



## Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca catechu* L.) Menggunakan Metode $AlCl_3$

*Total Flavonoid Content of Pinang Seed Extract (Areca catechu L) Using  $AlCl_3$  Method*

Agitya Resti Erwiyani<sup>(1)</sup>, Dina Sihot Rejeki Gultom<sup>(2)</sup>, Dian Oktianti<sup>(3)</sup>

<sup>(1)(2)(3)</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Ngudi Waluyo

Email : agityaresti@gmail.com

### ABSTRAK

Pinang merupakan tanaman yang banyak tersedia di Indonesia dan memiliki berbagai manfaat. Pemanfaatan air rebusan biji pinang digunakan masyarakat dalam membersihkan dan menyembuhkan luka infeksi. Biji pinang mengandung senyawa fenolik seperti flavonoid, tannin, asam galat, katekin, beta-sitosterol, gum dan asam amino. Biji pinang dilakukan purifikasi untuk menghilangkan zat *ballast* yang tidak dibutuhkan. Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan kadar flavonoid total ekstrak kasar dan ekstrak terpurifikasi. Metode yang digunakan dalam penetapan kadar adalah metode kolorimetri  $AlCl_3$ . Penetapan kadar flavonoid dilakukan pada panjang gelombang 413,5 nm dengan standar baku pembanding kuersetin. Plot hubungan antara konsentrasi kuersetin versus absorbansi diperoleh persamaan kurva baku sebesar  $y = 0,0088x - 0,17$  dengan nilai  $R^2$  sebesar 0,9998. Uji kualitatif menunjukkan ekstrak biji pinang tanpa purifikasi, dengan perlakuan purifikasi n-heksan dan etil asetat mengandung metabolit sekunder diantaranya flavonoid, saponin, tannin dan fenol. Purifikasi pelarut n-heksan didapatkan hasil rendemen lebih banyak dibandingkan ekstrak yang dipurifikasi dengan pelarut etil asetat. Kadar flavonoid ekstrak tanpa purifikasi, ekstrak purifikasi pelarut n-heksan dan etil asetat berturut – turut sebesar 69,13 ; 130,3 ; dan 94,73 mgQE/g. Hal tersebut sebanding dengan perolehan % rendemen tertinggi diperoleh dari ekstrak terpurifikasi n-heksan. Purifikasi pada ekstrak akan menyebabkan hilangnya zat *ballast* dalam ekstrak sehingga kandungan flavonoid pada ekstrak akan lebih tinggi.

**Kata kunci : flavonoid, metode  $AlCl_3$ , ekstrak, purifikasi**

### ABSTRACT

Areca nut is a plant that is widely available in Indonesia and has various benefits. Utilization of boiled betel nut water is used by the community to clean and heal infected wounds. Betel nuts contain phenolic compounds such as flavonoids, tannins, gallic acid, catechins, beta-sitosterol, gum, and amino acids. Areca seeds are purified to remove unnecessary ballast substances. This study aims to determine the total flavonoid levels of crude extract and purified extract. The method used in the assay is the  $AlCl_3$  colorimetric method. Determination of flavonoid levels was carried out at a wavelength of 413.5 nm with a quercetin standard. The plot of the relationship between quercetin concentration versus absorbance obtained a standard curve equation of  $y = 0.0088x - 0.17$  with an  $R^2$  value of 0.9998. The qualitative test showed that betel nut extract without purification, with purification treatment of n-hexane and ethyl acetate, contained secondary metabolites including flavonoids, saponins, tannins, and phenols. The purification of the n-hexane solvent obtained more yields than the extract purified with ethyl acetate solvent. The flavonoid levels of the extract without purification, the purified extract of n-hexane and ethyl acetate were 69.13; 130.3; and 94.73 mg QE / g. This is comparable to the highest% yield obtained from purified

extracts of n-hexane. Purification of the extract will cause the loss of ballast substances in the extract so that the flavonoid content in the extract will be higher.

**Keywords: flavonoids, AlCl<sub>3</sub> method, extract, purification**

## PENDAHULUAN

Pinang merupakan tanaman yang banyak tersedia di Indonesia dengan berbagai manfaat diantaranya sebagai penyembuh luka bakar, cacingan dan kudis (Handayani, Sundu, & Karapa, 2016). Salah satu bagian tanaman pinang yang dapat dimanfaatkan adalah bagian biji. Pemanfaatan air rebusan biji pinang digunakan masyarakat untuk membersihkan dan menyembuhkan luka infeksi (Sudarsono et al., 1996). Pemanfaatan biji pinang juga digunakan sebagai anthelmintik pada manusia dan binatang (Hamsar, Ismail, Mordi, Ramanathan, & Mansor, 2011).

Biji pinang mengandung berbagai metabolit sekunder seperti alkaloid (arecoline, arecaidine, guvacine dan guvacoline). Biji pinang juga mengandung senyawa fenolik seperti flavonoid, tannin, asam galat, katekin, beta-sitosterol, gum dan asam amino (Hamsar et al., 2011 ; Samosir et al., 2012). Kandungan metabolit pada biji pinang dapat diekstraksi menggunakan pelarut etanol karena cenderung bersifat polar (Yuliani & Rasyid, 2019). Menurut Mulangsri & Zulfa (2020) purifikasi ekstrak akan menghasilkan kandungan flavonoid yang lebih besar dan murni. Purifikasi ekstrak biji pinang akan menghilangkan kandungan kimia yang tidak diperlukan sehingga aktivitas ekstrak meningkat (Malik, Ahmad & Najib, 2013).

Flavonoid merupakan salah satu dari kelompok fenolik yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan alami. Gugus hidroksil dalam flavonoid dapat meredam radikal bebas (El Guiche et al, 2015). Flavonoid memiliki aktivitas sebagai antikolinesterase, anti peradangan, inhibitor xanthin oksidase, serta memperbaiki gangguan *neurodegenerative* (Panche, Diwan, & Chandra, 2016).

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh variasi pelarut terhadap rendemen ekstrak terpurifikasi biji pinang serta kandungan flavonoid yang diduga bertanggung jawab terhadap aktivitas farmakologi biji pinang.

## METODE PENELITIAN

### 1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah alat gelas, oven, waterbath (Memmert), Spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu), *rotary evaporator* (Biobase), necara analitik (Ohaus).

Bahan yang digunakan biji pinang yang didapatkan dari Desa Kabupaten Semarang, n-heksan, etil asetat, etanol 96%, etanol pro analisis (Merck), aquadest (Bratachem), kuersetin (Sigma).

### 2. Metode Penelitian Ekstraksi biji pinang

Serbuk biji pinang kering sebanyak 300 mg direndam dengan pelarut etanol 96% sebanyak 3000 mL pada suhu kamar. Maserasi dilakukan selama 2 hari dan dilanjutkan dengan remaserasi. Maserat dilakukan penguapan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental kemudian dihitung % rendemen ekstrak.

### Purifikasi biji pinang

Purifikasi dilakukan dengan menimbang ekstrak kental sebanyak 10 g dan dilakukan purifikasi menggunakan pelarut n – heksan dan etil asetat. Hasil purifikasi masing – masing pelarut selanjutnya dievaporasi hingga didapatkan ekstrak kental.

### Analisis Kualitatif Kandungan Biji Pinang

Skринing fitokimia kandungan senyawa aktif biji pinang dilakukan dengan uji kualitatif dengan pereaksi warna dan uji kuantitatif flavonoid total.

### Analisis Kuantitatif Kandungan Biji Pinang

Penetapan panjang gelombang maksimal dilakukan pada panjang gelombang 350 – 500 nm. Penetapan *operating time* dilakukan dari menit 0 hingga 30. Pembuatan kurva baku kuersetin menggunakan konsentrasi 50, 60, 70, 80 dan 90 ppm. Penetapan kadar flavonoid dilakukan menggunakan metode *Aluminium Chloride Colorimetri* (Chang, Yang, Wen, & Chern, 2002). Kuersetin digunakan sebagai baku pembandingan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

Ekstrak biji pinang memiliki karakteristik warna merah kecoklatan dengan bau khas pinang.

**Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak Biji Pinang**

Bobot serbuk	Bobot ekstrak	Rendemen
300 gram	65,55,0 gram	21,85 %

Ekstrak biji pinang dilakukan purifikasi untuk menghilangkan senyawa yang tidak digunakan dalam penelitian. Purifikasi dilakukan menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat. Karakterisasi ekstrak dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2. Hasil Purifikasi Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu L.*)**

Bobot purifikasi	Rendemen	Bentuk	Warna	Bau
n-heksan	83 % b/b	Kental	Coklat kemerahan	Khas
Etil asetat	80,1 % b/b	Kental	Coklat kemerahan	Khas

**Tabel 3. Hasil Skринing Fitokimia**

Metabolit sekunder	Pereaksi	Hasil positif	Ekstrak		
			Kasar	Purifikasi n-heksan	Purifikasi Etil Asetat
Flavonoid	Tes shinoda	Merah-merah muda	+	+	+
Saponin	Air panas + HCL 2N	Berbuih	+	+	+
Tanin	Air panas + NaCl + FeCl3	Hitam kebiruan	+	+	+
Fenol	FeCl3	Hijau kehitaman	+	+	+

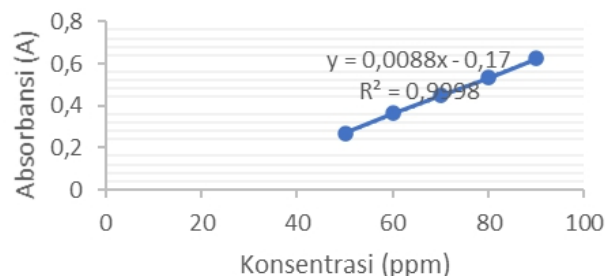
Keterangan :

+ = Positif mengandung senyawa metabolit sekunder

Identifikasi senyawa aktif biji pinang dilakukan dengan kualitatif. Ekstrak tanpa purifikasi dan purifikasi n-heksan dan etil asetat mengandung metabolit sekunder antara lain flavonoid, saponin, tannin dan fenol berdasarkan uji kualitatif.

Pengukuran panjang gelombang dilakukan running pada panjang gelombang 350 – 500 nm. Panjang gelombang maksimum standar baku kuersetin didapatkan pada panjang gelombang 413,50 nm dengan *operating time* pada menit 1 – 9.

**Kurva Baku Kuersetin**



**Gambar 1. Kurva Baku Kuersetin**

Pengukuran standar baku kuersetin diperoleh plot antara konsentrasi (ppm) dan absorbansi dengan persamaan kurva baku sebesar  $y = 0,0088x - 0,17$  dengan nilai  $R^2$  sebesar 0,9998.

Penetapan kadar flavonoid ekstrak kasar dan purifikasi biji pinang (*Areca catechu L*) dilakukan dengan hasil yang tersaji pada Tabel 4.

**Tabel 4. Kadar Flavonoid Total Biji Pinang**

Sampel	Rata – rata kadar flavonoid (mgQE/g)
Ekstrak kasar	69,13
Ekstrak purifikasi n-heksan	130,3
Ekstrak purifikasi etil asetat	94,73

### Pembahasan

Biji pinang yang masih segar dilakukan pengeringan dengan pemanasan tidak di bawah sinar matahari secara langsung untuk mencegah rusak kandungan metanolit sekunder yang bertanggung jawab terhadap aktivitasnya. Serbuk biji pinang dilakukan maserasi menggunakan etanol 96% lalu dievaporasi hingga didapatkan ekstrak kental. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi adalah etanol. Etanol merupakan pelarut yang baik untuk mengekstraksi biji pinang. Menurut Yuliani & Rasyid (2019), ekstraksi biji pinang menggunakan pelarut etanol menghasilkan rendemen lebih tinggi dibandingkan akuades. Kandungan flavonoid dalam tanaman tertinggi diperoleh dari ekstraksi dengan pelarut etanol (Mathur & Vijayvergia, 2017). Senyawa yang terkandung dalam biji pinang merupakan senyawa yang larut dalam pelarut polar. Ekstrak kental yang didapatkan dilakukan perhitungan rendemen dengan % rendemen sebesar 21,85%. Perhitungan rendemen digunakan untuk menghitung prosentase jumlah bahan yang tersisa hasil proses ekstraksi dan mengetahui tingkat keefektifan dari proses yang dihasilkan (Senduk, Montolalu, & Dotulong, 2020).

Ekstrak kasar yang dibuat dilakukan purifikasi menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat. Hasil % rendemen ekstrak terpurifikasi n-heksan lebih tinggi dibandingkan

ekstrak terpurifikasi etil asetat. Rendemen lebih tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif dalam ekstrak tersebut. Komponen metabolit sekunder dalam ekstrak terpurifikasi n-heksan lebih tinggi diduga karena banyak kandungan senyawa aktif yang bersifat polar (Yuliani & Rasyid, 2019). Ekstak terpurifikasi n-heksan dan etil asetat memiliki karakteristik yang sama dengan bentuk kental, warna coklat kemerahan dan bauk has pinang. Purifikasi menggunakan pelarut yang bersifat non polar akan menghilangkan zat *ballast* seperti lilin yang masih terkandung dalam ekstrak sehingga ekstrak yang diperoleh bersifat polar (Puspitasari & Pramono, 2015).

Hasil skrining fitokimia ekstrak biji pinang dan ekstrak terpurifikasi menunjukkan tidak adanya perbedaan kandungan senyawa metabolit sekunder. Pelarut etanol 96% dapat menyari metabolit sekunder seperti tannin, polifenol, poliacetilen, flavonol, terpenoid, steroid, alkaloid dan saponin (Kunti Mulangsri & Zulfa, 2020). Ekstrak kasar, ekstrak terpurifikasi n-heksan dan etil asetat menunjukkan hasil positif flavonoid, saponin, tanin dan fenol. Hasil penelitian Sa'roni & Adjirni (2012) menunjukkan hasil yang hampir sama bahwa biji pinang mengandung alkaloid, saponin dan tanin.

Analisis kuantitatif flavonoid dilakukan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dengan metode  $AlCl_3$ . Flavonoid termasuk dalam kelompok polifenol yang banyak terdapat pada tanaman dan kategorinya didasarkan pada struktur kimia pendukung. Flavonoid memiliki gugus aromatik yang terkonjugasi yang dapat dilakukan pengukuran menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Aktivitas farmakologi flavonoid berdasarkan gugus fungsinya (Subedi et al., 2014).

Prinsip metode kolorimetri  $AlCl_3$  adalah aluminium klorida membentuk kompleks asam stabil dengan gugus keto C-4 dan gugus hidroksi pada C-3 dan C-5 dari flavon dan flavonol. Aluminium klorida membentuk

kompleks asam yang labil dengan gugus ortho-dihydroxyl pada cincin A dan B dari flavonoid (Chang et al., 2002). Penambahan  $AlCl_3$  akan terbentuk kompleks antara aluminium klorida dengan kuersetin dan terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah visible dengan ditandai perubahan warna larutan menjadi kuning (Asmorowati & Lindawati, 2019).

Penetapan kadar flavonoid dilakukan pengukuran pada panjang gelombang maksimum menggunakan standar baku kuersetin. Kuersetin merupakan salah satu kelompok flavonoid golongan flavonol (Panche et al., 2016). Pengukuran panjang gelombang maksimal dilakukan pada rentang panjang gelombang 350 – 550 nm, didapatkan panjang gelombang maksimum sebesar 413,5 nm. Menurut Chang et al. (2002) flavonoid memiliki serapan maksimal pada panjang gelombang 413 nm. Panjang gelombang yang didapatkan digunakan untuk mengukur kadar flavonoid sampel. Penetapan *operating time* dilakukan untuk mengukur waktu stabil pengukuran sampel sebesar 1 – 9 menit.

Pembuatan kurva baku dilakukan untuk menghitung kadar kuersetin. Hasil kurva kalibrasi dinyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka absorbansi yang didapatkan semakin besar (Asngad & Bagas, 2018). Hasil persamaan kurva baku yang didapatkan sebesar  $y = 0,0088x - 0,17$  dengan nilai  $R^2$  dan  $r$  berturut – turut sebesar 0,9998 dan 0,9999. Nilai koefisien variasi ( $r$ ) yang diperoleh apabila mendekati angka 1 menunjukkan bahwa persamaan regresi adalah linier, sehingga diperoleh korelasi antara konsentrasi dan absorbansi sangat kuat (Asmorowati & Lindawati, 2019).

Hasil pengukuran kadar flavonoid pada ekstrak tanpa purifikasi, ekstrak terpurifikasi n-heksan dan terpurifikasi etil asetat biji pinang diperoleh hasil berturut – turut sebesar 69,13 ; 130,3 ; dan 94,73 mgQE/g. Kadar flavonoid pada ekstrak yang dilakukan purifikasi n-heksan dan etil asetat lebih tinggi dibandingkan ekstrak

tanpa purifikasi. Hal tersebut sebanding dengan perolehan % rendemen tertinggi diperoleh dari ekstrak terpurifikasi n-heksan. Purifikasi pada ekstrak akan menyebabkan hilangnya zat *ballast* dalam ekstrak yang bersifat lipofilik sehingga kandungan flavonoid pada ekstrak akan lebih tinggi dan kadar zat *ballast* akan diminimalkan (Puspitasari & Pramono, 2015). Flavonoid merupakan metabolit yang mempunyai aktivitas beragam seperti antibakteri, antiinflamasi, antioksidan, antijamur dan anthelmentik. Kandungan flavonoid yang terdapat dalam biji pinang antara lain naringenin, dihydrotricin, sinesetin, nobiletin, 8-demethyleucalyptin, eucalyptin, rhapontigenin, (+)isolariciresinol, glyceryl-2-vanillic acid methyl ester, calquiquelignan M dan N (Yuan et al., 2019).

## SIMPULAN

Ekstrak biji pinang mengandung senyawa metabolit flavonoid, saponin, tannin dan fenol berdasarkan uji kualitatif. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak purifikasi lebih tinggi dibanding ekstrak tanpa purifikasi. Ekstrak purifikasi n-heksan didapatkan rendemen yang lebih banyak dan kandungan flavonoid total paling tinggi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Asmorowati, H., & Lindawati, N. Y. (2019). Penetapan kadar flavonoid total alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan metode spektrofotometri. *Ilmiah Farmasi*, 15(2), 51–63.
- Asngad, A., & Bagas, A. R. (2018). Kualitas pembersih Tangan Hand Sanitizer. *Aprilia Bagas R, Nopitasari*, 4(2), 61–70. <https://doi.org/10.23917/bioeksperimen.v4i1.2795>
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3),





- 178–182. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- El Guiche, R., Tahrouch, S., Amri, O., El Mehrach, K., & Hatimie, A. (2015). Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid contents of 30 medicinal and aromatic plants located in the south of Morocco. *International Journal of New Technology and Research (IJNTR)*, 1(3), 7–11.
- Hamsar, M. N., Ismail, S., Mordi, M. N., Ramanathan, S., & Mansor, S. M. (2011). Antioxidant activity and the effect of different parts of areca catechu extracts on Glutathione-S-Transferase activity in vitro. *Free Radicals and Antioxidants*, 1(1), 28–33. <https://doi.org/10.5530/ax.2011.1.6>
- Handayani, F., Sundu, R., & Karapa, H. N. (2016). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca Catechu L.*) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Kulit Punggung Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 2(2), 154–160. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/330533931>
- Kunti Mulangsri, D. A., & Zulfa, E. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Terpurifikasi Daun Mangga Arumanis (*Mangifera indica L.*) dan Identifikasi Flavonoid dengan KLT. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 6(1), 55–62. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2020.v6.i1.14044>
- Malik, A., Ahmad, A. R., & Najib, A. (2013). Daun Teh Hijau Dan Jati Belanda. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2), 238–240.
- Mathur, R., & Vijayvergia, R. (2017). Determination of total flavonoid and phenol content in *Mimusops Elengi* Linn.
- International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(12), 5282–5285. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.8\(12\).5282-85](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.8(12).5282-85)
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- Puspitasari, A. D., & Pramono, S. (2015). Comparison of Methods of Producing Bee Propolis Purified Extract Based on Total Flavonoid Content Using Rutin As standard. *Traditional Medicine Journal*, 20(2), 81–86. <https://doi.org/10.22146/tradmedj.8076>
- Sa'roni, & Adjirni. (2012). Spesifikasi Simplisia Dan Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca Catechu L.*) Asal Tawangmangu Serta Toksisitas Akut Dan Khasiat Hemostatiknya Pada Hewan Coba. *Media of Health Research and Development*, 15(1 Mar), 1–5. <https://doi.org/10.22435/mpk.v15i1Mar.1136>
- Samosir, A. P., Runtuwene, M. R. J., & Citraningtyas, G. (2012). Uji Aktivitas Antioksidan Dan Total Flavonoid Pada Ekstrak Etanol Pinang Yaki (*Areca vestiaria*). *Jurnal MIPA Univ Sam Ratulangi*, 1(2), 1–6.
- Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (2020). Rendemen Ekstrak Air Rebusan Daun Tua Mangrove *Sonneratia alba* (The rendement of boiled water extract of mature leaves of mangrove *Sonneratia alba*). *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1), 9–15.
- Subedi, L., Timalsena, S., Duwadi, P., Thapa, R., Paudel, A., & Parajuli, K. (2014). Antioxidant activity and phenol and flavonoid contents of eight medicinal



plants from Western Nepal. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 34(5), 584–590. [https://doi.org/10.1016/s0254-6272\(15\)30067-4](https://doi.org/10.1016/s0254-6272(15)30067-4)

Sudarsono, Pudjoarinto, A., Gunawan, D., Wahyuono, S., Donatus, I. A., Drajad, M., Ngatidjan. (1996). *Tumbuhan Obat*. Pusat Penelitian Obat Tradisional Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Yuan, M., Ao, Y., Yao, N., Xie, J., Zhang, D., Zhang, J., Ye, W. (2019). Two new flavonoids from the nuts of areca catechu. *Molecules*, 24(16), 1–7. <https://doi.org/10.3390/molecules24162862>

Yuliani, H., & Rasyid, M. I. (2019). Efek Perbedaan Pelarut terhadap Uji Toksisitas Ekstrak Pineung Nyen Teusalee. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 6(2), 347–352. <https://doi.org/10.33096/jffi.v6i2.453>