

ANALISIS NILAI ABSORBANSI KADAR FLAVONOID TANAMAN HERBAL MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS

Anita Purnamasari, Sri Zelviani*, Sahara, Nurul Fuadi

Jurusan Fisika

Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar

Jl. Sultan Alauddin No. 63, Gowa, Sulawesi Selatan, Indonesia. 92113

*E-mail: sri.zelviani@uin-alauddin.ac.id

Abstrak: Flavonoid merupakan metabolit sekunder dari polifenol yang banyak ditemukan pada tumbuhan dan makanan serta memiliki aktivitas biologis. Kadar flavonoid dapat diukur dengan mengetahui nilai absorbansi pada panjang gelombang tertentu berdasarkan prinsip Lambert-Beer dari setiap tanaman herbal menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar flavonoid ekstrak daun sirih merah, daun kembang sepatu dan ekstrak daun kapuk. Proses ekstraksi kandungan kimia dan daun sirih daun waru dan daun kapuk dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 70%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan flavonoid total daun sirih merah, daun kembang sepatu dan daun kapuk adalah sebesar 1,18131%, 1,4445% dan 1,2985%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kandungan flavonoid tertinggi dimiliki oleh daun sirih merah dengan nilai sebesar 1,8131%.

Kata Kunci: daun kapuk; daun kembang sepatu; daun sirih merah; flavonoid; spektrofotometer UV-Vis

Abstract: Flavonoids are secondary metabolites of polyphenols that are commonly found in plants and food and have biological activities. Flavonoid levels can be measured by knowing the absorbance value at a certain wavelength based on the Lambert-Beer principle of each herbal plant using a UV-Vis spectrophotometer. The purpose of this study was to determine the flavonoid content of red betel leaf extract, hibiscus leaf extract and kapok leaf extract. The extraction process of chemical content and betel leaf of waru leaf and kapok leaf was carried out by maceration method using 70% ethanol. The results showed that the total flavonoid content of red betel leaf, hibiscus leaf and kapok leaf was 1.18131%, 1.4445% and 1.2985%. So it can be concluded that the highest flavonoid content is owned by red betel leaf with a value of 1.8131%.

Keywords: flavonoids; hibiscus leaves; kapok leaf; red betel leaf; UV-Vis spectrophotometer

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang memiliki manfaat tidak hanya sebagai bahan pangan tetapi dapat digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti demam. Tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat salah satunya yaitu daun kembang sepatu, daun kapuk dan daun sirih merah yang

memiliki kandungan flavonoid, dimana flavonoid banyak terdapat pada daun, batang, bunga, buah, biji atau kulit batang. Flavonoid merupakan senyawa fenol alam yang terdapat dalam hampir semua tumbuhan (Markham KR, 1988).

Berdasarkan Jenderal POM tahun 1991 dinyatakan bahwa terdapat 283 spesies tumbuhan obat yang digunakan oleh industri obat tradisional di Indonesia (Neldawati et al., 2013). Salah satu penyakit yang dapat disembuhkan menggunakan daun kembang sepatu, daun kapuk dan daun sirih merah adalah demam. Demam adalah keadaan dimana dapat berakibat serius pada anak sebab mampu menimbulkan gejala seperti meningitis, bakteremia, osteomyelitis, pneumonia, hingga infeksi saluran kemih (Arham, 2012).

Flavonoid mempunyai sifat antioksidan karena mengandung gugus hidroksil sehingga dapat berperan sebagai penangkap radikal bebas (Widyastuti, 2010). Senyawa yang memiliki antioksidan adalah senyawa fenol yang mempunyai gugus hidroksi yang tersubstitusi pada posisi orto terhadap gugus $-OH$ dan $-OR$ (Pratiwi, 2006). Senyawa flavonoid seperti quersetin, morin, mirisetin, kaemferol, asam tanat dan asam elagat adalah antioksidan kuat yang mampu melindungi makanan dari kerusakan oksidatif (Silalahi, 2006). Kuersetin adalah senyawa aktif yang termasuk dalam golongan flavonoid, dimana flavonoid memiliki banyak manfaat terutama sebagai obat anti-piretik. Demam dapat hilang dengan mengonsumsi obat anti-piretik yang terdapat pada sejumlah tanaman herbal (Mutia & Zakiah, 2017). Flavonoid juga digunakan sebagai penangkap radikal bebas, dan memiliki efek anti-inflamasi, antivirus, anti-trombosis dan hepatoprotektif (Alwi, 2017).

Senyawa kuersetin memiliki mekanisme kerja sebagai anti-piretik dalam penurunan suhu tubuh yaitu dengan memblok jalur siklooksigenase (COX-2) dan fosfolipase A2 serta menjadi penghambat mediator inflamasi sehingga dapat menghambat pada proses terjadinya demam dan bila digunakan ketika demam berlangsung maka dapat memiliki efektivitas sebagai penurun demam (Mutia, 2017).

Kadar flavonoid dapat diukur dengan mengetahui nilai absorbansi pada panjang gelombang tertentu berdasarkan prinsip Lambert-Beer dari setiap tanaman herbal menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Flavonoid adalah metabolit sekunder dari polifenol yang banyak ditemukan pada tumbuhan dan makanan serta memiliki aktivitas biologis. Flavonoid dapat ditemukan pada semua jenis tumbuhan hijau, sehingga banyak ditemukan di setiap ekstrak tumbuhan (Arifin, 2018). Absorbansi merupakan perbandingan intensitas sinar yang datang dengan intensitas sinar yang diserap. Metode ini dikenal dengan metode kolorimetri, senyawa yang memiliki spektrum penyerapan pada spektrum UV-Vis akan menghasilkan senyawa turunannya yang memungkinkan pengukuran pada daerah UV-Vis. Apabila radiasi atau cahaya putih dilewatkan melalui larutan berwarna maka radiasi dengan panjang gelombang tertentu diserap dan radiasi lainnya diteruskan. Nilai absorbansi tergantung pada zat yang dikandung oleh tumbuhan, semakin banyak kadar zatnya maka cahaya panjang gelombang akan semakin banyak diserap oleh molekul-molekul tersebut (Neldawati et al., 2013).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk melakukan analisis kandungan absorbansi dan flavonoid daun sirih merah, daun kembang sepatu dan daun kapuk yang dapat digunakan untuk menurunkan demam. Diharapkan dari penelitian ini akan diketahui nilai absorbansi dan kadar flavonoid daun sirih merah, daun kembang sepatu dan daun kapuk dan menentukan hubungan antara kapasitas kalor dan nilai absorbansi sehingga dapat digunakan sebagai obat penurun demam.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari-Juli 2021 di Laboratorium Anorganik Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar dan Laboratorium Kimia Analitik Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Ujung Pandang. Alat dan bahan yang digunakan adalah blender, gelas ukur, pipet tetes, spektrofotometer UV-Vis, mesh 40, kertas label, tabung reaksi, rak tabung reaksi, spatula, gelas beker, pengaduk kaca, corong kaca, timbangan analitik, kuvet, mikropipet, inkubator, daun kapuk, daun kembang sepatu, daun sirih merah, kuersetin, aquades, etanol 70%, etanol 96%, natrium asetat dan aluminium klorida $AlCl_3$.

Prosedur kerja yang dilakukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pembuatan serbuk simplisia

Sampel yang telah dikumpulkan dicuci dengan air mengalir sampai bersih, kemudian daun diiris tipis-tipis dan dikeringkan selama 3 hari dalam suhu kamar. Daun yang kering dihaluskan menggunakan blender untuk mendapatkan serbuk sampel. Serbuk yang diperoleh diayak dengan mesh 40 lalu ditimbang.

2. Pembuatan ekstrak sampel dengan maserasi

Memasukkan daun yang sudah dihaluskan sebanyak 200 gram ke dalam toples maserasi dengan etanol 70% untuk dilakukan maserasi selama 3 hari. Kemudian dilakukan proses pemisahan ampas dan filtratnya. Selanjutnya ampas dimaserasi kembali dengan menggunakan etanol 70% yang baru.

3. Analisis senyawa flavonoid dengan spektrofotometer UV-Vis

a. Pengukuran panjang gelombang maksimum

Mencampur 1,0 ml larutan kuersetin dengan etanol sampai pada volume 5 ml dalam labu tentukur kemudian dikocok dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar dan diukur absorbansinya.

b. Pengukuran kurva standar kuersetin

Melarutkan kuersetin sebanyak 10 mg dengan 100 ml etanol 96%, kemudian membuat pengenceran kuersetin dengan konsentrasi 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm dan 60 ppm sebagai larutan kuersetin pembanding. Sebanyak 0,1 ml larutan kuersetin diencerkan dengan 1,5 ml etanol kemudian menambahkan 0,1 ml aluminium (III) klorida 10%, 0,1 ml Natrium asetat 1 M dan 2,8 ml aquades. Setelah diinkubasi selama 30 menit, absorbansi dari larutan pembanding diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 434 nm. Selanjutnya membuat kurva larutan standar untuk mendapatkan persamaan regresi linier.

4. Penetapan Kadar Flavonoid ekstrak sampel

Sebanyak 1 ml sampel ditambahkan dengan 1,5 ml etanol kemudian 2,8 ml aquades, 0,1 ml aluminium (III) klorida dan 0,1 ml kalium asetat. Melakukan inkubasi selama 30 menit dan mengukur absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 439 nm. Pada penentuan kadar flavonoid maka menggunakan persamaan regresi dari kurva standar antara absorbansi dan konsentrasi larutan standar. Secara sistematis dapat dituliskan:

$$y = ax \pm b \quad (1)$$

Keterangan:

y = Nilai absorbansi

a = Perpotongan kurva garis lurus

b = Perpotongan kurva dengan kordinat

x = Konsentrasi ekstrak (mg/L)

Selanjutnya nilai absorbansi disubstitusikan ke dalam persamaan regresi sebagai (y) sehingga untuk menentukan kadar flavonoid pada sampel herbal dapat digunakan persamaan:

$$\text{Kadar Flavonoid} = \frac{C \times V}{M} \quad (2)$$


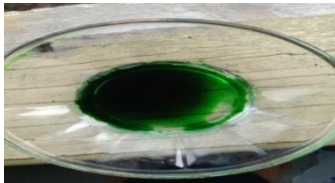
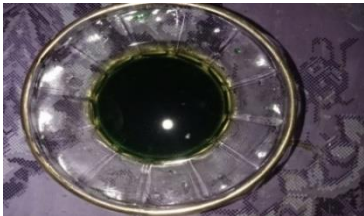
Keterangan:

- C = Konsentrasi (mg/L)
V = Volume larutan sampel (M)
M = Massa ekstrak (g)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian dilakukan menggunakan 200 gram serbuk simplisia daun sirih merah, daun kembang sepatu dan daun kapuk yang dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% selama 3 hari. Hasil ekstraksi daun sirih merah, daun kembang sepatu dan daun kapuk dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil ekstraksi tanaman herbal

No	Sampel	Hasil Ekstrak (Gambar)	Keterangan
1.	Daun kembang sepatu		Hasil ekstrak maserasi daun kembang sepatu menghasilkan warna kejinggaan
2.	Daun kapuk		Hasil ekstrak maserasi daun kapuk menghasilkan warna hijau
3.	Daun sirih merah		Hasil ekstrak maserasi daun sirih merah menghasilkan warna merah bata

Hasil uji flavonoid ekstrak daun sirih merah, daun kembang sepatu dan daun kapuk menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum 439 nm menghasilkan nilai absorbansi pada masing-masing ekstrak sampel sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan flavonoid total daun kembang sepatu, daun sirih merah, daun kapuk

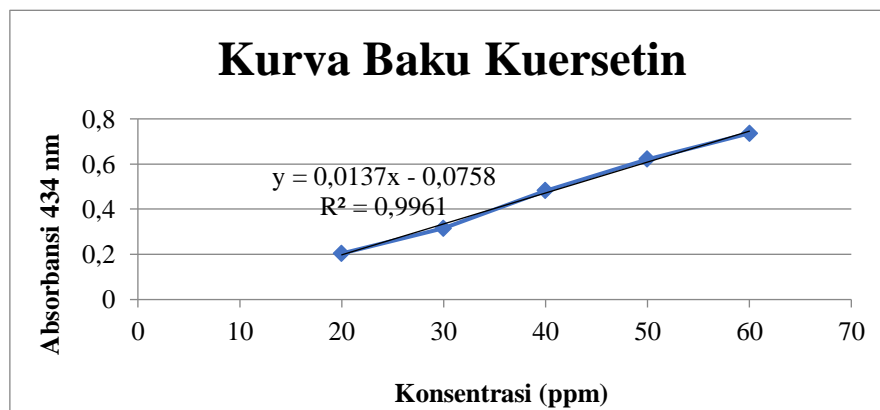
Sampel	Berat ekstrak (gram)	Absorbansi	Kadar Ekuivalen (ppm)	Kadar Flavonoid total (%)
Daun sirih merah	200	0,421	36,262	1,8131
Daun kembang sepatu	200	0,320	28,890	1,4445
Daun kapuk	200	0,280	25,970	1,2985

Hasil dari pengukuran kuersetin sebagai pembanding 20, 30, 40, 50, 60 dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai absorbansi kuersetin sebagai pembanding pada panjang gelombang nm

Konsentrasi	Absorbansi
20	0,204
30	0,316
40	0,482
50	0,621
60	0,737

Berdasarkan Gambar 1, hubungan antara konsentrasi dan absorbansi dapat disimpulkan bahwa larutan standar pembanding kuersetin yaitu 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm dan 60 ppm diperoleh nilai absorbansi kuersetin yang berbeda-beda yaitu berturut-turut 0,204, 0,316, 0,482, 0,621, dan 0,737. Hasil yang diperoleh dari pengukuran kurva baku adalah semakin tinggi nilai konsentrasi maka semakin tinggi nilai absorbansinya dengan range kadar flavonoid total yang baik berkisar antara 0,2-0,8.



Gambar 1. Grafik kurva baku kuersetin sebagai larutan standar pembanding

Tumbuhan sirih merah, kembang sepatu dan kapuk yang digunakan dalam penelitian ini yaitu hanya pada bagian daunnya saja. Ketiga tanaman herbal ini memiliki kandungan senyawa flavonoid yang dapat dimanfaatkan untuk menurunkan demam. Flavonoid hampir terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk buah, akar, daun dan kulit luar batang. Flavonoid merupakan senyawa alam yang berpotensi sebagai antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas. Pada penelitian ini ketiga tanaman herbal diperoleh dari Kabupaten Luwu Utara, Sulawesi Selatan. Kotoran yang menempel pada daun harus dibersihkan karena dapat mengganggu dan berpengaruh pada proses hasil ekstraksi. Daun sirih merah, daun kembang sepatu dan daun kapuk dipotong-potong kecil untuk mempercepat proses pengeringan. Proses pengeringan ini bertujuan untuk mengurangi kadar air yang terdapat pada sampel sehingga mencegah pembusukan oleh bakteri.

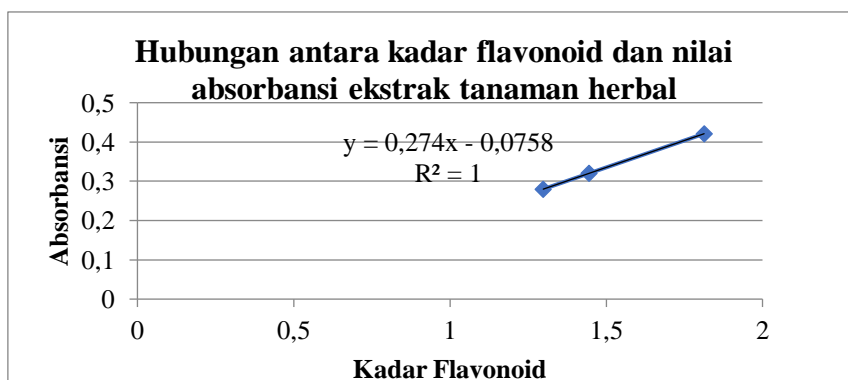
Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Metode maserasi merupakan metode yang dapat meminimalisir kemungkinan rusaknya komponen senyawa kimia. Proses maserasi dilakukan dengan merendam sejumlah serbuk simplisia dalam etanol 70%. Penggunaan etanol 70% pada penelitian ini disebabkan karena senyawa flavonoid umumnya dalam bentuk glikosida yang bersifat polar sehingga harus dilarutkan dengan pelarut yang bersifat polar. Cairan penyari ini akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang berperan dalam proses keseimbangan larutan antara di luar dan di dalam sel.

Analisis nilai absorbansi untuk menentukan kadar flavonoid dari ekstrak daun sirih merah, daun kembang sepatu dan daun kapuk dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Penentuan kadar flavonoid dalam suatu sampel tumbuhan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis merupakan salah satu metode dengan memanfaatkan interaksi cahaya dengan atom dan molekul. Cahaya datang yang mengenai permukaan zat dan cahaya setelah melewati zat tidak dapat diukur, yang dapat diukur adalah perbandingan intensitas cahaya datang dengan intensitas cahaya setelah melewati sampel.

Berdasarkan hasil pengukuran larutan standar pada kurva kalibrasi diperoleh nilai regresi dengan koefisien relatif sebesar (0,9980) dan garis linier sebesar $0,0137x - 0,0758$ yang berada pada titik potong (0,0) pada sumbu tegak. Dari persamaan regresi tersebut diperoleh nilai kadar flavonoid dari ekstrak daun sirih merah, daun kembang sepatu dan daun kapuk yang ada pada Tabel 1.

Penentuan kadar flavonoid total dilakukan dengan larutan standar kuersetin 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm dan 60 ppm. Pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 434 nm. Masing-masing nilai absorbansi standar kuersetin memiliki nilai absorbansi yang berbeda-beda adalah berturut-turut 0,204, 0,316, 0,482, 0,621, dan 0,737. Hasil yang diperoleh dari pengukuran kurva baku adalah semakin tinggi nilai konsentrasi maka semakin tinggi nilai absorbansinya. Range kadar flavonoid total berdasarkan nilai absorbansinya berkisar antara 0,2-0,8.

Untuk menghitung kadar total flavonoid, mula-mula absorbansi sampel yang telah dibuat dihitung rata-ratanya. Hasil rata-rata sampel yang telah didapat dimasukkan ke dalam persamaan garis linear $y = 0,0137x - 0,0758$ dengan koefisien korelasi sebesar 0,9961 sehingga diperoleh kadar total flavonoid untuk ekstrak etanol daun sirih merah, daun kembang sepatu dan daun kapuk. Panjang gelombang maksimum yang diukur berada pada panjang gelombang 439 nm. Perhitungan kadar flavonoid total dalam sampel berdasarkan hukum Lambert-Beer yang menunjukkan hubungan lurus antara absorbansi dan kadar analit.



Gambar 2. Grafik hubungan antara kadar flavonoid dan nilai absorbansi ekstrak daun sirih merah, daun kembang sepatu dan kapuk

Kadar flavonoid dalam berbagai tanaman herbal dapat dihitung berdasarkan nilai absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer UV-Vis. Pada hasil perhitungan yang telah dilakukan diperoleh bahwa kadar flavonoid pada masing-masing daun tanaman herbal berbeda. Untuk daun sirih merah memiliki kadar flavonoid sebesar 1,8131%, untuk daun kembang sepatu sebesar 1,4445% dan untuk daun kapuk sebesar 1,2985%. Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa daun sirih merah memiliki kandungan senyawa flavonoid yang lebih besar dibanding dengan daun lainnya, dimana daun kapuk memiliki kadar flavonoid yang paling sedikit. Dalam uji identifikasi flavonoid daun sirih merah menunjukkan warna yang lebih merah dari daun lainnya. Semakin merah warna yang diperoleh maka semakin tinggi kadar flavonoid yang terkandung dalam daun. Hal ini setara dengan nilai absorbansi yang terukur, dimana daun sirih merah memiliki absorbansi tertinggi dari daun kembang sepatu dan daun kapuk atau dapat dikatakan bahwa kadar flavonoid dan nilai absorbansi berbanding lurus, semakin tinggi absorbansi maka semakin tinggi kadar flavonoid yang terkandung pada tanaman herbal.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh nilai absorbansi daun sirih merah, daun kembang sepatu dan daun kapuk masing-masing sebesar 0,421, 0,320 dan 0,280 sedangkan kadar flavonoid total sebesar 1,8131%, 1,3578% dan 1,2985% sehingga dapat disimpulkan bahwa kadar flavonoid tertinggi dimiliki oleh ekstrak etanol daun sirih merah yaitu 1,8131%.

DAFTAR PUSTAKA

- Alwi, H. (2017). Validasi Metode Analisis Flavonoid Dari Ekstrak Etanol Kasumba Turate (*Carthamus tinctorius* L.) secara Spektrofotometri UV-VIS. [Skripsi]. Makassar: UIN Alauddin Makassar.
- Anisa, K. D (2019). Efektivitas kompres hangat untuk menurunkan suhu tubuh pada AN.D dengan hipertermia. *Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan: Wawasan Kesehatan*, 5(2),122-127.
- Arham. (2012). Studi penentuan sifat termal tanaman herbal sebagai obat demam. [Skripsi]. Makassar: UIN Alauddin Makassar.
- Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, bioaktivitas dan antioksidan flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21-29. <https://doi.org/10.31629/zarah.v6i1.313>.
- Bintang, M. (2018). *Biokimia Teknik Penelitian*. Jakarta: Erlangga.
- Habibah, S. (2014). Perbedaan Efektifitas Kompres Air Hangat Dengan Kompres Air Biasa terhadap Penurunan Suhu Tubuh Pada Anak Dengan Demam di Ruang Al Farisi Rumah Sakit Islam Jakarta Sukapura. [Skripsi]. Jakarta: Universitas Muhammadiyah Jakarta.
- James, J., Baker, C., & Swain, H. (2006). *Prinsip-Prinsip Sains Untuk Keperawatan*. Jakarta: Erlangga.
- Kurniati, H. S. (2016). Gambaran Pengetahuan Ibu dan Metode Penanganan Demam pada Balita di Wilayah Puskesmas Pisangan Kota Tangerang Selatan. [Skripsi]. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Markham, K. R. (1988). *Techniques of Flavonoid Identification*. London: Academic Pr.
- Mutia, V., & Oktarlina, R. Z. (2017). Efektivitas daun jarak kepyar (*Ricinus communis* L.) sebagai anti-piretik. *Majority*, 7(1), 36-40.
- Neldawati., Ratnawulan., & Gusnedi. (2013). Analisis nilai absorbansi dalam penentuan kadar flavonoid untuk berbagai jenis daun tanaman obat. *Pillar of Physics*, 2, 76-83. <http://dx.doi.org/10.24036/756171074>.
- Praptiwi., Dewi, P., & Harapini, M. (2006). Nilai peroksida dan aktivitas anti radikal bebas diphenyl picril hidrazil hydrate (DPPH) ekstrak metanol *Knema laurina*. *Majalah Farmasi Indonesia*, 17(1), 32-36.
- Silalahi, J. (2006). *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: Kanisius.
- Suhartati, T. (2017). *Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-VIS dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Lampung: Anugrah Utama Raharja.

Widyastuti, N. (2010). Pengukuran Aktivitas Antioksidan Dengan Metode Cuprac, DPPH, Frap Sria Korelasinya Dengan Fenol dan Flavonoid Pada Enam Tanaman. [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.