

The determination of the total flavonoid content of yellow wood extracts, from Samarkilang, Central Aceh with various concentrations ethanol using visible spectrophotometry method

Penetapan kadar flavonoid total ekstrak kayu kuning dari daerah Samarkilang Aceh Tengah dengan berbagai konsentrasi etanol menggunakan metode spektrofotometri visible

Afrizani¹, Anny Sartika Daulay^{1*}, Ridwanto¹, Fathur Rahman¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara (UMN) Al-Wasliyah, Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

*e-mail author: annysartika@umnaw.ac.id

ABSTRACT

The yellow wood sampled was taken from the Samarkilang area of Central Aceh. The use of yellow wood plants as herbal medicinal ingredients. The chemical compounds contained in Yellow Wood are alkaloids, phenolics, flavonoids, saponins, and tannins. Phenolic compounds and flavonoids have activity as antioxidants. The purpose of this study was to determine the chemical compounds contained in the ethanol extract and to determine the total flavanoid value of the ethanol extract of the yellow wood (*Arcangelisia flava* (L.) Merr). This research method is an experimental method which includes processing plant materials, making 50%, 70%, and 96% ethanol extracts. Examination of characterization, phytochemical screening and determination of total flavonoid content of the ethanol extract of Kayu kuning using the Uv-Vis spectrophotometry method. Yellow wood extract was prepared by maceration method using various ethanol concentrations of 50%, 70% and 96% the extract obtained was concentrated with a rotary evaporator. Furthermore, the determination of total flavonoid levels was carried out using the Uv-Vis spectrophotometry method. The results of the phytochemical screening on the ethanol extract of Kayu kuning contained groups of chemical compounds such as alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, and steroids/triterpenoids. Determination of total flavonoid content was carried out by determining the maximum wavelength of quercetin, operating time, measuring the quercetin calibration curve and calculating total flavonoid content using the Uv-Vis spectrophotometry method. The results of determining total flavanoid levels in ethanol solvent extract with a concentration of 50% $0,96882 \pm 0,2157$ mgQE/g, in ethanol solvent extract with a concentration of 70% was $2,6693 \pm 11,7041$ mgQE/g, and in ethanol solvent extract with a concentration of 96 % is $3,838 \pm 1,3036$ mgQE/g.

Keywords: Yellow wood, Flavonoids, Visible Spectrophotometry

ABSTRAK

Kayu kuning yang dijadikan sampel di ambil didaerah Samarkilang Aceh Tengah. Penggunaan tumbuhan Kayu kuning sebagai ramuan obat jamu. Senyawa kimia yang terkandung dalam Kayu Kuning adalah alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, dan tanin. Senyawa fenolik dan flavonoid mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa kimia yang terdapat didalam ekstrak etanol dan

mengetahui nilai flavanoid total ekstrak etanol kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr). Metode penelitian ini adalah metode eksperimental yang meliputi pengolahan bahan tumbuhan, pembuatan ekstrak etanol konsentrasi 50%, 70%, dan 96%. Pemeriksaan karakterisasi, skrining fitokimia dan penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol Kayu kuning dengan metode Spektrofotometri Visible. Ekstrak kayu kuning dibuat dengan metode maserasi menggunakan berbagai konsentrasi etanol 50%, 70% dan 96% ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Selanjutnya dilakukan penetapan kadar flavonoid total dengan metode Spektrofotometri Visible. Hasil skrining fitokimia pada ekstrak etanol Kayu kuning terdapat kandungan golongan senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid/triterpenoid. Penentuan kadar flavonoid total dilakukan dengan menentukan panjang gelombang maksimum kuersetin, *operating time*, pengukuran kurva kalibrasi kuersetin dan perhitungan kadar flavonoid total dengan menggunakan metode spektrofotometri Visible. Hasil penentuan kadar flavonoid total pada ekstrak pelarut etanol konsentrasi 50% adalah $0,96882 \pm 0,2157$ mgQE/g, ekstrak pelarut etanol konsentrasi 70% adalah $2,6693 \pm 11,7041$ mgQE/g, dan ekstrak pelarut etanol dengan konsentrasi 96% adalah $3,838 \pm 1,3036$ mgQE/g.

Kata kunci: Kayu kuning, Flavonoid, Spektrofotometri Visible.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara tropis yang memiliki kekayaan hayati. Kekayaan flora Indonesia sangat besar, sebagian besar tersebar dan masih tumbuh liar di hutan-hutan dan sebagian kecil telah digunakan sebagai obat tradisional. Obat tradisional semakin banyak diminati oleh para masyarakat karena bahan nabatinya mudah didapat, mudah diracik dan harganya juga sangat terjangkau. Bahan yang digunakan juga harus ditingkatkan mutu dan kualitasnya.

Salah satu tumbuhan yang berkhasiat obat dan paling menarik untuk diteliti adalah Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr). Kayu kuning ini merupakan salah satu tanaman yang secara empiris masyarakat Aceh tengah menggunakannya untuk mengobati segala penyakit seperti antimalaria, penyakit diare, penyakit liver, antimikroba, antioksidan, anti hiperlipidemia, anti kanker dll. Senyawa kimia yang terkandung dalam Kayu Kuning adalah alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, dan tanin. Senyawa fenolik dan flavonoid mempunyai aktivitas sebagai antioksidan (Sari dkk, 2018).

Secara tradisional kayu kuning telah digunakan oleh suku Dayak karena khasiat obatnya, termasuk sebagai antibiotik, analgesik, antipiretik, dan antivirus (Pratama et al., 2018; Pratama, 2017). Tanaman ini mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti glikosida, alkaloid (berberine, jatrorhizine, dan palmatine), flavonoid, saponin, dan triterpenoid (Diliarosta et al., 2021; Fatmawati et al., 2022; Wulansari et al.,

2014). Senyawa ini berkontribusi terhadap aktivitas farmakologisnya, termasuk efek antimikroba, antioksidan, antiinflamasi, dan kardioprotektif (Ginovyan et al., 2017; Ramadani et al., 2018; Ramadhan et al., 2022; subeki et al., 2005). Selain itu, metabolit sekunder tanaman diketahui menunjukkan aktivitas penghambatan xantin oksidase, yang menunjukkan potensinya dalam mengelola kondisi yang berkaitan dengan metabolisme asam urat (Fatmawati et al., 2022).

Produksi metabolit sekunder tanaman, termasuk yang ditemukan di kayu kuning, melibatkan proses glikosilasi yang dikatalisis oleh enzim seperti UDP glikosiltransferase (UGTs) (Guerriero et al., 2018). Selain itu, penggunaan pencahayaan tambahan dengan kualitas cahaya berbeda telah terbukti memengaruhi ekspresi gen enzim yang terlibat dalam jalur metabolisme flavonoid, sehingga berdampak pada kandungan metabolit sekunder tanaman (Wang et al., 2018). Selain itu, bakteri endofit yang berasosiasi dengan kayu kuning telah diidentifikasi sebagai penghasil senyawa bioaktif potensial yang bertanggung jawab atas bioaktivitas tanaman yang diamati (Zhao et al., 2015).

Potensi farmakologis kayu kuning juga didukung oleh kemampuannya menghambat neuraminidase, enzim kunci yang terlibat dalam replikasi virus influenza, sehingga menyoroti relevansinya dalam penelitian antivirus (Pratama, 2017). Selain itu, ekstrak kloroform tanaman menunjukkan hasil yang menjanjikan dalam mengurangi kardiotoksitas akibat doksorubisin,

yang menunjukkan potensi penerapannya dalam rejimen kokemoterapi (Ramadhan et al., 2022).

Senyawa flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan. Flavonoid merupakan salah satu golongan fenolik alam yang telah banyak diteliti belakangan ini, dimana flavonoid memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas. flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, sari, bunga, buah dan biji. Kebanyakan flavonoida ini berada dalam tumbuhan. flavonoid yang terdapat didalam tumbuhan dapat digunakan sebagai pelindung tubuh manusia dari radikal bebas dan dapat mengurangi resiko penyakit kanker dan peradangan serta dapat digunakan sebagai antibakteri dikarenakan kandungan antioksidannya (Dewi dkk, 2019).

Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Sari, dkk (2018) menyatakan bahwa Kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) dengan metode Spektrofotometri Visible terdapat pada sampel ekstrak metanol kayu kuning kadar fenolik total sebesar 6.274 mgGAE/gram ekstrak dan kadar flavonoid total adalah 1,66 mgGAE/gram. Dari hasil tersebut ekstrak metanol kayu kuning dapat dinyatakan positif mengandung flavonoid.

Berdasarkan uraian diatas, belum ada penelitian yang melakukan Penetapan Kadar Flavonoid Total ekstrak Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) didaerah Samarkilang Aceh Tengah sehingga peneliti tertarik melakukan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Kayu Kuning Daerah Samarkilang Aceh Tengah Dengan Berbagai Konsentersasi Etanol Menggunakan Metode Spektrofotometri Visible.

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan dalam penelitian merupakan metode penelitian eksperimental. Rancangan penelitian ini meliputi pengumpulan dan pengolahan sampel, Karakteristik simplisia, Skrining Fitokimia, pembuatan ekstrak etanol Kayu kuning, penetapan kadar flavonoid total ekstrak Kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) dengan berbagai konsentrasi etanol menggunakan metode Spektrofotometri Visible.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Refluks, Azeotrop, Toples kaca, *rotary evaporator*, kapas, Water bath, tisu, botol

berwarna gelap, aluminium foil, timbangan analitik, pipet tetes, gelas ukur, erlenmeyer, seperangkat alat Spektrofotometri Visible, *hot plate*, oven, Tanur, dan peralatan gelas yang umum digunakan di laboratorium.

Bahan

Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian yaitu bahan-bahan kimia dengan E.Merck yaitu: asam asetat anhidridat, asam nitrat, asam sulfat, besi (III) klorida, bismut (III) nitrat, iodium, kalium iodida, aquadest, serbuk magnesium, raksa (II) klorida, alfa-naftthol, timbal (II) asetat, toluene, kloroform, *n*-heksana, asam klorida, kuersetin, natrium hidroksida, aluminium klorida, natrium asetat, etanol 50%, etanol 70%, etanol 96%, aquadest, kuersetin dan Kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr).

Uji Karakteristik Simplisia

Uji karakteristik simplisia meliputi uji makroskopis, uji mikroskopis, penetapan kadar air, penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut etanol, penetapan kadar abu total, penetapan kadar tidak larut asam.

Pembuatan Ekstrak Etanol Kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr)

Pembuatan ekstrak dilakukan secara maserasi dengan cara simplisia Kayu kuning yang telah diserbukkan 500 gram dan pelarut etanol dengan berbagai konsentrasi 96%,70% dan 50% sebanyak 5000 ml. Sebanyak 500 gram serbuk simplisia dimasukkan ke dalam bejana, kemudian dituangi dengan 75 bagian (3750 mL) cairan penyari etanol lalu ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya matahari sambil sering diaduk, kemudian dikerai, peras dicuci ampas dengan cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 100 bagian. Pindahkan kedalam bejana tertutup dibiarkan ditempat sejuk yang terlindung dari cahaya selama 2 hari dienap tuangkan atau disaring. Maserat lalu dipekatkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* dan diperoleh ekstrak kental (Depkes RI, 1979).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia Kayu Kunin (*Arcangelisia flava* (L.) Merr), meliputi pemeriksaan senyawa alkaloida, flavonoida, tanin, saponin, steroida/triterpenoid dan glikosida (*Arcangelisia flava* (L.) Merr).

Pemeriksaan Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak etanol dan serbuk Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L) Merr) masing-masing diukur, kemudian dicampur dengan 1 ml asam klorida dan 9 ml aquadest. Campuran tersebut dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan, dan kemudian disaring. Filtrat hasilnya digunakan dalam percobaan berikut: pertama, 3 tetes filtrat dicampur dengan 2 tetes pereaksi Mayer, dengan reaksi positif ditandai oleh terbentuknya endapan menggumpal berwarna putih atau kuning. Kedua, 3 tetes filtrat dicampur dengan 2 tetes pereaksi Bouchardat, dan reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna coklat sampai hitam. Ketiga, 3 tetes filtrat dicampur dengan 2 tetes pereaksi Dragendorff, dan reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna merah atau jingga. Alkaloid dianggap positif jika terjadi endapan atau kekeruhan pada sedikitnya 2 dari 3 percobaan di atas (Depkes RI, 1995).

Pemeriksaan Flavonoid

Ekstrak etanol dan serbuk Kayu Kuning masing-masing ditimbang sebanyak 10 g kemudian ditambahkan 100 ml air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas, filtrat yang diperoleh kemudian diambil 5 ml lalu ditambahkan 0,1 g serbuk Mg dan 1 ml HCl pekat dan 2 ml amil alkohol, dikocok, dan dibiarkan memisah. Flavonoid positif jika terjadi warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes RI, 1995).

Pemeriksaan Tanin

Ekstrak etanol dan serbuk Kayu Kuning ditimbang 0,5 g sampel disari dengan 10 ml aquadest, lalu filtratnya diencerkan dengan aquadest sampai tidak berwarna. Diambil 2 ml larutan lalu ditambahkan 1 sampai 2 tetes pereaksi besi (III) klorida. Terjadi warna biru atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Depkes RI, 1995).

Pemeriksaan Saponin

Ekstrak etanol dan serbuk Kayu Kuning masing-masing ditimbang sebanyak 0,5 g sampel dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan aquadest panas sebanyak 10 ml, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik, timbul busa yang menetap tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm. Ditambahkan 1 tetes

larutan asam klorida 2 N, bila buih tidak hilang menunjukkan adanya saponin (Depkes RI, 1995).

Pemeriksaan Steroid/Triterpenoid

Ekstrak etanol dan serbuk Kayu Kuning masing-masing ditimbang sebanyak 1 g sampel di maserasi dengan 20 ml *n*-heksana selama 2 jam, lalu disaring. Filtrat diuapkan dalam cawan penguap. Pada sisa ditambahkan 5 tetes asam asetat anhidrat dan 5 tetes asam sulfat pekat. Timbul warna ungu merah menunjukkan adanya triterpenoida atau warna biru kehijauan menunjukkan adanya steroida (Depkes RI, 1995).

Pemeriksaan Glikosida

Ekstrak etanol dan serbuk ampas Kayu Kuning masing-masing ditimbang sebanyak 3 gram, kemudian disari dengan 30 ml campuran 7 ml bagian etanol 96% dan 3 bagian aquadest ditambah dengan 10 ml HCl 2 N. Direfluks selama 30 menit, didinginkan dan disaring. Diambil 20 ml filtrat ditambahkan 25 ml aquadest dan 25 ml timbal (II) asetat 0,4 M, dikocok lalu didiamkan selama 5 menit dan disaring. Filtrat disari dengan 20 ml campuran 3 bagian kloroform dan 2 bagian isopropanol dilakukan berulang sebanyak tiga kali. Kumpulan sari air diuapkan pada temperatur tidak lebih dari 50°C. Sisanya dilarutkan dalam 2 ml metanol. Kemudian diambil 0,1 ml larutan percobaan dimasukkan kedalam tabung reaksi, diuapkan di penangas air. Pada sisa ditambahkan 2 ml air dan 5 tetes pereaksi molish. Kemudian secara perlahan ditambahkan 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung, jika terbentuk cincin ungu pada batas kedua cairan menunjukkan adanya glikosida (Depkes, RI, 1995).

Pembuatan Larutan Kuersetin

Ditimbang 25 mg kuersetin, dilarutkan dalam labu ukur 25 ml ditambah etanol sampai tanda batas kedalam Larutan Induk Baku (C= 1000 µg/ml) LIB I. Lalu dipipet 5 ml dari LIB I dimasukkan kedalam labu ukur 50 ml dicukupkan dengan etanol sampai tanda batas (C= 100 µg/ml) LIB II.

Pembuatan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Dipipet 4 ml dari larutan induk baku II (LIB II) dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml (C= 40 µg/ml), lalu ditambahkan 0,1 ml AlCl₃ 10%, 0,1 ml natrium asetat 1 M, dan ditambahkan 2,8 ml

aquadest, lalu ditambahkan etanol sampai tanda batas, dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit. Diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum 400-800 nm. (Aminah *et al*, 2017).

Penentuan Operating Time

Dipipet 4 ml larutan induk baku II (LIB II) dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml (C= 40 µg/ml), ditambah 0,1 ml AlCl₃ 10%, 0,1 ml natrium asetat 1 M, ditambahkan 2,8 ml aquadest, lalu ditambahkan etanol sampai tanda batas, lalu diukur *operating time* kuersetin.

Pengukuran Kurva Kalibrasi Kuersetin

Dilakukan seri kadar lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml masing-masing dipipet 2 ml, 4 ml, 6 ml, 8 ml, 10 ml dari LIB II dengan konsentrasi 20 µg/ml, 40 µg/ml, 60 µg/ml, 80 µg/ml, dan 100 µg/ml lalu ditambahkan etanol sampai tanda batas. Dipipet sebanyak 1 ml dari masing-masing labu ukur dengan berbagai konsentrasi tersebut dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml kemudian ditambahkan 1,5 ml etanol, 0,1 ml aluminium klorida 10%, 0,1 ml natrium asetat 1 M, dan ditambahkan 2,8 ml aquadest, ditambahkan etanol sampai tanda batas, dihomogenkan dan didiamkan selama 6-9 menit lalu diukur serapannya (Aminah *et al*, 2017).

Penetapan Kadar Flavonoid Total dari Ekstrak Etanol Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr).

Ekstrak etanol Kayu kuning) ditimbang sebanyak 25 mg dimasukkan kedalam labu ukur 25 ml ditambah etanol sampai tanda batas (C= 1000 µg/ml), lalu dipipet 1 ml dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml kemudian ditambahkan dengan 1,5 ml etanol, 0,1 ml aluminium klorida 10%, 0,1 ml natrium asetat 1 M, ditambahkan 2,8 ml aquadest, lalu dicukupkan dengan etanol sampai tanda batas, dihomogenkan dan didiamkan selama 6-9 menit lalu diukur serapannya. Sampel dibuat dalam enam replikasi untuk setiap analisis dan diperoleh nilai rata-rata absorbansi (Aminah *et al*, 2017). Diulangi prosedur yang sama untuk konsentrasi etanol 80%, etanol 90%.

Perhitungan Kadar Flavonoid

Kadar total flavonoid ekstrak etanol Kayu Kuning dapat dihitung dengan mendistribusikan nilai absorbansi sampel kedalam persamaan garis

regresi linear yang didapat pada kurva kalibrasi untuk mendapatkan konsentrasinya. Nilai absorbansi sampel yang didapat kemudian didistribusikan lagi kedalam rumus perhitungan sebagai berikut (Geissman, 1962):

Note: Diulangi prosedur yang sama untuk konsentrasi etanol 80%, etanol 90%.

$$\text{Kadar } (\mu\text{g/g}) = \frac{C \times V \times F_p}{W}$$

Keterangan :

C = Konsentrasi senyawa dalam larutan sampel (µg/ml)

V = Volume larutan sampel (ml)

F_p = Faktor pengenceran

W = Berat sampel (g)

Analisa Data

Data yang akan diperoleh adalah hasil dari kadar flavonoid ekstrak Kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) dengan berbagai konsentrasi etanol dengan menggunakan metode Spektrofotometri Visible.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa serbuk simplisia Kayu kuning memenuhi persyaratan berdasarkan MMI edisi V (1989). Hasil pemeriksaan karakteristik serbuk simplisia Kayu kuning dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Karakteristik Serbuk Simplisia Kayu kuning.

Pengujian	Hasil Rata-Rata	MMI
Kadar air	5,3%	< 10%
Kadar sari larut dalam air	2%	< 2%
Kadar sari larut dalam etanol	2%	< 2%
Kadar abu total	1%	< 1,5%
Kadar abu tidak larut asam	1%	< 0,5%

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada serbuk simplisia dan ekstrak etanol Kayu kuning positif mengandung alkaloid, glikosida, flavonoid, tanin, saponin, steroid/terpenoid. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol Kayu kuning menunjukkan adanya senyawa kimia alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid/triterpenoid. Pada uji alkaloid,

penambahan asam klorida bertujuan untuk mengekstrak alkaloid yang bersifat basa dengan menggunakan larutan asam (Fransworth, 1996). Setelah dilakukan uji dengan penambahan pereaksi dragendorff akan menghasilkan endapan berwarna kemerahan hingga jingga, pereaksi mayer akan menghasilkan endapan berwarna putih kekuningan, sedangkan pereaksi bouchardat akan menghasilkan endapan coklat. Menurut Ditjen POM (1995) alkaloid positif jika terjadi perubahan berupa kekeruhan atau endapan paling sedikit 2 dari 3 percobaan.

Hasil skrining ekstrak etanol Kayu kuning terbentuk endapan kemerahan pada penambahan pereaksi dragendorff, terbentuk endapan putih kekuningan pada pereaksi mayer dan terbentuk endapan coklat pada penambahan pereaksi bouchardat. Sehingga dapat disimpulkan ekstrak etanol Kayu kuning mengandung alkaloid (+). Pada uji flavonoid ekstrak etanol Kayu kuning diperoleh hasil yang positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna jingga.

Hasil positif kandungan saponin dalam ekstrak etanol Kayu kuning ditunjukkan dengan terbentuknya busa dan dapat bertahan tidak kurang dari 10 menit serta tidak hilang setelah penambahan HCl. Saponin memiliki glikosil sebagai gugus polar serta gugus steroid atau triterpenoid sebagai gugus nonpolar sehingga bersifat aktif pada permukaan dan membentuk misel saat dikocok dengan air. Pada struktur misel gugus polar menghadap keluar sedangkan gugus nonpolar menghadap ke dalam, keadaan inilah yang tampak seperti busa (Sahidin, 2012)

Hasil positif kandungan steroid dalam ekstrak etanol Kayu kuning ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau. Terdapatnya Glikosida ditunjukkan dengan terbentuknya cincin ungu pada batas cairan setelah penambahan asam sulfat pekat pada tabung (Depkes, 1995). Menurut (Sahidin, 2012) prinsip ini berdasarkan pada kemampuan senyawa triterpenoid/steroid membentuk jika direaksikan dengan asam sulfat pekat dalam pelarut asam asetat anhidrat (pereaksi Liebermann-buchard).

Pada uji tanin ekstrak etanol diperoleh hasil yang positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman. Pada skrining tanin digunakan larutan $FeCl_3$ 1%, perubahan warna yang terjadi disebabkan oleh reaksi penambahan $FeCl_3$ 1% dengan salah satu gugus hidroksil yang terdapat dalam senyawa tanin. Terbentuknya

warna hijau kehitaman setelah penambahan $FeCl_3$ 1% menunjukkan adanya tanin yang terkondensasi dan membentuk senyawa kompleks dengan $FeCl_3$ 1% (Sahidin, 2012). Golongan senyawa kimia yang terdapat dalam Kayu kuning yang diduga sangat berpotensi sebagai antioksidan yaitu flavonoid dan tanin (Robinson, 1995). **Tabel 2.**

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan menggunakan pelarut etanol konsentrasi 50%, 70% dan 96%. Etanol merupakan pelarut yang netral terhadap senyawa yang terkandung dalam simplisia dan mampu mencegah tumbuhnya jamur dan bakteri (Ansel, 1989). Maserasi merupakan metode ekstraksi sederhana karena pengerjaannya yang relatif mudah dan sering digunakan dalam proses penyarian untuk senyawa yang tidak tahan terhadap panas (Tiwari *et al*, 2011). Prinsip kerja maserasi adalah pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif tersebut akan larut ke dalam pelarut, adanya perbedaan konsentrasi zat aktif di dalam sel menyebabkan konsentrasi terpekat akan tertarik keluar (Tiwari *et al*, 2011).

Tabel 2. Hasil Skirining Fitokimia Serbuk Simplisia dan Ekstrak Kayu kuning (*Ageratum conyzoides* L).

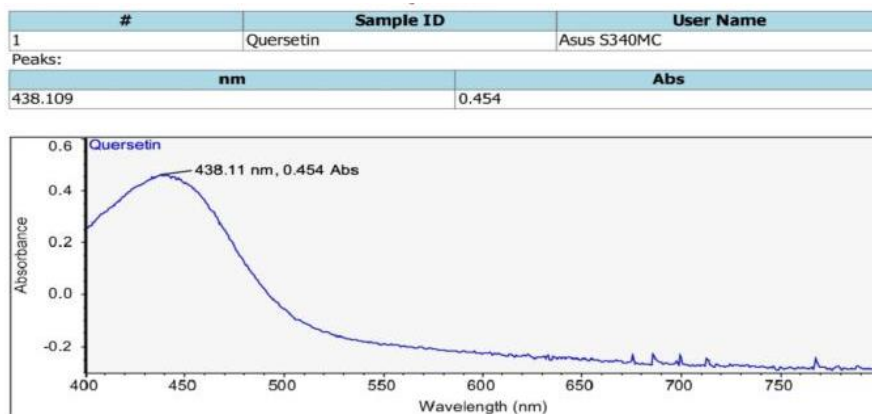
NO	Pemeriksaan	Serbuk Simplisia	Ekstrak
1	Alkaloid	+	+
2	Glikosida	+	+
3	Flavonoid	+	+
4	Tannin	+	+
5	Saponin	+	+
6	Steroid/terpenoid	+	+

Hasil maserat yang diperoleh dengan pelarut etanol konsentrasi 50% sebanyak 4109 mL, 70% sebanyak 4450 mL dan 96% sebanyak 4040 mL diupayakan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 51 °C, Syarat standar suhu etanol 78°C, tidak menggunakan syarat standar suhu etanol dikarenakan dapat merusak senyawa yang terkandung di dalam sampel. Kemudian diupayakan di atas Water bath dengan suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental berwarna kuning kehitaman selama ± seminggu. Hasil ekstrak kental etanol 50% diperoleh sebanyak 40,116g dengan hasil rendemen 8,0241%, ekstrak kental etanol 70% diperoleh sebanyak 62,255g dengan

hasil rendemen 12,451%, dan ekstrak kental etanol 96%. diperoleh sebanyak 51,617g dengan hasil rendemen 10,3234%.

Hasil pengukuran diperoleh panjang gelombang maksimum larutan kuersetin yaitu 438 nm dengan absorbansi 0,454 yang selanjutnya digunakan untuk mengukur absorbansi dari deret baku larutan kuersetin dan juga sampel. Untuk dapat dibaca serapannya pada daerah panjang gelombang sinar tampak, maka flavonoid harus direaksikan dengan reagen pembentuk warna yaitu $AlCl_3$. Dalam penambahan $AlCl_3$ membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus ortohidroksil pada cincin A- atau B- dari senyawa-senyawa Flavonoid. Quersetin dipilih sebagai larutan pembanding karena merupakan salah satu senyawa golongan flavonoid yang dapat bereaksi dengan $AlCl_3$ (Chang, 2002). Panjang gelombang

yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal karena memiliki kepekaanya yang maksimal, perubahan absorbansi untuk setiap konsentrasi paling besar tahap ini bertujuan untuk meminimalkan terjadi kesalahan pembaca serapan. Pengujian flavonoid diawali dengan pengukuran panjang gelombang maksimum dari larutan kuersetin dengan konsentrasi 40 $\mu g/ml$ dalam metanol dengan metode spektrofotometri sinar tampak sehingga diperoleh panjang gelombang 438,11 nm dengan absorbansi 0,454. Menurut Underwood (1986) warna komplementer untuk pengujian flavonoid yaitu berwarna kuning dan sesuai dengan rentang panjang gelombang yaitu 435-480 nm. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum ditampilkan pada gambar 1.



Gambar 1: Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin.

Operating Time memiliki tujuan untuk mengetahui waktu pengukuran suatu senyawa yang diperoleh saat absorbansi paling stabil. Operating time dilakukan dengan mengukur antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan. Penetapan operating time perlu dilakukan untuk meminimalkan terjadinya kesalahan pengukuran. Hal ini disebabkan karena senyawa senyawa yang akan diukur absorbansinya dalam penelitian ini merupakan suatu senyawa kompleks antara kuersetin. Senyawa kompleks ini membutuhkan waktu agar reaksi yang terbentuk stabil. Bila pengukuran dilakukan sebelum waktu operating time, maka terdapat kemungkinan reaksi yang terbentuk belum sempurna.

Warna dari larutan kuersetin perlu dicari waktu kerjanya yang tepat untuk melakukan

pengukuran karena besarnya absorbansi pada spektrofotometri sinar tampak sangat dipengaruhi oleh warna. Penentuan waktu kerja dilakukan dengan menggunakan larutan kuersetin konsentrasi 40 $\mu g/ml$ yang diukur pada panjang gelombang 438 nm. Dari pengukuran *operating time* diperoleh waktu pengukuran yang stabil dimulai dari menit ke-5 sampai menit ke-9. Hasil pengukuran operating time yang diperoleh.

Pengukuran kurva kalibrasi dilakukan dengan konsentrasi larutan yang berbeda yang dipipet dari larutan kuersetin konsentrasi 100 $\mu g/ml$ sehingga diperoleh konsentrasi 2 $\mu g/ml$, 3 $\mu g/ml$, 4 $\mu g/ml$, 5 $\mu g/ml$ dan 6 $\mu g/ml$. Dimasukan kedalam labu terukur 10 ml tambahkan metanol sampai tanda batas. Kemudian pipet 1 ml dari masing-masing konsentrasi tersebut masukan

kedalam labu terukur 10 ml, lalu tambahkan 0,1 ml AlCl_3 10%, 0,1 ml natrium asetat, serta ditambahkan 2,8 ml aquades tambahkan metanol sampai tanda batas. Kemudian didiamkan selama 9 menit dan diukur pada panjang gelombang 442,46 nm. Dari hasil pengukuran diperoleh absorbansi masing-masing larutan baku yang kemudian dikonversi menjadi persamaan regresi linear.

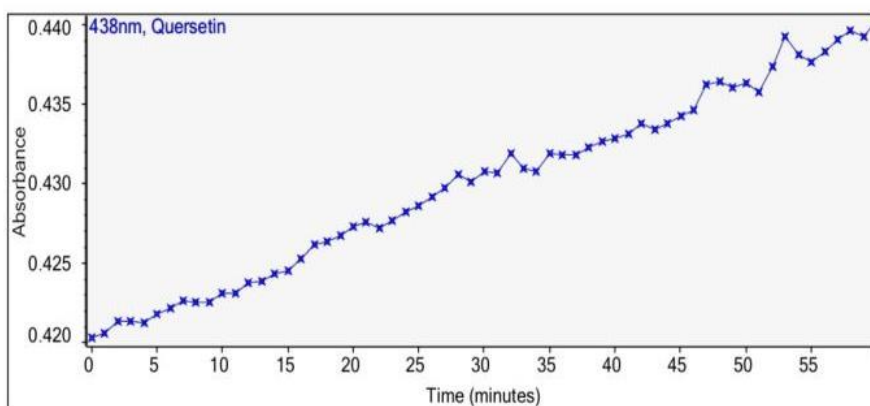
Tabel 3. Nilai Absorbansi Larutan Baku kuersetin.

NO	Konsentrasi (mcg/mL)	Absorbansi
1	0	0,000
2	2	0,277
3	3	0,378
4	4	0,480
5	5	0,625

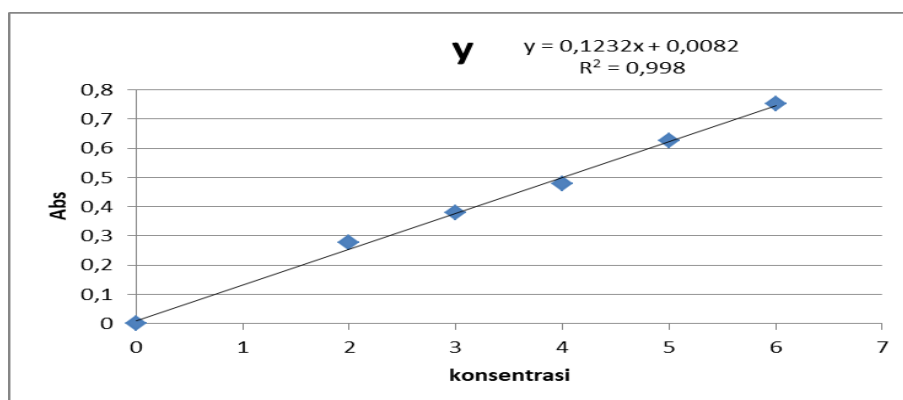
6	6	0,753
---	---	-------

Persamaan regresi yang diperoleh dari larutan baku kuersetin yaitu $y = 0,1232x + 0,0082$. Dengan koefisien korelasi yang diperoleh sebesar 0,998. Nilai linieritas menunjukkan korelasi antara konsentrasi dan absorbansi yang dihasilkan. Dapat dilihat pada gambar 3

Analisis kadar flavonoid menggunakan metode spektrofotometri. Spektrofotometri Visible merupakan analisis yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dengan panjang gelombang (λ) 190-380 nm dan sinar tampak pada panjang gelombang (λ) 380-780 nm. Prinsip kerja Spektrofotometri Visible yaitu adanya interaksi antara materi dengan cahaya yang memiliki panjang gelombang tertentu (Hardjono, 1991).



Gambar 2: Operating Time



Gambar 3: Kurva Kalibrasi Kuersetin

Prinsip penetapan flavonoid dengan metode spektrofotometri direaksikan dengan reagen $AlCl_3$ adalah pembentukan kompleks antara $AlCl_3$ dengan gugus keto pada atom C-4 dan juga dengan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-4 yang bertetangga dari flavon dan flavonol. Dalam penambahannya, alumunium klorida membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus orthohidroksil pada cincin A- atau B- dari senyawa-senyawa flavonoid. Pada sampel yang diuji menunjukkan perubahan warna menjadi kuning. Hal ini menunjukkan uji positif adanya senyawa flavonoid dalam sampel. Suatu sampel yang mengandung flavonoid, bila direaksikan dengan $AlCl_3$ akan terbentuk warna kuning, hal ini terjadi karena terbentuknya senyawa kompleks antara flavonoid dengan $AlCl_3$ (Harborne, 1987).

Senyawa yang digunakan sebagai standar pada penetapan kadar flavonoid ini adalah kuersetin. Pemilihan kuersetin sebagai larutan standar karena kuersetin merupakan senyawa yang paling luas penyebarannya yang terdapat pada tumbuhan. Kuersetin dan glikosidanya berada dalam jumlah sekitar 60-75% dari flavonoid. Kuersetin juga merupakan salah satu senyawa golongan flavonoid yang dapat bereaksi dengan $AlCl_3$ membentuk kompleks (Kelly, 2011).

Pada pengukuran senyawa flavonoid total, larutan sampel ditambahkan $AlCl_3$ yang dapat membentuk warna kompleks, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah visible (tampak) yang ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning. Penambahan kalium asetat bertujuan untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah visible (tampak) (Chang *et al*, 2002).

Penetapan kadar flavonoid total dihitung dengan menggunakan persamaan garis regresi linier $y = ax + b$ yang diperoleh dari kurva kalibrasi kuersetin sehingga diperoleh konsentrasinya (x). nilai x kemudian disubstitusikan dalam rumus perhitungan kadar flavonoid total. Penetapan kadar flavonoid total dilakukan dengan pengulangan sebanyak 6 kali dan diambil rata-ratanya seperti yang disajikan dalam tabel 4 :

Dapat dilihat bahwa hasil penelitian ekstrak etanol Kayu kuning konsentrasi 50%, 70% dan 96% positif mengandung flavonoid. Hal ini dibuktikan dengan hasil analisa dengan metode spektrofotometri sinar tampak dengan 6 kali replikasi pada setiap konsentrasi ekstrak etanol 50%, 70% dan 96%. Dari hasil penelitian

menunjukkan bahwa nilai rata-rata kadar sebenar flavonoid total dalam sampel ekstrak etanol kosentrasi 50% adalah $0,96882 \pm 0,2157$ mgQE/g Ekstrak, kadar ekstrak etanol kosentrasi 70%) adalah $2,6693 \pm 11,7041$ mgQE/g Ekstrak, dan kadar ekstrak etanol Kayu kuning kosentrasi 96% adalah $3,838 \pm 1,3036$ mgQE/g Ekstrak.

Tabel 4 Nilai rata-rata kadar sebenarnya flavonoid total ekstrak etanol kayu kuning.

NO	Konsentrasi	Kadar sebenarnya
1.	Ekstrak konsentrasi 50%	$0,96882 \pm 0,2157$ mgQE/g Ekstrak
2.	Ekstrak konsentrasi 70%	$2,6693 \pm 11,7041$ mgQE/g Ekstrak
3.	Ekstrak konsentrasi 96%	$3,838 \pm 1,3036$ mgQE/g Ekstrak

Kadar flavonoid total tertinggi dalam penelitian ini terdapat dalam ekstrak etanol 96% Kayu kuning. Hal ini diduga dipengaruhi oleh kepolaran pelarut yang dapat dikaitkan dengan penelitian yang menyatakan bahwa kandungan flavonoid tertinggi ada pada pelarut dengan kepolaran sedang etanol 70% merupakan pelarut yang lebih polar dari etanol 96% dan lebih non polar dari etanol 50%. Perbedaan konsentrasi pelarut etanol berpengaruh terhadap tingkat polaritas suatu pelarut. Polaritas etanol semakin meningkat seiring dengan penurunan konsentrasinya dalam air (Pramudita, 2020).

KESIMPULAN

Hasil skrining Kayu kuning ((*Arcangelisia flava* (L) Merr) fitokimia ekstrak etanol mengandung senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid/triterpenoid dan glikosida. Kadar flavonoid yang terdapat pada ekstrak etanol kosentrasi 50% Kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L) Merr) sebesar $0,96882 \pm 0,2157$ mgQE/g, kadar ekstrak etanol kosentrasi 70% Kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L) Merr) sebesar $2,6693 \pm 11,7041$ mgQE/g, dan kadar ekstrak etanol Kayu kuning (*Arcangelisia flava* (L) Merr) kosentrasi 96% sebesar $3,838 \pm 1,3036$ mgQE/g.

REFERENSI

Aminah., Tomahayu & Abidin, Z. (2017). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea*

- Americana Mill) Dengan Metode Spektrofotometri Visible. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. Vol 4, No.2 .
- Day. R. A., Underwood. A. L. (1999). *Analisa Kimia Kuantitatif*. Edisi keempat. Erlangga: Jakarta.
- Depkes RI. (1979). *Farmakope Edisi III*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal: 31, 330, 763, 766, 649, 659.
- Depkes RI. (1995). *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal.672-1033.
- Dewi, W, F., Mahrunisa., Dhea Febrina Kipli. 2019. Skrining Fitokimia dan penetapan kandungan senyawa flavonoid ekstrak etanol kulit buah Jeruk Gerga dengan metode Spektrofotometri Visible. *Jurnal Ilmiah Farmacy*. Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu. Vol,6 No.2.
- Diliarosta, S., Efendi, A., Dillasamola, D., Oktomalioputri, B., & Ramadhani, R. (2021). Reconstruction and scientific explanation of akar kuning (*arcangelisia flava merr.*) from west sumatra as ethnomedicine and source of science learning. *Pharmacognosy Journal*, 13(1), 206-211. <https://doi.org/10.5530/pj.2021.13.29>
- Ditjen POM. (1979). *Materi Medika Indonesia Jilid III*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Hal. 155-161.
- Ginovyan, M., Petrosyan, M., & Trchounian, A. (2017). Antimicrobial activity of some plant materials used in armenian traditional medicine. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1573-y>
- Guerriero, G., Berni, R., Muñoz-Sánchez, J., Apone, F., Abdel-Salam, E., Qahtan, A., ... & Hernández-Sotomayor, S. (2018). Production of plant secondary metabolites: examples, tips and suggestions for biotechnologists. *Genes*, 9(6), 309. <https://doi.org/10.3390/genes9060309>
- Harborne, J., B. 1987. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan Terbitan Kedua. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. ITB: Bandung.
- Kemenkes RI. (2020). *Materia Medika Indonesia*. Jilid IV. 177-180. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hal: 48.
- Sahidin, I. (2012). *Mengenal Senyawa Alami Pembentukan dan Pengelompokan Secara Kimia*. Kendari: Unhalu Press.
- Pramudita, Riwanti, Farizah Izazih, Amaliyah. 2020. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50,70 dan 96% *Sargassum polycystum* dari Madura. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 02: 82-95.
- Pratama, M. (2017). Akar kuning (*arcangelisia flava*) as neuraminidase inhibitor: molecular docking and pharmacophore optimization approach. <https://doi.org/10.2991/smichs-17.2017.63>
- Pratama, M., Suratno, S., & Mulyani, E. (2018). Profile of thin-layer chromatography and uv-vis spectrophotometry of akar kuning stem extract (*arcangelisia flava*). *Borneo Journal of Pharmacy*, 1(2), 72-76. <https://doi.org/10.33084/bjop.v1i2.367>
- Ramadani, A., Paloque, L., Belda, H., Tamhid, H., Jumina, J., Augereau, J., ... & Benoit-Vical, F. (2018). Antiprotozoal properties of indonesian medicinal plant extracts. *Journal of Herbal Medicine*, 11, 46-52. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2017.06.004>
- Ramadhan, A., Baroroh, R., Maharany, D., Ulfa, E., & Puspitasari, E. (2022). Cardioprotective effect of chloroform extract of *arcangelisia flava* on doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Jurnal Ilmu Dasar*, 23(1), 43. <https://doi.org/10.19184/jid.v23i1.23012>
- Sahidin, I. (2012). *Mengenal Senyawa Alami Pembentukan dan Pengelompokan Secara Kimia*. Kendari: Unhalu Press.
- Sari, A, K., Riza, A., Siska, M., Prasdianto., Renny. 2018. Penetapan Kadar Fenolik Dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Kayu Kuning (*Arcangelisia flava Merr*) Dengan Metode Spektrofotometri Visible. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. *Akademik Farmasi ISFI Banjarmasin*. Vol 1. No (2).
- Subandrate, S., Athiah, M., Romadhon, M., & Tariza, N. (2022). Xanthine oxidase inhibitory activity of *arcangelisia flava*. *Acta Biochimica Indonesiana*, 5(1), 71. <https://doi.org/10.32889/actabioina.71>

- subeki, s., Matsuura, H., Takahashi, K., Yamasaki, M., Yamato, O., Maede, Y., ... & Yoshihara, T. (2005). Antibabesial activity of protoberberine alkaloids and 20-hydroxyecdysone from *arcangelisia flava* against *babesia gibsoni* in culture. *Journal of Veterinary Medical Science*, 67(2), 223-227. <https://doi.org/10.1292/jvms.67.223>
- Wang, W., Su, M., Li, H., Zeng, B., Chang, Q., & Zhang, L. (2018). Effects of supplemental lighting with different light qualities on growth and secondary metabolite content of *ofanoectochilus roxburghii*. *Peerj*, 6, e5274. <https://doi.org/10.7717/peerj.5274>
- Wulansari, D., Jamal, Y., & Agusta, A. (2014). Pachybasin, a major metabolite from culture broth of endophytic coelomyceteous afkr-18 fungus isolated from a yellow moonseed plant, *arcangelisia flava* (L.) Merr. *Hayati Journal of Biosciences*, 21(2), 95-100. <https://doi.org/10.4308/hjb.21.2.95>
- Zhao, L., Xu, Y., Lai, X., Shan, C., Deng, Z., & Ji, Y. (2015). Screening and characterization of endophytic *Bacillus* and *Paenibacillus* strains from medicinal plant *Lonicera japonica* for use as potential plant growth promoters. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46(4), 977-989. <https://doi.org/10.1590/s1517-838246420140024>.