



## Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) Dengan Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 96 %

*Phytochemical Screening And Determined of Total Flavonoid and Total Phenolic Levels On Insulin Leaf ( Tithonia diversifolia) Extract With Maceration Using Ethanol 96 %*

Melati Aprilliana Ramadhani<sup>(1)</sup>, Anita Kumala Hati<sup>(1)</sup>, Novel Fibriani Lukitasari<sup>(1)</sup>, Armin Hari Jusman<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo, Indonesia

Email : [melati\\_aprilliana@yahoo.com](mailto:melati_aprilliana@yahoo.com)

### ABSTRAK

Daun insulin (*Tithonia diversifolia*) secara empiris digunakan oleh masyarakat Indonesia untuk menurunkan kadar gula darah. Senyawa aktif dalam ekstrak etanol daun insulin yang diprediksi memiliki aktivitas penurunan kadar gula darah adalah senyawa flavonoid dan fenolik. Ekstraksi dengan metode maserasi diharapkan dapat menjaga flavonoid dan fenolik dari kerusakan akibat pemanasan. Penelitian dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder dan kadar flavonoid total serta fenolik total dalam ekstrak etanol 96% daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) yang diekstraksi dengan metode maserasi. Penelitian ini merupakan eksperimental laboratorium untuk skrining fitokimia dan menetapkan kadar flavonoid total serta fenolik total daun insulin (*Tithonia diversifolia*) dengan metode maserasi. Kadar flavonoid dan kadar fenolik ditetapkan menggunakan metode spektrofotometri visible. Flavonoid ditetapkan kadarnya berdasarkan pembentukan senyawa kompleks aluminium klorida, dengan standar baku kuersetin. Kadar fenolik ditetapkan berdasarkan pembentukan senyawa kompleks molibdenum-tungsten, dengan standar baku asam galat. Hasil penelitian adalah skrining fitokimia ekstrak daun insulin menunjukkan bahwa daun insulin mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan fenolik. Kadar flavonoid dalam ekstrak etanol 96% daun insulin (*Tithonia diversifolia*) yang diperoleh metode ekstraksi maserasi adalah sebesar 90,58 mgEQ/gram ekstrak dan kadar fenolik sebesar 67,41 mgEAG/gram ekstrak. Kadar Flavonoid total dalam ekstrak etanol 96% daun Insulin lebih tinggi daripada kadar Fenolik total.

**Kata kunci :** *Tithonia diversifolia*, Flavonoid, Fenolik, Maserasi

### ABSTRACT

Insulin leaf (*Tithonia diversifolia*) is empirically used by Indonesian people to reduce blood sugar levels. The active compounds in the ethanol extract of insulin leaves which are predicted to have decreased blood sugar levels are flavonoids and phenolic compounds. Extraction using maceration method is expected to be able to protect Flavonoids and Phenolics from heating damage. The study was conducted to find out the secondary metabolites, and determine total flavonoid and total phenolic levels in ethanol 96% extract of Insulin (*Tithonia diversifolia*) leaves extracted by maceration method. This research is an experimental laboratory to phytochemical screening, and determine the levels of total flavonoids and total phenolic of insulin leaves (*Tithonia*

*diversifolia*) by maceration method. Flavonoid levels and phenolic levels were determined using visible spectrophotometry methods. Flavonoid levels are determined based on the formation of aluminum chloride complex compounds, with the standard of quercetin. Phenolic levels are determined based on the formation of the compound molybdenum-tungsten complex, with gallic acid standard. The result of this research are phytochemical screening of insulin leaf extracts shows that insulin leaves contain flavonoid, alkaloid, saponin, tannin, and phenolic. The results showed average concentration of flavonoids in the extract are 90,58 mgQE/ gram extract and concentration of phenolic 67,41 mgGAE/ gram extract. Total flavonoid levels in ethanol extract 96% of Insulin leaves are higher than total phenolic levels.

**Keywords : *Tithonia diversifolia*, Flavonoid, Phenolic, Maceration**

## PENDAHULUAN

Indonesia memiliki banyak jenis tanaman yang dapat dibudidayakan karena bermanfaat dan kegunaannya besar bagi manusia dalam hal pengobatan. Penggunaan tanaman herbal secara umum dinilai lebih aman daripada penggunaan obat modern. Hal ini disebabkan karena herbal memiliki efek samping yang relatif lebih sedikit daripada obat modern (Sari, 2012).

Banyak tanaman herbal dilaporkan memiliki kandungan senyawa-senyawa antioksidan seperti fenolik dan flavonoid yang berguna untuk meregenerasi sel dan menangkal radikal bebas yang diperlukan untuk terapi penyakit degeneratif, misalnya Diabetes Mellitus (Nishanthini et al., 2012).

Tanaman yang secara empiris digunakan sebagai obat antidiabetes, salah satunya adalah Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*). Daun insulin memiliki kandungan senyawa aktif berupa komponen fenolik seperti *chlorogenic*, *caffeic*, dan *ferulic* yang dapat memperbaiki sel beta pankreas sehingga meningkatkan sekresi insulin dan meningkatkan sensitifitas reseptor insulin (Rosyidi, 2014). Selain itu, pada daun insulin juga terdapat kandungan senyawa flavonoid yang memiliki efek seperti insulin, yaitu menurunkan produksi glukosa di hepatosit. Kemampuan flavonoid dalam

menurunkan kadar glukosa darah bekerja dengan cara memperbaiki (regenerasi) sel  $\beta$  pankreas yang rusak dan melindungi sel  $\beta$  pankreas dari kerusakan serta merangsang pelepasan insulin (Larantukan et al., 2014). Selain mengandung fenolik dan flavonoid, daun insulin juga mengandung metabolit sekunder lainnya yaitu alkaloid, saponin, dan tannin (Prasetyo, 2016).

Senyawa metabolik sekunder seperti Flavonoid dan Fenolik mudah rusak pada pemanasan suhu tinggi. Metode maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi dingin yang dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa flavonoid dan fenolik. Pemilihan metode maserasi karena flavonoid merupakan senyawa fenol yang memiliki sistem aromatik terkonjugasi yang mudah rusak pada suhu tinggi dan metode maserasi dapat menghindari kerusakan komponen senyawa terhadap pemanasan (Sàadah et al., 2017).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka peneliti ingin melakukan skrining fitokimia dan mengetahui kadar flavonoid total serta fenolik total ekstrak etanol 96% daun insulin yang diperoleh menggunakan metode maserasi.

## METODE PENELITIAN

Bahan utama penelitian ini adalah ekstrak tanaman daun insulin. Bagian tanaman yang akan diuji yaitu daun insulin dideterminasi di Laboratorium Jurusan Biologi – FMIPA Universitas Negeri Semarang (UNNES).

### **Pembuatan dan Purifikasi Ekstrak.**

Ekstrak daun insulin dibuat dengan metode maserasi dengan etanol 96% perbandingan 1:5 selama 3 hari dilanjutkan remaserasi dengan perbandingan 1:3 selama sehari. Purifikasi dilakukan menggunakan corong pisah dengan pelarut n-heksan (terbentuk 2 lapisan). Lapisan etanol berada pada lapisan bawah dengan berat jenis 0,789 g/ml dan n-heksan pada lapisan atas dengan berat jenis 0,655 g/ml. Lapisan etanol dikumpulkan dan dipisahkan menggunakan *rotary evaporator*.

### **Penetapan Kadar Air**

Dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Sebanyak 1 g ekstrak ditimbang dengan seksama, dimasukkan kedalam alat *moisture balance* yang sebelumnya sudah disetarakan. Setelah itu, baca hasil yang terdapat pada layar.

### **Uji Bebas Etanol**

Uji etanol secara kualitatif dilakukan dengan menambahkan 5 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dan 2 ml karutan kalium dikromat, adanya kandungan etanol dalam ekstrak ditandai dengan adanya perubahan warna mula-mula dari jingga menjadi hijau kebiruan (Jamaliah, 2011).

### **Skrining Fitokimia**

#### **Uji Flavonoid**

Ekstrak daun insulin (*Tithonia diversifolia*) masing-masing ditimbang sebanyak 10 mg, ditambahkan 20 mL etanol dan dipipet 10 mL ke dalam tabung reaksi lain. Campuran ditambahkan 10 tetes asam klorida

pekat, 3-4 butir magnesium. Tabung reaksi dikocok beberapa saat dan diamati terjadinya perubahan. Apabila terjadi pembentukan atau perubahan warna merah, kuning atau jingga menunjukkan reaksi positif terhadap flavonoid (Tarigan *et al*, 2008).

#### **Uji Saponin**

Ekstrak daun insulin (*Tithonia diversifolia*) masing-masing ditimbang sebanyak 10 mg, ditambahkan 20 mL air panas. Selanjutnya di kocok kuat selama 10 detik, akan terbentuk buih yang stabil setinggi 1-10 cm selama 30 menit, dan tidak hilang setelah penambahan 1 tetes asam klorida 2 N menunjukkan adanya saponin (Tarigan *et al*, 2008).

#### **Uji Alkaloid**

Masing-masing ekstrak daun insulin (*Tithonia diversifolia*) ditimbang 10 mg kemudian ditambahkan 10 mL kloroform diaduk rata. Campuran disaring ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 1 mL HCl 2N dan dikocok baik-baik, dibiarkan beberapa saat. Lapisan yang terbentuk diuji dengan pereaksi Dragendorff dan Mayer. Hasil positif apabila terbentuk endapan kuning jingga (orange) atau merah dengan pereaksi Dragendorff dan endapan putih dengan pereaksi Mayer (Tarigan *et al*, 2008).

#### **Uji Tanin**

Ekstrak daun insulin (*Tithonia diversifolia*) ditimbang 10 mg, ditambahkan 20 mL air panas dan 5 tetes larutan NaCl 10%. Campuran dibagi menjadi 2 tabung reaksi, tabung pertama sebagai kontrol dan tabung kedua ditambahkan larutan FeCl<sub>3</sub> 1% 3 tetes. Hasil positif apabila terbentuk warna biru atau biru hitam (Tarigan *et al*, 2008).

### Uji Fenolik

Ekstrak daun insulin (*Tithonia diversifolia*) ditimbang 10 mg, ditambahkan 20 mL air panas dan 5 tetes larutan NaCl 10%. Campuran dibagi menjadi 2 tabung reaksi, tabung pertama sebagai kontrol dan tabung kedua ditambahkan larutan FeCl<sub>3</sub> 1% 3 tetes. Hasil positif apabila terbentuk warna biru atau biru hitam (Tarigan *et al.*, 2008).

### Analisis Kualitatif Flavonoid dengan KLT

Ekstrak etanol daun insulin dengan metode maserasi dan refluks masing-masing ditimbang sebanyak 0,01 gram dilarutkan dalam etanol 96% 1 ml, kemudian totolkan ekstrak pada lempeng KLT, masukan lempeng tersebut dalam wadah bejana yang berisi fase gerak n butanol : asam asetat : akuades (4:1:5) yang telah dijenuhkan, selanjutnya biarkan fase gerak merambat sampai tanda batas. Kemudian keluarkan lempeng ditunggu sampai kering dulu, lalu uapi dengan amonia. Hasil elusi diamati dengan lampu UV 254 nm dan 365 nm, sebagai zat perbandingan digunakan kuersetin (Islamiyati and Saputri, 2018).

### Analisis Kualitatif Fenolik dengan KLT

Ekstrak etanol daun insulin dengan metode maserasi dan refluks masing-masing ditimbang sebanyak 0,01 gram dilarutkan dalam etanol 96% 1 ml ditotolkan plat KLT dan dielusi dengan menggunakan pelarut n-butanol : asam asetat : air (4:1:5), kemudian diamati bercak pada lampu UV dan disemprot dengan reagen besi (III) klorida (FeCl<sub>3</sub>). Positif mengandung fenol jika noda berwarna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam yang kuat. Zat perbandingan digunakan asam galat (Ahmad *et al.*, 2015).

### Penetapan Kadar Flavonoid Total Secara Spektrofotometri UV-Vis.

#### a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 ml, ditambahkan dengan 1 ml AlCl<sub>3</sub> 10% dan 8 ml asam asetat 5%. Lakukan pembacaan dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-500 nm (Das *et al.*, 2014).

#### b. Penentuan Operating Time

Larutan kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 ml ditambahkan dengan 1 ml AlCl<sub>3</sub> 10% dan 8 ml asam asetat 5%. Larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang yang telah diperoleh dengan interval pada waktu 0-30 menit sampai diperoleh absorbansi yang stabil.

#### c. Penentuan Kurva Baku Kuersetin

Larutan seri kadar dibuat dengan menggunakan kuersetin sebagai baku standar. Seri kadar dibuat dengan rentang dari 40, 60, 80, 100, 120 dan 140 ppm. Sebanyak 1 ml larutan seri kadar dari masing-masing konsentrasi dimasukkan, direaksikan dengan 1 ml AlCl<sub>3</sub> 10% dan 8 ml asam asetat 5% didiamkan selama waktu optimum. Pembacaan absorbansi seri kadar dengan menggunakan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang maksimum.

#### d. Penentuan Flavonoid Total

Larutan ekstrak 1000 ppm diambil sebanyak 1 ml, ditambahkan dengan 1 ml AlCl<sub>3</sub> 10% dan 8 ml asam asetat 5% didiamkan selama waktu optimum. Pembacaan absorbansi pada panjang gelombang maksimum. Dilakukan 3 kali pengulangan.

### **Penetapan Kadar Fenolik Total Secara Spektrofotometri UV-Vis.**

#### **a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum**

Sebanyak 0,3 ml larutan asam galat konsentrasi 40 ppm ditambah 1,5 ml reagen Folin Ciocalteu (1:10), kemudian digojog dan didiamkan selama 3 menit. Ke dalam larutan tersebut ditambah 1,2 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%, digojog homogen, kemudian absorbansinya diukur pada panjang gelombang 750-850 nm.

#### **b. Penentuan Operating Time**

Sebanyak 0,3 ml larutan asam galat konsentrasi 40 ppm ditambah 1,5 ml reagen Folin Ciocalteu (1:10), kemudian digojog dan didiamkan selama 3 menit. Ke dalam larutan tersebut ditambah 1,2 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%, digojog homogen, dan diukur absorbansinya dalam rentang waktu 0-90 menit pada panjang gelombang maksimum.

#### **c. Penentuan Kurva Baku Asam Galat**

Sebanyak 0,3 ml larutan asam galat konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm masing-masing dimasukkan dalam tabung, kemudian ditambah 1,5 ml reagen Folin Ciocalteu (1:10) dan digojog. Setelah didiamkan selama 3 menit, masing-masing larutan ditambah 1,2 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5% digojog homogen, dan didiamkan pada range operating time pada suhu kamar. Semua larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum, kemudian dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat (ppm) dengan absorbansi.

#### **d. Penentuan Fenolik Total**

Larutan ekstrak (1000 ppm) pada masing-masing metode maserasi dan refluks yang diperoleh dipipet 0,3 ml dan ditambah 1,5 ml

reagen Folin-Ciocalteu (1:10) dan digojog. Didiamkan selama 3 menit, ditambah 1,2 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5% dan didiamkan lagi pada range operating time pada suhu kamar. Absorbansi larutan ekstrak diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang absorbansi maksimum, dilakukan 3 kali pengulangan.

#### **Analisis Data**

Data yang diperoleh dianalisis secara kualitatif menggunakan metode KLT kemudian dianalisis secara kuantitatif menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis untuk menentukan kadar flavonoid total dan fenolik total.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Pembuatan dan Purifikasi Ekstrak**

**Tabel 1. Rendemen Ekstrak Etanol dan Rendemen hasil Purifikasi**

	<b>Rendemen (%) b/b</b>
Maserasi	8,04%
Purifikasi	54,60%

#### **B. Penetapan Kadar Air**

Hasil pemeriksaan kadar air ekstrak etanol 96% daun Insulin adalah sebesar 0,81%.

#### **C. Uji Bebas Etanol**

**Tabel 2. Hasil Uji Bebas Etanol**

<b>Sampel</b>	<b>Hasil</b>	<b>Kesimpulan</b>
Sebelum dan sesudah purifikasi	Tidak terbentuk warna biru	Ekstrak sudah bebas Etanol



**D. Skrining Fitokimia**

**Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia**

Jenis uji	Perlakuan	Hasil (+)	Hasil Pengamatan
Flavonoid	Sampel + HCl 2N + Magnesium	Warna, merah/jingga	Warna merah (+)
Alkaloid	Sampel + kloroform disaring + HCl 2N + dragendorf/mayer	Endapan merah (Dagendorf)/ putih (mayer)	Terdapat endapan warna merah (dagendorf) (+)/ putih (mayer) (+)
Tanin	Sampel + air panas + NaCl 10% + FeCl <sub>3</sub>	Warna biru/ hitam	Biru kehitaman (+)
Saponin	Sampel + air panas dikocok kuat + HCl 2N	Berbuih stabil selama 30 menit	Berbuih stabil (+)
Fenolik	Sampel + air panas + NaCl 10% + FeCl <sub>3</sub>	Warna biru/ hitam	Biru kehitaman (+)

**E. Pemeriksaan Flavonoid dengan KLT**

**Tabel 4. Hasil Pemeriksaan Flavonoid dengan KLT**

Sampel	Visual	Sinar UV 254 nm	Nilai R <sub>f</sub>
Kuersetin	Kuning kecoklatan	Hijau	0,8
Ekstrak	Hijau	Hijau	0.81

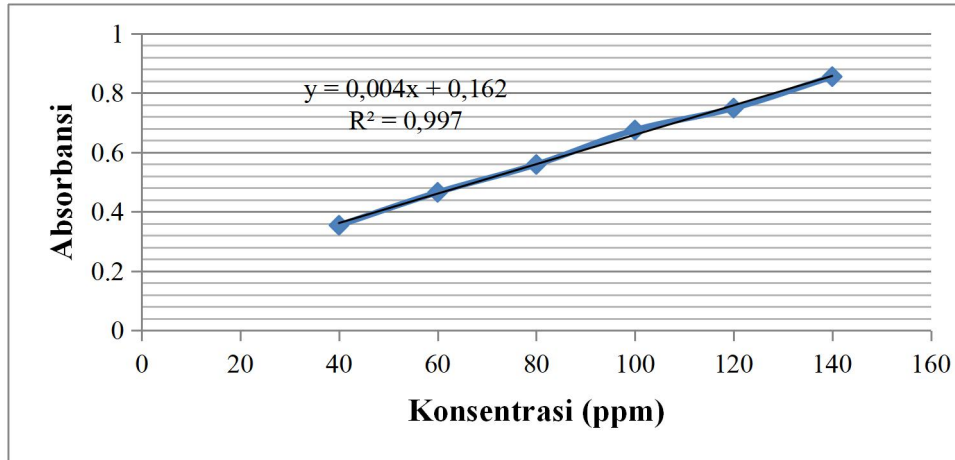
**F. Pemeriksaan Fenolik dengan KLT**

**Tabel 5. Hasil Pemeriksaan Fenolik dengan KLT**

Sampel	Visual	Sinar UV 254 nm	Nilai R <sub>f</sub>
Asam galat standard	Hitam	hitam	0,78
Ekstrak	Hijau	Hijau	0.81

**G. Pemeriksaan Flavonoid Total Secara Spektrofotometri Uv-Vis**

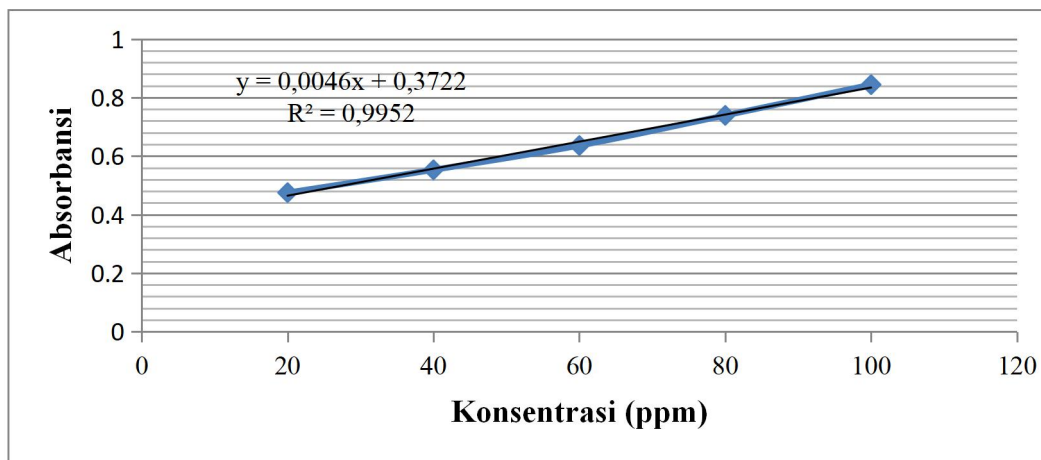
Penentuan panjang gelombang kuersetin yang didapatkan yaitu 414 nm dengan *operating time* pada menit ke-17 sampai 30. Penentuan kurva baku kuersetin diperoleh persamaan  $y = 0,004x + 0,162$  dengan nilai  $r = 0,997$ . Hasil kadar rata-rata flavonoid total pada sampel ekstrak diperoleh dengan metode maserasi sebesar 90,58 mgQE/gram. Dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Grafik Kurva Baku Larutan Standar Kuersetin

#### H. Pemeriksaan Fenolik Total Secara Spektrofotometri Uv-Vis

Penentuan panjang gelombang kuersetin yang didapatkan yaitu 795 nm dengan *operating time* pada menit ke-6 sampai 9. Penentuan kurva baku kuersetin diperoleh persamaan  $y = 0,0046x + 0,3722$  dengan nilai  $r = 0,9952$ . Hasil kadar rata-rata fenolik total pada sampel ekstrak diperoleh dengan metode maserasi sebesar 67,41 mgGAE/gram ekstrak. Dapat dilihat pada grafik dan gambar berikut:



Gambar 2. Grafik Kurva Baku Larutan Standar Asam Galat

### PEMBAHASAN

#### A. Pembuatan dan Purifikasi Ekstrak

Pembuatan ekstrak dilakukan metode ekstraksi dingin yaitu maserasi. Pemilihan pelarut etanol 96% didasarkan pada tingkat keamanan dan kemudahan saat diuapkan serta sifatnya yang mampu melarutkan hampir semua zat, baik yang bersifat polar, semipolar

dan nonpolar serta dapat menarik senyawa flavonoid dan fenolik secara optimum (Sulastri *et al.*, 2015).

Hasil maserasi didapatkan ekstrak kental berwarna hijau pekat sebanyak 24,13 gram dengan rendemen sebanyak 8,04% b/b. Ekstrak yang didapatkan nilai presentase rendemen <10% b/b. Ekstrak yang optimal adalah yang memiliki rendemen >10% (Depkes RI,

2008). Penyebab ekstrak kurang optimal kemungkinan disebabkan karena beberapa faktor yang mempengaruhi ekstrak yaitu lama waktu ekstraksi ataupun perbandingan jumlah sampel dengan jumlah pelarut yang digunakan dan jenis pelarut (Salamah *et al.*, 2008).

Proses purifikasi dilakukan sebanyak 5 kali dengan menggunakan ekstrak seberat 10 gram dengan penambahan 100 ml etanol dimasukkan ke dalam corong pisah kemudian ditambahkan n-heksan dengan volume yang sama. Cairan dikocok perlahan, kemudian akan terbentuk dua lapisan. Fase n-heksan di atas dan fase etanol berada di bawah, hal ini dikarenakan massa jenis etanol (0,789 g/ml) lebih berat dari pada massa jenis n-heksan (0,655 g/ml) (Handayani *et al.*, 2017). Kemudian hasil purifikasi dipekatkan dengan waterbath sehingga didapat fraksi etanol.

Hasil purifikasi dan rendemen fraksi etanol hasil maserasi diperoleh ekstrak kental 5,46 gram dengan rendemen sebesar 54,6%.

### B. Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air pada ekstrak daun insulin baik sebelum dan sesudah dipurifikasi dengan cara sebanyak 1 gram ekstrak dimasukkan ke dalam alat *moisture balance* yang sebelumnya sudah disetarakan, ditunggu hingga alat tersebut menunjukkan kadar air yang ada dalam ekstrak. Kadar air dalam ekstrak sebelum terpurifikasi baik menggunakan metode maserasi yaitu 0,11 %. Sedangkan kadar air dalam ekstrak sesudah purifikasi yaitu 0,41%. Hasil yang diperoleh sudah sesuai dengan syarat kadar air pada ekstrak yaitu <10% (Depkes, 2008).

### C. Uji Bebas Etanol

Ekstrak kental daun insulin yang diperoleh dilakukan uji bebas etanol untuk mengetahui ada tidaknya kandungan etanol dalam ekstrak tersebut sehingga tidak mempengaruhi dalam pengujiannya. Uji bebas etanol dilakukan dengan cara ekstrak kental ditambahkan dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat yang bertujuan untuk membuat kondisi asam dengan kalium dikromat yang awalnya berwarna jingga, kemudian setelah bereaksi larutan yang mengandung etanol akan berubah menjadi hijau kebiruan karena ion dikromat yang berwarna jingga telah tereduksi menjadi ion kromium yang berwarna hijau (Jamaliah, 2011). Hasil uji diperoleh bahwa ekstrak kental daun insulin baik sebelum dan sesudah purifikasi tidak berwarna hijau kebiruan yang artinya tidak adanya kandungan etanol dalam ekstrak.

### D. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan uji yang dilakukan terhadap ekstrak kental daun insulin dengan tujuan untuk mengetahui adanya kandungan metabolit sekunder dengan menggunakan pereaksi warna (Tarigan *et al.*, 2008). Hasil skrining fitokimia yang terdapat pada tabel 3 menunjukkan bahwa daun insulin mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan fenolik.

### E. Pemeriksaan Flavonoid dan Fenolik dengan KLT

Deteksi senyawa flavonoid dan fenolik secara KLT dilakukan dengan pengamatan warna noda secara visual dan di bawah sinar UV 254 nm. Dari hasil pengamatan pemeriksaan senyawa flavonoid menunjukkan sampel ekstrak hasil maserasi secara visual berwarna



hijau dan berfluoresensi pada UV 254 nm. Pada baku standar (kuersetin) secara visual bisa dilihat bercak berwarna kuning kecoklatan dan diamati di bawah lampu UV 254 nm menghasilkan warna hijau (Rompas *et al.*, 2012).

Dari hasil pengamatan pemeriksaan senyawa fenolik menunjukkan bahwa sampel ekstrak hasil maserasi secara visual berwarna hijau dan berfluoresensi pada UV 254 nm. Pada baku standar (asam galat) secara visual bisa dilihat bercak berwarna hitam dan diamati di bawah lampu UV 254 nm juga menghasilkan warna hitam (Ahmad *et al.*, 2015).

Pada pemeriksaan senyawa flavonoid, tabel 3 menunjukkan bahwa nilai Rf untuk baku standar (kuersetin) yaitu 0,8 dan untuk sampel ekstrak hasil maserasi memiliki nilai Rf 0,81. Pada literatur Harborne disebutkan bahwa standar baku kuersetin memiliki nilai Rf sebesar 0,64 yang artinya terdapat selisih nilai Rf sebesar 0,16 dengan standar kuersetin pada perlakuan penelitian ini (Harborne, 1987). Perbedaan tersebut kemungkinan dapat disebabkan karena bahan standar kuersetin yang digunakan pada penelitian ini berbeda dengan yang digunakan di literatur. Namun, pada penelitian ini standar kuersetin dengan sampel ekstrak memiliki nilai Rf yang hampir sama atau mendekati sehingga diketahui sampel ekstrak terdapat senyawa flavonoid.

Pada pemeriksaan senyawa fenolik, tabel 4 menunjukkan bahwa nilai Rf untuk baku standar asam galat yaitu 0,78 dan untuk sampel ekstrak hasil maserasi memiliki nilai 0,81. Nilai Rf baku standar dan sampel yang diperoleh hampir sama atau mendekati sehingga

diketahui sampel ekstrak mengandung senyawa fenolik.

Sampel ekstrak hasil maserasi menghasilkan bercak saat diamati secara visual sehingga dapat dihitung nilai Rf-nya dan berpendar saat diamati di bawah lampu UV 254 nm. Hal ini menunjukkan bahwa sampel ekstrak terindikasi mengandung senyawa flavonoid dan fenolik.

#### **F. Penetapan Kadar Flavonoid Total Secara Spektrofotometri UV-Vis**

Dari hasil penelitian diperoleh bahwa kadar flavonoid total ekstrak terpurifikasi daun insulin hasil maserasi adalah sebesar 90,58 mgEQ/gram ekstrak.

Berdasarkan penelitian Hanifa, 2015, kadar Flavonoid total ekstrak etanol daun insulin (*Tithonia diversifolia*) sebesar 4,209 mgQE/ gram ekstrak.

Kadar Flavonoid total ekstrak Etanol 96% terpurifikasi lebih besar, sehingga diharapkan dapat memberikan aktivitas farmakologis lebih kuat.

#### **G. Penetapan Kadar Fenolik Total Secara Spektrofotometri UV-Vis**

Dari hasil penelitian diperoleh bahwa kadar fenolik total sampel ekstrak terpurifikasi daun insulin hasil maserasi adalah sebesar 67,41 mgGAE/gram Ekstrak.

Penelitian Ibrahim, 2017, menyebutkan bahwa kadar Fenolik Total daun insulin (*Tithonia diversifolia*) paling tinggi berada pada fraksi etil asetat dibandingkan dalam fraksi methanol dan n-heksan, yaitu sebesar 15 mgGAE/gram.

Ekstrak etanol 96% daun insulin (*Tithonia diversifolia*) terpurifikasi

menghasilkan kadar Fenolik total yang lebih tinggi.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa skrining fitokimia ekstrak daun insulin menunjukkan bahwa daun insulin mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan fenolik. Ekstrak terpurifikasi daun insulin diidentifikasi dengan KLT diperoleh hasil positif mengandung senyawa flavonoid dan fenolik. Kadar flavonoid total pada sampel ekstrak terpurifikasi daun insulin hasil maserasi adalah 90,58 mgQE/gram ekstrak. Dan kadar fenolik total pada sampel ekstrak hasil sebesar 67,41 mgGAE/gram ekstrak.

### Saran

Berdasarkan hasil penelitian, peneliti memberikan saran perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk dilakukan uji antioksidan kandungan senyawa dalam ekstrak etanol daun insulin.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A. R., Juwita, S. D. R. and Malik, A. (2015) 'Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.SM)', *Pharm Sci Res ISSN 2407-2354*, 2(1).
- Bimakr, M. et al. (2011) 'Comparison of different extraction methods for the extraction of major bioactive flavonoid compounds from spearmint (*Mentha spicata* L.) leaves', *Food and Bioproducts Processing*, 89(1), pp. 67–72. doi: 10.1016/j.fbp.2010.03.002.
- Das, N. et al. (2014) 'Antioxidant activities of ethanol extracts and fractions of *Crescentia cujete* leaves and stem bark and the involvement of phenolic compounds', *BMC Complementary and Alternative Medicine. BioMed Central*, 14(1), p. 45. doi: 10.1186/1472-6882-14-45.
- Depkes RI (2008) *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta
- Islamiyati, R. and Saputri, I. N. (2018) 'Uji Perbedaan Aktivitas Antioksidan dengan Variasi Konsentrasi Pelarut Etanol 70% dan 96% Pada Ekstrak Etanol Daun Salam Menggunakan Metode Peredaman Radikal Bebas Dpph', *Cendekia Journal of Pharmacy*, 2(2).
- Handayani, D. L. et al. (2017) 'Microemulsion Formulations Of Purified Extract Of Red Leaves Spinach (*Amaranthus Tricolor* L.) As Antioxidant Supplements', *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)*, 3(1), p. 1. doi: 10.22487/j24428744.2017.v3.i1.8133.
- Harborne, J. . (1987) *Comparative Biochemistry of Flavonoids*. London: Academic Press.
- Jamaliah, M. (2011) Sintesis etanol melalui reaksi hidrogenasi heksil asetat dengan menggunakan berbagai katalis. *Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta*.

- Nishanthini, A., Agnel, R. and Mohan, V. R. (2012) 'Total phenolic, flavonoid contents and in vitro antioxidant activity of leaf of Suaeda monoica Forssk ex. Gmel (Chenopodiaceae)', *International Journal of Advanced Life Sciences*, 5(1).
- Prasetyo, A., Denashurya, T.G., Putri, W.S., Ilmiawan, M.I., (2016). Perbandingan Efek Hipoglikemik Infusa Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia* (Hamsley) A. Gray) dan Metformin pada Tikus yang Diinduksi Aloksan. IAI, Pontianak.
- Rompas, R. A., Jaya Edy, H. and Yudistira, A. (2012) 'Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dalam Daun Lamun (*Syringodium Isoetifolium*)'. Available at: <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/pharmacon/article/viewFile/487/380> (Accessed: 28 April 2019).
- Rosyidi, C. A. (2014) Efek Ekstrak Daun Insulin (*Smallanthus Sonchifolia*) Terhadap Kadar Glukosa Darah, Berat Badan, dan Kadar Trigliserida Pada Tikus Diabetes Strain Sprague Dawley yang Diinduksi Aloksan. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Saadah, H., Nurhasnawati, H. and Permatasari, V. (2017) 'Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia*(L.)Merr) dengan Metode Spektrofotometri', *Jurnal Borneo Journal of Pharmascientech*, 01(01).
- Sari, Y. E. (2012) Eksplorasi Senyawa Flavonoid Pada Ekstrak Maserasi Daun Insulin (*Smallanthus Sonchifolius*). *Karya Tulis Ilmiah*. Malang.
- Salamah, E., Ayuningrat, E. and Purwaningsih, S. (2008) 'Penapisan awal komponen bioaktif dari kijang taiwan (*Anodonta woodiana* Lea.) Sebagai Senyawa Antioksidan', *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*, XI(0251), pp. 119–133.
- Sulastrri, E., Oktaviani, C. and Yusriadi (2015) 'Formulasi Mikroemulsi Ekstrak Bawang Hutan dan Uji Aktivitas Antioksidan', *Jurnal Pharmascience*, 2(2), pp. 1–14.
- Tarigan, Juliati Br., Zahra C.F., dan Sihontang H (2008). Skrining Fitokimia Tumbuhan Yang Digunakan Oleh Pedagang Jamu Gendong Untuk Merawat Kulit Wajah Di Kecamatan Medan Baru. Departemen Kimia FMIPA, Universitas Sumatera Utara.
- Utami, R. D., Yuliawati, K. M. and Syafnir, L. (2015) 'Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan Daun Sukun (*Artocarpus Altilis* (Parkinson) Fosberg)', *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba*.