

PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK DAUN PARE METODE KOMPLEKS *KOLORIMETRI*DENGAN PENGUKURAN ABSORBANSI SECARA SPEKTROFOTOMETRI

Agung Nur Cahyanta

aku.cahyanta@gmail.com

Jurusan Farmasi STIKES BHAMADA Slawi
Jl. Cut Nyak Dien, Desa Kalisapu (0283)3317706

Abstrak

Secara empiris daun pare (*Momordica charantia*) sangat berpotensi untuk dijadikan sediaan obat tradisional. Untuk itu perlu dikembangkan metode standardisasi sediaan obat tradisional, salah satunya adalah dengan penetapan kadar salah satu kandungan senyawa aktif dalam daun pare. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa daun pare memiliki kandungan senyawa flavonoid sehingga dapat dilakukan penentuan kadar flavonoid total ekstrak etanol daun pare secara kolorimetri komplementer dengan aluminium klorida untuk menentukan golongan flavon dan flavonol. Dari hasil penelitian diperoleh kandungan flavonoid total dalam daun pare sebesar 8,30% b/b.

Kata Kunci : *Pare, Flavonoid*

1. Pendahuluan

Keanekaragaman hayati tumbuhan tropis Indonesia merupakan sumber kekayaan yang potensial. Indonesia dikenal sebagai Negara pemilik hutan tropis terbesar di dunia, menempati urutan ke-3 setelah Brazil dan Zaire.¹ Secara empiris daun pare digunakan sebagai penyubur rambut.² Di India, seluruh bagian tanaman pare dipakai sebagai obat, mulai dari akar, daun, buah, dan bijinya. Akarnya dipakai untuk mengobati penyakit mata; daunnya untuk memperlancar buang air besar, kulit terbakar, obat cacing, memperbanyak air susu ibu, menambah nafsu makan dan sebagai obat luar untuk menyuburkan rambut.³ Flavonoid yang terdapat dalam daun pare diduga mempunyai aktivitas sebagai bakterisid dan antivirus yang dapat menekan pertumbuhan bakteri dan virus sehingga dapat mempercepat pertumbuhan rambut dan mencegah kerontokan.⁴ Untuk itu perlu dikembangkan metode yang dapat digunakan untuk standarisasi simplisia salah satunya dengan penetapan kadar salah satu kandungan senyawa. Dari penelitian sebelumnya diketahui bahwa daun pare (*Momordica charantia*) memiliki kandungan senyawa flavonoid. Penentuan jumlah flavonoid total ekstrak etanol daun Pare adalah secara kolorimetri komplementer aluminium klorida untuk

menentukan golongan flavon dan flavonol.

2. Metode Penelitian

• Bahan

Bahan kimia yang digunakan antara lain etanol 96%, Aluminium klorida, Standart Kuersetin, Natrium Nitrit, Natrium Hidroksida.

• Alat

Thermostat Water bath HH-6, rotary evaporator Heidolph, moisture analyzer halogen Shimadzu MOC63u, UV Mini - 1240 spektrofotometer Shimadzu, oven drying Getra.

• Pembuatan Simplisia

Daun pare yang sudah dideterminasi di diperoleh dari daerah Surodadi kabupaten Tegal disortasi dari bahan-bahan pengotor. Dilakukan pencucian dengan air mengalir hingga bersih ditiriskan kemudian dirajang dan dikeringkan dengan menggunakan oven drying pada suhu kurang dari 60°C selama 8 jam. Simplisia kemudian digiling dan diayak dengan pengayak mesh 60 menjadi serbuk dengan ukuran yang homogen dan disimpan pada wadah yang kering tertutup rapat dalam ruangan yang terlindung dari cahaya matahari.

• Ekstraksi

Pembuatan ekstrak etanol daun pare, cairan penyari digunakan etanol 96%. Maserasi dengan merendam serbuk simplisia 200 gram

dalam 2 liter etanol 96%, kemudian dikocok selama 6 jam menggunakan *shaker* dan didiamkan selama 18 jam. Maserat disaring menggunakan penyaring vakum kemudian dipisahkan dari ampasnya. Ampas dimaserasi ulang dan disaring kembali sebanyak 2 kali dengan cara yang sama. Semua maserat dikumpulkan, dipekatkan dengan *rotary evaporator* suhu 50°C dengan kecepatan 50 rpm, selanjutnya ekstrak cair diuapkan dengan waterbath pada suhu 50°C, sampai terbentuk ekstrak kental yang tidak bisa dituang.

• Penentuan Flavonoid Total

Penentuan flavonoid total dalam ekstrak dilakukan untuk mengetahui prosentase kandungan flavonoid total dalam ekstrak daun Pare menggunakan metode *kolorimetri* aluminium klorida dengan pengukuran absorbansi secara spektrofotometri.⁵

• Pembuatan Kurva Standar Kuersetin

Kuersetin 10,0 mg dilarutkan dalam labu takar 10 mL dengan pelarut etanol hingga tanda (kadar kuersetin menjadi 1 mg/mL atau 1000 µg/mL). Lalu larutan induk 1000 µg/mL diambil sebanyak 1 mL dilarutkan dalam labu takar 10 mL dengan pelarut etanol hingga tanda (kadar kuersetin menjadi 100 µg/mL). Dibuat kurva baku dari larutan induk 100 µg/mL dengan cara memipet 0,5 ; 1,0 ; 1,5 dan 2,0 mL, dilarutkan ke dalam 10 mL dengan pelarut etanol (kadar larutan standar menjadi 5 ; 10 ; 15 ; dan 20 µg/mL). Sebanyak 0,5 mL dari masing-masing konsentrasi larutan direaksikan dengan 2 mL akuades dan 0,15 mL NaNO₂ 5 % kemudian didiamkan selama 6 menit. Menambahkan sebanyak 0,15 mL AlCl₃ 10% kedalam larutan, kemudian didiamkan kembali selama 6 menit. Larutan direaksikan dengan 2 mL NaOH 4%, kemudian diencerkan dengan akuades hingga volume total 5 mL dan didiamkan 15 menit. Diukur absorbansi larutan standar pada panjang gelombang 510 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Kurva standar diperoleh dari hubungan antara konsentrasi kuersetin (µg/mL) dengan

absorbansi.

• Absorbansi Ekstrak

Sebanyak 10,0 mg ekstrak dilarutkan dalam labu takar 10 mL dengan pelarut etanol hingga tanda (kadar ekstrak menjadi 1 mg/mL atau 1000 µg/mL). Lalu larutan induk 1000 µg/mL diambil sebanyak 0,5 mL direaksikan dengan 2 mL akuades dan 0,15 mL NaNO₂ 5 % kemudian didiamkan selama 6 menit. Sebanyak 0,15 mL AlCl₃ 10% ditambahkan kedalam larutan, kemudian didiamkan kembali selama 6 menit. Larutan direaksikan dengan 2 mL NaOH 4%, kemudian diencerkan dengan akuades hingga volume 5 mL dan didiamkan 15 menit. Diukur absorbansi larutan pada panjang gelombang 510 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.

3. Hasil dan Pembahasan

Data morfologi dari daun Pare menunjukkan daun berwarna Hijau, tunggal, bertangkai, berbentuk menjari membulat dengan pangkal bentuk jantung.



Gambar 1. Morfologi daun Pare

Tabel 1. Morfologi daun pare

Spesifikasi	Keterangan
Warna	Hijau
Permukaan	Agak kasar, berambut
Ukuran rata-rata	Panjang 12 cm, lebar 10 cm
Ujung daun	Menyirip
Pangkal daun	Seperti jantung
Tepi daun	Berombak

Susunan tulang daun	Bertulang menyirip
Jumlah helai daun	Tunggal
Bentuk	Menjari

Ekstrak etanol yang dihasilkan dari daun Pare adalah ekstrak kental warna hijau pekat dengan berat 46,20 gr dengan rendemen 15,4% .

Tabel 2. Hasil Uji susut pengeringan Simplisia Daun Pare

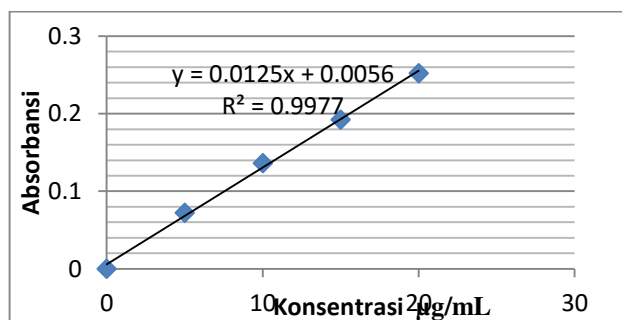
Simplisia (g)	Botol (g)	(botol+simplisia) bobot sebelum penetapan (g)	(botol+simplisia) bobot setelah penetapan (g)	Susut pengeringan (g)	Perse susut pengeringan (%)
1,092	32,338	33,430	33,368	0,062	5,678
1,099	32,465	33,561	33,498	0,063	5,732
1,039	32,385	33,424	33,362	0,062	5,967
Rata-rata					5,792

Susut pengeringan memberikan batasan besarnya senyawa yang hilang pada saat proses pengeringan, dari hasil pengujian diperoleh bahwa nilai susut pengeringan untuk simplisia daun pare sebesar 5,792 % yang berarti jumlah senyawa yang hilang pada saat proses pengeringan sebesar 5,792%. Pengujian kadar air tidak dilakukan karena hasil susut pengeringan < 10 %, dan bahan simplisia yang digunakan tidak mengandung minyak atsiri hal ini sesuai dengan literatur bahwa dalam hal khusus (jika bahan tidak mengandung minyak atsiri dan sisa pelarut organik menguap) susut pengeringan identik dengan kadar air. ¹⁴ Jika kadar air dalam bahan

masih tinggi dapat mendorong enzim melakukan aktifitasnya mengubah kandungan kimia yang ada dalam bahan menjadi produk lain yang mungkin tidak lagi memiliki efek farmakologi seperti senyawa aslinya. Sesuai dengan Peraturan Ka. BPOM RI No.12 Tahun 2014 tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional kadar air untuk simplisia yang dipergunakan sebagai obat adalah $\leq 10\%$.

Tabel 3 Konsentrasi dan absorbansi dari Kuersetin

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi pada 510 nm			Rata-rata (%)
	A1	A2	A3	
0	0,000	0,000	0,000	0,000
5,0	0,072	0,073	0,072	0,072
10	0,137	0,136	0,135	0,136
15	0,191	0,193	0,192	0,192
20	0,254	0,253	0,251	0,252



Gambar 1. Kurva Kalibrasi Kuersetin

Tabel 4 Absorbansi dan Total Flavonoid Ekstrak Daun Pare

Ekstrak	Vol. Sampel (µl)	Absorbansi	Total Flavonoid (%)	Rata-rata (%)
Daun Pare	500	0,103	8,16	8,30
		0,107	8,50	
		0,104	8,25	

Penentuan konsentrasi flavonoid dari ekstrak etanol daun pare dilakukan dengan kompleks kolorimetri $AlCl_3$ yang mempunyai prinsip pengukuran berdasarkan pembentukan warna. Metode ini dapat digunakan untuk menentukan jumlah flavonoid golongan flavon dan flavonol. Prinsip penetapan flavonoid dengan metode kolorimetri $AlCl_3$ adalah terbentuknya 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. Pada pembuatan kurva kalibrasi digunakan kuersetin sebagai pembanding dimana kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol. Panjang gelombang maksimum yang dihasilkan dari pengukuran kuersetin adalah 510 nm. Pada metode $AlCl_3$ jumlah flavonoid flavon dan flavonol diperoleh 8,30% b/b.

4. Kesimpulan

Simplisia daun pare memiliki rendemen terhadap ekstrak etanol sebesar 15,4%, dengan susut pengeringan sebesar 5,792% dan konsentrasi flavonoid total dalam bentuk flavon dan flavonol sebesar 8,30% b/b.

5. Daftar Pustaka

- [1]. Zuhud, E.A.M. & Haryanto. 1994. Pelestarian Pemanfaatan Keanekaragaman Tumbuhan Obat

Hutan Tropika Indonesia, Bogor, IPB – LATIN.

- [2]. Dalimartha S. dan Soedibyo, M. Perawatan Rambut dengan Tumbuhan Obat dan Diet Suplemen, Jakarta, Swadaya; 1999. h 36-40.
- [3]. Subahar TSS. Khasiat dan Manfaat Pare, Si Pahit Pembasmi Penyakit.. Jakarta: Tim Lentera Agromedia Pustaka, 2004. h 5-8.
- [4]. Achmad, AS, Hakim EH, Makmur L. Flavonoid dan Fitomedika, Kegunaan dan Prospek. Jakarta: Phyto-Medika, 1990, 25-29.
- [5]. Chang C, Yang M, Wen H, Chern J; Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. J. Food Drug Analysis, 2002; 10: 178-182
- [6]. Departemen Kesehatan Republik Indonesia & Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: Bakti Husada. 2000. h 21-27