

Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 70% Daun Bayam Brazil (*Althernanthera sisso*) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Nur Humaira Marwati ^{a,1*}, Revita Saputri ^{a,2}, Eka Fitri Susiani ^{a, 3}

^{a,b,c} Fakultas Farmasi, Universitas Borneo Lestari, Banjarbaru, Kalimantan Sselatan, Indonesia

¹erahumaera881@gmail.com*; ²revita03@gmail.com; ³ekavit.apt@gmail.com

*korespondensi penulis

Kata kunci:

Althernanthera sisso;
Flavonoid total;
Ekstrak etanol 70%;

ABSTRAK

Daun Bayam Brazil (*Althernanthera sisso*) diketahui memiliki kandungan aktivitas antioksidan alami yang tinggi sebesar 3,7 ppm. Antioksidan memiliki peran penting didalam tubuh manusia untuk mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Salah satu senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan adalah flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa flavonoid secara kualitatif menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), serta mengetahui kadar flavonoid total secara kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis dari ekstrak etanol 70% daun bayam brazil (*A. Sisso*). Metode maserasi dengan pelarut etanol 70% digunakan untuk mengekstraksi daun bayam brazil (*A. Sisso*). Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan penampak bercak AlCl_3 5% untuk menguji senyawa flavonoid. Senyawa Kuersetin digunakan untuk menetapkan kadar total flavonoid, sedangkan AlCl_3 untuk menetapkan kadar total flavonoid. Hasil penelitian pada uji kualitatif ini menunjukan adanya senyawa flavonoid, dan pada uji kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis menunjukkan kadar total flavonoid sebesar $70,890 \pm 1,723$ % b/b ekuivalen kuersetin. Ekstrak etanol 70% daun bayam brazil (*A. Sisso*) memiliki kandungan flavonoid sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai tanaman obat.

Key word:

Althernanthera sisso;
Total flavonoids;
70% ethanol extract;

ABSTRACT

Brazilian Spinach (*Althernanthera sisso*) leaves are known to have a high natural antioxidant activity content of 3.7 ppm. Antioxidants have an important role in the human body to prevent damage caused by free radicals. One of the compounds that have antioxidant activity is flavonoids. This study aims to determine flavonoid compounds qualitatively using Thin Layer Chromatography (TLC), and to determine the total flavonoid content quantitatively using UV-Vis spectrophotometry of 70% ethanol extract Brazilian Spinach (*A. sisso*). Maceration method with 70% ethanol solvent was used to extract Brazilian spinach leaves (*A. sisso*). Thin Layer Chromatography (TLC) followed by spray reagents was used to test the flavonoid compounds. Quercetin was used to determine total flavonoid levels, while AlCl_3 was used to determine total flavonoid levels. The results of this qualitative test showed the presence of flavonoids, and in the quantitative test using UV-Vis spectrophotometry the total levels of flavonoids were $70.890 \pm 1.723\%$ w/w quercetin equivalent. The 70% ethanol extract of Brazilian spinach leaves (*A. sisso*) contains flavonoids so that it has the potential to be developed as a medicinal plant.

Pendahuluan

Senyawa antioksidan merupakan zat yang dibutuhkan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah efek merusak dari radikal bebas. Oleh karena itu, jumlah antioksidan yang optimal sangat penting. Mengonsumsi antioksidan alami dapat mencegah penyakit degeneratif seperti penyakit kardiovaskular, karsinogenesis, kanker dan lain-lain (Parwata, 2015).

Salah satu tanaman yang mengandung antioksidan alami adalah Bayam Brazil (*A. Sisso*). Bayam Brazil (*A. sisso*) merupakan tanaman herbal di pekarangan rumah yang mulai diimpor dan diperkenalkan di beberapa negara Asia Tenggara khususnya Indonesia, Kalimantan Selatan, Kota Banjarbaru khususnya Kelompok Wanita Tani (Cantik Manis) di Desa Landasan Ulin Barat (Yuniarti *et al.*, 2022). Tanaman ini merupakan salah satu spesies dari genus *Althernanthera* yang diketahui mengandung senyawa flavonoid serta memiliki kemampuan antioksidan tinggi sebesar 3,7 ppm yang tergolong sangat kuat. (Rahayu, 2022).

Ekstrak etanol 70% Bayam Brazil (*A. sisso*) dilaporkan memiliki aktivitas biologi yang berperan sebagai imunomodulator (Wuni, 2022). Pada penelitian yang lain menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol 70% *A. sisso* memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli* dengan zona hambat masing-masing 19 nm dan 14 nm (Anuar & Abdullah, 2022). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui secara kualitatif dan kuantitatif kandungan flavonoid hasil maserasi dari ekstrak etanol 70% Bayam Brazil (*A. sisso*).

Metode

1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu alat-alat gelas (*Iwaki*®), batang pengaduk, cawan porselin, kuvet (*Serena*®), labu ukur (*Pyrex*®), gelas ukur (*Pyrex*®), gelas beaker (*Pyrex*®), *chamber*, lampu UV, *micropipette*, pipet tetes, *rotary evaporator* (*IKFR10*®), *waterbath* (*Memmert*®), *vortex mixer* (*Bionex*), spatula, stopwatch, timbangan analitik (*Ohaus*) , vial, lampu UV, spektrofotometer UV-Vis (*Pg Instruments*), aluminium foil (*Klinpak*®).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun Bayam Brazil (*A. sisso*), etanol 70%, aquadest (*Onemed*®), asam asetat p.a (*Smart-Lab*®), aluminium (III) klorida (AlCl_3), etanol p.a (*Smart-Lab*®), kuersetin (*Sigma Aldrich*®), plat KLT *silica gel* GF254 (*Merck*®), kloroform (CHCl_3), etil asetat ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$) dan kertas saring.

2. Determinasi tanaman

Determinasi dilakukan untuk mengetahui dan memastikan kebenaran taksonomi dari suatu tanaman berdasarkan struktur tumbuhan yang dilihat dari bentuk akar, batang, daun dan bunga, yang dilakukan secara spesifik dan tepat sasaran karena beberapa tumbuhan memiliki kemiripan varietas. Sampel diambil langsung dari tanaman yang diperoleh dari perkebunan Kelompok Wanita Tani (Cantik Manis) Landasan Ulin Barat, Kecamatan Liang Anggang Banjarbaru. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat.

3. Pembuatan ekstrak etanol 70% daun bayam brazil (*A. Sisso*)

Sampel segar daun Bayam Brazil (*A. Sisso*) yang sudah dikumpulkan sebanyak 8,7 kg kemudian disortasi basah, dicuci dengan air mengalir, kemudian dirajang dan dikeringkan dengan menggunakan lemari pengering dengan suhu 45-50°C suhu pengeringan simplisia yang baik adalah kurang dari 60°C. Tahap selanjutnya sampel yang telah dikeringkan dilakukan sortasi kering, kemudian dilakukan penghalusan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan mesh 40 (Rahayu, 2022).

Daun Bayam Brazil (*A. sisso*) sebanyak 200 gram diekstrak menggunakan metode maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% dengan perbandingan 1:5 (simplisia:pelarut). Dimasukan dalam bejana maserasi, ditutup selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam (Kemenkes RI, 2017). Remaserasi dilakukan sebanyak dua kali dengan prosedur dan jumlah pelarut yang sama. Hasil ekstraksi kemudian disaring dengan kertas saring sehingga diperoleh filtrat. Kemudian dimasukkan kedalam *rotary evaporator* pada suhu pemanasan 50°C. Selanjutnya ekstrak diuapkan dan dipekatkan menggunakan *waterbath* pada suhu 50°C (Maryani, 2015).

4. Identifikasi flavonoid ekstrak etanol 70% daun Bayam Brazil (*A. Sisso*) secara kualitatif dengan kromatografi lapis tipis (KLT)

Fase diam yang digunakan adalah *silica* gel GF₂₅₄ dan fase gerak yang digunakan yaitu kloroform : etil asetat : asam asetat (6:3,5:0,5). Pengamatan spot KLT pada UV 254 nm dan 366 nm. Kemudian dilanjutkan dengan penyemprotan AlCl₃ 5% untuk identifikasi flavonoid. Jika noda berubah menjadi kuning setelah setelah disemprot AlCl₃ 5% dan menunjukkan fluoresensi biru dilihat pada UV 366 menunjukkan positif mengandung flavonoid (Natasha *et al.*, 2021, Susiani *et al.*, 2023).

5. Penetapan kadar total flavonoid ekstrak etanol 70% daun Bayam Brazil (*A. Sisso*)

Langkah pertama yang dilakukan adalah penentuan λ maksimal dengan 1 mL senyawa standar kuersetin 100 ppm yang ditambah 1 mL AlCl₃ 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Inkubasi dilakukan selama 30 menit, *scanning* panjang gelombang dilakukan dengan spektrofotometri UV-Vis dan diperoleh λ maksimal 415 nm. Dibuat seri konsentrasi standar kuersetin yaitu 40, 60, 80, 100 dan 120 ppm. Sebanyak 10 mg sampel dilarutkan sampai tanda batas 10 mL. Selanjutnya dilakukan pengenceran menjadi 100 ppm sampai tanda batas 10 mL. Diambil sebanyak 1 ml sampel konsentrasi 100 ppm kemudian ditambahkan 1 mL AlCl₃ 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Kadar flavonoid total dihitung sebagai ekuivalen kuersetin dalam % b/b (Susiani *et al.*, 2023).

$$\text{Kadar total fenolik} = \frac{C \times V \times Fp}{M}$$

Keterangan:

C : Konsentrasi kuersetin

V : Volume fraksi

M : Berat fraksi

Fp: Faktor pengenceran

Hasil dan Pembahasan

Pembuatan Ekstrak etanol 70% daun Bayam Brazil (*A. sisso*). Ekstrak etanol 70% daun Bayam Brazil (*A. sisso*) diperoleh dengan metode ekstraksi karena metode maserasi lebih sederhana, tidak memerlukan peralatan khusus, dan tidak menggunakan suhu tinggi sehingga dapat mencegah kerusakan senyawa yang tidak tahan pemanasan terutama flavonoid (Lindawati & Ma'ruf, 2020).

Pelarut etanol 70% dipilih sebagai cairan penyari dikarenakan merupakan pelarut polar yang mudah menguap dan termasuk pelarut universal yang dapat menyari senyawa polar, semi polar, dan non polar sehingga senyawa yang disari akan lebih banyak (Afianti, 2022). Hasil rendemen ekstrak etanol 70% daun Bayam Brazil (*A. sisso*) yang diperoleh sebesar 17,1453%. Hasil tersebut tidak jauh berbeda dengan hasil rendemen pada penelitian Rahayu (2022), yaitu sebesar 17%.

Identifikasi flavonoid ekstrak etanol 70% daun Bayam Brazil (*A. Sisso*) secara kualitatif dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Fase diam yang digunakan berupa *silica* gel GF₂₅₄ dan fase gerak yang digunakan adalah perbandingan pelarut kloroform : etil asetat : asam asetat (6 : 3,5 : 0,5). Identifikasi flavonoid dengan penyemprotan AlCl₃ 5% menunjukkan ekstrak etanol 70% daun Bayam

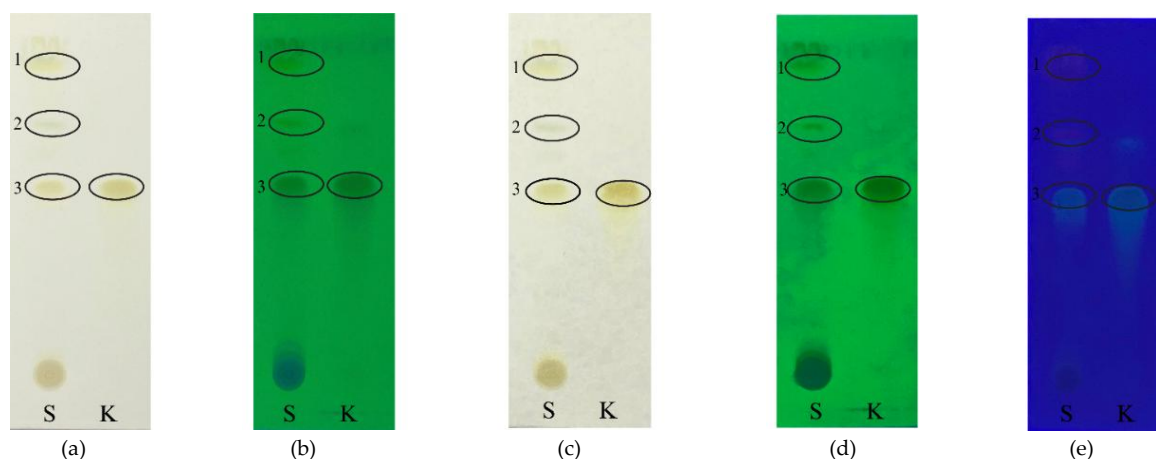
Brazil (*A. sisso*) mengandung senyawa golongan flavonoid yang ditunjukkan dengan adanya warna kekuningan bercak noda pada plat KLT dan Flouresensi biru pada bercak noda saat dilihat pada UV 366 nm. Hasil identifikasi flavonoid secara kualitatif dengan KLT dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil identifikasi flavonoid secara kualitatif dengan KLT Ekstrak etanol 70% daun Bayam Brazil (*A. sisso*)

Noda ke	Rf	Hasil Pengamatan				
		Visual	UV 254 nm	Visual setelah disempot AlCl_3	UV 254 nm setelah disempot AlCl_3	UV 366 setelah disempot AlCl_3
1	0,92	kuning	hijau	kuning	hijau	Flouresensi biru
2	0,73	kuning	hijau	kuning	hijau	Flouresensi biru
2	0,55	kuning	hijau	kuning	hijau	Flouresensi biru

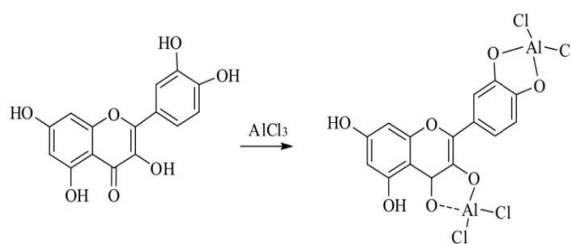
Pengamatan pada UV 366 nm menghasilkan bercak noda yang berpendar dengan latar belakang yang gelap, sehingga noda yang dapat berpendar (berflouresensi) dapat dilihat secara visual. Hal tersebut disebabkan oleh adanya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh auksokrom pada bercak noda. Flouresensi yang tampak merupakan hasil emisi Cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut Ketika electron tereksitasi dari tingkat dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi dan kemudian kembali semula dengan melepaskan energi (Karima *et al.*, 2019).

Beberapa senyawa flavonoid seperti flavonol dan kalkon akan berflouresensi di bawah UV 366 nm (Hasan *et al.*, 2023). Hasil identifikasi senyawa flavonoid ekstrak etanol 70% daun Bayam Brazil (*A. sisso*) menggunakan KLT dapat dilihat pada Gambar 1.



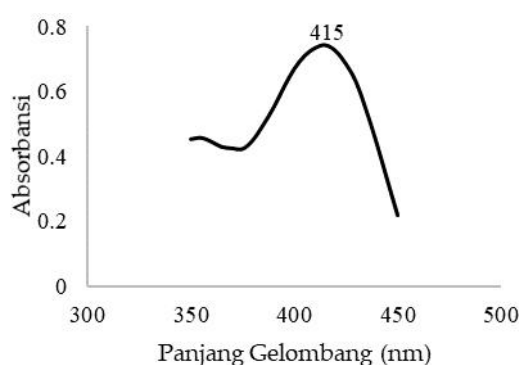
Gambar 1. Hasil identifikasi senyawa flavonoid (a) pengamatan secara visual (b) pengamatan pada sinar UV 254 nm (c) pengamatan secara visual setelah disempot AlCl_3 (d) pengamatan pada sinar UV 254 setelah disempot AlCl_3 (e) pengamatan pada sinar UV 366 setelah disempot AlCl_3 ; (S = Sampel Ekstrak) (K = Kuersetin).

Penetapan kadar total flavonoid ekstrak etanol 70% daun Bayam Brazil (*A. Sisso*). Identifikasi senyawa flavonoid secara kuantitatif dilakukan dengan menghitung kadar total flavonoid menggunakan alat spektrofotometer UV-VIS. Pada penelitian ini digunakan penambahan AlCl_3 10% sehingga menyebabkan terjadinya batokromik atau melakukan pergeseran ke arah Panjang gelombang yang lebih tinggi sehingga mengubah Panjang gelombang larutan uji masuk kedalam rentang panjang gelombang UV-Vis 350-450 nm. Terjadinya efek batokromik menghasilkan warna yang lebih kuning. Penggunaan reagen AlCl_3 akan membentuk kompleks asam yang stabil jika bereaksi dengan gugus keton C-4, gugus hidroksi C-3 atau C-5 dari flavon dan flavonol (Azizah *et al.*, 2020) Reaksi dapat dilihat pada Gambar 2.



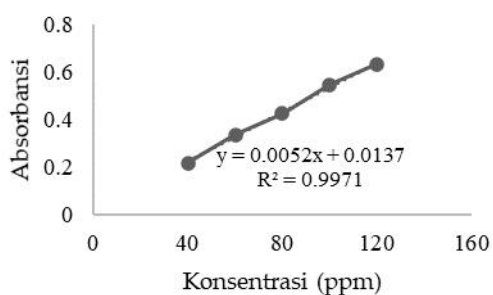
Gambar 2. Reaksi Kuersetin dengan reagen AlCl_3 (Susiani *et al.*, 2023).

Penetapan kadar flavonoid menggunakan standar kuersetin sebagai kurva baku. Panjang gelombang maksimal kuersetin yang didapatkan pada penelitian ini yaitu 415 nm dengan nilai absorbansi 0,742 (Gambar 3.)



Gambar 3. Grafik panjang gelombang maksimum

Persamaan kurva baku kuersetin dari seri kadar 40, 60, 80, 100, dan 120 ppm menghasilkan persamaan regresi linear $y = 0,0052x + 0,0137$ dan nilai koefisien korelasi (r) 0,9971.



Gambar 4. Grafik kurva baku kuersetin

Hasil perhitungan kadar total flavonoid pada ekstrak etanol 70% daun Bayam Brazil (*A. sisso*) yang ditunjukkan Tabel 2. Berdasarkan tabel tersebut didapatkan rata-rata dari 3 replikasi yaitu $70,890 \pm 1,7236\%$ b/b. Senyawa flavonoid memiliki peran dalam aktivitas farmakologi dari tanaman, salah satunya aktivitas antioksidan. Besarnya kandungan flavonoid dalam ekstrak etanol 70% daun Bayam Brazil (*A. sisso*) sejalan dengan aktivitasnya sebagai antioksidan dimana, pada penelitian Rahayu (2022), ekstrak etanol 70% daun Bayam Brazil (*A. sisso*) memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 3,7 ppm.

Tabel 2. Hasil perhitungan kadar total flavonoid

Sampel	Absorbansi sampel	Kandungan flavonoid total (% b/b)	$\bar{x}$ Kandungan flavonoid total (% b/b)±SD
Ekstrak etanol 70% daun bayam brazil 100 ppm	0,372	68,9038	70,890 ± 1,723
	0,387	71,7884	
	0,388	71,9807	

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun bayam brazil (*A. Sisso*) memiliki kadar total flavonoid sebesar $70,890 \pm 1,7236\%$ b/b. Oleh karena itu ekstrak etanol 70% Bayam Brazil (*A. sisso*) berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan baku obat tradisional.

Ucapan Terima Kasih

Penulias mengucapkan terima kasih dan penghargaan kepada semua yang membantu serta Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Borneo Lestari Banjarbaru yang telah memberikan sumbangsih dan menyediakan sarana serta prasarana terhadap penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Afianti, S. 2022. *Farmakologi Jambu Biji dalam Prespektif Terapi Periodontitis*. Literasi Nusantara Abadi, Malang.
- Anuar, A. K. K. 2022. A Comparative Study on Phytochemical Constituents and Antimicrobial Activity of *Alternanthera sissoo* extracts. *Enhanced Knowledge in Sciences and Technology*, 2(2), 043-051.
- Azizah, Z., Elvis, F., Zulharmita, Z., Misfadhila, S., Chandra, B., & Yetti, R. D. 2020. Penetapan Kadar Flavonoid Rutin pada Daun Ubi Kayu (*Manihot Esculenta* Crantz) Secara Spektrofotometri Sinar Tampak. *Jurnal Farmasi Higea*, 12(1), 90-98.
- Hasan, H., Suryadi, A. M. A., Bahri, S, & Widiastuti, Ni Luh. 2023. Penentuan Kadar Flavonoid Daun Rumpuk Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research (JSSCR)*. 5 (2): 200-211.
- Kemenkes RI. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia* Edisi 2. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Lindawati, N. Y., & Ma'ruf, S. H. 2020. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) secara Spektrofotometri Visibel. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(1), 83-91.
- Maryani, E. 2015. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bayam Hijau (Amaranthus cruentus L.) dan Daun Bayam Merah (Amaranthus tricolor L.) dengan Metode DPPH*. Bandung : Kementerian Kesehatan RI Politeknik Kesehatan Bandung Jurusan Farmasi.
- Natasa, E., Ferdinan, A. & Kurnianto, E. 2021. Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Akar Bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk.). *Jurnal Komunitas Farmasi Nasional*. 1 (2): 155-162
- Parwata, I. M. O. A., Kusuma, I. N. A., & Dewi, I. G. A. K. S. P. 2022. Kadar Flavonoid Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*). *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)*, 16(1).
- Rahayu, N. K. S. I. 2022. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bayam Brazil (*Althernanthera sisso*). *Skripsi*. Poltekkea Kemenkes Denpasar Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.
- Susiani, E. F., Saputri, R., Fanadia, A., & Hasymi, L.F. 2023. Penetapan Kadar Total Fenolik-Flavonoid Ekstrak Etanol 70% Kulit Batang Tandui (*Mangifera rufucostata* Kosterm.). *Jurnal Ilmiah Manuntung: Sains Farmasi dan Kesehatan*. 9 (1):102-110.
- Wuni. P. M, Madyaningrana. K, Prakasita. C.V. 2022. Efek Ekstrak Daun Bayam Brazil (*Althernanthera sisso hort*) Terhadap Jumlah Limfosit dan Indeks Organ Timus dan Limpa Mencit Jantan. *Metamorfosa ; Journal of Biological Sciences*. Yogyakarta. 9 (2):397-406.