

ANALISIS KADAR FLAVONOID DAN FENOLIK TOTAL FRAKSI ETIL ASETAT DAUN KETEPENG CINA (*Senna alata* (L.) Roxb) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VISIBLE

Rahmawati, A.Muflihunna, A.Trihadi Kusuma, Hardiyanti

Fakultasi Farmasi Universitas Muslim Indonesia
Email : _rama.umifarmasi@gmail.com.

ABSTRACT

*Analysis of flavonoid and phenolic content of ethyl acetate fraction have done in chinese ketepeng leaves (*Senna alata* (L.) Roxb) using UV-Visible spectrophotometric method. This research aimed to analyzed of flavonoids and phenolic content of ethyl acetate fraction of chinese ketepeng leaves. Chinese ketepeng leaves were extracted using ethanol 96%, and then were partitioned using a liquid-liquid partition method of ethyl acetate to obtain ethyl acetate fraction. Flavonoid and phenolic content determined using UV-VIS spectrophotometric at 415 nm wavelength for flavonoid and 730 nm for phenolic. This research results showed that the flavonoid content of ethyl acetate fraction of chinese ketepeng leaves is 2,665 mgRE/g and phenolic content of ethyl acetate fraction of chinese ketepeng leaves is 3,729 mgRE/g.*

Keyword : Chinese ketepeng leaves (*Senna alata* (L.) Roxb), Ethyl Acetate Fraction, Flavonoid, Phenolic.

PENDAHULUAN

Tumbuhan obat mempunyai peranan yang sangat besar dalam bidang kesehatan karena menghasilkan zat-zat kimia yang memiliki kegunaan yang potensial dalam pengobatan. Ngongang, *et. al.* (2006) menyatakan bahwa ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb.) merupakan tanaman yang tumbuh di beberapa daerah di Cameroon dan dapat pula ditemukan di negara lain. Di Cameroon daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb) telah banyak

digunakan untuk pengobatan hepatitis, gangguan kulit, penyakit kuning, dan eksema.

Yakubu, *et. al.* (2010) telah melakukan skrining fitokimia bahwa ekstrak ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb) positif mengandung saponin (1.22%), flavonoid (1.06%), glikosida jantung (0.20%), kardenolid dan dienolides (0.18%), fenolik (0.44%) dan alkaloid (0.52%). Kurniasari dalam Lumbessy dkk (2013) menyatakan bahwa sejumlah tanaman obat yang mengandung flavonoid telah dilaporkan

memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi dan antikanker. Owoyale *et al.*, (2005) melaporkan bahwa ekstrak methanol dan etanol daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb) memiliki aktifitas sebagai antifungi dan antibakteri.

Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai kadar flavonoid dan fenolik dari fraksi etil asetat daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb) dengan metode spektrofotometri UV-Visible sehingga potensi tumbuhan ini sebagai bahan baku obat dapat lebih dikembangkan serta penggunaannya dapat lebih dipertanggungjawabkan oleh masyarakat.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan adalah alat-alat gelas (*pyrex*), blender, cawan porselin, corong pisah, labu ukur, penangas listrik, pipet volume, seperangkat alat maserasi, sonikator, spektrofotometer UV-Visible, tanur, dan timbangan analitik.

Bahan–bahan yang digunakan adalah asam galat, aqua bidestillata, etanol 96%, etil asetat, daun Ketepeng Cina (*Senna alata* (L.) Roxb), CH₃COOK 1M, HCl, reagen AlCl₃, reagen Folin ciocelteu, Rutin, pereaksi

FeCl₃, NaCl 10%, Na₂CO₃7,5%, dan serbuk Mg.

PROSEDUR PENELITIAN

Pengambilan dan Pengolahan sampel

Sampel daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb) dipisahkan dan dikumpulkan kemudian dibersihkan. Daun ketepeng cina lalu dipotong-potong kecil, selanjutnya dikeringkan. Setelah kering, sampel ditimbang dan dicatat berat keringnya kemudian sampel dihaluskan dengan menggunakan blender sehingga mencapai derajat kehalusan tertentu.

Penetapan Kadar Abu

Sebanyak 2 g simplisia ditimbang dalam cawan porselin yang telah dikeringkan dan diketahui bobotnya, kemudian diarangkan dengan menggunakan pemanas bunsen hingga tidak mengeluarkan asap lagi cawan porselin berisi simplisia yang sudah diarangkan kemudian dimasukkan ke dalam tanur bersuhu 600 °C hingga proses pengabuan sempurna. Cawan porselin berisi abu didinginkan dalam desikator dan ditimbang hingga mencapai bobot tetap (Santi, *et al.*, 2012).

Penetapan Kadar Air

Cawan porselin dikeringkan pada suhu 105 °C selama 30 menit lalu didinginkan dalam desikator

kemudian ditimbang bobot kosongnya. Sebanyak 3 gram serbuk daun ketepeng cina dimasukkan dalam cawan dan dipanaskan dalam oven pada suhu 105 °C selama 3 jam lalu didinginkan dalam desikator kemudian ditimbang. Pemanasan diulang sampai diperoleh bobot konstan. Dihitung kadar air (Ukieyanna, 2012).

Ekstraksi Sampel

Daun Ketepeng Cina (*Senna alata* (L.) Roxb) kering sebanyak 200 g dimasukkan ke dalam wadah maserasi, lalu ditambahkan pelarut etanol 96% hingga simplisia terendam, dibiarkan selama 3 hari di dalam bejana tertutup dan terlindungi dari cahaya matahari langsung sambil diaduk secara periodik. Setelah 3 x 24 jam dilakukan penyaringan dan ampasnya dimaserasi kembali dengan cairan penyari yang baru. Maserasi dilakukan sebanyak 3 kali dan diperoleh ekstrak etanolik cair. Hasil penyarian yang diperoleh kemudian diuapkan dengan menggunakan rotavapor hingga diperoleh ekstrak etanol kental.

Penetapan Kadar Rendamen

Untuk menetapkan rendamen ekstrak, sejumlah tertentu ekstrak kental dalam cawan penguap ditimbang kemudian diuapkan diatas penangas air dengan temperatur 40–

50°C sampai bobot tetap. Ditentukan bobot ekstrak setelah penguapan dengan mengurangkan dengan bobot cawan kosong, kemudian dihitung rendamen ekstrak.

Fraksi Sampel dengan Pelarut Etil Asetat

Ekstrak etanol daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb) yang diperoleh, diambil sebanyak 2 gram, lalu dipartisi dengan pelarut etil asetat dengan cara partisi cair–cair. Ekstrak etanol sebanyak 2 gram disuspensikan dengan air sebanyak 25 mL kemudian dimasukkan kedalam corong pisah dan dipartisi dengan etil asetat sebanyak 25 mL kemudian dikocok, sesekali penutup corong dibuka setelah itu didiamkan selama 30 menit sampai terjadi pemisahan antara lapisan etil asetat (fraksi etil asetat) dan lapisan air (residu). Residu dipartisi kembali sesuai dengan cara diatas. Fraksi etil asetat dikumpulkan dan diuapkan hingga diperoleh fraksi etil asetat kental.

Analisis Kualitatif

1. Uji Flavonoid

Sebanyak 10 mg fraksi ditambahkan etanol 96%. Kemudian ditambahkan serbuk magnesium P dan 10 tetes asam klorida P, menghasilkan warna

merah menunjukkan adanya flavonoid.

2. Uji fenolik

Sampel 10 mg dilarutkan dengan pelarut etanol 96%. Larutan yang dihasilkan diambil sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan 2 tetes larutan FeCl₃. Terbentuknya warna hijau atau warna hijau menunjukkan adanya senyawa fenol dalam sampel.

Analisis Kuantitatif

Penentuan Kadar Flavonoid Total

1. Pembuatan larutan standar Rutin

Ditimbang sebanyak 10 mg rutin kemudian dilarutkan dengan etanol 80% hingga volume 10 mL (1000 ppm).

2. Pengukuran larutan standar

Rutin

Dari larutan stok Rutin dibuat seri konsentrasi larutan standar sebesar 37,5 ppm, 50 ppm, 62,5 ppm, 75 ppm, 87,5 ppm dan 100 ppm dengan aqua bidestillata dengan volume 10 ml.. Kemudian dari masing-masing konsentrasi dipipet 1 mL, lalu ditambahkan 3 mL etanol 95%, 0,2 mL aluminium klorida 10%, 0,2 mL kalium asetat 1M, dan dicukupkan dengan aqua bidestillata, sampai volume 10 mL. Kemudian diinkubasi selama 30 menit. Kemudian diukur

absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 415 nm.

3. Penetapan flavonoid total fraksi etil asetat daun ketepeng cina (Senna alata (L.) Roxb)

Larutan fraksi etil asetat daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb) dibuat dengan cara menimbang 10 mg fraksi dilarutkan dengan 10 mL etanol 96%. Kemudian dipipet 1 mL larutan dan ditambahkan 10 mL etanol 96%. Dipipet sebanyak 0,5 mL kemudian ditambahkan dengan 1,5 mL etanol 96%, ditambahkan 0,1 mL AlCl₃ 10%, ditambahkan 0,1 mL CH₃COOK 1 M, dan ditambahkan aquabidestillata hingga 5 mL. Kemudian didiamkan selama 30 menit. Diukur serapan pada panjang gelombang 415 nm. Dibuat tiga replikasi. Kadar flavonoid yang diperoleh hasilnya didapat sebagai mg ekuivalen rutin/g fraksi.

Penentuan Kadar Fenolik Total

1. Pembuatan larutan standar asam galat

Larutan standar asam galat 1000 ppm dibuat dengan menimbang 10 mg asam galat dilarutkan dengan etanol 96% hingga volume 10 mL.

2. Pengukuran larutan standar asam galat

Dari larutan stok dibuat seri konsentrasi 1, 2, 3 dan 4 ppm menggunakan etanol 96% dengan volume 25 ml. Untuk masing-masing konsentrasi 1, 2, 3, dan 4 ppm ditambahkan dengan 0,4 mL reagen *Folin-Ciocalteu* dikocok dan dibiarkan 4-8 menit, ditambahkan 4,0 mL larutan Na_2CO_3 7% dikocok hingga homogen. Ditambahkan aqua bidestillata hingga 10 mL dan didiamkan selama 2 jam. Diukur serapan pada panjang gelombang 730 nm.

3. Penetapan fenolik total fraksi etil asetat daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb)

Larutan fraksi etil asetat daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb) dibuat dengan cara menimbang 10 mg dan dilarutkan dengan 10 mL etanol 96%. Dipipet sebanyak 0,5 larutan fraksi etil asetat daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb) dan ditambahkan dengan 0,4 mL reagen *Folin-Ciocalteu* dikocok dan dibiarkan 4-8 menit, ditambahkan 4,0 mL larutan Na_2CO_3 7% dikocok hingga homogen. Dicukupkan dengan aqua bidestillata hingga 10 mL dan didiamkan selama 2 jam. Diukur serapan pada panjang gelombang 730 nm. Dibuat tiga replikasi. Kadar fenolik yang diperoleh hasilnya didapat sebagai mg ekuivalen asam galat/g fraksi.

HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Hasil analisis kadar flavonoid total pada fraksi etil asetat daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb.).

Sampel	Rep.	Absorpsi (Y)	Kandungan Flavonoid Awal (mg/L)	Flavonoid Total (mgRE/g fraksi)	Rata-rata Kandungan Flavonoid Total (gRE/g fraksi)	% Kandungan Flavonoid
Fraksi etil asetat	1	0,182	5,0447	25,223	0,02665	2,665
	2	0,191	5,3806	26,903		
	3	0,196	5,5671	27,836		

Tabel 2. Hasil analisis kadar fenolik total pada fraksi etil asetat daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb.)

Sampel	Rep.	Absorbansi (Y)	Kandungan Fenolik Awal (mg/L)	Fenolik Total (mgRE/g fraksi)	Rata-rata Kandungan Fenolik Total (gRE/g fraksi)	% Kandungan Fenolik
Fraksi etil asetat	1	0,236	1,788	35,76	0,03729	3,729
	2	0,244	1,826	36,52		
	3	0,276	1,980	39,60		

PEMBAHASAN

Daun Ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb.) merupakan salah satu tumbuhan obat yang secara tradisional dapat mengobati penyakit infeksi kulit, sembelit, malaria, influenza, bronchitis dan obat gatal (Depkes RI, 2000). Gama (2011) menyatakan bahwa dalam daun ketepeng cina memiliki kandungan penting seperti alkaloid, saponin, tannin, steroid, antrakuinon, flavonoid dan karbohidrat.

Menurut Harborne (1987) pelarut etanol memiliki sifat yang mampu melarutkan hampir semua zat, baik yang bersifat polar, semi polar, dan non polar.

Sampel daun ketepeng cina sebanyak 2 g diekstraksi dengan etanol 96 % kemudian dipartisi dengan pelarut etil asetat dengan cara partisi cair - cair sehingga diperoleh fraksi etil asetat daun ketepeng cina sebanyak 1,7 g. Selanjutnya, dilakukan analisis kualitatif flavonoid dan fenolik dengan menggunakan reaksi warna. Sampel dilarutkan dalam 1 mL etanol (95%) P

kemudian ditambahkan serbuk magnesium P dan 10 tetes asam klorida P menghasilkan warna merah jingga. Sampel ditetesi dengan pereaksi $FeCl_3$, terjadi perubahan warna menjadi hijau yang artinya positif mengandung senyawa fenolik. Dari hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb.) positif mengandung senyawa flavonoid dan fenolik.

Flavonoid mengandung sistem aromatis yang terkonjugasi yang dapat menunjukkan pita serapan kuat pada daerah UV-Vis. Analisis dilakukan dengan menggunakan larutan standar Rutin untuk flavonoid dan larutan standar asam galat untuk fenolik.

Analisis kadar flavonoid dan fenolik dilakukan dengan menggunakan metode Chang, kemudian dilakukan optimasi panjang gelombang untuk menentukan panjang gelombang maksimum yang akan digunakan dalam pengukuran pada spektrofotometri UV-Vis. Dari hasil

Analisis Kadar Flavonoid Dan Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Daun Ketepeng Cina (Senna alata (L.) Roxb) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VISIBLE

pengukuran diperoleh panjang gelombang maksimum yaitu 415 nm untuk flavonoid dan 730 nm untuk fenolik. Analisis kuantitatif flavonoid dilakukan dengan membuat seri konsentrasi larutan standar Rutin, yaitu 3,75 ppm, 5 ppm, 6,25 ppm, 7,5 ppm, 8,75 ppm dan 10 ppm. Kemudian, dari masing-masing konsentrasi dipipet 1 mL, lalu ditambahkan 3 mL etanol 95%, 0,2 mL aluminium klorida 10% 0,2 mL (untuk melakukan pergeseran ke arah panjang gelombang yang lebih panjang, sehingga mengubah panjang gelombang standar rutin untuk masuk ke dalam range panjang gelombang UV-Vis) (Chang *et.al.*, 2002). Kemudian ditambahkan Kalium asetat 1 M (sebagai penstabil, agar efek batokromik yang telah terjadi dapat dipertahankan) dan dicukupkan dengan aqua bidestillata sampai volume 10 mL. Kemudian, diinkubasi selama 30 menit agar reaksi berlangsung dengan sempurna. Setelah itu, diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 415 nm. Dilakukan hal yang sama untuk pembuatan larutan uji fraksi etil asetat daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb).

Pengukuran kadar flavanoid sampel dilakukan pada panjang

gelombang maksimal 415 nm. Kadar flavonoid yang diperoleh hasilnya didapat sebagai mg ekuivalen rutin/g fraksi. Hasil kurva kalibrasi linear yang diperoleh yaitu $y = 0.0268x + 0.0468$ dengan nilai koefisien korelasi (R^2) yang diperoleh sebesar 0.9872.

Analisis kuantitatif fenolik dilakukan dengan membuat larutan standar asam galat. Digunakan asam galat karena merupakan salah satu fenol alami dan stabil serta relatif murah dibanding yang lain. Standar asam galat dibuat beberapa konsentrasi yaitu 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm. Ditambahkan 0,4 mL reagen Folin-Ciocalteu, dikocok dan dibiarkan 4-8 menit, ditambahkan 4,0 mL larutan Na_2CO_3 7%, dihomogenkan. Ditambahkan aqua bidestillata hingga 10 mL dan didiamkan selama 2 jam. Diukur serapan pada panjang gelombang 730 nm.

Pengukuran kadar fenolik sampel dilakukan dengan memipet sebanyak 0,5 larutan fraksi etil asetat daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb) kemudian ditambahkan dengan 0,4 mL reagen Folin-Ciocalteu dikocok dan dibiarkan 4-8 menit setelah itu, ditambahkan 4,0 mL larutan Na_2CO_3 7% kemudian dikocok hingga homogen. Dicukupkan dengan aqua

Analisis Kadar Flavonoid Dan Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Daun Ketepeng Cina (Senna alata (L.) Roxb) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VISIBLE

bidestillata hingga 10 mL dan didiamkan selama 2 jam. Diukur serapan pada panjang gelombang 730 nm. Kadar fenolik yang diperoleh hasilnya didapat sebagai mg ekuivalen asam galat/g fraksi. Dari hasil Pengukuran absorbansi larutan standar asam galat yang diperoleh yaitu $y = 0.2084x - 0.137$ larutan standar senyawa fenol diperoleh hubungan yang linier antara absorbansi dengan konsentrasi. Nilai koefisien korelasi (R^2) yang diperoleh sebesar 0.996. Besarnya linearitas ini mendekati nilai satu sehingga dapat dikatakan bahwa absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi dan mengikuti persamaan regresi linear sebagai berikut : $y = bx + a$.

Berdasarkan pengukuran yang dilakukan diperoleh bahwa kadar flavonoid fraksi etil asetat daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb) adalah sebesar 2,665 mgRE/g dan kadar fenolik fraksi etil asetat daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb) adalah sebesar 3,729 mgGAE/g.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Fraksi etil asetat daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb)

mengandung senyawa flavonoid dan fenolik.

2. Kadar flavonoid dari fraksi etil asetat daun ketepeng cina (*Senna alata* (L.) Roxb) adalah sebesar 2,665 mgRE/g dan kadar fenoliknya sebesar 3,729 mgGAE/g.

DAFTAR PUSTAKA

- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., Chern, J. C., 2002. *Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. J Food Drug Ana.* 10:178-182.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. 2000. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat.* Jakarta: Depkes RI.
- Gama, A.M.P. 2011. *Perbandingan ekstrak daun ketepeng cina (Cassia alata, linn) dengan ketokonazol 2 % dalam menghambat pertumbuhan malassezia furfur pada pityriasis versicolor secara in vitro.* Universitas Diponegoro.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode fitokimia.* (Edisi 2). Penerjemah: K. Padmaewinata dan I. Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Lumbessy, M., Jemmy & Jessy, P. 2013. *Uji Total Flavonoid pada beberapa tanaman obat tradisional didesa Waitina Mangoli Timur Kabupaten Kepulauan Sula Propinsi Maluku Utara.* Jurnal MIPA

Analisis Kadar Flavonoid Dan Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Daun Ketepeng Cina (Senna alata (L.) Roxb) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VISIBLE

UNSRAT (Online). Vol 2, No. 1, hal 51 diakses 12 November 2013.

Dan Profil Polisakarida Rumput laut Hijau Jurnal Akuatika Vol.III No. 2 (105-114).

Owoyale., Olatunju & Oguntoye. 2005. *Antifungi and antibacterial activities of an alcoholic extract of Senna alata leaves*. J. Appl, Sci Environ Mgt. (Online) Vol. 9 No. 3, hal 105 diakses 03 Juli 2014.

Yakubu, M., Adeshina, O., Oladijhi., Akanji, M., Oloyede., Jimoh, G., Olatinwo, & Afolayan. 2010. *Abortifacient potential of aqueous extract of senna alata leaves in rats*. *Journal of Reproduction & Contraception* (Online), Vol. 21, No. 3 diakses 3 Juli 2014.

Santi R.A, Sunarti., T.C., Triwisari, D.A. 2012. *Komposisi Kimia*