

Kadar Fenolik Dan Flavonoid Total Dalam Ekstrak Metanol Daun Cemba (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle)

Andi Amaliah Dahlia, Nur Qadri Amima, Aulya Rachma Arum, Rezki Amriati Syarif, Aktsar Roskiana Ahmad*

Laboratorium Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Indonesia

Article info	Abstract
<p>History Submission: 21-10-2021 Review: 18-11-2021 Accepted: 16-01-2022</p> <p>*Email: aktsar.roskiana@umi.ac.id</p> <p>DOI: 10.33096/jffi.v9i1.786</p> <p>Keywords: <i>Acacia rugata</i>; Cemba; Phenolic; Flavonoid</p>	<p><i>This study aims to determine and compare the phenolic and flavonoid content of methanol extract in Acacia rugata (Lam.) Fawc. Rendle leaves using UV-Vis spectrophotometer and TLC-densitometry. The Acacia rugata (Lam.) Fawc. Rendle extracted by using maceration applied sonicator. The quantitative analysis measured by UV-Vis spectrophotometer at wavelength 430 nm. The TLC-densitometry performed at wavelength of 254 nm and quercetin was as a standard. The results showed that the phenolic total showed 0.506 gGAE/g extract and 0.879 gGAE/g extract. The flavonoid total showed 0.44 gQE/g extract and 0.73 gQE/mg extract respectively.</i></p>

I. Pendahuluan

Cemba (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) merupakan tumbuhan endemik di Enrekang, Sulawesi Selatan. Daun cemba telah digunakan sebagai bumbu dalam kuliner lokal. Masyarakat setempat percaya bahwa penambahan daun cemba dalam makanan tidak hanya menambah rasa tetapi juga mendapatkan makanan yang sehat. Ekstrak daun cemba telah dilaporkan memiliki aktivitas hipoglikemik (Maulana, Suryani and Mu'nisa, 2017). Mendukung aktivitas tersebut, daun cemba telah dilaporkan mengandung senyawa kimia antara lain minyak atsiri, flavonoid, saponin, terpenoid, alkaloid, fenol, antrakuinon, asam fenolat, flavonoid, lignin dan tannin (Ahmad, Dahlia and Kosman, 2014; Ahmad, Elya and Mun'im, 2017). Dari kandungan kimia yang telah diketahui, daun cemba menjanjikan berpotensi sebagai obat herbal baru.

Selain itu, daun cemba (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) juga telah dilaporkan sebagai antioksidan yang terkait dengan adanya senyawa fenolik dan flavonoid. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar senyawa kimia fenolik dan flavonoid total daun cemba dengan menggunakan metode KLT-densitometer dan spektrofotometer.

II. Metode Penelitian

Bahan tanaman daun cemba dikumpulkan dari kabupaten Enrekang. Sampel diujikan di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia.

II.1 Ekstraksi Sampel

Daun kering daun cemba dikeringkan dan digiling. Kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Ekstrak metanol daun cemba, diukur kadar fenol dan flavonoid total dengan menggunakan metode kualitatif dan kuantitatif.

II.2 Uji Kuantitatif Kadar Fenolik Total dengan Metode Spektrofotometer UV-Vis dan KLT-Densitometer

II.2.1 Penetapan Kadar Fenolik Total Dengan Spektrofotometer UV-Vis

II.2.1.1 Pembuatan Larutan Induk Asam Galat

Ditimbang 10 mg asam galat dilarutkan dalam 10 mL aquabidestillata. Ditimbang 3,5 g Na₂CO₃ kemudian dilarutkan dengan aquabidestillata hingga 50 mL (Ahmad, Juwita and Ratulangi, 2015).

II.2.1.2 Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat

Dari larutan induk asam galat dipipet sebanyak 2,5 mL diencerkan dengan metanol p.a hingga volume 25 mL hingga dihasilkan konsentrasi 100 ppm. Dari larutan tersebut dipipet 2,3,4,5,6 mL dan dicukupkan dengan aquabidestillata hingga 10 mL, sehingga dihasilkan konsentrasi 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm. Kemudian dari masing-masing konsentrasi dipipet 1 mL.

Dari masing-masing konsentrasi 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm ditambahkan 0,4 mL reagen *Folin Ciocalteu* dikocok dan dibiarkan 4-8 menit, ditambahkan 4 mL larutan Na₂CO₃ 3,5% kocok hingga homogen. Ditambahkan aquabidestillata hingga 10 mL dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruangan. Diukur absorbansi pada panjang



gelombang maksimum, dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat ($\mu\text{g/ml}$) (Wahdaningsih *et al.*, 2017).

II.2.1.3 Penetapan Fenolik Total Ekstrak Daun Cemba (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle)

Ditimbang 10 mg ekstrak daun cemba kemudian dilarutkan dengan aquabidestillata 10 mL. Dipipet 1 mL larutan ekstrak daun cemba, kemudian ditambahkan dengan 0,4 mL reagen *Folin Ciocalteu* dikocok dan dibiarkan 4-8 menit, ditambahkan 4 mL larutan Na_2CO_3 3,5% kocok hingga homogen. Ditambahkan aquabidestillata hingga 10 mL dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruangan. Diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum. Lakukan 3 kali pengulangan sehingga kadar fenol yang diperoleh hasilnya sebagai g ekuivalen asam galat/g ekstrak (Syarif, Sari and Ahmad, 2015; Wahdaningsih *et al.*, 2017).

II.2.2 Penetapan Kadar Fenolik Total Dengan KLT- Densitometri

II.2.2.1 Pembuatan Larutan Stok

Asam galat baku ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan 10 mL metanol p.a dalam labu takar 10 mL hingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm (Gandjar and Rohman, 2009; Ahmad, Juwita and Ratulangi, 2015).

II.2.2.2 Pembuatan Larutan Ekstrak Daun Cemba (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle)

Ekstrak daun cemba (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) dibuat dengan cara menimbang masing- masing 10 mg ekstrak sampel kemudian dilarutkan dengan 10 mL metanol p.a. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali (Gandjar and Rohman, 2009).

II.2.2.3 Pengukuran pada KLT- Densitometer

Disiapkan lempeng KLT dengan ukuran 10 x 10 cm, dengan tepi atas ditandai 0,5 cm dan tepi bawah ditandai 1,5 cm. Dari larutan baku yang telah dibuat, ditotolkan dengan menggunakan mikropipet sebanyak 1 μl , 1,5 μl , 2 μl , 2,5 μl , 3 μl , kemudian masing- masing ekstrak dari daun cemba (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) yang telah dilarutkan dengan metanol p.a ditotolkan dengan menggunakan mikropipet sebanyak 2 μl pada lempeng KLT yang sama dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Lempeng di elusi dalam chamber dengan eluen kloroform : metanol (2 : 8). Noda yang terpisah diamati dengan lampu UV 254 nm dan 366 nm dan diukur dengan KLT- Densitometri pada panjang gelombang 254 nm dan dilakukan analisis terhadap hasil scan (Malik, Kurniawan and Najib, 2014).

II.3. Uji Kuantitatif Kadar Flavonoid Total dengan Metode Spektrofotometer UV-Vis dan KLT- Densitometer

II.3.1 Penetapan Kadar Flavonoid Total dengan Spektrofotometer UV-Vis

II.3.1.1 Pembuatan Larutan Kalium Asetat 1 M dan Larutan Aluminium Klorida 10 %

Kalium asetat ditimbang sebanyak 1 gram kemudian dilarutkan dengan aquabidestillata hingga 10 mL. Aluminium klorida ditimbang sebanyak 1 gram kemudian dilarutkan dengan aquabidestillata hingga 10 mL (Suradji, Najib and Ahmad, 2016).

II.3.1.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan *merunning* larutan standar kuersetin pada panjang gelombang 400-800 nm. Panjang gelombang maksimum tersebut digunakan untuk mengukur serapan maksimal dari sampel ekstrak metanol daun cemba (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) dan diperoleh panjang gelombang maksimum 430 nm (Ahmad, Juwita and Ratulangi, 2015).

II.3.1.3 Pembuatan Larutan Standar Kuersetin

Baku standar kuersetin ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam 100 mL metanol p.a dan diperoleh larutan standar kuersetin 100 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian dibuat beberapa seri konsentrasi yaitu 30 $\mu\text{g/mL}$, 35 $\mu\text{g/mL}$, 40 $\mu\text{g/mL}$, 45 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$, 55 $\mu\text{g/mL}$, 60 $\mu\text{g/mL}$. Dari masing-masing konsentrasi tersebut ditambahkan 3 mL metanol p.a, 0,2 mL AlCl_3 10%, 0,2 mL kalium asetat 1 M dan dicukupkan dengan aquabidestillata sampai 10 mL. Setelah itu disimpan selama 30 menit pada suhu ruangan dan diukur absorbansinya pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 430 nm.

II.3.1.4 Penetapan Kadar Flavonoid Total

Ekstrak metanol daun cemba ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam 10 mL metanol p.a. Dari larutan tersebut dipipet 1 mL kemudian ditambahkan 3 mL metanol p.a, 0,2 mL AlCl_3 10%, 0,2 mL kalium asetat 1 M dan dicukupkan dengan aquabidestillata sampai 10 mL. Kemudian disimpan selama 30 menit pada suhu ruangan dan diukur absorbansinya pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 430 nm. Larutan sampel dibuat dalam tiga replikasi (Ahmad, Juwita and Ratulangi, 2015; Yulianti R, Dahlia and Ahmad, 2016; Hamidu, Ahmad and Najib, 2018).

II.3.2 Penetapan Kadar Flavonoid Total dengan KLT-Densitometer

II.3.2.1 Pembuatan Larutan Standar Kuersetin

Baku standar kuersetin ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam 10 mL metanol p.a. Kemudian dipipet sebanyak 2,5 mL dan dicukupkan dengan metanol p.a hingga 5 mL sehingga diperoleh konsentrasi 500 $\mu\text{g/mL}$.

II.3.2.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin dilakukan dengan merunning larutan standar yang ditotolkan dengan menggunakan mikropipet sebanyak 1 μL pada lempeng KLT dan di elusi dalam chamber dengan eluen kloroform : metanol dengan perbandingan (8 : 2) kemudian di running pada range panjang gelombang 200 – 800 nm (Gandjar and Rohman, 2009).

II.3.2.3 Pembuatan Larutan Sampel

Sampel ekstrak metanol daun cempa (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) sebanyak 10 mg dilarutkan dalam 10 mL metanol p.a dan direplikasi sebanyak 3 kali.

II.3.2.4 Penetapan Kadar Flavonoid Total

Disiapkan lempeng KLT dengan ukuran 10 x10 cm dengan tepi atas ditandai 0,5 cm dan tepi bawah ditandai 1,5 cm. Dari larutan standar yang telah dibuat, masing-masing ditotolkan sebanyak 1 μL , 1,5 μL , 2 μL , 2,5 μL , 3 μL dengan menggunakan mikropipet kemudian masing-masing ekstrak cair metanol daun cempa (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) ditotolkan juga bersamaan dengan larutan standar dengan menggunakan mikropipet sebanyak 2 μL pada lempeng KLT yang sama. Lempeng dielusi dalam chamber yang berisi eluen kloroform : metanol (8 : 2). Noda yang terpisah diamati dibawah lampu UV 366 dan UV 254 nm dan diukur dengan KLT-Densitometer pada panjang gelombang 254 nm. Selanjutnya dilakukan

analisis terhadap hasil scan (Gandjar and Rohman, 2009).

III. Hasil Dan Pembahasan

Ekstrak metanol daun cempa telah diukur kandungan fenolik dan flavonoidnya. Ekstrak daun cempa diperoleh dari pengolahan dengan menggunakan pelarut metanol. Komponen fenolik diuji dengan plat KLT dengan menggunakan pereaksi FeCl_3 . Hal ini menunjukkan ekstrak mengandung komponen fenolik. Kemudian dilanjutkan dengan mengukur jumlah fenol yang terkandung dalam ekstrak tersebut. Untuk penetapan kadar fenolik diukur dengan menggunakan standar asam galat. KLT-Densitometer dan spektrofotometer digunakan untuk mengukur senyawa fenolik. Data dari spektrofotometer ditunjukkan pada Tabel 1 untuk asam galat standar, kemudian dihitung kandungan fenolik ekstrak yang menunjukkan 0,506 gGAE/g ekstrak (Tabel 2).

Tabel 1. Hasil pengukuran absorbansi larutan standar asam galat

Konsentrasi ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Absorbansi
20	0,220
30	0,333
40	0,462
50	0,570
60	0,687
$y = 0.0117x - 0.014$	
$R^2 = 0.9994$	

Tabel 2. Hasil perhitungan penetapan kadar fenolik total ekstrak metanol daun cempa (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle)

Replikasi	Abs (Y)	Kandungan fenol awal (mg/mL)	Kandungan total fenol (mgGAE/g ekstrak)	Rata-rata kandungan fenol total (gGAE/g ekstrak)
1	0,576	0,050	500	0,506
2	0,589	0,051	510	
3	0,585	0,051	510	

Selanjutnya, pengukuran dilanjutkan ke densitometri dimana ekstrak kasar menunjukkan bercak yang mirip dengan asam galat standar (Tabel 3). Kesamaan noda yang diukur pada area di bawah kurva (AUC) untuk menguji kandungan senyawa fenolik dari ekstrak. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak cempa mengandung sekitar 0,879 gGAE/g ekstrak (Tabel 4). Data ini menunjukkan

bahwa tidak berbeda nyata antara metode spektrofotometer dan densitometer.

Tabel 3. Hasil pengukuran luas area noda standar asam galat dan sampel ekstrak metanol daun cember (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle)

Replikasi	Konsentrasi (μg)	Rf	Area
Baku asam galat	1	0,77	7293.8
	1,5	0,76	13810.0
	2	0,75	20700.3
	2,5	0,75	25397.8
	3	0,76	29717.6
$y = 11287x - 3190.3; R^2 = 0.9893$			
Ekstrak cember	2	0,69	17691.6
	2	0,70	16748.4
	2	0,74	15532.5

Tabel 4. Hasil perhitungan penetapan kadar fenolik total ekstrak metanol daun cember (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle)

Sampel	Kadar fenolik total (mgGAE/g)	Kadar fenolik rata-rata (gGAE/g)
Sampel 1	925	0,879
Sampel 2	883	
Sampel 3	829	

Selanjutnya, flavonoid juga diukur dengan menggunakan spektrofotometer dan densitometri. Percobaan ini menggunakan kuersetin sebagai standar. Pada Tabel 5 menunjukkan standar yang digunakan untuk menghitung kandungan flavonoid. Kandungan flavonoid pada ekstrak metanol cember dihitung dan menunjukkan hasil 0,44 g QE/g ekstrak (Tabel 6). Dilanjutkan dengan KLT-densitometer, terlihat adanya kesamaan spot pada plat KLT (Tabel 7). Mengenai area di bawah kurva, kandungan flavonoid diukur dan menunjukkan data 0,73 g QE/g ekstrak (Tabel 8). Berdasarkan kedua metode tersebut menunjukkan perbedaan yang nyata.

Tabel 5. Hasil pengukuran absorbansi standar kuersetin pada panjang gelombang 430 nm secara spektrofotometri Uv-Vis

konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
30	0.219
35	0.255
40	0.279
45	0.326
50	0.346
55	0.388
60	0.428
$y = 0.0069x + 0.0116$	
$R^2 = 0.9942$	

Tabel 6. Hasil perhitungan kadar flavonoid total pada ekstrak metanol daun cember (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) secara spektrofotometri UV-Vis

Replikasi	Abs (Y)	Kandungan Flavonoid awal (mg/mL)	Kandungan Flavonoid Total (mgQE/g ekstrak)	Rata-rata Kandungan Flavonoid Total (gQE/g ekstrak)
1	0,312	0,0435	435	0,44
2	0,312	0,0442	442	
3	0,329	0,046	460	

Tabel 7. Hasil pengukuran luas area standar kuarsetin pada panjang gelombang 254 nm secara KLT Densitometri

Konsentrasi (μL)	Rf	Luas Area
1	0,83	436.9
1,5	0,79	3066.8
2	0,81	8271.7
2,5	0,82	18915.17
3	0,82	26600.7
$y = 6817.6x - 8994.5$		
$R^2 = 0.9545$		

Tabel 8. Hasil perhitungan kadar flavonoid total pada ekstrak metanol daun cember (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) secara KLT-Densitometri

Replikasi	Luas Area	Rf	Kadar Flavonoid Total (mgQE/g Ekstrak)	Rata- Rata Kadar Flavonoid Total (gQE/g Ekstrak)
1	765,33	0,81	710	0,73
2	738,67	0,83	710	
3	1594,69	0,80	770	

Secara umum, kedua metode tersebut memiliki fungsi untuk mengukur kuantitas bahan kimia, namun masing-masing metode memiliki kelebihan dan kekurangan. Kedua metode tersebut membutuhkan tingkat akurasi yang tinggi. Dalam spektrofotometri UV-Vis membutuhkan kandungan kimia dalam larutan. Dalam KLT-densitometer, bahan kimia determinasi perlu dipisahkan dalam plat KLT dengan fase gerak yang sesuai, noda akan ditentukan sebagai kandungan bahan kimia (Gandjar and Rohman, 2009).

IV. Kesimpulan

Kadar fenolik total ekstrak metanol daun cember (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) dengan menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis sebesar 0,506 gGAE/g ekstrak, Sedangkan kadar fenolik total ekstrak metanol daun cember (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) dengan menggunakan metode KLT-Densitometer sebesar 0,879 gGAE/g ekstrak. Kadar flavonoid total ekstrak metanol daun cember (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis adalah 0,44 gQE/g ekstrak dan Kadar flavonoid total ekstrak metanol daun cember (*Acacia rugata* (Lam.) Fawc. Rendle) menggunakan metode KLT-Densitometer adalah 0,73 gQE/g ekstrak.

Daftar Pustaka

- Ahmad, A. R., Dahlia, A. A. and Kosman, R. (2014) 'Standardization of simplisia and methanolic extract of cember (*acacia rugata* (lam.) fawc. rendle) leaves endemic plant from Massenrenpulu regency of enrekang', *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(12), pp. 1808–1812.
- Ahmad, A. R., Elya, B. and Mun'im, A. (2017) 'Antioxidant activity and isolation of xanthine oxidase inhibitor from *ruellia tuberosa* L. Leaves', *Pharmacognosy Journal*, 9(5), pp. 607–610. doi: 10.5530/pj.2017.5.96.
- Ahmad, A. R., Juwita, J. and Ratulangi, S. A. D. (2015) 'Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.SM)', *Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(1), pp. 1–10. doi: 10.7454/psr.v2i1.3481.
- Gandjar, I. G. and Rohman, A. (2009) *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Hamidu, L., Ahmad, A. R. and Najib, A. (2018) 'Qualitative and Quantitative Test of Total Flavonoid Buni Fruit (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) with UV-Vis Spectrophotometry Method', *Pharmacognosy Journal*, 10(1), pp. 60–63. doi: 10.5530/pj.2018.1.12.
- Malik, A., Kurniawan, A. and Najib, A. (2014) 'Comparative study of HPTLC fingerprint of β -asarone content between leaves and rhizome of *Acorus calamus* L', *International Journal of PharmTech Research*, 6(2), pp. 829–833.
- Maulana, A., Suryani, I. and Mu'nisa, A. (2017) 'Analisis Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit (*Mus musculus*) Jantan yang Diberi Ekstrak Metanol Daun Cember (*Acacia pennata*) Asal Enrekang Diinduksi Aloksan', *Bionature*, 18(1), pp. 63–70.
- Suradji, S. I., Najib, A. and Ahmad, A. R. (2016) 'Studi Komparasi Kadar Flavonoid Total Pada Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* L.) Asal Kabupaten Luwu Utara Provinsi Sulawesi Selatan Dan Kabupaten Kediri Provinsi Jawa Timur', *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(2), pp. 175–181. doi: 10.33096/jffi.v3i2.219.
- Syarif, R. A., Sari, F. and Ahmad, A. R. (2015) 'Rimpang Kecombrang (*Etlingera elator* Jack.) Sebagai Sumber Fenolik', *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), pp. 102–106. doi: https://doi.org/10.33096/jffi.v2i2.178.
- Wahdaningsih, S. et al. (2017) 'Penetapan Kadar Fenolik Total Dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Dan Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus* (F.a.C.Weber) Britton Dan Rose)', *Pharmacon*, 6(3), pp. 295–301. doi: 10.35799/pha.6.2017.16942.
- Yulianti R., Dahlia, A. A. and Ahmad, A. R. (2016) 'Penetapan Kadar Flavonoid Total Dari Ekstrak Etanolik Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq)', *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 1(1), pp. 14–17. doi: 10.33096/jffi.v1i1.195.