

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOL
KULIT BATANG SAWO (*Manilkara zapota* (L.)) SECARA
SPEKTROFOTOMETRI UV-VISIBEL**

Ratna Widyasari*, Dina Yuspita Sari
Akademi Farmasi Yarsi Pontianak

*: shareeza121208@gmail.com

ABSTRAK

Sawo (*Manilkara zapota* (L.)) adalah salah satu tanaman yang dapat digunakan dalam pengobatan tradisional. Kulit batang sawo mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, saponin, tanin dan fenolik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid total pada ekstrak etanol kulit batang sawo. Penentuan kadar flavonoid total metode kolorimetri menggunakan pereaksi $AlCl_3$. Penentuan kadar flavonoid total menggunakan Spektrofotometri *UV Visible* pada panjang gelombang maksimum 417,50 nm dan kadar flavonoid total dinyatakan dalam QE (*Quercetin Equivalent*). Hasil penelitian menunjukkan kadar flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak etanol Kulit Batang Sawo (*Manilkara zapota* (L.)) yaitu sebesar 1,095 mgQE/g.

Kata Kunci: Kulit Batang Sawo, Flavonoid, Kolorimetri, $AlCl_3$, Spektrofotometri UV-Vis

ABSTRACT

Sawo (Manilkara zapota (L.)) is one of the plants that can be used in traditional medicine. Sawo bark contains secondary metabolites of flavonoids, saponins, tannins, and phenolics. This study aims to determine the total flavonoid content in the ethanol extract of saporilla stem bark. Determination of total flavonoid content using a colorimetric method using $AlCl_3$ reagent. Determination of total flavonoid using UV Visible Spectrophotometry at a maximum wavelength of 417.50 nm and total flavonoid expressed in QE (Quercetin Equivalent).. The results showed that the total flavonoid content contained in the ethanol extract of the Sawo Bark (Manilkara zapota (L.)) was 1,095 mgQE/g.

Keywords: Sawo Bark, Flavonoid, Colorimetric, $AlCl_3$, UV-Vis Spectrophotometry.

PENDAHULUAN

Sawo (*Manilkara zapota* (L.)) adalah salah satu tanaman yang dapat digunakan dalam pengobatan tradisional. Masyarakat menggunakan kulit batang sawo untuk mengobati infeksi pada kulit

dan penyakit bisul, berpotensi sebagai antibakteri alami¹ dan rebusan kulit batang sawo dapat digunakan untuk mengobati demam² dan, hal ini disebabkan adanya senyawa metabolit sekunder flavonoid, saponin, tanin dan fenolik pada kulit

batang sawo^{3,4}. Berdasarkan literatur senyawa metabolit aktif seperti fenolik⁵, saponin⁶, tanin dan flavonoid⁷, memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

Flavonoid terbukti mempunyai efek biologis yang sangat kuat sebagai antioksidan, menghambat penggumpalan keping-keping sel darah, merangsang produksi nitrit yang dapat melebarkan pembuluh darah, dan juga menghambat pertumbuhan sel kanker. Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Senyawa-senyawa ini yang dapat ditemukan pada batang, daun, bunga, dan buah yang merupakan zat warna merah, ungu, dan biru serta sebagian zat warna kuning⁸.

Analisis kuantitatif flavonoid total dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer *uv-visibel*. Metode spektrofotometri *UV-Vis* dapat digunakan untuk analisis suatu zat berwarna dalam kadar kecil, pengerjaannya tidak membutuhkan waktu yang lama, cukup sensitif, dan mudah dalam interpretasi hasil yang didapat⁹. Oleh karena itu, maka dalam

penelitian ini peneliti akan melakukan penetapan kadar flavonoid total etanol kulit batang sawo secara spektrofotometri agar dapat diperoleh bahan baku yang seragam sehingga ekstrak etanol kulit batang sawo ini dapat terjamin standar mutunya.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain alat Neraca analitik (*Ohaus PAJ 1003*), spektrofotometer UV-Visibel (*Shimadzu UV-1601*), rotary vacuum evaporator (*Heidolph Laborota 4000*), aluminium foil, ayakan, blender (*Miyako*), batang pengaduk, tabung reaksi (*Iwaki*), bejana maserasi, labu takar (*Pyrex*), kain flanel, pipet volume (*Pyrex*), pipet tetes, gelas beaker (*Iwaki*), micropipet (*Biologix*), gelas ukur (*Pyrex*), pisau *stainless steel*.

Bahan

Bahan penelitian yang digunakan antara lain kulit batang sawo (*Manilkara zapota* (L.)), etanol (C₂H₅OH), aquades (H₂O), aluminium klorida (AlCl₃) *Merck*, kuersetin (C₁₅H₁₀O₇) *Sigma Aldrich*, asam sulfat (H₂SO₄) pekat *Merck*, pita

magnesium (Mg) *Pudak*, dan asam klorida (HCl) *Merck*.

Penyiapan Sampel

Serbuk halus kulit batang sawo ditimbang 500 g, dimasukkan kedalam wadah kemudian ditambahkan etanol 96% dengan perbandingan 1:3 dan dimaserasi 3x24 jam. Hasil maserasi kemudian disaring dan diperoleh filtratnya. Filtrat hasil maserasi selama tiga hari digabungkan kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* menggunakan suhu 40°C-50°C hingga diperoleh ekstrak kental kulit batang sawo.

Skrinning Fitokimia

Skrinning fitokimia flavonoid dilakukan menggunakan uji Shinoda. Sebanyak 1 ml sampel, ditambahkan 0,2 g pita Mg dan 2 tetes HCl. Adanya senyawa flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna jingga (flavon), merah muda (flavonol), merah (2,3 dihidroflavonol), dan ungu (xanthone)¹⁰.

Pembuatan Larutan Standar Kuersetin

Kuersetin ditimbang sebanyak 10 mg, dilarutkan dalam etanol dalam labu takar 10 ml digojok sampai homogen. Dibuat larutan standar

kuersetin dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 mg/L. Diambil sejumlah 1,5 ml dan masing-masing dicampur dengan 1,5 ml etanol, 0,1 ml AlCl₃10%, 0,1 ml kalium asetat 1M dan 1,8 ml aquades. Diinkubasikan pada suhu kamar selama 30 menit, diukur serapannya dengan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang maksimum¹¹.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Sebanyak 10 mg kuersetin dilarutkan dalam 10 ml etanol dan diambil sebanyak 1,5 ml, ditambahkan 1,5 ml etanol, 0,1 ml AlCl₃ 10%, dan 0,1 ml kalium asetat 1M dan aquades hingga 10 ml. Inkubasi selama 30 menit absorbansi diukur pada panjang gelombang 200-750 nm¹¹.

Pembuatan Kurva Kalibrasi

Kuersetin sebanyak 10 mg dilarutkan dengan etanol dalam labu takar 10 ml digojok sampai homogen. Dibuat larutan standar 20, 40, 60, 80 dan 100 mg/L. Diambil sebanyak 1,5 ml dari masing – masing larutan pengenceran kuersetin 20, 40, 60, 80 dan 100 mg/L ditambahkan dengan

1,5 ml etanol, 0,1 ml $AlCl_3$ 10%, 0,1 ml kalium asetat 1M dan ditambahkan aquades 1,8 ml. Setelah itu diinkubasi selama 30 menit absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum¹².

Penentuan Kadar Flavonoid Total

Sebanyak 0,5 mg ekstrak kulit batang sawo samبال dilarutkan dalam 25 ml etanol dan diambil sebanyak 1,5 ml. Ditambahkan dengan 1,5 ml etanol, 0,1 ml $AlCl_3$ 10%, 0,1 ml kalium asetat 1M dan aquades 1,8 ml. Inkubasi 30 menit absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum¹².

Analisis Data

Kandungan flavonoid total diperoleh dengan cara memasukkan data absorbansi sampel kedalam persamaan kurva baku kuersetin dengan menggunakan hukum *lambert-Beer*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

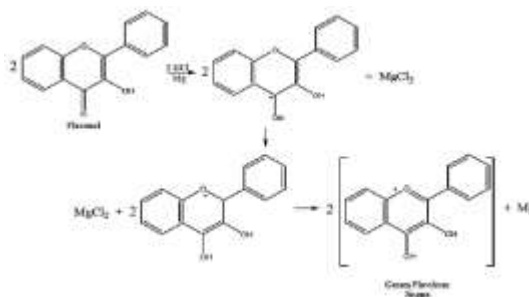
Skrining Fitokimia

Ekstrak etanol kulit batang sawo (*Manilkara zapota* (L.)) mempunyai karakteristik warna coklat, aroma khas dan rasa pahit.

Skrining fitokimia dilakukan bertujuan untuk mengidentifikasi

kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam sampel yaitu senyawa flavonoid. Uji flavonoid yang dilakukan yaitu menggunakan tes shinoda. Hasil menunjukkan ekstrak etanol kulit batang sawo mengandung senyawa flavonoid.

Reaksi senyawa flavonoid yang terbentuk dengan menggunakan pereaksi Mg-HCl ditunjukkan dengan adanya perubahan warna dari warna hijau tua menjadi jingga. Penambahan logam Mg dan HCl pada identifikasi senyawa flavonoid bertujuan untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terjadi perubahan warna menjadi jingga atau merah yang membentuk garam flavillium. Penambahan HCl mengakibatkan terjadinya reaksi oksidasi reduksi antara logam Mg sebagai pereduksi dengan senyawa flavonoid. Adapun reaksi senyawa flavonoid yang terbentuk dengan menggunakan pereaksi Mg-HCl sebagaimana gambar dibawah ini.



Gambar 1. Reaksi Flavonoid dan Mg-HCl¹³

Penetapan Kadar Flavonoid Total

Prinsip penetapan kadar flavonoid metode aluminium klorida adalah terjadinya pembentukan kompleks antara aluminium klorida dengan gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari golongan flavon dan flavonol¹¹.

Senyawa yang digunakan sebagai standar pada penetapan kadar flavonoid ini adalah quersetin, karena quersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus keto pada atom C-4 dan juga gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang bertetangga¹².

Analisis flavonoid dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis karena flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi sehingga menunjukkan pita serapan kuat pada

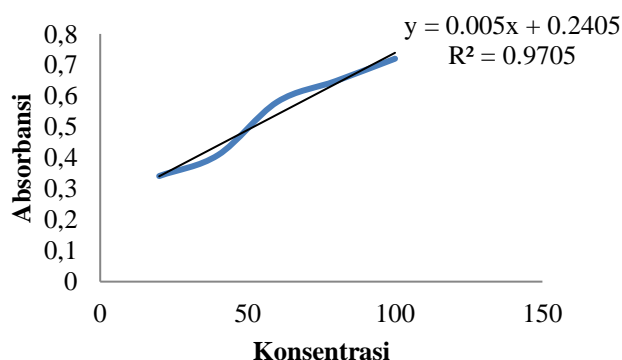
daerah spektrum sinar ultraviolet dan spektrum sinar tampak¹⁴.

Pengukuran panjang gelombang maksimum kuersetin dilakukan pada panjang gelombang 200-750 nm. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimal kuersetin diperoleh yaitu 417,5 nm. Kemudian diukur serapan kurva kalibrasi dan sampel ekstrak kulit batang sawo berdasarkan panjang gelombang maksimal kuersetin. Hasil pengukuran panjang gelombang dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Kurva Kalibrasi Larutan Standar Kuersetin

Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi
20	0,341
40	0,409
60	0,580
80	0,648
100	0,720

Berdasarkan tabel di atas terdapat nilai absorbansi pada masing – masing konsentrasi untuk mengetahui persamaan regresi linier dibuatlah kurva kalibrasi seperti gambar di bawah ini.



Gambar 2. Kurva Kalibrasi

Berdasarkan kurva kalibrasi diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y = 0,005x + 0,2405$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) = 0,9705. R^2 adalah kemampuan variabel bebas (konsentrasi ekstrak kulit batang sawo) dalam mempengaruhi variabel terikat (absorbansi). Nilai R^2 yang mendekati 1 menunjukkan kurva kalibrasi linier dan terdapat hubungan antara konsentrasi larutan ekstrak kulit batang sawo dengan absorbansi.

Untuk menyimpulkan bahwa konsentrasi flavonoid yang didapatkan akurat dan dapat dipercaya, maka dilakukan replikasi pada penelitian ini sebanyak 3 kali. Kemudian hasil tersebut dihitung rata – rata beserta standar deviasi-nya. Hasil konsentrasi flavonoid pada masing – masing replikasi dan rata –

rata hasil konsentrasi dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 2. Hasil Kadar Flavonoid

Sampel	Replikasi	Konsentrasi (mgQE/g)	Rata - Rata ± SD
Kulit	1	1,095	1,095 ± 0,02
Batang	2	1,075	
Sawo	3	1,115	

Hasil perhitungan penetapan kadar flavonoid total ekstrak metanol kulit batang sawo (*Manilkara zapota* (L.)) yaitu sebesar 1,095 mgQE/g dengan nilai standar deviasi sebesar 0,02.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang didapat pada penelitian penetapan kadar flavonoid total pada Ekstrak Etanol Kulit Batang Sawo (*Manilkara zapota* (L.)) ialah Kadar flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak etanol daun Kulit Batang Sawo (*Manilkara zapota* (L.)) yaitu sebesar 1,095 mgQE/g.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Akademi Farmasi Yarsi Pontianak atas semua kontribusinya selama penelitian berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

1. Arsyad, M., dan Annisa, A. R. (2016). Konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak etanol buah sawo (*Achras zapota* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherchia coli*. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. 1(2):211-8.
2. Milind, P., dan Preeti. (2015). Chickoo: A Wonderful Gift From Nature. *Int J. Res Ayurveda Pharm*. 6(4):544-50.
3. Octaviani, M., dan Syafrina. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Batang Sawo (*Manilkara zapota* (L) Van Royen). *Jurnal Ilmu Kesehatan Indonesia Vol.16, No.2*.
4. Yunika, N., Irdawati., Fifendy, M. (2015). Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak Daun Sawo (*Achras zapota* L.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Fakultas MIPA Universitas Negeri Padang*.
5. Hudaya, T., A. Sabianto, dan S. Prasetyo S. (2015). Tannin Removal By Hot Water As The Pretreatment Of The Multi Stages Extraction Of *Phaleria macrocarpa* Bioactive Compounds. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan": 68 (1): 1693-4393*.
6. Akinpelu, B. A., Igbeneghu, O. A., Awotunde, A. I., Iwalewa, E. O., dan Oyedapo, O. O. (2014). Antioxidant and Antibacterial Activities of Saponin Fractions of *Erythropheleum suaveolens* (Guill. And Perri.) *Stem Bark Extract. Scientific Research and Essays*, 9(18): 826-833.
7. Fatimah, Erfanur, Adlhani, dan Sandri, D. (2014). Uji Aktivitas Ekstrak Buah Sawo Mentah (*Achras zapota*) dengan Berbagai Pelarut Pada *Saalmonella typhi*. *Jurnal Teknologi Agro-Industri*, Vol. 2 No.2.
8. Ramayulis, Rita. (2014). *Detox is Easy*. Jakarta: Penebar Swadaya Grup.
9. Estikawati, I., Lindawati, N. Y. (2019). Penetapan Kadar Flavonoid Total Buah Oyong (*Luffa Acutangula* (L.) Roxb.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis. Volume V. No 2. Hal 96*.
10. Depkes, RI. (1989). *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
11. Azizah, D. N., Kumolowati, E., Faramayuda. F. (2014). Penetapan Kadar Flavonoid Metode $AlCl_3$ Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi. Volume 2 Nomor 2, Desember Tahun 2014*.
12. Yesi, D., Julia, R., Peni, A., (2009). Penentuan Jumlah Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) Secara Kolorimetri Komplementer, *Seminar Nasional POKJANAS TOI XXXVI, Yogyakarta*.
13. Dewi, Niluh Puspita. (2020). Uji Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm. F) Dengan Metode Spektrofotometer UV-Vis. *Acta Holist. Pharm. Vol. 2 No. 1: 16-24*.

14. Pradana, D.L.C., Wulandari, A.A., (2019). Uji Total Flavonoid Dari Ekstrak Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dan

Secang (*Caesalpinia sappan* L.).
Jurnal Insan Farmasi Indonesia,
2(2):271-277.