

PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*OCIMUM BASILICUM* VAR. *ANISATUM BENTH.*) DENGAN MENGGUNAKAN METODE SPEKTROFOMETRI UV-VIS

*DETERMINATION OF TOTAL FLAVONOID LEVELS OF BASIL (*OCIMUM BASILICUM* VAR. *ANISATUM BENTH.*) ETHANOL EXTRACT USING UV-VIS SPECTROPHOTOMETRY METHOD*

Debby Juliadi^{1*}, Ni Made Dharma Shantini Suena¹, Rr. Asih Juanita¹

¹Universitas Mahasaraswati Denpasar

Corresponding author : debbyjuliadi@unmas.ac.id

DOI : <http://dx.doi.org/10.47653/farm.v11i1.744>

ABSTRAK

Kemangi merupakan salah satu tanaman yang berasal dari daerah tropis, dan berasal dari keluarga Lamiaceae. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa daun kemangi mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, tanin, steroid/terpenoid, alkaloid, saponin. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang memiliki aktivitas biologi seperti antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid total yang terdapat pada ekstrak etanol daun kemangi dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Langkah-langkah yang perlu dilakukan pada penelitian ini yaitu pertama dilakukan pengumpulan daun kemangi untuk dijadikan serbuk simplisia. Langkah selanjutnya serbuk simplisia daun kemangi dimaserasi dengan etanol 70% untuk mendapatkan ekstrak kental. Setelah didapatkan ekstrak kental, kemudian dilakukan pengujian secara kualitatif dan kuantitatif. Pada uji kualitatif ekstrak etanol daun kemangi dilakukan menggunakan reaksi tabung untuk mengidentifikasi adanya flavonoid. Pada uji penetapan kadar flavonoid total menggunakan larutan standar kuersetin, kadar flavonoid total dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hasil analisis kualitatif pada ekstrak etanol daun kemangi dinyatakan positif terhadap flavonoid. Hasil analisis kuantitatif dengan spektrofotometri UV-vis didapatkan panjang gelombang maksimum 442 nm. Diperoleh persamaan regresi linear yaitu $0,0721x+0,0114$ dengan koefisien korelasi (r) adalah 0,996. Hasil analisis kuantitatif kadar rata-rata flavonoid pada ekstrak etanol daun kemangi yaitu $9,42025\pm 0,002936\%$ (b/b).

Kata Kunci: daun kemangi, flavonoid total, spektrofotometri UV-Vis

ABSTRACT

Basil is a plant that comes from the tropics, and comes from the Lamiaceae family. Previous research stated that basil leaves contain secondary metabolites in the form of flavonoids, tannins, steroids/terpenoids, alkaloids, and saponins. Flavonoids are polyphenolic compounds that have biological activities such as antioxidants. This study aims to determine the total flavonoid content contained in the ethanolic extract of basil leaves by UV-Vis spectrophotometry. The steps that need to be carried out in this study are first to collect basil leaves to be used as simplicia powder. The next step is simplicia basil leaves macerated with 70% ethanol to get a thick extract. After obtaining a thick extract, qualitative and quantitative tests were then carried out. In the qualitative test of the ethanolic extract of basil leaves, it was carried out using a test tube to identify the presence of flavonoids. In the total flavonoid assay using a standard solution of quercetin, the total flavonoid content was analyzed using UV-Vis spectrophotometry. The results of qualitative analysis on the ethanol extract of basil leaves were positive for flavonoids. The results of quantitative analysis with UV-vis spectrophotometry obtained a maximum wavelength of 442 nm. The obtained linear regression equation is $0.0721x+0.0114$ with a correlation coefficient (r) is 0.996. The results of quantitative analysis of the average levels of flavonoids in the ethanolic extract of basil leaves were $9.42025\pm 0.002936\%$ (w/w).

Keywords: basil leaves, total flavonoids, UV-Vis spectrophotometry

PENDAHULUAN

Kemangi merupakan salah satu jenis tanaman yang berasal dari daerah Asia tropis. Bagian kemangi yang biasanya dimanfaatkan adalah daun kemangi (*Ocimum basilicum* var. *anisatum* Benth.) dikarenakan senyawa metabolit sekunder dalam tanaman kemangi paling banyak terdapat di bagian daun (Ramasubramania dkk, 2012; Larasati dkk, 2016). Senyawa metabolit sekunder tersebut berupa flavonoid, fenol, saponin, tanin, alkaloid, terpenoid dan minyak atsiri.

Flavonoid merupakan salah satu senyawa golongan fenol alam terbesar yang terdapat dalam semua tumbuhan hijau dimana flavonoid memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Senyawa flavonoid mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C6 (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Tian-yang dkk, 2018). Terdapat beberapa subkelas flavonoid seperti, flavanon, flavon, isoflavon, antosianidin, dan flavonol. Pembagian dalam subkelas flavonoid didasarkan pada sifat-sifat struktural (Arifin dkk, 2018).

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Agoes, 2009). Metode ekstraksi yang dipilih yaitu maserasi. Metode maserasi digunakan karena maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi cara dingin yang tidak memerlukan panas serta tidak memerlukan alat-alat khusus dan juga praktiknya sederhana. Disamping itu metabolit sekunder flavonoid yang akan diekstraksi merupakan metabolit termolabil, dimana metabolit sekunder akan rusak akibat pemanasan (Handayani dkk, 2016).

Spektrofotometri merupakan salah satu metode yang digunakan untuk menentukan kadar flavonoid pada ekstrak etanol daun kemangi. Suatu senyawa dapat diuji dengan spektrofotometer UV-Vis, apabila senyawa tersebut memiliki gugus kromofor. Flavonoid merupakan salah satu senyawa yang memiliki gugus kromofor sehingga mampu menyerap sinar UV (Gandjar dkk, 2012). Penelitian tentang uji aktivitas dan karakteristik senyawa flavonoid terus dikembangkan, terutama untuk membuat sediaan obat baru. sehingga potensi tumbuhan ini sebagai bahan baku obat untuk pencegahan maupun pengobatan berbagai penyakit dapat lebih dikembangkan dengan maksimal.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini termasuk jenis penelitian kuantitatif dengan pendekatan eksperimental melalui metode reaksi tabung untuk menentukan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun kemangi dan metode spektrofotometri UV Vis untuk menghitung flavonoid total dalam ekstrak etanol daun kemangi.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan gram digital (Compact multi-purpose balance-BC 500), tabung reaksi (herma), blender, beaker glass 100 ml, gelas ukur 5 ml; 10 ml; 25 ml (pyrex), labu ukur 10 ml (pyrex), kaca arloji, batang pengaduk, pipet tetes, pipet volum 1 ml; 5 ml, dan spektrofotometri UV-Vis.

Bahan

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kemangi, sedangkan bahan kimia yang digunakan adalah etanol 70%, metanol pa, Mg, larutan HCL pekat, kuersetin, AlCl₃ 10%, Kalium Asetat 1 M, dan Aquadest.

Metode

Pengambilan dan Pengolahan Sampel Daun kemangi (*Ocimum basilicum* var. *anisatum* Benth.)

Sampel diperoleh dari Dusun Bajing, Desa Tegak, Kec. Klungkung Kab. Klungkung. Kemudian dilakukan determinasi di Kebun Raya "Eka Karya" Bedugul, Bali. Daun yang telah dipetik dikumpulkan dan disortasi kering untuk menghilangkan pengotor dan selanjutnya dikeringkan. Pengerinan daun kemangi dilakukan dengan suhu ruang (25°C-30°C) selama 5 hari. Simplisia yang sudah kering kemudian disortasi kembali untuk membersihkan kotoran yang masih melekat pada simplisia. Setelah itu, simplisia dihaluskan dengan menggunakan blender sehingga didapat simplisia halus.

Proses Ekstraksi Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* var. *anisatum* Benth.)

Proses ekstraksi serbuk daun kemangi ialah menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%, perbandingan simplisia dengan pelarut adalah 1 : 10 selama 3 x 24 jam. Maserat kemudian disaring dan diperas dengan menggunakan kain flannel. Selanjutnya dilakukan penguapan ekstrak dengan menggunakan rotary evaporator

hingga membentuk ekstrak pekat. Kemudian ditimbang ekstrak kental untuk mengetahui rendemen yang diperoleh (Saribu dkk, 2017).

Pembuatan reagen AlCl₃ 10% dan Kalium Asetat 1M

Ditimbang sebanyak 1 gram AlCl₃ 10% dilarutkan dalam 10 ml aquades. Ditimbang sebanyak 0,98 gram kalium asetat padat kemudian dilarutkan dalam 10 ml aquades.

Analisis Kualitatif Ekstrak Daun Kemangi

Untuk menganalisis senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak etanol daun kemangi dilakukan dengan cara 10 mg ekstrak etanol daun kemangi dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan serbuk Mg dan larutan HCL pekat (Harbone, 1987).

Uji kuantitatif flavonoid

Pembuatan Larutan Standar Kuersetin

Sebanyak 10 mg baku standar kuersetin dilarutkan dalam 10 ml metanol pa, sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk 1000 ppm. Kemudian dibuat larutan dengan konsentrasi 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm, dan 80 ppm.

1. Penetapan Panjang Gelombang

Larutan standar kuersetin 40 ppm dipipet sebanyak 1 ml, ditambahkan 3 ml metanol, 0,2 ml Al 10%, 0,2 ml kalium asetat 1 M dan dicukupkan dengan aquadest sampai 10 ml, didiamkan pada suhu 25-30°C selama 30 menit dan diamati spektrum serapannya pada panjang gelombang 400-800 nm dengan spektrofotometri UV-Vis. Untuk blanko digunakan campuran 3 ml metanol, 0,2 ml Al 10%, 0,2 ml kalium asetat 1 M dan dicukupkan dengan aquadest sampai 10 ml.

2. Pengukuran Absorbansi Larutan

Standar Kuersetin Larutan standar kuersetin 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm, dan 80ppm masing-masing dipipet sebanyak 1 ml ditambahkan 3 ml metanol, 0,2 ml Al10%, 0,2 ml kalium asetat 1 M, dan dicukupkan dengan aquadest hingga volume 10 ml, sehingga diperoleh larutan standar kuersetin dengan konsentrasi ppm, 3ppm, 4 ppm, 5 ppm, dan 6 ppm, 7 ppm, 8ppm. Setelah itu didiamkan pada suhu ruang 20-30°C Selama 30 menit dan diukur absorbansinya pada spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Blanko digunakan campuran 3 ml metanol 0,2 ml Al 10%, 0,2 ml

kalium asetat 1 M, dan dicukupkan dengan aquadest hingga volume 10ml.

3. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Kemangi

Ditimbang ekstrak etanol daun kemangi sebanyak 25 mg dan dilarutkan dalam 25 ml metanol pa. Dibuat 3 replikasi dengan dipipet masing-masing 0,5 ml, kemudian ditambahkan dengan 3 ml metanol, 0,2 ml Al 10%, 0,2ml kalium asetat 1 M, dan dicukupkan dengan aquadest hingga volume 10 ml. setelah itu didiamkan pada suhu ruang 25-30°C selama 30 menit dan diukur absorbansinya pada spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

4. Validasi Metode Analisis

Data absorbansi larutan standar digunakan untuk validasi metode yaitu dengan membuat kurva kalibrasi larutan standar kuersetin, linieritas, batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ), sedangkan data absorbansi sampel ekstrak dengan 3 kali replikasi digunakan untuk validasi metode berupa penentuan presisi.

Pengolahan dan Analisis Data

Pengolahan data penelitian ini dilakukan secara kuantitatif dengan cara menghitung kadar flavonoid total pada ekstrak etanol daun kemangi. Data yang dikumpulkan berupa data deskriptif berdasarkan nilai kadar flavonoid ekstrak etanol daun kemangidengan menggunakan rumus yaitu $y=bx+a$ Kemudian data diolah dengan perangkat lunak yaitu Microsoft Excel yang selanjutnya dibuat grafik yang menunjukkan hubungan antara nilai absorbansi dengan konsentrasi larutan untuk mendapatkan persamaan regresi linier.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi

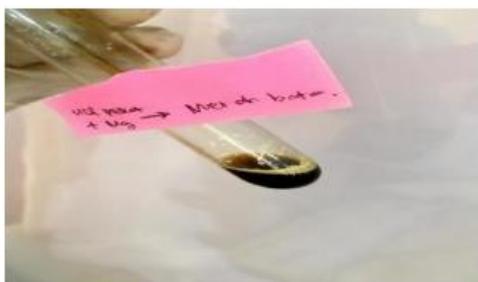
Daun kemangi diolah menjadi serbuk simplisia untuk selanjutnya dimaserasi dengan pelarut etanol 70% yang selanjutnya diuapkan dalam rotary evaporator sehingga didapatkan ekstrak kental daun kemangi. Pelarut etanol dipilih karena bersifat polar sehingga cocok diekstraksi dengan pelarut yang polar seperti air dan etanol. Dari hasil maserasi diperoleh ekstrak kental yang berwarna hijau pekat. Metode maserasi digunakan karena metode ini memiliki cara pengerjaan yang mudah serta peralatan yang digunakan ialah sangat

sederhana (Endarini, 2016). Alasan lain menggunakan metode ini karena adanya senyawa flavonoid pada daun Kemangi yang tidak tahan terhadap pemanasan (Handayani, at all.2016).

Kemudian dilakukan perhitungan rendeman, sehingga diperoleh rata-rata persen rendeman yaitu 4,84%.

Hasil Uji Kualitatif Ekstrak Daun Kemangi

Uji kualitatif dilakukan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun kemangi. Untuk menganalisis senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak etanol daun kemangi dilakukan dengan cara 10 mg ekstrak etanol daun kemangi dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan serbuk Mg dan larutan HCL pekat Hasil yang diperoleh terdapat warna merah bata, dimana menandakan adanya senyawa flavonoid tertera pada gambar 2 (Harbone, 1987).



Gambar 1. Hasil Uji Flavonoid Daun Kemangi

Hasil Analisis Kuantitatif

Analisis kuantitatif dilakukan dengan spektrofotometri UV-Vis dikarenakan flavonoid memiliki sistem aromatik yang terkonjugasi sehingga menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum sinar ultraviolet dan spektrum sinar tampak [9]. Penetapan kadar flavonoid total menggunakan metode Chang. Metode ini dapat digunakan untuk menentukan jumlah flavonoid golongan flavon untuk flavanol. Prinsip dari metode aluminium klorida adalah terjadinya pembentukan kompleks antara 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 flavanol. Senyawa yang digunakan sebagai standar pada penetapan kadar flavonoid ini adalah kuersetin sebagai larutan induk. Pemilihan kuersetin sebagai larutan induk karena kuersetin dapat membentuk kompleks antara

AlCl₃ 10% dengan gugus keto pada aton C-4 dan juga dengan gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavanol.

Hasil Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum larutan standar kuersetin, pada panjang gelombang 400-800 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum larutan kuersetin berada pada panjang gelombang 442 nm. dimana hasil ini sudah sesuai dengan literatur karena panjang gelombang kuersetin mempunyai panjang gelombang maksimum berkisar antara 415-450 nm (Stankovic, 2011).

Hasil Pengukuran Nilai Absorbansi Larutan Standar Kuersetin Pengukuran absorbansi larutan standar kuersetin dibuat 6 seri konsentrasi yaitu 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, 6 ppm, 7 ppm, dan 8 ppm dengan cara masing-masing konsentrasi dipipet 1 ml dan direaksikan dengan 3 ml metanol pa yang berfungsi sebagai pelarut, kemudian ditambahkan 0,2 ml AlCl₃ 10%, 0,2 ml Kalium Asetat 1M, lalu dicukupkan volumenya dengan aquadest sampai tanda batas labu. Kemudian didiamkan selama 30 menit di suhu kamar dimaksudkan agar reaksi berjalan sempurna, sehingga memberikan intensitas warna yang maksimal (Azizah dkk, 2014). Penambahan AlCl₃ bertujuan untuk membentuk kompleks, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah visible (nampak) ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning. Sedangkan penambahan Kalium Asetat untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah visible (tampak) (Chang dkk, 2002). Nilai absorbansi dapat dilihat pada tabel 1.

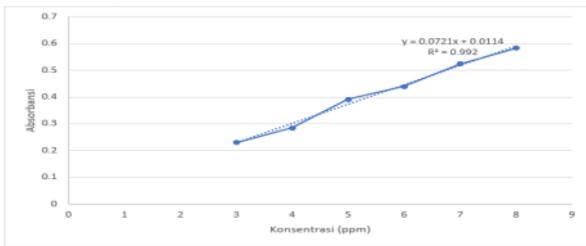
Tabel 1. Absorbansi Larutan Standar Kuersetin

Konsentrasi	Absorbansi
3	0,221
4	0,357
5	0,405
6	0,510
7	0,593
8	0,680

Validasi Metode Analisis Uji Presisi

Berdasarkan hasil pengujian didapatkan pada pengujian presisi menunjukkan nilai RSD (Relative Standar Deviation atau simpangan baku relative) adalah 0,02%. Nilai RSD ini memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan. Menurut Harmita (2004) nilai simpangan baku relatif (RSD) < 2% menunjukkan bahwa parameter presisi memberikan keterulangan yang dapat diterima dengan baik.

Kurva Regresi Linear Kuersetin dan Uji Linearitas



Gambar 2. Kurva Regresi Linear

Berdasarkan hasil pembuatan kurva regresi dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis yang menghubungkan konsentrasi dengan absorbansi, diperoleh persamaan linear $y = 0,0721x + 0,0114$ dengan koefisien korelasi sebesar 0,992. Koefisien korelasi ini memberikan hasil yang linear karena memenuhi kriteria penerimaan yaitu ≥ 0.98 . (Harmita, 2004).

Nilai Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ) Penentuan batas deteksi dan batas kuantitas untuk metode spektrofotometri UV berdasarkan simpangan baku dan kemiringan (slope) kurva kalibrasi. Hasil pengujian batas deteksi untuk metode spektrofotometri terhadap ekstrak etanol daun kemangi menunjukkan nilai limit deteksi sebesar 0,281 ppm. Hasil pengujian batas kuantitas menunjukkan nilai limit kuantitas sebesar 0,937 ppm.

Hasil Kandungan Flavonoid Total Dalam Ekstrak

Replikasi	Abs	Konsentra si sampel ekstrak (ppm)	Kadar flavonoid total dalam sampel (% b/b)	Konsentrasi sampel rata-rata (ppm)	Kadar flavonoid total dalam sampel rata-rata (% b/b)	Standar Deviasi
1	0,366	4,9182	9,8364			
2	0,344	4,6130	9,226	4,7101	9,42025	0,294466
3	0,343	4,5992	9,1984			

Berdasarkan nilai konsentrasi ekstrak terhadap kuersetin maka diperoleh data persentase flavonoid total terhadap berat ekstrak sebesar $9,42025 \pm 0,294466\%$ (b/b). Hal ini berarti tiap 100 gram ekstrak etanol daun kemangi mengandung 9,42025 gram kuersetin. Kandungan flavonoid total dalam tumbuhan dinyatakan dalam QE yaitu jumlah kesetaraan miligram kuersetin dalam 1 gram ekstrak. Dimana kandungan flavonoid total pada ekstrak etanol daun kemangi yaitu 94,2 mg QE/gram ekstrak.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa kadar flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak etanol daun kemangi sebesar sebesar $9,42025 \pm 0,002936\%$ (b/b) atau 94,2 mg QE/gram ekstrak.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih sebesar-besarnya diucapkan kepada Fakultas Farmasi Universitas Mahasaraswati Denpasar yang telah membantu dan mendukung dalam penyusunan artikel ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

Agoes. 2009. *Teknologi Bahan alam Edisi Revisi*, ITB: Bandung.

Arifin, B & Ibrahim, S. 2018. Structure, Bioactivity And Antioxidan Of Flavonoid, *Jurnal Zarah*, 6(1): 21-29.

Azizah, Nur D, Kumulowati, Endang, Faramayuda, Fahrauk. 2014. Penetapan Kadar Flavonoid Metode AlCl3 pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Thepbroma cacao L.*). Kelompok Keahlian Biologi Farmasi. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2 (2): 45-49.

Chang, CC, Yang MH, Wen, HM, Chern, JC. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods, *J Food Drug Analysis*, 10(1): 178- 182.

Endarini, L. H. 2016. Farmakognisi dan Fitokimia. Badan Pengembangan dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan: Jakarta.

Gandjar, I. G. dan Rohman, A. 2012. *Analisis obat secara spektroskopi dan kromatografi*, Pustaka Pelajar: Yogyakarta.

Handayani, dkk . 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath.

- Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1): 262-272.
- Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan, Edisi II*. Penerbit ITB: Bandung.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya, *Majalah Ilmu Kefarmasian*: Jakarta.
- Larasati D A dan Apriliana E. 2016. Efek Potensial Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Sebagai Pemanfaatan Hand Sanitizer, *Majority*, 5: 124- 129.
- Ramasubramania RR, Sathyanathan V, Sekhar R, Roosevelt C. 2012. Standardization and Antibacterial Screening of *Ocimum Basilicum* (Laminaceae) Leaf, Seed, and Stem Extracts Against The Organism of *Propionabacterium Acnes*, *Internasional Journal of Pharmacy and Industrial Research*, 2(4): 440-445.
- Saribu, B. E. D., & Fitri, K. 2017. Formulasi Sediaan Gel Hand Sanitizer Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Dan Biji Pepaya (*Carica papaya* L.), *Jurnal Dunia Farmasi*, 2(1): 50- 58.
- Stankovic. 2011. Total fenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *marrubium peregrinum* L, extract.
- Tian-yang., Wang., Qing Li., Kai-shun Bi. 2018. Bioactive flavonoids In Medicinal Plants: Structure, Activity And Biological Fateasian. *Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 13: 12–23.