrak etanol daun kelor menggunakan metode Spektrofotometer UV-Vis.

METODOLOGI

Alat

Alat dan instrumen yang digunakan antara lain *magnetic stirrer* (Nesco, Cina), mikropipet (Dragon Lab), Spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific, USA), tabung reaksi, plat tetes, corong pisang (Iwaki, Indonesia), labu ukur (Iwaki, Indonesia), erlenmeyer (Iwaki, Indonesia) dan gelas beaker (Iwaki, Indonesia).

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi ekstrak etanol daun kelor (PT. Borobudur Industri Jamu), methanol PA (Sigma), aluminium klorida (Sigma), Natrium asetat anhidrat (Sigma), kuersetin (Sigma), HCl (Sigma), amil alkohol (Sigma),

formaldehid (Sigma), kloroform (Sigma), ammonia (Sigma) dan natrium hidroksida (Sigma).

Skrining Fitokimia

a. Flavonoid

Sebanyak 1 g ekstrak ditambahkan dengan 50 ml air dan dididihkan selama 15 menit, selanjutnya dilakukan penyaringan dan didapatkan filtrat. Filtrat sebanyak 5 ml ditambahkan serbuk Mg dan 1 ml HCl pekat serta ditambahkan 5 ml amil alcohol. Kemudian dikocok dan larutan dibiarkan memisah. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, merah bata atau merah keunguan pada lapisan amil alcohol (Farnsworth, 1966).

b. Tanin

Sebanyak 1 g ekstrak ditambahkan dengan 50 ml air dan dididihkan selama 15 menit, selanjutnya dilakukan penyaringan dan didapatkan filtrat. Sebanyak 5 ml larutan filtrat masing-masing dimasukan pada tabung reaksi 1, tabung reaksi 2 dan tabung reaksi 3. Pada tabung reaksi 1 ditambahkan FeCl₃ 5% dan uji positif jika terbentuk warna birum biru kehitaman, hijau, biru hijau dan endapan. Pada tabung reaksi 2 ditambahkan gelatin 1% dan hasil positif jika terbentuk endapan putih. Pada tabung reaksi 3 ditambahkan 2 ml formaldehid 40%, 1 ml HCl oekat kemudian dididihkan dan hasil positif jika terbentuk endapan warna merah (Farnsworth, 1966).

c. Saponin

Sebanyak 1 g ekstrak ditambahkan dengan 50 ml air dan dididihkan selama 15 menit, selanjutnya dilakukan penyaringan dan didapatkan filtrat. Sebanyak 5 ml filtrat dilakukan pengocokan kuat selama 10 detik sampai terbentuk busa stabil setinggi 1-10 cm selama 10 menit. Uji positif ditunjukkan jika busa yang dihasilkan tidak hilang dan tetap stabil dengan penambahan beberapa tetes HCl 2N (Depkes, 1995).

d. Alkaloid

Sebanyak 0,4 gram ekstrak ditambahkan ammonia 25% dan 20 ml kloroform, kemudian dilakukan pengocokan dan penyaringan. Pada filtrat dilakukan ekstraksi cair-cair dengan ditambahkan HCl 2N dan didapatkan fase air dan fase kloroform. Fase air dimasukan ke dalam 2 tabung reaksi yaitu tabung reaksi 1 dan tabung reaksi 2. Pada tabung reaksi 1 fase air ditambahkan pereaksi dragendorff dan hasil positif jika terbentuk endapan warna merah. Sedangkan pada tabung reaksi 2 ditambahkan pereaksi meyer dan hasil positif jika terbentuk endapan putih (Cordell, 1981).

e. Kuinon

Sebanyak 1 g ekstrak ditambahkan dengan 50 ml air dan dididihkan selama 15 menit, selanjutnya dilakukan penyaringan dan didapatkan filtrat. Filtrat dimasukan ke dalam plat tetes kemudian ditambahkan 1 tetes NaOH 1N dan hasil positif jika terbentuk warna merah (Harborne, 1996).

Penetapan Kadar Flavonoid Total

a. Pembuatan Larutan Standar

Ditimbang 10 mg kuersetin kemudian dimasukan ke dalam labu uku 25 ml. Dilarutkan dan ditambahkan methanol sampai tanda. Dibuat seri pengenceran larutan

baku dengan kadar berturut-turut 80,60, 50, 40 dan 30 ppm. Sebanyak 0,5 ml sampel ditambahkan 0,1 ml aluminium klorida 10% , 0,1 ml Na Asetat 1M, 1,5 ml methanol dan 2,8 ml akuades. Selanjutnya dilakukan pengocokan dan inkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. (Anonim, 2017 dengan modifikasi).

b. Pembuatan Larutan Sampel

Ditimbang 0,2 gram ekstrak kemudian dimasukan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan 25 ml methanol kemudian dilakukan pengadukan selama 30 menit dengan pengaduk magnetik. Setelah itu dilakukan penyaringan dan ditambahkan methanol sampai tanda. Sebanyak 0,5 ml sampel ditambahkan 0,1 ml aluminium klorida 10% , 0,1 ml Na Asetat 1M, 1,5 ml methanol dan 2,8 ml akuades. Selanjutnya dilakukan pengocokan dan inkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Dilakukan penyiapan blanko yang merupakan campuran reagen tanpa sampel dan aluminium klorida 10% (Anonim, 2017).

c. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Sebanyak 0,5 ml larutan standar 40 ppm, selanjutnya ditambahkan 0,1 ml aluminium klorida 10% , 0,1 ml Na Asetat 1M, 1,5 ml methanol dan 2,8 ml akuades. Penentuan Panjang gelombang maksimum dilakukan pada rentang Panjang gelombang 300-500 nm (Anonim, 2017 dengan modifikasi). Panjang gelombang yang digunakan pada penelitian ini adalah 422 nm.

d. Penentuan Kadar Flavonoid Total

Pengukuran absorbansi larutan standar dan sampel uji dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 480 nm. Konsentrasi flavonoid ditentukan dengan persamaan regresi linier dengan rumus $y=a+bx$. Data absorbansi hasil pengukuran ini dimasukan ke dalam persamaan regresi linier kemudian dilakukan perhitungan konsentrasi dimana y adalah absorbansi sampel. Persen Kadar flavonoid dapat dihitung berdasarkan nilai absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer UV-Vis. Kadar flavonoid dapat dihitung menggunakan rumus (Anonim, 2017).

$$\% \text{ kadar} = \frac{C_p \left(\frac{A_u}{A_p} \right) \times V \times f}{W} \times 100\%$$

Keterangan :

C_p : Kadar larutan pembanding

A_u : Serapan larutan uji

A_p : Serapan larutan pembanding

V : Volume larutan uji sebelum pengenceran

f : Faktor pengenceran larutan uji

W : Bobot bahan uji

Analisis Data

Hasil penelitian dianalisis menggunakan pendekatan deskriptif. Data deskriptis meliputi hasil skrining fitokimia dan uji flavonoid total yang diperoleh kemudian dideskripsikan dan dibandingkan dengan persyaratan (Hastono, 2016).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia dilakukan dengan tujuan untuk mengidentifikasi secara kualitatif dan memastikan kandungan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak etanol daun salam (Anindia dkk, 2020). Adapun hasil analisa skrining fitokimia pada ekstrak etanol daun kelor terdapat pada tabel 1. Hasil analisa skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) memiliki kandungan saponin, flavonoid, steroid dan fenol. Hasil pada penelitian ini sesuai dengan penelitian terdahulu dimana berdasarkan penelitian Abdulkadir (2016) didapatkan hasil bahwa ekstrak etanol daun kelor memiliki kandungan polifenol, flavonoid, tanin dan saponin. Sedangkan pada penelitian Patel (2014) didapatkan hasil bahwa ekstrak etanol daun kelor mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, dan tanin.

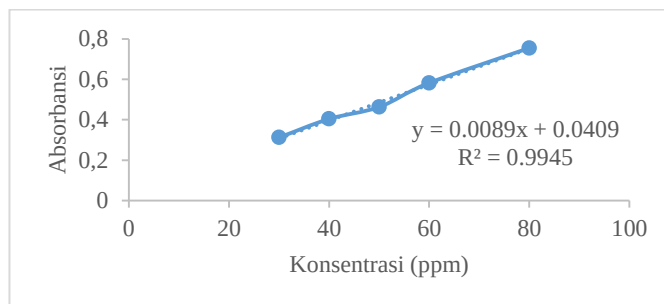
Table 2. Metabolit Sekunder Ekstrak etanol daun kelor

No	Secondary Metabolite	Result
1	Alkaloid	-
2	Saponin	+
3	Kuinon	-
4	Flavonoid	+
5	Tanin	-
6	Steroid	+
7	Fenol	+

Flavonoid dapat meningkatkan efek dari vitamin C dan memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Senyawa ini dikenal memiliki aktivitas biologi melawan toksin hati, tumor, virus dan mikroba (Korkina dan Afanas, 1997). Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang dapat menyebabkan hemolisis sel darah merah dimana senyawa ini berperan penting pada aktivitas antimikroba suatu senyawa (Winter dkk, 1993).

Kadar Flavonoid Total

Tahapan penentuan kadar flavonoid total adalah pembuatan kurva baku kuersetin dan pengujian kadar flavonoid total pada sampel ekstrak etanol daun kelor. Persamaan kurva baku kuersetin dipaparkan pada gambar 1.



Gambar 1. Persamaan kurva baku kuersetin

Penentuan flavonoid total dari ekstrak etanol daun kelor dilakukan dengan melihat pembentukan warna pereaksi AlCl_3 . Kuersetin digunakan sebagai pembanding karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 sehingga membentuk kompleks warna dengan AlCl_3 . Penambahan asam asetat pada C-4 keto dan 3 atau 5-OH tetap stabil. Sebelum penetapan kadar flavonoid total, terlebih dahulu ditentukan panjang gelombang maksimum (Das dkk, 2013).

Pada penentuan kurva baku kuersetin dilakukan dengan membuat lima seri konsentrasi, yakni 30 $\mu\text{g/ml}$; 40 $\mu\text{g/ml}$; 50 $\mu\text{g/ml}$; 60 $\mu\text{g/ml}$, dan 80 $\mu\text{g/ml}$. Selanjutnya, dilakukan pengecekan absorbansi pada kelima seri konsentrasi pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan, yaitu 422 nm. Hal ini sesuai dengan penelitian-penelitian mengenai penentuan panjang gelombang dari kuersetin yang berkisar antara 380 – 480 nm (Das dkk, 2013).

Penetapan kadar flavonoid total ekstrak dapat dilakukan dengan memasukkan nilai absorbansi dari sampel ekstrak etanol daun kelor ke dalam persamaan kurva baku kuersetin yang telah dibuat, sehingga didapat hasil kadar flavonoid total ekstrak etanol daun kelor sebesar 0,1%. Syarat kandungan flavonoid total pada ekstrak etanol daun kelor pada Farmakope Herbal Indonesia adalah tidak kurang dari 6,30%. Pada penelitian ini kandungan flavonoid total pada sampel lebih kecil dibandingkan syarat dikarenakan ekstrak yang digunakan mengandung maltodekstrin. Maltodekstrin umum digunakan pada ekstrak dimana peningkatan konsentrasi maltodekstrin dapat menurunkan kandungan flavonoid total dari ekstrak (Widyaningsih dkk, 2021).

KESIMPULAN

Uji skrining fitokimia penting dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak. Pada penelitian ini ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) memiliki kandungan saponin, flavonoid, steroid dan fenol. Kandungan flavonoid total pada sampel ekstrak etanol daun kelor sebesar 0,01%. Ekstrak etanol daun kelor yang diteliti terbukti memiliki beberapa kandungan senyawa metabolit sekunder sehingga memiliki kecenderungan untuk dapat memberikan aktivitas biologis yang dapat dimanfaatkan dalam pengobatan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdulkadir, A. R., Zawawi, D. D., & Jahan, M. S. (2016). Proximate and phytochemical screening of different parts of *Moringa oleifera*. *Russian Agricultural Sciences*, 42(1), 34-36.
- Anindi Lupita Nasyanka, Janatun Na'imah, dan Riskha Aulia, (2020). Pengantar Fitokimia. Pasuruan: Penerbit Qiara Media.
- Anonim. (2017). Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. Jakarta : Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Cordell, G.A. (1981) Introduction to Alkaloid a biogenetic Approach. A willey Interscience Publication. New York : John Willey and Sons.
- Das, A., Mukherjee, A., & Dhar, P. (2013). Characterization of antioxidants and antioxidative properties of various unifloral honeys procured from West Bengal, India. *IOSR-JESTFT*, 7(3), 56-63.
- Farnsworth, N. R. (1966). Biological and Phytochemical Screening of Plants. *Journal of Pharmaceutical Science*, 55(3), 225-276.
- Harborne, J. (1996). Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Cetakan Kedua. Penerjemah : Padmawinata, K. dan Iwang, S. Bandung : Penerbit ITB.
- Hastono, S.P. (2016). Analisis Data SPSS. Raja Grafindo Persada.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2017). Farmakope Herbal Indonesia Edisi VI. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia..
- Korkina LG, and Afanas'ev IB. (1997). Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Adv Pharmacol*, 38, 151-163.
- Parwata, I Made Oka Adi. (2016). Kimia Organik Bahan Alam : Flavonoid. Denpasar : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana.
- Parwata, I Made Oka Adi. (2017). Kimia Organik Bahan Alam : Obat Tradisional. Denpasar : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana.
- Patel, P., Patel, N., Patel, D., Desai, S., & Meshram, D. (2014). Phytochemical analysis and antifungal activity of *Moringa oleifera*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(5), 144-147.
- Susanty, Naufal Abiyu Ridnugrah, Alfian Chaerrudin, Sri Anastasia Yudistirani, Aktivitas Antioksidan Ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) sebagai Zat Tambahan Pembuatan *Moisturizer*. Seminar Nasional Sains dan Teknologi, Jakarta, 2019 (1-7).
- Widyaningsih, T. D., Akbar, S. M., & Wijayanti, N. (2021). Optimization of maltodextrin concentration, drying temperature and drying time on total flavonoid content and antioxidant activity of black garlic (*Allium sativum* L.) aqueous extract powder using response surface methodology. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 924, No. 1, p. 012035). IOP Publishing..

- Winter WP, K TMason, and Ford TD. (1993). Mechanism of saponininduced red cell hemolysis: reexamination.3; Blood 82: Suppl. 1: 461.
- Winter, W. P., & FORD, T. (1993). Mechanism of Saponon Induced Red Cell Hemolysis Effect of Ligand State and Other Variables in AA Cells ans SS Cells. *In Blood*, 82, A461.
- Wulandari, G.R. (2021). Formulasi dan Evaluasi Imunogenisitas Nanopartikel salut Enterik yang Mengandung HBsAg dan Ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.). Tesis. Institut Teknologi Bandung.
- Wulandari, R. R. (2013). Senyawa Flavonoid. Surakarta : Universitas Muhammadiyah Surakarta.