

PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL PADA EKSTRAK ETANOL BUAH BELIMBING MANIS (*Averrhoa carambola* L.) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI VISIBEL

Ajeng Dian Pertiwi¹, Hari Susanti², Nina Salamah³, Any Guntarti⁴

¹ Dosen Farmasi Politeknik Medica Farma Husada Mataram

^{2,3,4} Dosen Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

Email: addian90@gmail.com¹

ABSTRAK

Flavonoid merupakan salah satu golongan senyawa aktif yang terdapat pada buah dan daun belimbing manis (*Averrhoa carambola* L). Flavonoid dapat digunakan sebagai antioksidan, antibakteri, antifungi, antivirus, antiinflamasi, antidiabetes, antineoplastik, hepatoprotektif, dan kardioprotektif. Melihat banyaknya manfaat dari flavonoid, maka pada penelitian ini dilakukan penetapan kadar flavonoid total pada ekstrak buah belimbing, sehingga pemanfaatan tanaman belimbing lebih optimal.

Buah belimbing manis (segar), dirajang halus kemudian dimaserasi menggunakan etanol 96%. Maserat kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Identifikasi flavonoid dalam ekstrak yang diperoleh diuji dengan metode kromatografi lapis tipis menggunakan fase diam silika F 254 dan fase gerak n-butanol-asam asetat-air (3 : 1: 1). Kadar flavonoid total ditetapkan dengan spektrofotometri visibel dengan penambahan aluminium klorida sebagai pereaksi pembentuk kompleks, pada panjang gelombang maksimum 420,6 nm dan *operating time* 30-55 menit dengan standar kuersetin.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol buah belimbing manis adalah $(0,08 \pm 0,01)\%$ b/b.

Kata kunci : buah belimbing manis, ekstrak etanol, flavonoid total, spektrofotometri visibel.

PENDAHULUAN

Di era industri seperti saat ini meningkatnya pencemaran lingkungan berdampak negatif pada kesehatan yang diakibatkan oleh banyaknya radikal bebas. Radikal bebas yang bersifat endogen ataupun eksogen merupakan etiologi penyakit degeneratif seperti jantung koroner (aterosklerosis), stroke, diabetes dan kanker (Rohman, dkk., 2006).

Dalam tubuh manusia sendiri memiliki sistem pertahanan endogen terhadap serangan radikal bebas, terutama terjadi melalui peristiwa metabolisme sel normal dan peradangan. Jumlah radikal bebas dapat mengalami peningkatan yang diakibatkan oleh faktor stress, radiasi, asap rokok dan polusi lingkungan. Hal ini menyebabkan sistem pertahanan tubuh yang ada tidak memadai, sehingga tubuh memerlukan tambahan antioksidan dari

luar yang dapat melindungi dari serangan radikal bebas (Wahdaningsih, dkk., 2011).

Antioksidan eksogen dapat berasal dari alam dan sintetis. Penelitian menunjukkan bahwa antioksidan alami memiliki aktivitas antioksidatif lebih tinggi daripada antioksidan sintetis. Karena itu, antioksidan alami mulai meningkat penggunaannya dan menggantikan antioksidan sintetis (Paiva dan Robert, 1999).

Antioksidan alami salah satunya berasal dari senyawa fenolik seperti golongan flavonoid. Flavonoid adalah suatu golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman (Saija, dkk., 1995). Senyawa-senyawa polifenol seperti flavonoid mampu menghambat reaksi oksidasi melalui mekanisme penangkapan radikal (*radical scavenging*) dengan cara menyumbangkan satu elektron pada elektron yang tidak berpasangan dalam

radikal bebas sehingga banyaknya radikal bebas menjadi berkurang (Pokorni, dkk., 2001). Manfaat lainnya dari flavonoid untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, anti inflamasi, mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik alami. Beberapa kasus menunjukkan flavonoid dapat berperan langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi mikroorganisme seperti bakteri atau virus dan juga dapat meningkatkan imunitas tubuh (Middleton, dkk., 2000).

Salah satu tanaman yang mengandung flavonoid adalah belimbing manis (*Avverhoa carambola* L.). Buah belimbing manis mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, protein, lemak, kalsium, fosfor, zat besi, serta vitamin A, B1, dan vitamin C (Wiryowidagdo dan Sitanggang, 2002). Bagian buah secara empiris juga dimanfaatkan sebagai obat untuk tekanan darah tinggi, menurunkan kadar kolesterol darah, mencegah kanker, memperlancar pencernaan, obat batuk, peluruh air kencing, peluruh lemak, dan obat radang usus (Wiryowidagdo dan Sitanggang, 2002; Arisandi dan Yovita, 2005). Daun dan batangnya dapat digunakan sebagai antiradang, peluruh kemih, dan penghilang panas (Hernani dan Rahardjo, 2005). Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kental metanol buah belimbing manis mengandung senyawa golongan flavonoid (Sukadana, 2009).

Mengingat banyaknya manfaat flavonoid bagi kehidupan manusia, dan belum adanya penelitian mengenai kadar flavonoid total yang terkandung dalam buah belimbing manis, maka penelitian ini

dilakukan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi dalam rangka pemanfaatan tanaman belimbing agar lebih optimal dan lebih terarah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi tanaman

Buah belimbing manis dideterminasi di Laboratorium Ilmu Alam Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Hasil determinasi adalah sebagai berikut:

1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15b-197a-198b-200b-201b-202b-203b-204a Oxalidaceae

1a *Averrhoa*

1a *Averrhoa carambola* L.

B. Pengumpulan bahan uji

Bahan yang dikumpulkan pada penelitian ini adalah berupa buah yang tidak terlalu matang yang memiliki warna kuning kehijauan. Bagian tanaman tersebut dipilih karena di masyarakat pada umumnya untuk pengobatan digunakan buah yang tidak terlalu matang, selain itu belum ada penelitian yang mengenai buah belimbing sehingga diharapkan pemanfaatan tanaman belimbing lebih maksimal dan terarah. Buah diperoleh dari daerah Sawangan, Magelang Jawa Tengah dalam keadaan segar, pada bulan Maret 2013. Tanaman belimbing manis dipilih yang berada pada satu area tempat tumbuh untuk menghindari variasi kandungan senyawa aktif karena perbedaan lingkungan.



Gambar 1. Bahan uji yang digunakan

C. Penetapan kadar air buah belimbing beserta ekstraknya

Kadar air ditetapkan terhadap buah belimbing manis yang masih segar, dan ekstrak etanol buah belimbing manis. Hasil penetapan menunjukkan bahwa kadar air rata-rata pada ekstrak etanol buah belimbing manis adalah 13,86 %

D. Pembuatan ekstrak buah belimbing

Ekstrak buah belimbing dibuat dengan metode maserasi, dimana sebanyak dua kilogram buah belimbing manis (segar) dimaserasi menggunakan penyari etanol 96% dengan sesekali diaduk. Maserasi dilakukan selama 24 jam.. Pengadukan dilakukan sesekali untuk meratakan konsentrasi larutan di luar butir serbuk simplisia sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam dan di luar sel (Anonim, 1986). Hasil penyarian dengan maserasi diupayakan dengan alat *rotary evaporator*, lalu dikentalkan di atas *waterbath* sehingga terbentuk ekstrak kental.

E. Uji identifikasi flavonoid

Identifikasi flavonoid selanjutnya dilakukan dengan metode kromatografi menggunakan fase gerak n-butanol-asam asetat glasial-air (BAA) dengan perbandingan 3:1:1 dan fase diam yaitu silika gel F 254. Menurut Markham (1988) fase gerak BAA dapat digunakan untuk memisahkan flavonoid. Silika merupakan bahan yang dapat memisahkan aglikon yang kurang polar, misalnya isoflavan, flavanon, metil flavon, dan flavonol.

Secara keseluruhan terlihat bahwa nilai Rf bercak yang diperoleh pada masing-masing ekstrak dengan ketiga pereaksi semprot mendekati harga Rf kuersetin standar yaitu 0,72. Ini menandakan di dalam ekstrak etanol buah terdapat senyawa kimia yang memiliki struktur hampir sama dengan kuersetin. Kromatogram kemudian dilihat di bawah sinar UV 254 dan UV 366. Pada ekstrak etanol buah belimbing diduga mengandung flavonol tanpa 5-OH bebas tetapi tersulih pada 3-OH, dimana memiliki kesamaan struktur dengan kuersetin yaitu tersubstitusi pada 3-OH.

F. Penetapan *operating time* (OT)

Operating time ditetapkan untuk mendapatkan waktu yang tepat untuk pembacaan absorbansi larutan yang diuji yaitu pada saat absorbansinya berlangsung stabil. *Operating time* dicari mulai dari saat reaksi dilakukan sampai diperoleh absorbansi yang stabil. *Operating time* pada penelitian ini adalah pada menit ke 30-55.

G. Penentuan panjang gelombang absorbansi maksimum

Penetapan panjang gelombang absorbansi maksimum dilakukan bertujuan agar absorbansi yang diperoleh adalah maksimum. Pada penelitian ini, panjang gelombang absorbansi maksimum larutan standar kuersetin 1,5 mg/100ml adalah sebesar 420,6 nm.

H. Pembuatan kurva baku kuersetin

Pada penelitian ini diperoleh data absorbansi standar kuersetin dalam berbagai konsentrasi adalah sebagaimana tertera pada tabel I.

Tabel 1. Data absorbansi kuersetin standar dengan berbagai konsentrasi

No.	Konsentrasi (mg/ 10ml)	Absorbansi
1.	0,3	0,214
2.	0,5	0,371
3.	0,7	0,411

No.	Konsentrasi (mg/ 10ml)	Absorbansi
4.	0,9	0,510
5.	1,1	0,559
6.	1,3	0,680
7.	1,5	0,791

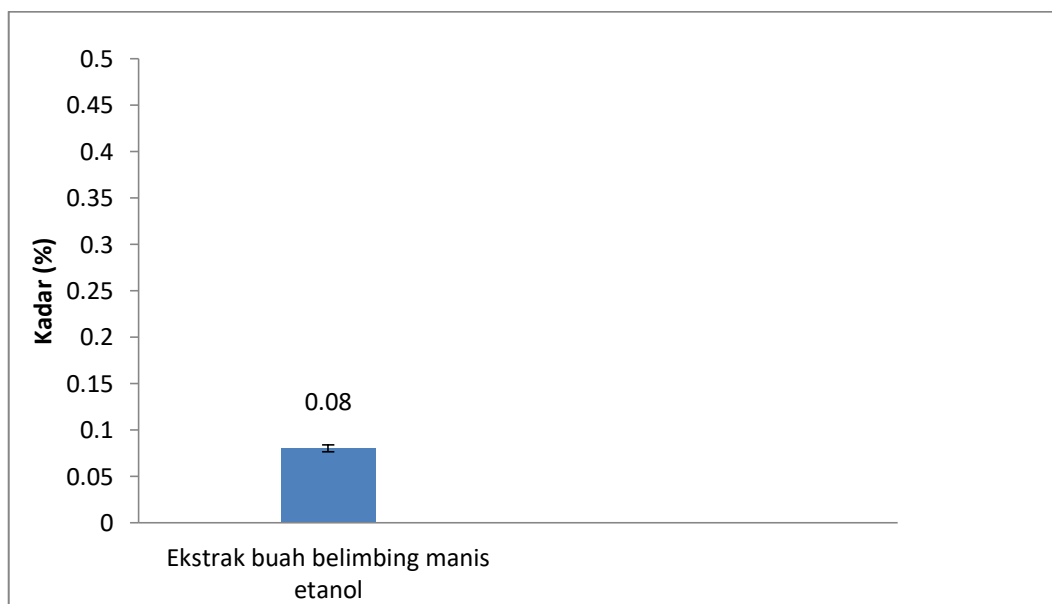
I. Penetapan kadar flavonoid total

Pada penelitian ini kadar flavonoid total dalam ekstrak ditetapkan dengan prosedur yang dilakukan oleh Soobratte (2006), yaitu sampel sebanyak 1,0 ml ditambah dengan 1,0 ml AlCl₃ 2%. Larutan yang dihasilkan berwarna kuning

karena terjadi reaksi pembentukan kompleks antara aluminium klorida dengan flavonoid. Pada penelitian ini diketahui bahwa kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol buah (0,08 ± 0,01) %b/b. Hasil penetapan kadar flavonoid total dari kedua ampel dapat dilihat pada tabel II dan gambar 2.

Tabel 2. Kadar flavonoid total ekstrak buah belimbing

Sampel	Replikasi	Berat (mg)	Absorbansi	Kadar Flavonoid Total (% b/b)	($\bar{x} \pm LE$)	CV (%)
Buah	1	19,98	0,237	0,07	0,08 ± 0,01	4,81
	2	20,02	0,260	0,08		
	3	19,98	0,249	0,08		
	4	19,98	0,251	0,08		
	5	19,98	0,241	0,08		
	6	20,02	0,260	0,08		
	7	20,02	0,262	0,09		



Gambar 2. Grafik kadar flavonoid total buah belimbing manis.

Berdasarkan data-data pada Tabel II dan Gambar 2 diketahui bahwa flavonoid total yang terkandung pada buah belimbing manis yaitu sebesar 0.08 %.

Pada umumnya tumbuhan membentuk pigmen flavonoid dalam beberapa sel terspesialisasi di salah satu atau beberapa organnya, dan proses ini sering terpacu

oleh cahaya. Produksi flavonoid memerlukan gula sebagai sumber fosfoenolpiruvat dan eritrosa-4-fosfat yang menyediakan beberapa atom karbon yang diperlukan bagi cincin B-flavonoid, serta sebagai sumber unit asetat untuk cincin A-flavonoid. Gula khususnya sukrosa dapat diperoleh dari proses peruraian pati atau lemak di organ penyimpanan saat perkembangan kecambah, atau dari fotosintesis di sel yang mengandung klorofil (Salisbury dan Ross, 1992).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan kadar flavonoid total ekstrak etanol buah belimbing manis, adalah $(0,08 \pm 0,01) \% \text{ b/b}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1986, *Sediaan Galenik.*, 10,11,16, Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Anonim, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, 1036,1065, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Arisandi, Y., dan Yovita, A., 2005, *Khasiat Tanaman Obat*, Edisi I, 69, Pustaka Buku Murah, Jakarta.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, 220-261, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Gritter, J.R., James M.B., Arthur E.S., 1991, *Pengantar Kromatografi*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, 107-105, ITB, Bandung.
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia Penuntun cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Ed. II, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, 4-15, 21, 47-89, ITB Press, Bandung.
- Heo, H.J., and Lee, C.Y., 2004, Protective Effects of Quercetin and Vitamin C againts Oxidative Stress Induced Neurodegeneration, 7514-7517, *J.Agric.Food Chem.*
- Hernani., dan Rahardjo, M., 2005. *Tanaman Berkhasiat Antioksidan*, 3, 49, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Hutapea, J.R., 2001, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I)*, Jilid 2, 39, Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta.
- Khopkar, S.M., 1990, *Konsep Dasar Kimia Analitik*, diterjemahkan oleh A. Saptorahardjo, 155-156, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Lakhanpal, P., and Rai, D.K., 2007, Quercetin : A Versatile Flavonoid, *Int. J. Med. Upd.*, Vol.2, No.2, 22-25.
- Mabry, T.J., Markham, K.R., and Thomas, M.B., 1970, *The Systematic Identification of Flavonoids*, 3-56, Springer-Verlag, New York, Heldeberg-Berlin.
- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, 1-75, ITB Press, Bandung.
- Middleton, E.Jr., Kandaswami, C., dan Theoharides, T.C., 2000, The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implication For Inflammation, Heart Disease, And Cancer, *Pharmacological Review*, 2, 673-751.
- Neergheen, V.S., Bahorun, T., Pugo-Gunsam, P., Ng Foong Lin, D., Ramful, D., dan Aruoma, O.I., 2010, Phenolic Constituents and Antioxidant Efficacies of some Mauritian Traditional Preparations Commonly Used Againts Cardiovascular Disease, *International Journal of Pharmacognosy and*

- Phytochemical Research*, 2(3): 44-52.
- Noorlina., 2007, Uji aktivitas antioksidan sebagai penangkap radikal bebas dengan ekstrak etanol daun belimbing manis, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.
- Paiva, A.R., and Robert, M.R., 1999, Carotene and carotenoids as antioxidants, *Journal of the American College of Nutrition*, **Vol. 18** : 426-433.
- Pokorni, J., Yanishlieva, N., and Gordon, M., 2001, *Antioxidant in Food; Practical Applications*, CRC Press, New York.
- Robinson, T., 1995, *Kandungan organik tumbuhan tinggi*, edis VI, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, 191-216, ITB ,Bandung.
- Rohman, A., Riyanto, S., dan Utari, D., 2006, Aktivitas antioksidan kandungan fenolik total dan kandungan flavonoid total ekstrak etil asetat buah mengkudu serta fraksi – fraksinya, *Majalah Farmasi Indonesia* , **Vol 17(3)** : 136 – 142.
- Rohman, A., dan Sugeng, R., 2005, Daya antioksidan ekstrak etanol Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) secara in vitro, *Majalah Farmasi Indonesia*, **Vol 16 (3)** : 136 – 140.
- Roth, HJ., dan Blaschke, G., 1994, *Analisis Farmasi*, cetakan kedua, diterjemahkan oleh Sarjono Kisman dan Slamet Ibrahim, 367-368, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Saija, A., Mario, S., Maria, L., Daniela, M., Francesco, B., and Francesco, C., 1995, Flavonoids as antioxidant agents : importance of their interaction with biomembranes, *Free Radical . Biology. & Medicine*, 19(4) : 481-486.
- Salisbury, B.F., and Ross, W. C., 1992, *Plant Physiology*, Wadsworth Publishing Co., A division of wadsworth, Inc, diterjemahkan oleh Dian R Lukman dan Sumaryono, Jilid III, 157-159, ITB, Bandung.
- Sastrohamidjojo, H., 2001, *Spektroskopi*, Edisi Kedua, 11-39, Liberty, Yogyakarta
- Sastrohamidjojo, H., 1996, *Sintesis Bahan Alam* ,140, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta..
- Soobrattee, A, M, Neergheen, S, V., Bahorun, T., and Auroma, I., 2006, Characterization of The Phenolic Constituen in Mauritian Endemic Plants as Determination of Their Antioxidant Activities in Vitro, *Journal of Plant Physiology*, Vol : 163, 787-799.
- Stahl, 1985, *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung, 3-7.
- Stenis, C.G.G.J.V., 1997, *Flora Untuk Sekolah di Indonesia*, diterjemahkan oleh Moesso Surjowinoto, 235-236, PT Pradnya Paramita, Jakarta.
- Sukadana, I.M., 2009, Senyawa antibakteri golongan flavonoid dari buah belimbing manis (*Averrhoa carambola* L), *Jurnal Kimia*, **Vol: 3(2)** : 109-116.
- Trease, G.E., and Evans, W.C., 1989, *Pharmacognosy*, 419-420, ELBS, Low Priced Edition Oxford.
- Underwood, A.L., dan Day, R.A., 1996, *Analisis Kimia Kualitatif*, Edisi keenam, 397-404, Erlangga, Jakarta.
- Wahdaningsih, S., Erna, P.S., Subagus, W., 2011. Aktivitas penangkap radikal bebas dari batang pakis (*Alsophila glauca* J. Sm), *Majalah*

Obat Tradisional, Vol 16 (3) : 153
– 156.
Wijayakusuma, H.M., dan Dalimartha, S.,
1988, *Ramuan Tradisional Untuk
Pengobatan Darah Tinggi*, 24,
Niaga Swadaya, Jakarta.

Wiryowidagdo, S., dan Sitanggang, M.,
2002, *Tanaman Obat untuk
Penyakit Jantung, Darah Tinggi,
dan Kolesterol*, 57, AgroMedia
Pustaka, Jakarta.