

## PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL DARI EKSTRAK ETANOL DAUN ANDALIMAN (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.)

### DETERMINATION OF TOTAL FLAVONOID LEVELS FROM ANDALIMAN LEAF ETHANOL EXTRACT (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.)

<sup>1</sup>Yettri Simarmata, <sup>2\*</sup>Cut Masyithah Thaib, <sup>1</sup>Siti Nurbaya, <sup>1</sup>Martha Uli Oktavrina Rajagukguk

<sup>1</sup>Program Studi D3 ANAFARMA, Universitas Sari Mutiara Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi S1 Farmasi, Universitas Sari Mutiara Indonesia

Korespondensi penulis: Universitas Sari Mutiara

Email: [Masyithah.thaib@gmail.com](mailto:Masyithah.thaib@gmail.com)

**Abstrak.** Flavonoid merupakan golongan senyawa polifenol yang mempunyai efek antioksidasi dan dengan mendonorkan atom hidrogen dan berkaitan dengan ion logam. Flavonoid paling banyak ditemukan dari tumbuhan. Salah satu tumbuhan yang banyak mengandung flavonoid adalah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC). Tujuan penelitian ini ialah untuk mengetahui senyawa yang terdapat dalam daun andaliman dan mengetahui kadar flavonoid total dari ekstrak daun andaliman. Jenis penelitian yang dilakukan secara deskriptif, meliputi identifikasi bahan tumbuhan, pengumpulan bahan tumbuhan, skrining fitokimia, dan pemeriksaan flavonoid total dengan spektrofotometri ultraviolet visibel. Sampel diambil dari desa Lobu Siregar, Siborong-borong, Tapanuli Utara. Ekstrak daun andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) diperoleh dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Penetapan kadar flavonoid total dilakukan dengan metode kolorimetri. Hasil skrining fitokimia menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, tanin, dan steroid. Penetapan kadar flavonoid total yang dihitung sebagai kuersetin dengan persamaan regresi  $y = 0,03278 X + 0,04086$ , dan  $r = 0,99825$ . Hasil pengukuran kandungan flavonoid total dari ekstrak etanol daun andaliman yaitu  $39,65 \pm 0,08$  mg QE/g.

**Kata Kunci :** Flavonoid Total, *Zanthoxylum acanthopodium* DC, Ekstrak, Etanol 96%, Skrining Fitokimia.

**Abstract.** Flavonoids are a class of polyphenolic compounds that have an antioxidant effect by donating hydrogen atoms and linking them with metal ions. Most flavonoids are found in plants. One of the plants that contain lots of flavonoids is andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC). The purpose of this study was to determine the compounds contained in the Andaliman leaf and to determine the total flavonoid content of the Andaliman leaf extract. The type of research conducted was descriptive, including identification of plant material, collection of plant material, phytochemical screening, and examination of total flavonoids with visible ultraviolet spectrophotometry. Samples were taken from Lobu Siregar village, Siborong-Borong, North Tapanuli. Andaliman leaf extract (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) was obtained by the maceration method using 96% ethanol. Determination of total flavonoid content was carried out by the colorimetric method. The results of phytochemical screening showed the presence of alkaloids, flavonoids, tannins, and steroids. Determination of total flavonoid content calculated as quercetin with the regression equation  $y = 0.03278 X + 0.04086$ , and  $r = 0.99825$ . The measurement results of the total flavonoid content of the ethanol extract of Andaliman leaves were  $39.65 \pm 0.08$  mg QE/g.

**Keywords:** Total Flavonoid, *Zanthoxylum acanthopodium* DC, Extract, Ethanol 96%, Phytochemical Screening.

## PENDAHULUAN

Peranan antioksidasi dan sangat penting dalam menetralkan dan menghancurkan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan juga merusak biomolekul didalam tubuh yang akhirnya dapat memicu terjadinya penyakit degeneratif. Menghindari hal itu, maka tubuh memerlukan suatu substansi penting yaitu antioksidasi dan tambahan dari luar yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas serta mengurangi konsumsi junk food [1]. Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam terbesar. Flavonoid terdapat pada semua tumbuhan dan banyak digunakan dalam pengobatan tradisional sebagai anti koagulan, antioksidan, antihipertensi, antivirus, antiinflamasi, antisariawan[2]. Senyawa yang paling mudah ditemukan adalah flavonoid karena

senyawa ini adalah kelompok senyawa fenol yang terbesar ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru, dan sebagai zat warna kuning yang ditemukandalam tumbuh-tumbuhan. Perkembangan pengetahuan menunjukkan bahwa flavonoid termasuk salah satu kelompok senyawa polifenol dan mengandung antioksidan. Oleh karena jumlahnya yang melimpah di alam, manusia lebih banyak memanfaatkan senyawa ini dibandingkan senyawa lainnya sebagai antioksidan[3]. Indonesia merupakan negara yang memiliki flora yang sangat beranekaragam yang banyak dimanfaatkan oleh rakyat indonesia sebagai obat untuk tujuan peningkatan kesehatan, pencegahan penyakit, maupun pengobatan berbagai tradisional[4]. Tumbuhan merupakan sumber antioksidan alami dan umumnya merupakan senyawa fenolik yang tersebar pada bagian tumbuhan baik pada kayu, biji, daun, buah, akar, bunga, maupun serbuk sari [5]. Dalam masyarakat batak, dikenal rempah yang tergolong tanaman liar yakni andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) yang merupakan tanaman khas sumatera utara[6] tetapi belum dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Tanaman ini memiliki buah yang sering digunakan sebagai bumbu masak terutama untuk masakan tradisional. Telah diteliti aktivitas antioksidan ekstrak etanol buah andaliman dalam beberapa system pangan dan aktivitas anti radikal ekstrak etanol buah dan daun andaliman konsentrasi 200 ppm yang menunjukkan daya inhibisi sebesar 61,81% [2]. Isolasi senyawa kimia dari daun andaliman terbatas pada hasil identifikasi sedangkan pengujian aktivitas biologinya belum pernah dilakukan. Senyawa yang sudah dikarakterisasi dari buah andaliman adalah senyawa amida substitusi [7]. Komponen volatil dalam aroma buah senyawa glikosidaflavon[8]. Komponen volatil yang telah diisolasi dari genus *Zanthoxylum* berasal dari golongan alkaloid yang memiliki aktivitas anti mikroba (Pattino dan Cuca, 2011). Pengujian antioksidan terhadap daun andaliman yang diduga potensial dalam menghasilkan senyawa-senyawa antioksidan dapat dilakukan dengan menggunakan radikal bebas DPPH, penentuan kandungan fenolat total dan penentuan kandungan flavonoid total. Metode ini dilakukan karena secara umum sering digunakan, hasil cepat didapatkan serta diduga pada daun andaliman terdapat golongan senyawa yang bersifat sebagai antioksidan seperti fenol dan flavonoid. Senyawa flavonoid memiliki kapasitas sebagai antioksidan. Flavonoid merupakan golongan senyawa polifenol yang mempunyai efek antioksidan dengan mendonorkan atom hidrogen dan berkaitan dengan ion logam[10].

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas (Iwaki Pyrex), blender (Philips), kuvet, neraca analitik (Bacco), oven listrik (Memmert), penangas air, penguap vakum putar (Stuart), spektrotometer UV-Visible

### **Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun andaliman. Bahan kimia yang digunakan yaitu: Kuersetin (Sigma), asamgalat, natrium karbonat (merck), natrium asetat (merck), Folin-ciocalteau (Sigma), produksi E-Merck: amil alkohol, ammonia pekat, asam asetat anhidrida, asam klorida, asam nitrat, asam sulfat, benzena, besi (III) klorida, bismuth (III) nitrat, etilasetat, etanol, iodium, kalium iodida, kloralhidrat, metanol, serbuk magnesium, serta air suling.

### **Prosedur Penelitian**

#### **1. Pembuatan Simplisia**

Sampel disortasi basah, dilakukan penimbangan terlebih dahulu dan dibersihkan menggunakan air mengalir lalu timbang kembali. Lalu sampel diangin-anginkan sampai daun menjadi kering (bila diremas daun akan hancur). Daun kering dihaluskan menggunakan blender sehingga diperoleh serbuk halus.

#### **2. Pembuatan ekstrak dilakukan secara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%**

Sebanyak 10 bagian serbuk simplisia dengan derajat halus yang cocok di masukkan kedalam sebuah bejana, dituangi dengan 75 bagian penyari, ditutup, dibiarkan selama 5 hari terlindungi dari cahaya

sambil berulang-ulang diaduk. Setelah 5 hari sari diserakai, ampas diperas. Ampas dicuci dengan cairan penyari secukupnya diaduk dan diserakai hingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian. Pindahkan kedalam bejana tertutup, dibiarkan di tempat sejuk terlindung dari cahaya selama 2 hari. Enap tuangkan atau disaring. Pemekatan ekstrak dilakukan dengan alat rotary evaporator pada 40°C, kemudian ekstrak dikeringkan dengan water bath.

### 3. Skrining Fitokimia Ekstrak

Penentuan golongan senyawa kimia skrining fitokimia dilakukan pemeriksaan senyawa alkaloid, flavonoid, glikosida, glikosida antrakuinon[11], saponin, tanin, glikosidasi anogenik (Farnsworth, 1966), dan steroid/triterpenoid [12].

### 4. Pemeriksaan Alkaloid

Ekstrak ditimbang sebanyak 0,5 g kemudian ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml air suling, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan saring. Filtrat yang diperoleh dipakai untuk uji alkaloid: diambil 3 tabung reaksi, lalu kedalamnya dimasukkan 0,5 ml filtrat. Pada masing-masing tabung reaksi:

- a. Ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer
- b. Ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat
- c. Ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendroff

Alkaloid positif jika terjadi endapan atau kekeruhan pada paling sedikit dua dari tiga percobaan diatas[11].

### 5. Pemeriksaan Flavonoid

Sebanyak 10 g ekstrak ditambahkan 10 ml air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas, kedalam 5 ml filtrate ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium dan 1 ml asam klorida pekat dan 2 ml amil alkohol, dikocok dan dibiarkan memisah. Flavonoid positif jika terjadi warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol[13].

### 6. Pemeriksaan Saponin

Ekstrak ditimbang sebanyak 0,5 g dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 ml air panas, dinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2 N menunjukkan adanya saponin [11].

### 7. Pemeriksaan Tanin

Ekstrak ditimbang sebanyak 1 g, dididihkan selama 3 menit dalam 100 ml air suling lalu diinginkan dan disaring. Pada filtrate ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1%. Jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin[13].

### 8. Pemeriksaan Triterpenoid/ Steroida

Ekstrak ditimbang sebanyak 1 g, dimaserasi dengan 20 ml n-heksana selama 2 jam, disaring, filtrate diuapkan dalam cawan penguap, dan pada sisanya ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard. Timbulnya warna biru atau biru hijau menunjukkan adanya steroid, sedangkan warna merah, merah muda, atau ungu menunjukkan adanya triterpenoid [12].

### 9. Pembuatan Larutan Kuersetin sebagai Standar

Ditimbang 1mg kuersetin kemudian dilarutkan dengan methanol hingga 10 ml (konsentrasi larutan 100 ppm). Dipipet 2,5 ml dari setiap konsentrasi 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 12,5 ppm, 6,25 ppm, kemudian dilarutkan dengan methanol hingga 5 ml. Dari masing-masing konsentrasi dipipet 2 ml larutan, kemudian ditambahkan 0,1 ml aluminium klorida ( $AlCl_3$ ) 10%, 0,1 natrium asetat ( $CH_3COONa$ ), serta ditambahkan 2,8 ml akuades, lalu diinkubasi selama 90 menit. Lalu diukur

absorbansi kuersetin pada masing-masing konsentrasi larutan 100 ppm terhadap reagen yang digunakan sebagai blanko secara spektrofotometri UV-Vis (400-800 nm).

#### 10. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Daun Andaliman

Penetapan kadar flavonoid total dari Ekstrak daun andaliman dilakukan menggunakan metode kolori metri menggunakan aluminium klorida. Ditimbang sebanyak 25 mg dilarutkan sebanyak 25 mg dilarutkan dengan methanol hingga 25 ml (konsentrasi larutan 1000 ppm). Dipipet 3 ml larutan ekstrak ditambahkan metanol hingga 10 ml (konsentrasi larutan 300 ppm). Diambil 2 ml larutan kemudian ditambahkan 0.1 ml aluminium klorida ( $AlCl_3$ ) 10% natrium asetat ( $CH_3COONa$ ) serta 2,8 ml akuades. Diinkubasi selama 90 menit. Diukur absorbansi larutan ekstrak terhadap standar kalibrasi kuersetin.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Hasil identifikasi tumbuhan

Hasil identifikasi tumbuhan yang dilakukan di Herbarium Medanense menunjukkan bahwa tumbuhan yang diteliti termasuk suku *Zanthoxylum acanthopodium* DC.

#### Hasil skrining fitokimia

Hasil skrining fitokimia terhadap daun andaliman dapat diketahui bahwa daun andaliman mengandung senyawa-senyawa kimia seperti yang terlihat pada tabel.

**Tabell.** hasil skrining fitokimia dari hasil simplisia daun andaliman

Nama senyawa	Hasil
Flavonoid	+
Saponin	-
Tanin	+
Steroid	+
Alkaloid	+

**Keterangan:** (+) positif : mengandung golongan senyawa  
(-) negatif : tidak mengandung senyawa

Penentuan golongan senyawa kimia terhadap simplisia daun andaliman dilakukan untuk mendapatkan informasi golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat didalamnya. Ekstrakdaunandaliman yang ditambahkan dengan pereaksi Dragendroff memberikan endapan warna jingga kecoklatan, dengan pereaksi Bouchardat memberikan endapan warna kuning kecoklatan dan dengan pereaksi Mayer tidak terbentuk endapan putih atau kekeruhan, ini menunjukkan positif alkaloid. Alkaloid dianggap positif apabila terjadi endapan pada paling sedikit dua atau tiga pereaksi yang ditambahkan[11]. Ekstrak daun andaliman untuk pemeriksaan flavonoid dengan penambahan serbuk Mg, HCl 2N dan amil alkohol memberikan warna jingga ada lapis amil alkohol. Ini dianggap bahwa flavonoid positif pada daun andaliman[12]. Penambahan Liebermann-Burchard memberikan warna merah ungu menunjukkan adanya senyawa steroid [12], sedangkan skrining pada tannin dengan penambahan  $FeCl_3$  memberikan warna biru kehitaman yang menunjukkan adanya tannin yaitu pirogallol[12].Skrining saponin tidak menghasilkan busa yang stabil antara 1-10cm dan busa tersebut tidak stabil yang mengakibatkan busa lama-kelamaan menghilang sehingga untuk pengujian saponin ekstrak daun andaliman adalah negatif. Saponin dianggap positif apabila busa bersifat stabil antara 1-10cm dan tidak akan hilang dengan penambahan HCl 2N sifat busa saponin dianggap adanya struktur amfifilik dari saponin, penambahan HCl 2N mengakibatkan kestabilan busa semakin lama sesuai dengan sifat sabun[11].

### KESIMPULAN

Senyawa kimia yang terdapat di dalam ekstrak etanol daun andaliman adalah flavonoid, alkaloid, saponin, dan steroid. Kandungan flavonoid total dari ekstrak etanol daun andaliman yaitu 39,6529 mg QE/g ekstrak.

#### DAFTAR PUSTAKA

- [1] Jones, S. B and A. E Luchsinger. 1987. Plant Systematics. *Biological Sciences Series*. McGraw-Hill Book Company. Second Edition. New York. 491 pp
- [2] Kumar, S., Abbay, K. P. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*. Halaman 16.
- [3] Muchtadi, D. (2013). *Antioksidan dan KiatSehat di Usia Produktif*. Bandung: Alfabeta. Halaman 91-95.
- [4] Kumalaningsih, dan Sri. (2006). *Antioksidan Alami-Penangkal Radikal Bebas, Sumber, Manfaat, Cara Penyediaan dan Pengolahan*. Surabaya: Trobus Agrisarana. Halaman 25-30.
- [5] Sun, T., dan Ho, C.T. (2005). Antioxidant Activities of Buckwheat Extract. *Food Chem*. 90: 743-749.
- [6] Siregar BL. 2003. Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) di Sumatera Utara: Deskripsi dan Perkecambahan. Hayati – *Jurnal Ilmu Biosains*. Vol 10 (1) Penerbit: Perhimpunan Biologi Indonesia dan Jurusan Biologi MIPA. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- [7] Wachidah, L. N. (2013). Aktivitas Antioksidan Serta Penentuan Kandungan Fenolat dan Flavonoid Total dari Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume). *Skripsi*. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Halaman 35-36.
- [8] Markham, K.R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoida*. Penerjemah: Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB Press. Halaman 41-43.
- [9] Lenny, S., 2006, SenyawaFlavonoida, Fenilpropanida, dan Alkaloida, Karya Ilmiah Departemen Kimia Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara
- [10] Lee, S.E., Hwang, H.J., Ha, J.S., Jeong, H.S., dan Kim, J.H (2003). Screening of Medicinal Plants Extracts for Antioxidant Activity. *Life sei*. 3: 167-179.
- [11] Depkes RI (1995). *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Halaman 300-304, 321, 325, 333-339.
- [12] Harborne, J. B. (1984). *Phytochemical Methods*. Penerjemah: Padmawinata, K., dan Soediro, I. (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Edisi II. Bandung: Penerbit ITB. Halaman 102-103, 147-149, 234.
- [13] Farnsworth, N.R. (1996). Biological and Phytochemical Screening of Plant. *Journal of Pharmaceutical Science*. 55(3): 257.