Jurnal Pharmascience, Vol. 04, No.01, Februari 2017, hal: 102 - 108
ISSN-Print. 2355 – 5386
ISSN-Online. 2460-9560
http://jps.unlam.ac.id/
Research Article

Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Uji Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.) dengan Metode DPPH

*Alifni Adha Bakti, Liling Triyasmono, Muhammad Ikhwan Rizki

Program Studi Farmasi, FMPA, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru
Email : alifnibakti@gmail.com

ABSTRAK

Bahan alam dapat dijadikan bahan obat baru karena mengadung metabolit sekunder. Di Indonesia terdapat lebih kurang 30.000 jenis tumbuh-tumbuhan yang mengandung metabolit sekunder, lebih kurang 7.500 jenis diantaranya termasuk tanaman berkhasiat obat. Salah satunya adalah tanaman kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.). Tanaman *M. casturi* merupakan tumbuhan khas Kalimantan Selatan yang hanya dimanfaatkan oleh masyarakat untuk dikonsumsi, tidak untuk pengobatan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun *M. casturi*. Penelitian ini bersifat non-eksperimental. Sampel yang digunakan adalah daun *M. casturi* yang berasal dari Kabupaten Banjar, Kalimantan Selatan. Penentuan Kadar flavonoid total dilakukan secara spektrofotometri UV-Vis dengan pereaksi kompleks $AlCl_3$ sedangkan aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Hasil penelitian diperoleh kadar flavonoid total ekstrak etanol daun *M. casturi* sebesar 9,31 ± 0,08 %b/b dan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 34,558 ppm sehingga termasuk dalam kategori antioksidan yang sangat aktif.

Kata kunci: Antioksidan, DPPH, Flavonoid Total, *Mangifera casturi.*

ABSTRACT

Natural resources can be used as the new medicine ingridients because it has second metabolite. In Indonesia, there are more than 30.000 kinds of plants that contain second metabolite, more or less than 7.500 kinds of those are medicinal plants. One of those plants is Kasturi (Mangifera casturi Kosterm.). M. casturi is a typical plant from South Kalimantan that be used as a food not as a medicine. The purpose of this research is to determine the total of flavonoid content and anti-oxidant activity from ethanol extract of M. casturi leaves. This study is a non-experimental research. Sample which used in this research is M. casturi Leaves from Banjar Region, South Kalimantan. The research for total Flavonoid content is done by UV-Vis spectrophotometric with $AlCl_3$ reagent complex

while the anti-oxidant activity is determined by DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) method. The result of this research are extract of M. casturi leaves obtains 9,31 ± 0,08 %b/b of total flavonoid and the antioxidant activity result with IC_{50} value is 34,558 ppm, so it can be categorized as a very active anti-oxidant.

Keywords: Antioxidant, DPPH, Total Flavonoid, Mangifera casturi.

I. PENDAHULUAN

Bahan alam dapat dijadikan bahan obat baru karena mengandung metabolit sekunder. Salah satu tumbuhan bahan alam yang berkhasiat obat adalah kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.). Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.) merupakan tumbuhan khas Kalimantan Selatan. Masyarakat hanya memanfaatkan buahnya untuk dikonsumsi karena rasanya yang manis dan aromanya yang khas. Menurut hasil penelitian Ling *et al.*, (2009) ekstrak etanol daun mangga (*Mangifera indica*) yang memiliki genus yang sama dengan *M. casturi*, diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Tanaman dengan genus yang sama diduga juga memiliki aktivitas yang sama sehingga kemungkinan daun *M. casturi* juga mengandung senyawa flavonoid.

Flavonoid yang terkandung dalam genus *Mangifera* merupakan senyawa golongan polifenol yang tersebar di alam dan memiliki sifat sebagai penangkal radikal bebas (Pourmourad *et al.*, 2006). Radikal bebas yang berlebih dapat menyebabkan stres oksidatif, sehingga menimbulkan terjadinya penyakit degeneratif. Diharapkan dengan pemberian antioksidan dapat mencegah timbulnya penyakit degeneratif. Antioksidan sintetik diketahui memiliki efek samping apabila digunakan dalam jangka waktu yang lama, sehingga antioksidan alami dapat dijadikan sebagai pilihan (Zuhra *et al.*, 2008).

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak etanol daun *M. casturi* dan untuk mengetahui kemampuan antioksidan dari ekstrak etanol daun *M. casturi.* Aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun *M. casturi* dapat dinilai dari nilai *Inhibitor Concentration* 50 (IC_{50}) menggunakan metode DPPH. Penentuan kadar flavonoid total menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

II. METODE

A. Alat dan Bahan penelitian

Alat-alat yang digunakan adalah alat gelas~~,~~ *vacuum rotary evaporator* (RV 06-ML IKA WERKE model VR-2B), stopwatch, dan spektrofotometer UV-Vis (Spectronic Genesys 10uv).

Bahan-bahan yang digunakan adalah Daun *M. casturi*, etanol 70% teknis,

etanol p.a, metanol p.a, kuersetin, pereaksi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazin), *n*-butanol, $AlCl_3$ 10%, asam asetat, asam sulfat pekat, amonia, aquades, HCl, NaOH, Pb Asetat 10%, aluminium foil, dan kertas saring.

B. Cara Kerja

1. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun *M. casturi*

Sebanyak 1,0 kg serbuk diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 70% dengan perbandingan 1 : 2,5. Ekstrak cair disaring dengan kertas Whatman Nomor 1. Ekstrak cair diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 60^o C dan diuapkan diatas *waterbath* pada suhu 60^o C hingga diperoleh ekstrak kental dengan bobot tetap (Jamshidi *et al.*, 2014).

2. Identifikasi Flavonoid

Identifikasi flavonoid yang dilakukan pada penelitian ini dilakukan dengan tiga cara yaitu uji alkalin, uji Pb asetat, dan uji amonia menggunakan keras saring.

3. Penetapan Kadar Flavonoid Total

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 mL, ditambahkan dengan 1 mL $AlCl_3$ 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Lakukan pembacaan dengan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 350-450 nm (Das *et al.*, 2013).

b. Penentuan *Operating Time*

Larutan kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 1 mL $AlCl_3$ 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang yang telah diperoleh dengan interval pada waktu 2 menit sampai diperolah absorbansi yang stabil.

c. Penentuan Kurva Baku Kuersetin

Larutan seri kadar dibuat dengan menggunakan kuersetin sebagai baku standar. Dibuat seri kadar sebesar 60, 80, 100, 120 dan 140 ppm. Sebanyak 1 mL larutan seri kadar dari masing-masing konsentrasi dimasukkan, direaksikan dengan 1 mL $AlCl_3$ 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Didiamkan selama 16 menit pembacaan absorbansi seri kadar dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

d. Penentuan Flavonoid Total

Larutan ekstrak 1000 ppm diambil sebanyak 1 mL, ditambahkan dengan 1 mL $AlCl_3$ 10% dan 8 mL asam asetat 5% didiamkan selama 16 menit. Dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang maksimum.

e. Penentuan Persen Perolehan Kembali atau Persen *Recovery*

Larutan ekstrak diambil sebanyak 1 mL, ditambahkan 1 mL larutan kuarsetin 40 ppm. Ditambahkan 1 mL $AlCl_3$ 10% dan 8 mL asam asetat 5% didiamkan

selama 16 menit, lakukan 3x replikasi. Rentang persen perolehan kemabali yang dapat diterima adalah 80% - 110% (Gonzales *et al.,* 2010).

4. Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan blanko DPPH 0,4 mM sebanyak 1 mL dalam metanol p.a. ditambahkan sampai tanda batas metanol p.a pada labu ukur 5 mL kemudian didiamkan selama 30 menit ditempat gelap. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 450-550 nm (Molyneux, 2004; Nihlati *et al.,* 2008).

b. Penentuan *Operating Time*

Larutan DPPH 0,4 mM sebanyak 1 mL ditambahkan larutan standar kuersetin 6 ppm sampai tanda batas pada labu ukur 5 mL. Larutan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 516 nm dengan interval waktu 2 menit (Maulina, 2014).

c. Pembuatan Larutan Kuersetin Sebagai Pembanding

Larutan seri kadar dibuat dengan menggunakan kuersetin sebagai baku standar dengan kadar 0,5; 1; 2; 4; dan 8 ppm. Sebanyak 1 mL larutan standar 0,4 mM ditambahkan larutan standar kuersetin sampai tanda batas pada labu ukur 5 mL, kemudian didiamkan di tempat gelap selama 26 menit. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang maksimum 516 nm (Nihlati *et al.,* 2008).

d. Penentuan nilai IC_{50} Ekstrak Etanol Daun *M. casturi*

Larutan ekstrak 1000 ppm dibuat konsentrasi 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm. Sebanyak 1 mL larutan DPPH 0,4 mM ditambahkan dengan tiap-tiap konsentrasi larutan sampel sampai tanda batas. Larutan didiamkan di tempat gelap selama 26 menit. Larutan dibaca absorbansi pada panjang gelombang maksimum 516 nm.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

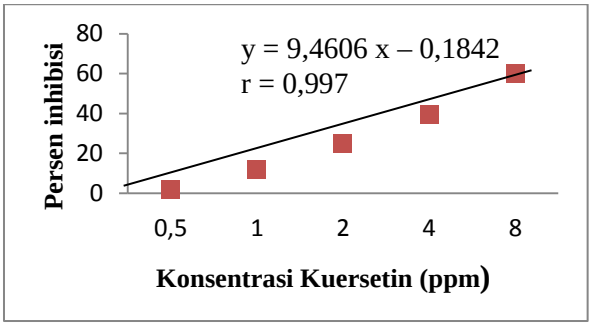
Serbuk kering daun *M. casturi* yang telah di maserasi sebanyak 1,0 kg menghasilkan persen rendemen yaitu 15,01%. Identifikasi flavonoid pada penelitian menunjukkan hasil positif mengandung flavonoid. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol daun *M. casturi* menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan metode kolorimetri. Panjang gelombang maksimum kuersetin yang didapatkan yaitu 416 nm dengan *operating time* yang diperoleh pada menit ke-16. Kurva baku kuersetin dengan konsentrasi 60, 80, 100, 120, dan 140 ppm didapatkan regresi y = 0,0071x – 0,2314 dengan nilai korelasi (r) sebesar 0,999. Hasil kadar flavonoid total ekstrak etanol daun *M. casturi* yaitu 9,31 ± 0,08 %b/b. Dapat dilihat pada tabel I.

Tabel I. Hasil perhitungan kadar flavonoid total

Sampel	Absorbansi sampel	Kandungan Flavonoid Total (b%/b)	$\bar{x}$ Kandungan flavonoid total (b%/b) ±SD	RSD (%)
Ekstrak Etanol Daun *M. casturi*	0,427	9,27	9,31 ± 0,08	0,859
	0,427	9,27		
	0,437	9,41		

Tabel II. Hasil Perhitungan Persen Inhibisi Larutan Pembanding Kuersetin

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Persen Inhibisi (%)	IC50 (ppm)
Kuersetin	0,5	1,16	5,304
	1	12,386	
	2	19,723	
	4	39,573	
	8	74,16%	



Gambar 1. Grafik hubungan konsentrasi kuersetin vs persen inhibisi

Penentuan persen perolehan kembali (persen *recovery*) juga dilakukan sebagai salah satu validasi metode dari presisi. Persen perolehan kembali dihitung untuk mengetahui keakuratan dari kadar flavonoid total yang diperoleh. Persen perolehan kembali yang didapat setelah dilakukan 3 kali replikasi yaitu 94,452%. Hasil ini sudah sesuai literatur yaitu 80% - 110% (Gonzales *et al.*, 2010).

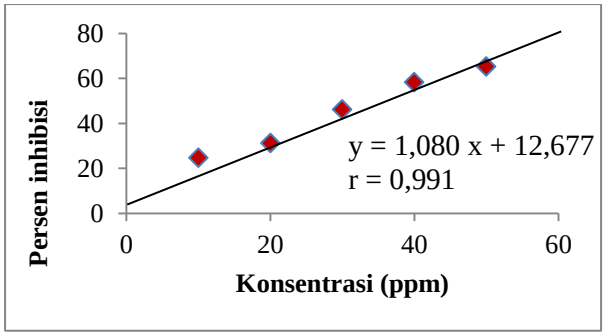
Panjang gelombang maksimum DPPH yang didapatkan yaitu 516 nm dengan *operating time* pada menit ke-26. Kuersetin digunakan sebagai pembanding. Dapat dilihat pada tabel dan grafik dibawah ini.

Berdasarkan persamaan linier diperoleh nilai IC_{50} kuersetin sebesar 5,304 ppm. Hasil tersebut menunjukkan kuersetin termasuk dalam golongan antioksidan yang sangat aktif (Jun *et al.*, 2003).

Hasil persen inhibisi ekstrak etanol daun *M. casturi* dapat dilihat pada tabel III dan grafik hubungan konsentrasi ekstrak etanol daun *M. Casturi* dengan persen inhibisi dapat dilihat pada Gambar 2.

Tabel III. Hasil perhitungan persen inhibisi ekstrak etanol daun *M. casturi*

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Persen Inhibisi (%)	IC50 (ppm)
Ekstrak Etanol Daun *M. casturi*	10	24,946	34,558
	20	29,534	
	30	46,125	
	40	57,550	
	50	65,359	



Gambar 2. Grafik persen inhibisi ekstrak etanol daun *M. casturi*

Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *M. casturi* didapatkan persamaan regresi yaitu y = 1,080 x + 12,677 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,991. Nilai ini menunjukkan bahwa antara konsentrasi dan absorbansi terdapat korelasi sebesar 99,1%. Nilai IC_{50} yang diperoleh sebesar 34,558 ppm dan termasuk dalam golongan antioksidan yang sangat aktif (Jun *et al.*, 2003). Hasil tersebut sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Marzuki (2016) pada ekstrak etanol kulit batang *M. casturi* memiliki tingkat kekuatan antioksidan sangat aktif yaitu sebesar 26,59 ppm.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa Kadar total flavonoid dari ekstrak etanol daun *M. casturi* adalah 9,31 ± 0,08 %b/b dan Nilai IC_{50} untuk ekstrak etanol daun *M. casturi* sebesar 34,558 ppm yang termasuk dalam golongan antioksidan yang sangat aktif.

DAFTAR PUSTAKA

Das, N., Md. E. Islam., N. Jahan., M. S. Islam., A. Khan, Md. R. Islam, & Mst. S. Parvin. 2014. Antioxidant Activities of Ethanol Extracts and Fractions of *Crescentia cujete* Leaves and Stembark and The Involvement of Phenolic Compounds. *BMC Complementary and Alternative Medicine.*14-45.

Gonzales, A.G., M. A. Herrador, & A.G. Asuero. 2010. Intra-laboratory Assesment of Method Accuracy (Trueness and Precision) by Using Validation Standarts. *Talanta*. ***82***: 1995-1998.

Jamshidi, M., E. Shabani., Z. Hashemi, & M. A. Ebrahimzadeh. 2014. Evaluation of Three Method for The Extraction of Antioxidant from Leaf and Aerial Parts of *Lythrun salicaria* L. (Lythraceae). *International Food Research Journal*. ***2***: 783-78.

Jun, M. H. Y., J. Y, Yu, X. Fong, C. Wan, S., & C. T. Yang. 2003. Comparison of Antioxidant Activities of Isoflavones from Kudzu Root (*Pueraria labata* Ohwl.). *Journal of Food Sciences*. ***68***: 2117-2122.

Ling, L. T., S. Yap., A. K. Radhakrishnan, & T. Subramanian. 2009. Standardised *Mangifera indica* Extract Is an Ideal Antioxidant. *Food Chemistry*. ***113***: 1154-1159.

Marzuki. 2016. *Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Kasturi (Mangifera casturi).* Skripsi Program Studi Farmasi. Universitas Lambung Mangkurat. Banjarbaru.

Maulina, R. 2014. Penentuan Nilai *Sun Protection Factor* (SPF) dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Batang Bangkal (*Nauclea subdita*) secara in vitro. Skripsi, Fakultas Matematika dan

Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.

Molyneux, P. 2004. The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Sciences*. ***26***: 211-219.

Nihlati, A. P., Rohman, A, & T. Hertiani. 2008. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schletch) dengan Metode Penangkapam Radikal DPPH, *J. Nat. Med*. ***62***: 207-210.

Pourmorad, F., S.J, Hosseinimehr, & N, Shahabimajd. 2008. Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of Some Selected Iranian Medicinal Plants. *African Journal of Biotechnology*. ***5***: 1142-1145.

Zuhra, C. F., J.B. Tarigan, & H. Sitohang. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgunus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatera*. ***1***: 7-10.