

SKRINING FITOKIMIA DAN PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL TERHADAP EKSTRAK ETANOL SAWI PAHIT (*Brassica juncea* (L.) Czern) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

¹D. Elysa Putri Mambang, ¹Haris Munandar Nasution, ¹Lilah Friyani

¹Farmasi/Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah/Kota Medan, Sumatera Utara

Korespondensi Penulis: Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah/Kota Medan, Sumatera Utara
Alamat email: elysa.mambang@gmail.com

Abstrak. Tanaman sawi merupakan komoditas sayuran yang memiliki nilai komersial dan prospek yang baik. Selain ditinjau dari segi klimatologis, teknis dan ekonomis sosialnya juga sangat mendukung, sehingga memiliki kelayakan untuk diusahakan di Indonesia dan sayuran ini merupakan jenis sayuran yang digemari oleh semua golongan masyarakat. Sawi merupakan sayuran yang banyak manfaatnya untuk tubuh. Tahapan penelitian ini meliputi pengumpulan sampel dan pengolahan tumbuhan, identifikasi tumbuhan, pembuatan ekstrak etanol daun sawi pahit, penetapan kadar air, skrining fitokimia dan penetapan kadar flavonoid total secara spektrofotometri UV-Visibel. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid total sawi pahit dan untuk mengetahui karakteristik, golongan senyawa kimia, dan nilai flavonoid total dari ekstrak sawi pahit (*Brassica juncea* (L.) Czern) secara spektrofotometri UV-VIS. Dengan baku pembanding kuersetin. Skrining fitokimia pada penelitian ini diperoleh berupa golongan senyawa kimia golongan alkaloid, Flavonoid, Tanin, Saponin, dan Steroid dari hasil penelitian kadar flavonoid total dari ekstrak sawi pahit (*Brassica juncea* (L.) Czern) yang diidentifikasi dengan spektrofotometri visible adalah sebesar $31,432 \pm 0,2064$ mgQE/g ekstrak.

Kata kunci : Sawi Pahit, Kadar Flavonoid Total, Spektrofotometri UV-VIS

Abstract. Mustard is a vegetable commodity that has good commercial value and prospects. Apart from being viewed from the climatological, technical and social economic point of view, it is also very supportive, so that it has the feasibility to be cultivated in Indonesia and this vegetable is a type of vegetable that is favored by all groups of people. Mustard is a vegetable that has many benefits for the body. The stages of this research include sample collection and plant processing, plant identification, manufacture of ethanol extract of bitter mustard leaf, determination of water content, phytochemical screening and determination of total flavonoid content by UV-Visible spectrophotometry. This study aims to determine the total flavonoid content of bitter mustard greens and to determine the characteristics, class of chemical compounds, and total flavonoid value of bitter mustard (*Brassica juncea* (L.) Czern) extract by UV-VIS spectrophotometry. By comparison, quercetin. Phytochemical screening in this study was obtained in the form of chemical compounds classified as alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, and steroids from the results of research on the total flavonoid content of bitter mustard (*Brassica juncea* (L.) Czern) extract which was identified by visible spectrophotometry was 31.432 ± 0.2064 mgQE/g extract.

Key words : Mustard Greens, Total Flavonoid Level, UV-VIS . Spectrophotometry

PENDAHULUAN

Tanaman sawi merupakan komoditas sayuran yang memiliki nilai komersial dan prospek yang baik. Di tinjau dari segi klimatologis, teknis dan ekonomis sosialnya juga sangat mendukung, sehingga memiliki kelayakan untuk diusahakan di Indonesia dan sayuran ini merupakan jenis sayuran yang digemari oleh semua golongan masyarakat. Permintaan terhadap tanaman sawi selalu meningkat seiring dengan bertambahnya jumlah penduduk dan kesadaran kebutuhan gizi (Haryanto, dkk., 2006).

Sawi pahit di ketahui mengandung glikosida flavonol, folat dan isoprenoid. Menurut (Rukmana, 1994), sawi pahit *Brassica juncea* (L) Czern. Mengandung protein, lemak, karbohidrat, serat, fosfor, zat besi, natrium, kalium, vitamin A, vitamin B1, vitamin B2 dan vitamin C. Tumbuhan suku Brassicacea juga mengandung karotenoid dan glucosinolat adalah sawi botol, sawi pahit, kol, brokoli dan lain sebagainya (Rukmana, 1994).

Flavonoid sering terdapat sebagai glikosida. Flavonoid merupakan kandungan khas tumbuhan hijau yang terdapat pada bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar, bunga, buah buni dan biji. Flavonoid bersifat polar karena mengandung sejumlah hidroksil yang tersulih atau suatu gula (Markham, 1998).

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penelitian Fakultas Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Medan dan di Laboratorium Majelis Ulama Indonesia Medan Provinsi Sumatera Utara (Laboratorium LPPOM MUI). Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2018 - Januari 2019.

Alat

Alat yang digunakan adalah alat-alat laboratorium, neraca listrik (Mettler Toledo), rotary evaporator, seperangkat alat destilasi, aluminium foil dan penangas air.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah tumbuhan sawi pahit (*Brasica juncea* (L.) Czern), etanol 96%, *aquadest*, CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*), asam asetat glasial, asam sulfat (p), asam klorida (p), kalium iodida, iodium, besi (III) klorida, bismuth (II) nitrat, asam asetat anhidrida, raksa (II) klorida, alpha naftol, asam nitrat, timbal (II) klorida, kloralhidrat, natrium hidroksida, serbuk magnesium, amil alkohol, kloroform, isopropanol, dietil eter, aluminium (III) klorida, timbal (II) asetat, metanol dan toluen.

Metode

Metode penelitian meliputi pengumpulan sampel, pemeriksaan karakteristik kadar air simplisia, skrining fitokimia, pembuatan ekstrak dari daun sawi pahit (*Brassica juncea* (L.) Czern).

Pembuatan Ekstrak Etanol Sawi Pahit

Pembuatan ekstrak etanol sawi pahit dilakukan secara maserasi menggunakan pelarut etanol

Sebanyak 500g sawi pahit dibasahi dengan etanol sebanyak 3750 ml, massa tersebut dipindahkan sedikit demi sedikit dalam wadah tertutup, (toples kaca) yang telah dibungkus dengan aluminium foil, didiamkan selama 5 hari, lalu diserkai dengan kain planel di dapat hasil maserat (filtrate 1), residu dituangi kembali dengan etanol sebanyak 1250 ml, kemudian didiamkan 2 hari, diserkai kembali di dapat hasil maserat (filtrat 2), diulangi pengerjaan ini sampai di peroleh hasil maseratnya tidak berwarna atau direaksikan dengan pereaksi spesifik tidak memberi hasil yang positif kemudian maserat 1 dan 2 digabungkan, di peroleh maserat encer, selanjutnya dipekatkan dengan alat rotary evaporator pada suhu 50⁰ C, didapatkan hasil ekstrak kental (Depkes, 1995).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan golongan senyawa kimia secara kualitatif, meliputi golongan saponin, flavonoid, alkaloid, glikosida, steroida dan triterpenoida, dan tanin. Pemeriksaan dilakukan terhadap simplisia sawi pahit (Materia Medika Indonesia jilid V, 1989).

1. Saponin

Sebanyak 0,5 g serbuk simpisia dan ekstrak etanol dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 ml air suling panas dan didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 menit. Jika terbentuk busa dengan ketinggian 1-10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2 N menunjukkan adanya saponin (Depkes RI^a, 1995).

2. Flavonoid

Sebanyak 10 g serbuk simplisia dan ekstrak etanol ditimbang lalu ditambahkan 100 ml air suling panas, didihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas, ke dalam 5 ml filtrat

ditambahkan serbuk magnesium dan 1 ml HCl pekat dan 2 ml amil alkohol, dikocok kuat dan biarkan memisah. Adanya flavonoid ditandai dengan adanya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes RI, 1995).

3. Alkaloid

Serbuk simplisia dan ekstrak etanol ditimbang 0,5 g ditambahkan 1 ml HCl 2 N ditambahkan 9 ml air suling, lalu dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan lalu disaring filtrat dipakai untuk pemeriksaan alkaloid :

1. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Mayer, akan terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning
2. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Bouchardat, akan terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam
3. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Dragendroff, akan terbentuk coklat atau jingga

Jika terjadi endapan atau kekeruhan pada paling sedikit 2 tabung reaksi pada percobaan di atas, maka alkaloid positif (Depkes RI^a, 1995).

4. Glikosida

Sebanyak 3 g serbuk simplisia dan ekstrak etanol disari dengan 30 ml campuran etanol 95% dengan *aquadest* (7:3) dan 10 ml HCl 2 N, direfluks selama 2 jam, dinginkan dan disaring. Di ambil 20 ml filtrat ditambahkan 25 ml timbal (II) asetat 0,4 M di kocok, lalu didiamkan selama 5 menit, lalu disari dengan 20 ml campuran kloroform dan isopropanolol (3:2), dilakukan berulang sebanyak 3 kali. Sari dikumpulkan dan diuapkan pada temperatur tidak lebih dari 50°C. Sisanya dilarutkan dalam metanol. Larutan sisa digunakan untuk percobaan berikut: 0,2 ml larutan percobaan di atas dimasukkan dalam tabung reaksi, diuapkan di penangas air, pada sisa tambahkan 2 ml *aquadest* dan tambahkan 5 tetes pereaksi Molish, lalu secara perlahan-lahan tambahkan 2 ml H₂SO₄ (P) melalui dinding tabung, terbentuknya cincin berwarna ungu pada batas kedua cairan menunjukkan glikosida (Depkes RI^a, 1995).

5. Steroida dan Triterpenoida

Sebanyak 1 g serbuk simplisia dan ekstrak etanol di maserasi dengan 20 ml eter selama 2 jam, maserat disaring, lalu filtrat diuapkan dalam cawan penguap. Sisanya ditambahkan 2 tetes pereaksi Liebermann-Burchard, apabila terbentuk warna ungu atau merah yang kemudian berubah menjadi biru atau biru hijau menunjukkan adanya steroida atau triterpenoida bebas (Harborne, 1987).

6. Tanin

Sebanyak 1 g serbuk simplisia dan ekstrak etanol disari dengan 10 ml air suling lalu disaring filtratnya diencerkan dengan air suling sampai tidak berwarna. Larutan diambil sebanyak 2 ml dan ditambahkan 1-2 tetes larutan pereaksi besi (III) klorida 1%. Jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Depkes RI^a, 1995).

Pembuatan Larutan Kuersetin

Ditimbang 25 mg kuersetin dimasukkan kedalam labu tentukur 50 ml kemudian dilarutkan dengan etanol 96% sampai garis tanda, dengan konsentrasi 100 mg/ml.

Penentuan Panjang Gelombang Kuersetin

Larutan kuersetin dengan konsentrasi 100 mg/ml dipipet sebanyak 7,5 ml dimasukkan kedalam labu tentukur 25 ml dicukupkan sampai garis tanda dengan konsentrasi (30 mg/ml), kemudian ditambahkan 1 ml aluminium klorida (AlCl₃) 10%, 8 ml asam asetat 5%. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400-800 nm, di peroleh absorbansi maksimum sebagai panjang gelombang kuersetin. Di lanjutkan dengan pengukuran *operating time* untuk ekstrak sawi pahit (*brassica juncea* (L.) Czern).

Penentuan *Operating Time* Ekstrak Sawi Pahit

Larutan kuersetin dari konsentrasi 25 mg/ml dihomogenkan kemudian langsung diukur absorbansinya selama 1 jam

Penentuan Kurva Kalibrasi Larutan Standar Kuersetin

Dari larutan induk baku kuersetin (25 mg/ml) dipipet 1,25 ml, 2,5 ml, 5 ml, 7,5 ml, 10 ml, ke dalam labu tentukur 25 ml dengan konsentrasi 5,10,20,30,40, dipipet 1 ml ke dalam masing-masing labu 10 ml, ditambahkan 1 ml aluminium klorida 10%, 8 ml asam asetat 5%. Diukur absorbansi larutan standar kuersetin pada masing masing konsentrasi serta panjang gelombang maksimum dari larutan (konsentrasi 25 ml) terhadap reagen yang digunakan sebagai blanko secara spektrofotometri UV-VIS (400-800nm).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol sawi pahit *Brassica juncea* (L.) menunjukkan golongan senyawa kimia seperti yang terlihat pada Tabel 4.1 berikut ini.

Tabel 4.1. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol sawi pahit *Brassica juncea* (L.)

No	Pemeriksaan	Ekstrak etanol Sawi pahit
1.	Alkaloid	+
2.	Flavanoid	+
3.	Saponin	+
4.	Tanin	+
5.	Steroid/Triterpenoid	+

Keterangan :

(-) Negatif : Tidak mengandung senyawa

(+) Positif : Mengandung Senyawa

Hasil skrining fitokimia Ekstrak etanol Sawi pahit menunjukkan bahwa ekstrak mengandung senyawa golongan Alkaloid, flavanoid, saponin, Triterpenoid, dan tanin yang menyatakan bahwa daun pinang memiliki aktivitas antioksidan.

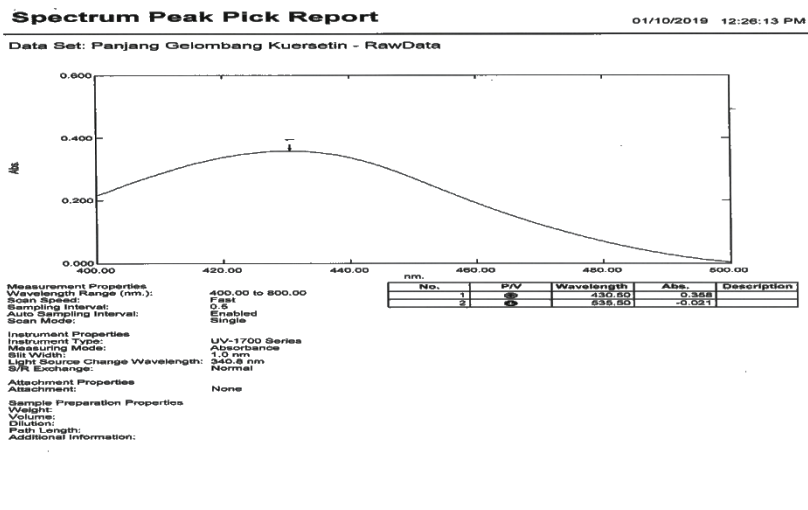
Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total

Penetapan kadar flavonoid total menggunakan metode spektrofotometri sinar tampak dengan reagen Aluminium Klorida ($AlCl_3$) 10% dan asam asetat 5% merupakan metode yang paling sederhana, mudah, menggunakan jumlah sampel yang relatif sedikit waktu pengerjaannya 30 menit yang lebih singkat.

Hasil Pengukuran panjang Gelombang Serapan Maksimum

Pengukuran kadar flavonoid total diawali dengan pengukuran panjang gelombang maksimum dari larutan aluminium klorida dan asam asetat konsentrasi 30 mg/ml dengan menggunakan spektrofotometri UV-VIS sehingga di peroleh panjang gelombang 430,50 nm dengan absorbansi 0,358. Panjang gelombang ini di gunakan untuk mengukur absorbansi flavonoid.

Menurut Gandjar dan Rohman (2007) warna kuning akan menghasilkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 400-800 nm. Hasil pengukuran ini dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Hasil Pengukuran Panjang Gelombang

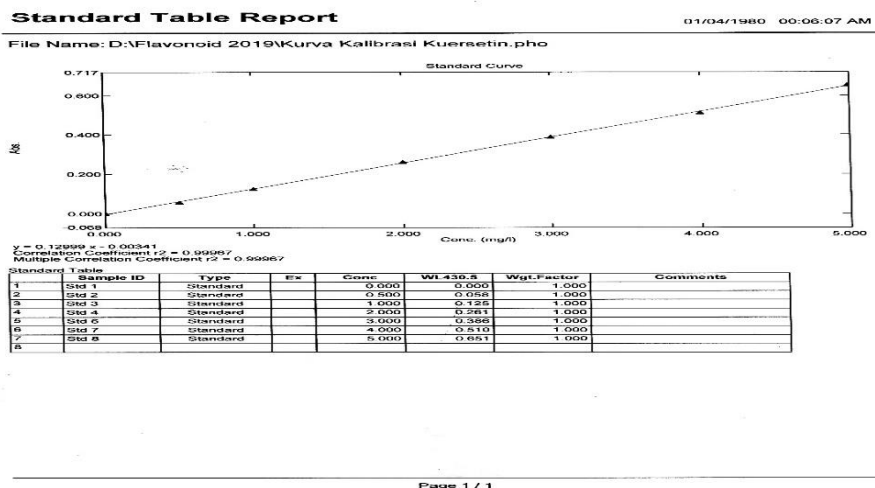
Hasil Penentuan Kurva Kalibrasi Kuersetin

Pengukuran kurva kalibrasi dilakukan dengan konsentrasi Larutan yang berbeda yang dipipet dari Larutan induk kuersetin (25mg/ml). Dipipet 1,25, 2,5,5,7,5,10 ml dengan konsentrasi 5,10,20,30,40 mg/ml, kemudian dipipet lagi 1 ml dari masing masing konsentrasi lalu dimasukkan dalam labu tentukur kemudian ditambahkan 1 ml aluminium klorida (AlCl₃) 10%, 8 ml asam asetat 5%, dan didiamkan pada reagen operating time pada suhu kamar. Semua Larutan diukur lalu diinkubasi, yang diukur pada panjang gelombang 430,50 nm, di peroleh hasil dan dapat dilihat pada Tabel sebagai berikut:

Tabel 4.2 Data Hasil Pengukuran Absorbansi Kadar Flavonoid Total

No	Absorbansi	Konsentrasi (mg/ml)
1	0	0
2	0,058	0,50
3	0,125	1
4	0,261	2
5	0,386	3
6	0,510	4
7	0,657	5

Dari Tabel 4.2 tersebut di peroleh kurva kalibrasi seperti ditunjukkan pada Gambar 4.2



Gambar 4.3 Hasil pengukuran kurva kalibrasi kuersetin

Berdasarkan Tabel 4.2 diperoleh nilai r^2 . Nilai r^2 berkisar antara 0 sampai 1 yang menunjukkan seberapa dekat nilai perkiraan untuk analisis regresi yang mewakili data yang sebenarnya.

Dari kurva kalibrasi di atas di peroleh persamaan garis regresi $y = 0,12999x + 0,00341$ dengan nilai r^2 0,99967, yang menunjukkan linieritas yang sangat baik. Data yang diperoleh dibuat suatu regresi linier dan dibuat kurva hubungan antara konsentrasi vs serapan. Pembuatan kurva dari kurva kalibrasi yang diperoleh dapat digunakan untuk menetapkan kadar flavonoid total sawi pahit (*Brassica juncea* (L.) Czern).

Hasil Kadar Flavonoid Total

Pengujian kadar flavonoid total dihitung dengan mensubstitusikan nilai absorbansi (y) sampel Larutan pada panjang gelombang maksimum kepersamaan garis linier $y = ax + b$ yang di peroleh dari kurva kalibrasi kuersetin sehingga di peroleh konsentrasinya (x). Nilai x kemudian di substitusikan dalam rumus perhitungan kadar flavonoid total. Pengukuran kadar flavonoid total dilakukan dengan pengulangan 6x dan diambil rata ratanya seperti yang disajikan dalam tabel 4.3

Tabel 4.3 flavonoid total ekstrak sawi pahit (*Brassica juncea* (L.))

No	Berat Sampel (mg)	Absorbansi	Konsentrasi (mg/g)	Kadar Flavonoid Total (mg/g)	Kadar Sebenarnya (mg/g)
1	50,000	0,411	3,192	31,355	
2	50,000	0,414	3,213	31,586	
3	50,000	0,414	3,213	31,586	31,432 ± 0,2064
4	50,000	0,411	3,186	31,355	
5	50,000	0,410	3,182	31,278	
6	50,000	0,412	3,195	31,432	

Berdasarkan Tabel 4.3 diperoleh kadar flavonoid total sebenarnya $31,432 \pm 0,2064$ dengan rata-rata kadar 31,432 mgQE/g. Kadar flavonoid total yang diperoleh di pengaruhi oleh jenis pelarut. Pelarut yang bersifat polar mampu melarutkan flavonoid yang lebih baik kadarnya dalam ekstrak akan menjadi tinggi. Untuk dapat dibaca serapannya pada daerah panjang gelombang ultraviolet visible maka flavonoid harus direaksikan dengan reagen pembentuk warna yaitu aluminium klorida ($AlCl_3$) 10% dan Asam Asetat 5%.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil percobaan maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol daun pinang adalah Alkaloid, Flavonoid, Saponin, Tanin, Steoroid/Triterpenoid.
2. Daun pinang (*Areca catechu* L) memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 64,22.
3. Perbandingan nilai IC_{50} antara ekstrak etanol daun pinang (*Areca catechu* L) dan Vitamin C yaitu, Ekstrak etanol daun pinang memiliki IC_{50} sebesar 64,22 dan Vitamin C sebesar 90,49.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Ibu Anny Sartika Daulay, S.Si., M.Si. Sebagai Kepala Laboratorium Farmasi Terpadu Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah Medan beserta Laboran yang telah memberikan izin kepada penulis untuk menggunakan fasilitas laboratorium. Bapak dan Ibu staf pengajar Fakultas Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah Medan yang telah mendidik dan membina penulis hingga dapat menyelesaikan pendidikan dan membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Depkes RI^a. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Edisi V. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Halaman: 94-98
- [2] Depkes RI^b. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Halaman: 7, 9, 46, 537-538, 649
- [3] Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Cetakan 1. Terjemahan Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB. Halaman: 6-7, 102, 147-148, 234-235
- [4] Haryanto, E. Suhartini, E. Rahayu, dan Sunarjo. 2006. *Sawi dan Selada*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- [5] Markham KR. 1988. *Techniques of Flavonoid Identification*. London: Academic Pr.
- [6] Rukmana, R. 1994. *Budidaya Kubis Bunga dan Brokoli*. Kansius. Yogyakarta