**ANALISIS FLAVONOID TOTAL AKAR TABAR KEDAYAN**

**(*Aristolochia foveolata* Merr)**

Siti Jubaidah 1), Henny Nurhasnawati 2)

*Akademi Farmasi Samarinda*

*Email:* *ida\_mapro13@yahoo.com*

**ABSTRACT**

The Tabar Kedayan (*Aristolochia foveolata* Merr) plant located in the Malinau district of East Kalimantan has considerable biological active prospects as antioxidant, antibacterial, antiamuba, antiinflammatory, antihepatotoxic and antiviral. One of the secondary metabolites in this plant is the flavonoids that can be used as antioxidants.

The aim of this research is to analyze the chemical content and total flavonoid content of root tabar kedayan in fractionation with various nonpolar, semipolar and polar solvents. The analysis used in the determination of total flavonoid content using spectrophotometric method. Data of analysis used standard curve method based on absorbance data and concentration of standard solution.

The results of this study obtained the highest total phenolic average on ethyl acetate fraction of 1,09%±0,03 then n-hexane fraction of 0,52%±0,05 and the smallest level of ethanol-water fraction of 0,40%±0,03.

Keywords: Tabar Kedayan (*Aristolochia foveolata* Merr), flavonoid, spectrophotometry

1. **PENDAHULUAN**

Kalimantan Timur mempunyai keanekaragaman tumbuhan yang sangat tinggi dari berbagai etnis dayak yang mempunyai pengetahuan tentang tumbuhan obat secara turun temurun untuk menangani kesehatan masyarakat di sekitarnya. Salah satu keanekaragaman tumbuhan yang terdapat di Kalimantan Timur adalah Tabar Kedayan (*Aristolochia foveolata* Merr), yang secara empiris oleh nenek moyang etnis suku dayak pedalaman Kalimantan Timur (di daerah Malinau) berkhasiat sebagai anti racun, berfungsi menetralkan racun serangga, bisa ular dan segala macam gigitan binatang berbisa (Liwun, 2009).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Jubaidah (2015) dari hasil identifikasi senyawa kimia ekstrak etanol Akar Tabar Kedayan (*Aristolochia foveolata* Merr) mengandung senyawa alkaloid, tanin dan flavonoid. Senyawa fenolik memiliki sifat redoks, yang memungkinkan bertindak sebagai antioksidan (M.A Soobrattee, dkk 2005). Salah satu senyawa fenolik adalah flavonoid yang merupakan senyawa berwarna kuning dan berperan pada warna kuning bunga dan buah, yang mana flavonoid ini berada sebagai glikosida. Flavonoid mempunyai sifat anti-inflamasi, anti-hepatotoksik, anti-tumor, anti-mikrobia, dan anti-virus. Beberapa obat tradisional dan tumbuhan obat mengandung flavonoid sebagai senyawa bioaktif. Sifat antioksidan flavonoid yang ada pada buah-buahan dan sayuran segar diduga berkontribusi pada kemampuannya untuk melindungi tubuh terhadap penyakit jantung dan penyakit kanker (Sarker dan Nahar, 2009).

Pemisahan senyawa-senyawa dari suatu tumbuhan dapat dilakukan dengan cara fraksinasi. Proses fraksinasi ini akan memisahkan senyawa-senyawa dari suatu tumbuhan sesuai dengan tingkat kepolarannya. Penelitian yang dilakukan oleh Utami (2008), tentang uji aktivitas penangkap radikal bebas fraksi non polar ekstrak etanol daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L*.*) beserta penetapan kadar fenol total menunjukkan bahwa semakin efektif suatu senyawa dalam aktifitas penangkap radikalnya semakin besar pula kandungannya flavonoidnya.

Penetapan kadar flavonoid menggunakan metode spektrofotometri uv-vis dipilih karena senyawa flavonoid mengandung sistem aromatis yang terkonjugasi sehingga dapat menunjukan pita serapan yang kuat pada daerah UV-Vis dan metode ini memiliki banyak keuntungan antara lain dapat menganalis suatu zat dalam jumlah kecil, pengerjaannya mudah, sederhana, cukup selektif dan mempunyai kepekaan analisis yang cukup tinggi (Rohyami, 2008). Sejauh ini belum pernah dilaporkan penelitian mengenai analisis flavonoid akar tabar kedayan, sehingga perlu dilakukan penelitian tentang anlisis tersebut dengan metode spektrofotometri UV/Vis.

1. **METODE PENELITIAN**

Bahan yang digunakan adalah akar Tabar Kedayan (*Aristolochia foveolata* Merr). Bahan kimia yang digunakan etanol 95%, aquadest, kuersetin, kalium asetat 1 M, aluminium klorida (AlCl3) 10%, HCl pekat, amil alkohol, serbuk magnesium, n-heksan dan etil asetat.

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah blender, *rotary evaporator*, seperangakat alat spektrofotometer dan alat-alat gelas.

Jalannya penelitian

1. Pengolahan dan pembuatan simplisia

Sampel yang telah dikumpulkan dan dibersihkan dari kotoran, kemudian dicuci, ditiriskan, ditimbang sebagai berat basah, kemudian dikeringkan lalu ditimbang sebagai berat kering. Sampel selanjutnya dibuat serbuk dan diayak dengan mesh 40.

1. Ekstraksi

Serbuk Akar Tabar Kedayan ditimbang sebanyak 200 g kemudian diekastraksi dengan cara mesarasi dengan menggunakan pelarut etanol 95% sebanyak 2 liter, diekstraksi sampai larutan ekstrak tidak berwarna lagi, kemudian disaring dan pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental seperti pasta. Ekstrak ditimbang lalu dihitung rendemennya.

1. Fraksinasi

Ekstrak Akar Tabar Kedayan sebanyak 6 g dilarutkan dalam etanol 95% sebanyak 50 mL kemudian ditambahkan pelarut n-heksan dengan perbandingan volume antara n-heksan dan etanol adalah 2:1 (v/v) diaduk di atas hotplate dan diamkan semalam. Diperoleh 2 fase yaitu fase n-heksan dan fase etanol, fase n-heksan dikumpulkan. Dilakukan difraksinasi kedua pada fase etanol-air ditambahkan n-heksan sebanyak 75 mL diaduk di atas hotplate selama 1 jam, dipindah pada corong pisah diamkan semalam, fraksi n-heksan dipekatakn. Fraksi Etanol-air dicukupkan sampai 30 mL dengan etanol 95% dan ditambah 20 mL air, kemudian ditambah etil asetat sebanyak 100 mL, diaduk dan diamkan semalam dilakukan fraksinasi sebanyak 2 kali dengan penambahan etil asetat 50 ml. fraksi ini akan diperoleh dua fase yaitu fase etil asetat dan fase etanol-air yang kemudian masing-masing dipekatkan.

1. Skrining Fitokimia

Masing-masing sampel ditimbang sebanyak 0,5 gram, ditambahkan 10 mL air panas, di didihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas. Filtrat yang diperoleh kemudian diambil 5 mL lalu ditambahkan 50 mg serbuk magnesium dan 1 mL HCl pekat dan 2 mL amil alkohol, dikocok dan dibiarkan memisah. Flavonoid positif jika terbentuk warna merah, kuning jingga pada lapisan amil

1. Analisis Flavonoid Total dengan Spektrofotometri UV/Vis
2. Pembuatan Larutan Induk Kuersetin 100 ppm

Kuersetin ditimbang sebanyak 10 mg, dilarutkan dengan 10 mL etanol 95% dalam gelas kimia 100 mL. Larutan diaduk menggunakan batang pengaduk kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, dibilas gelas kimia dengan etanol 95% kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur hingga tanda batas, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 100 ppm

1. Pembuatan Seri Larutan Standar

Larutan induk dipipet masing-masing 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1,0 mL ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian larutan diencerkan dengan etanol 70% sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm.

1. Pembuatan Larutan Blangko

Larutan blangko dalam penelitian ini menggunakan 2 mL etanol 95%, 0,1 mL kalium asetat 1 M, 0,1 mL aluminium klorida 10 % dan ditambahkan 2,8 mL air suling, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dikocok sampai homogen. Serapan diukur pada panjang gelombang 350-550 nm.

1. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum (λ maks)

Larutan standar 6 ppm dipipet 0,5 mL ke dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan 1,5 mL etanol 70%, 0,1 mL aluminium klorida 10%, 0,1 mL kalium asetat 1 M dan ditambahkan 2,8 mL air suling, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dikocok hingga homogen, kemudian larutan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit dan serapan diukur pada panjang gelombang 350-550 nm.

1. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Pembuatan kurva kalibrasi dilakukan dengan cara larutan standar (2, 4, 6, 8 dan 10 ppm) dipipet 0,5 mL ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1,5 mL etanol 70%, 0,1 mL aluminium klorida 10%, 0,1 mL kalium asetat 1 M dan ditambahkan 2,8 mL air suling, dikocok hingga homogen, kemudian larutan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit dan serapan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

1. Penetapan Kadar Flavonoid Secara Spektrofotometri UV-Vis

Masing-masing fraksi ditimbang sebanyak 10 mg, dilarutkan dengan 5 mL etanol 95% dalam gelas kimia 100 mL. Larutan diaduk dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 1000 ppm dilakukan pengenceran sampai diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 100 ppm. Larutan dengan konsentrasi 100 ppm dipipet sebanyak 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan 1,5 mL etanol 95%, 0,1 mL aluminium klorida 10%, 0,1 mL kalium asetat 1 M dan ditambahkan 2,8 mL air suling, dikocok sampai homogen. Larutan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Serapan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali.

1. **ANALISIS DATA**

Analisis data dilakukan dengan metode kurva standar, regresi linier dengan persamaan y=bx+a berdasarkan data konsentrasi dan absorbansi larutan standar.

1. **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Akar tabar kedayan diekstraksi dengan pelarut etanol 95% kemudian difraksinasi dengan berbagai pelarut didapatkan hasil persen rendemennya sebagai berikut :

**Tabel 1. Berat dan rendemen fraksi n-heksan, etil asetat dan etanol-air**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| No | Fraksi | Berat (g) | Rendemen (%)\* |
| 1 | n-heksan | 1,42 | 23,66 |
| 2 | Etil Asetat | 2,84 | 47,33 |
| 3 | Etanol-air | 0,75 | 12,50 |

 \*Dihitung terhadap ekstrak kasar

Pada tabel 1 di atas rendemen fraksi etil asetat paling tinggi dibandingkan fraksi n-heksan dan etanol-air, hal ini dimungkinkan adanya gugus etoksi yang terdapat pada etil asetat. Adanya gugus etoksi menyebabkan etil asetat dapat membentuk ikatan hidrogen dengan senyawa yang terdapat pada sampel (Turisman, 2012). Pengikatan hidrogen yang terbentuk pada etil asetat lebih besar dibandingkan dengan senyawa yang bersifat non polar maupun polar.

Uji Fitokimia untuk flavonoid ditandai dengan terbentuk warna merah, kuning- jingga pada lapisan amil alkohol hasil ini dapat dilihat pada tabel 2 berikut:

**Tabel 2. Hasil Uji Pendahuluan Senyawa Flavonoid**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Fraksi | Hasil | Keterangan |
| n-heksan | Kuning | + |
| Etil Asetat | Kuning | + |
| Etanol-Air | Kuning | + |

Penetapan kadar flavonoid total dilakukan dengan menggunakan metode kolorimetri. Metode kolorimetri menggunakan penambahan pereaksi berupa AlCl3 10% dan CH3COOK 1M yang mana fungsi dari pereaksi AlCl3 adalah untuk membentuk reaksi antara AlCl3 dengan golongan flavonoid membentuk kompleks antara gugus hidroksil dan keton yang bertetangga atau dengan gugus hidroksil yang saling bertetangga. AlCl3 akan bereaksi dengan gugus keton pada C4 dan gugus OH pada C3 atau C5 pada senyawa flavon atau flavonol membentuk senyawa kompleks yang stabil berwarna kuning. Senyawa yang digunakan sebagai standar pada penetapan kadar flavonoid ini adalah quersetin, karena quersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus keto pada atom C-4 dan juga gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang bertetangga (Chang, 2002).

Pengukuranserapan panjang gelombang maksimumdilakukan pada rentang sekitar 350-550 nm.Panjang gelombang maksimum yangdihasilkan adalah 432 nm denganabsorbansi 0,033 pada konsentrasi 6 ppm, panjang gelombang maksimumtersebut kemudian digunakan untukmengukur serapan kurva kalibrasi dansampel. Hasilkurva kalibrasi diperoleh persamaan regresilinier yaitu y=0,00706x – 0,00173 dengan nilaikoefisien kolerasi (r) = 0,9975. Nilai r yangmendekati 1 menunjukkan kurva kalibrasilinier dan terdapat korelasi (hubungan) antarakonsentrasi larutan kuersetin dengan nilaiserapan, semakin tinggi nilai konsentrasi maka absorbansipun akan semakin tinggi pula.Pada penetapan kadar flavonoid, penambahan kalium asetat adalah untukmendeteksi adanya gugus 7-hidroksilsedangkan perlakuan inkubasi selama 30menit yang dilakukan sebelum pengukurandimaksudkan agar reaksi berjalansempurna, sehingga memberikan intensitaswarna yang maksimal. Penetapan kadarflavonoid dari akar tabar kedayan inidilakukan dengan replikasi 3x dan dilihat pada Tabel 3 sebagai berikut:

**Tabel 3. Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total Akar Tabar Kedayan**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Fraksi | Kadar Flavonoid Total  | Kadar Rata-Rata Flavonoid Total (%) | SD |
| n-heksan | 0,48 | 0,52 | 0,05 |
| 0,50 |
| 0,58 |
| Etil Asetat | 1,10 | 1,09 | 0,03 |
| 1,11 |
| 1,05 |
| Etanol-Air | 0,41 | 0,40 | 0,03 |
| 0,36 |
| 0,43 |

Hasil yang terdapat pada tabel 3 tersebut pada fraksi semi polar yaitu etil asetat memiliki kadar flavonoid yang tertinggi sebesar 1,09 %, dilanjutkan dengan fraksi nonpolar pada n-heksan sebesar 0,52% dan kadar flavonoid yang paling rendah pada fraksi polar etanol-air sebesar 0,40%. Hal ini sesuai dengan penelitian Fadillah (2017) dengan pelarut methanol, didapatkan kadar flavonoid tertinggi pada fraksi etil asetat. Golongan flavonoid yang diduga pada fraksi etil asetat adalah golongan flavonol,

1. **KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa kadar flavonoid total yang terbesar pada fraksi etil asetat sebesar 1,09 % dilanjutkan fraksi n-heksan sebesar 0,52% dan fraksi etanol-air sebesar 0,40%.

**DAFTAR PUSTAKA**

Chang CH, Yang MH, Wen HM, Chern JC. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis.* Vol 10(3):178-182.

Fadhillah A, Rahmadani A, Rijai L. 2017. Analisis Kadar Total Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelubut (Passiflora foetida L). Proceeding of the 5th Mulawarman Pharmacetical Confrences : 21-28.

Jubaidah, S. Apriliana, A. Wijaya, H. 2015. Uji Bioaktivitas Ekstrak Akar Tabar Kedayan (*Aristolochia foveolata* Merr). *Media Sains*. Vol 8 (II) : 69-75.

Liwun, N.M. 2009. Inventarisasi dan Identifikasi Tanaman Obat yang Digunakan Oleh Suku Dayak Lundayeh di Kecamatan Muntarang Kabupaten Malinau Kalimantan Timur. *KTI* Akademi Farmasi Samarinda. Samarinda.

M.A. Soobrattee, V.S. Neergheen, A. Luximon-Ramma, O.I.Aruoma, O.T. Bahorun. 2005. Phenolics as potential antioxidant thera-peutic agents: mechanism and actions, Mutat. Res. Fundam. Vol.579: 200–213.

Rohyami, Y. 2008. “Penentuan Kandungan Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* Scheff Boerl)”. *Jurnal logika* Vol 5(1) : 1-8.

Sarker, S.D., dan Nahar, L. 2009. *Kimia Untuk Mahasiswa Farmasi Bahan. Kimia Organik, Alam dan Umum*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. Hal: 521-524.

Turisman, Ardini, P. Nofiani, R. 2012. Total Fenol Fraksi Etil Asetat Dari Buah Asam Kandis ( Garcinia dioca Blume). JKK. vol.1(II) : 45-48.

Utami, Wahyu., Da’i, Muhammad., dan Negara, D. W. K., 2008. “Uji Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Fraksi Non Polar Ekstrak Etanol Daun Dewandaru (Eugenia uniflora L.) Dengan Metode DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhidrazyl) Beserta Penetapan Kadar Fenol Dan Flavonoidnya”. Jurnal Farmasi Indonesia. 9(2): 71.