

Penetapan Kadar Total Flavonoid Dan Tanin Ekstrak Etanol Umbi Sarang Semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M. Perry) Dengan Spektrofotometri UV-Vis

Nina Irmayanti Harahap

Program Profesi Apoteker, Fakultas Farmasi, Kesehatan Deli Husada Deli Tua

hrpnina19@gmail.com

ABSTRAK

Sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M.Perry) banyak dijumpai dipulau Nias provinsi Sumatera utara dan merupakan tumbuhan yang sudah dikenal dan banyak dimanfaatkan secara turun-temurun oleh masyarakat. Tanaman sarang semut bersifat epifit dimana tumbuh dengan cara menempel pada tumbuhan lain sebagai tempat hidupnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar total flavonoid dan tanin tanaman ekstrak etanol umbi sarang semut (EEUSS) dengan metode analisis kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif dengan menggunakan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang menggunakan fase diam Silika GF254 dan fase gerak metanol:kloroform (1:9) pada flavonoid dan uji reagen *Folin Ciocalteu* pada tanin. Analisis kuantitatif dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 430 nm, bahan baku kuersetin untuk flavonoid dan 546 nm dan bahan baku asam galat untuk tanin. Metode pada penelitian ini adalah eksperimental meliputi pengumpulan dan penyiapan bahan tumbuhan, karakterisasi simplisia, skrining fitokimia, uji kualitatif dan penetapan kadar total flavonoid dan tanin. Hasil Skrining fitokimia dan uji kualitatif diperoleh bahwa EEUSS mengandung flavonoid, tanin dan saponin, jenis senyawa flavonoid jenis flavonol yang ditandai dengan warna kuning keputihan pada uji KLT dan jenis senyawa tanin merupakan jenis tanin terkondensasi yang ditandai dengan warna hijau kehitaman dengan menggunakan pereaksi FeCl₃. Hasil analisis kadar total senyawa flavonoid dan tanin dalam ekstrak etanol umbi sarang semut (*Myrmecodia Pendens* Merr. & L.M.Perry) ditentukan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis dengan total flavonoid yaitu 47,251 QE/g atau 4,725% dan total tanin 31,385 GAE/g atau 3,1385%.

Kata kunci : EEUSS, flavonoid, tanin, spektrofotometri UV-Vis

ABSTRACT

Background: Ant's nest (*Myrmecodia Pendens* Merr. & L.M.Perry) is a plant commonly found on Nias of island North of Sumatera province, which has been known and utilized for generations by the community. Ant nest plants are epiphytes where these plants grow by hitchhiking or attaching to other plants as a place of life. This study aims to determine the total flavonoid and tannin levels from in anthill plants ekstrak (EEUSS) using qualitative and quantitative analysis methods. Qualitative test conducted by phytochemical screening and Thin Layer Chromatography (KLT) test with stationary phase silica GF254 and methanol:chloroform (1:9) mobile phase on flavonoids and Folin Ciocalteu reagent test on tannins. Quantitative analysis using UV-Vis Spectrophotometry method at a wavelength of 430 nm with quercetin raw material for flavonoids and 546 nm with gallic acid raw material for tannins. The method in this research is experimental research including collection and preparation of plant materials, characterization of simplisia, phytochemical screening, qualitative tests and determination of total flavonoid and tannin levels. The results of phytochemical screening and qualitative tests obtained that the anthill plant contains flavonoids, tannins and saponins, the kind of flavonoid compound is a kind of flavonol characterized by a whitish yellow color in the KLT test and the type of tannin compound is a type of condensed tannin characterized by a blackish green color using FeCl₃ reagent. The results of the research, the total levels of flavonoid and tannin compounds in the ethanol extract of anthill tubers (*Myrmecodia Pendens* Merr. & L.M.Perry) can be determined using the UV-Vis Spectrophotometry method and the results of the analysis of total flavonoid content were 47.251 QE/g or 4.725% and total tannins 31.385 GAE/g or 3.1385%.

Keyword : EEUSS, flavonoids, tannins, UV-Vis spectrophotometry.

I. PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Salah satu tanaman lokal Indonesia yang bersifat empifit dan banyak ditemukan di pulau Nias berkhasiat sebagai obat adalah Sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M.Perry) Tanaman ini memiliki banyak senyawa metabolit sekunder aktif seperti flavonoid, tanin dan polifenol yang bersifat sebagai antioksidan. Masyarakat sekitar secara tradisional memanfaatkan sarang semut untuk mengobati bisul, wasir, epistaksis, sakit punggung, alergi, gangguan asam urat, stroke, masalah jantung koroner, TBC, kanker, diare dan demam dengan cara meminum air rebusan sarang semut (Soeksmanto, et al., 2010). Hasil dari beberapa penelitian diketahui sarang semut mengandung senyawa flavonoid yang bersifat antioksidan yang dapat menghambat sel HeLa yang merupakan sel yang terdapat pada kanker serviks (Kholifah dkk, 2017). Sarang semut juga memiliki antioksidan yang lebih tinggi dari vitamin C dilihat dari nilai IC50, ekstrak air sarang semut sebesar 4,94µg/ml dimana nilai IC50 vitamin C sebesar 2,54µg/ml dan uji toksisitas menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) diperoleh nilai LC50 sebesar 152µg/ml termasuk kategori toksik karena berada pada rentang nilai di bawah 1000 ppm apabila nilai $LC50 \leq 30$ ppm maka bersifat sangat toksik, ketika konsentrasi ekstrak $31 \text{ ppm} \leq LC50 \leq 1000$ ppm bersifat toksik jika $LC50 > 1000$ ppm maka bersifat tidak toksik (Nina Imaniar dkk, 2022). Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder dari polifenol yang terdapat pada tanaman, yang bisa di jumpai pada daun, akar, kulit, buah, bunga dan biji. Flavonoid berupa kuersetin yang tergolong sebagai flavonol yang terdapat di dalam sarang semut berperan dalam inaktivasi karsinogen, antiproliferasi, penghambatan siklus sel (Fatmawati dkk, 2011). Menurut Sujarnoko T, (2012) Tanin merupakan senyawa fenol dengan berat molekul yang tinggi. Struktur tanin terdiri atas gugus flavan-3-ol yang terhubung dengan ikatan karbon C4-C6 atau C4-C8. Sifat tanin sebagai antioksidan sekunder yaitu yang dapat menangkap radikal bebas sehingga mencegah terjadinya reaksi berantai stres oksidatif. Berdasarkan penelitian tersebut, perlu dilakukan penetapan kadar senyawa flavonoid dan tanin pada ekstrak etanol umbi sarang semut yang berasal dari pulau Nias sehingga dapat digunakan sebagai bahan aktif obat tradisional dan sebagai dasar dalam perhitungan dosis dalam pemeriksaan mutu.

2. Perumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu :

1. Apakah pada umbi sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M.Perry) mengandung senyawa golongan flavonoid dan tanin?
2. Apakah metode Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk menetapkan kadar total senyawa flavonoid dan tanin pada ekstrak etanol umbi sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M.Perry)?
3. Apakah jenis senyawa Flavonoid dan Tanin yang di peroleh berdasarkan Uji kualitatif dari ekstrak etanol umbi sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M.Perry)??

3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Apakah pada umbi sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M.Perry) mengandung senyawa golongan flavonoid dan tanin.
2. Apakah metode Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk menetapkan kadar total senyawa flavonoid dan tanin pada ekstrak etanol umbi sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M.Perry).
3. Apa sajakah jenis senyawa Flavonoid dan Tanin yang di peroleh berdasarkan Uji kualitatif yang diharapkan dapat dikembangkan menjadi obat anti kanker yang dapat dijangkau oleh masyarakat.

4. Manfaat Penelitian

Manfaat dari pelaksanaan penelitian ini adalah :

1. Memberikan wawasan dan informasi kepada peneliti selanjutnya dan masyarakat terhadap penggunaan umbi sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M.Perry) sebagai anti kanker.
2. Bermanfaat dalam bidang pendidikan khususnya kesehatan untuk dikembangkan lagi menjadi sediaan obat anti kanker yang mudah di jangkau oleh masyarakat.
3. Memberikan informasi dan bukti secara ilmiah tentang jenis senyawa flavonoid dan tanin yang terdapat pada umbi sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M.Perry).

II. METODE

Persiapan Sampel

Sampel umbi sarang semut sebanyak 5 kg dikumpulkan, setelah bersih ditimbang dan dikeringkan pada lemari pengering pada suhu 40⁰C. Selanjutnya bahan tersebut diserbukan disimpan pada tempat yang terlindungi dari cahaya matahari dan diberi etiket.

Isolasi Bahan Aktif

Dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% selama 3 hari dan remaserasi selama 2 hari dan dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak etanol kental umbi sarang semut (EEKUSS).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dengan menggunakan pereaksi fitokimia dilihat berdasarkan perubahan warna, endapan dan terbentuknya busa. Serbuk simplisia ditambahkan dengan masing-masing pereaksi fitokimia terhadap uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan glikosida.

Uji Kualitatif

- a. Penentuan golongan senyawa flavonoid menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Disiapkan lempeng KLT silika GF254 dipotong sesuai ukuran pengembang bejana. Fase gerak yang digunakan adalah campuran metanol:kloroform (1:9) ditandai dengan 1 cm pada batas atas dan batas bawah. Dilakukan penjenuhan di dalam bejana dengan menggunakan kertas saring pada bagian dinding *chamber* dan segera ditutup rapat. Setelah jenuh, dilakukan penotolan sampel pada lempeng KLT kemudian dijenuhkan di dalam *chamber*. Lempeng KLT kemudian diamati pada sinar tampak, sinar UV 366 nm, dan diuapkan dengan amoniak dideteksi positif mengandung flavonoid jika menghasilkan bercak berwarna kuning keputihan dengan latar belakang ungu (Demirezer dkk. 2001).
- b. **Penentuan golongan senyawa tanin**
Sebanyak 0,5 gram sampel di didihkan dalam 10 ml air didalam tabung reaksi dan kemudian disaring. Tambahkan beberapa tetes FeCl₃ 0,1 % lalu diamati. Jika terjadi perubahan warna hijau atau biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin (Oktaviani, dkk, 2019).

Uji Kuantitatif senyawa Flavonoid dan senyawa Tanin menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dan Pembuatan larutan Induk Kuersetin

Ditimbang sebanyak 10 mg baku standar kuersetin dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, lalu ditambahkan aquadest sampai tanda batas dan diperoleh larutan dengan 1000 ppm (LIB I). Kemudian diambil 1 ml larutan induk kuersetin 1000 ppm dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml ditambahkan aquadest sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan dengan 100 ppm (LIB II) (Moektiwardoyo M, dkk, 2011).

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Sebanyak 2,5 mL larutan kuersetin 100 µg/mL dipipet dan diencerkan dengan aquadest hingga 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 50 µg/mL. Dipipet 1 mL, ditambahkan 3 mL

Irmayanti Harahap N : Penetapan Kadar Total Flavonoid Dan Tanin Ekstrak Etanol Umbi Sarang Semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M. Perry) Dengan Spektrofotometri UV-Vis

etanol 96%. 0,2 mL AlCl₃ 10% dan 0,2 mL CH₃COOK 1M, ditambahkan 5,6 mL aquadest didiamkan selama 30 menit. Absorbansi diukur panjang gelombang 400-800 nm (Azizah dkk, 2014).

III. HASIL PENELITIAN

Skrining Fitokimia

Umbi sarang semut yang dianalisis adalah diperoleh di daerah Kota Gunungsitoli, Provinsi Sumatera Utara. Diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% yang diketahui merupakan jenis pelarut yang polar sehingga dapat menarik senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar dan juga pelarut etanol juga tidak toksis, netral, tidak berbahaya bagi lingkungan serta titik didihnya yang rendah sehingga mudah untuk diuapkan (Fatonah dkk, 2021). Kemudian dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator, sehingga diperoleh ekstrak kental dari EEUSS sebanyak 79,4 gram.

Karakterisasi Simplisia

Hasil uji karakteristik simplisia umbi sarang semut memenuhi persyaratan menurut Materia Medika Indonesia (MMI) jilid IV (Tabel 1)

Tabel 1. Hasil Karakterisasi Simplisia

Parameter	Hasil %	Syarat Materi Medika Indonesia (MMI)
Kadar Air	7,99%	<10%
Kadar Sari Larut Dalam Air	19,50%	>18%
Kadar Sari Larut Dalam Etanol	29,26%	>12,5%
Kadar Abu Total	4,9%	<7,5%
Kadar Abu tidak larut dalam Asam	0,93%	<1,5%

Skrining Fitokimia

Pada Tabel 2. Hasil skrining fitokimia positif flavonoid ditandai dengan adanya endapan coklat, positif saponin dengan terbentuknya busa dan tidak hilang selama 1 menit selanjutnya positif tanin ditandai dengan warna hijau kehitaman, pada senyawa alkaloida dan glikosida dinyatakan negatif.

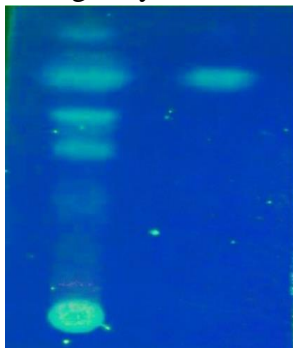
Golongan Senyawa	Hasil	Kesimpulan
Flavonoid	Endapan coklat	+
Saponin	Buih/busanya	+
Tanin	hijau kehitaman	+
Glikosida	lapisan cincin warna ungu	-
Alkaloida	Endapan merah bata	-

Gambar 1. Skrining Fitokimia\

Uji Kualitatif

a. Penentuan golongan senyawa flavonoid menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan uji penegasan dari hasil identifikasi reaksi warna. Konsentrasi ekstrak yang ditotolkan adalah 1% menggunakan eluen yaitu

metanol:kloroform (1:9). Fase eluen yang diambil ini baik untuk menarik senyawa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada lempeng KLT terbentuk bercak warna kuning keputihan/redup dengan latar belakang ungu setelah dilihat dibawah sinar UV 366 nm. Hal ini terjadi karena sampel mengandung senyawa antioksidan (Lade et al., 2014).



Gambar 2. Hasil kualitatif Flavonoid pada KLT

Berdasarkan hasil KLT pada Gambar 1. Didapatkan nilai Rf standar kuersetin sebesar 0,8 adapun nilai Rf yang baik adalah antara 0,2-0,8 (Rohman, 2009) dan berdasarkan hasil indentifikasi secara KLT menunjukkan golongan senyawa kuersetin merupakan golongan Flavonol yang mengandung 3-OH bebas.

b. Penentuan golongan senyawa tanin menggunakan pereaksi FeCl₃

Pengujian tanin didasarkan pada kemampuan senyawa untuk membentuk warna dengan penambahan FeCl₃ 5%. Dari hasil yang diperoleh dari pengujian pada simplisia umbi sarang semut menunjukkan hasil yang positif dengan terbentuknya hijau kehitaman dan menunjukkan adanya tanin (Depkes RI, 1955).



Gambar 3. Hasil kualitatif tanin dengan pereaksi FeCl₃

Kadar Senyawa Flavonoid

Penetapan kadar flavonoid EEUSS menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis merek Genesys 150. Prinsip dari metode ini adalah pengukuran berdasarkan pembentukan warna akibat terbentuknya senyawa kompleks antara metanol dengan gugus keton. Kuersetin merupakan golongan flavonol yang mempunyai gugus keton pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada C-3 dan C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol (yulistian, 2015). Panjang gelombang maksimum kuersetin yang diperoleh pada EEUSS adalah 430 nm. Penentuan kurva kalibrasi dilakukan dengan membuat empat deret konsentrasi kuersetin yaitu 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm dan 12 ppm, deret ini dibuat untuk mengencerkan larutan induk Kurva kalibrasi kuersetin untuk mendapatkan persamaan regresi linear yang bertujuan untuk mengetahui nilai kurva baku kuersetin sehingga dapat dihitung kadar senyawa flavonoid yang terdapat didalam EEUSS menggunakan spektrofotometri UV-Vis diperoleh hasil nilai rata-rata dari 3 kali pengulangan yaitu 47,251 QE/g atau 4,725%. Kadar total dari senyawa dihitung dengan memasukkan kedalam persamaan regresi linear

Irmayanti Harahap N : Penetapan Kadar Total Flavonoid Dan Tanin Ekstrak Etanol Umbi Sarang Semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & L.M. Perry) Dengan Spektrofotometri UV-Vis

$y = ax+b$, yang diperoleh dari kurva kalibrasi pembanding dan hasil dinyatakan dalam satuan QE/gram.

Dimana :

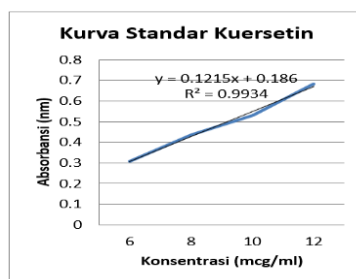
y = Menyatakan absorbansi

x = Konsentrasi

b = Slope

a = Intersept (titik pertemuan x dan y)

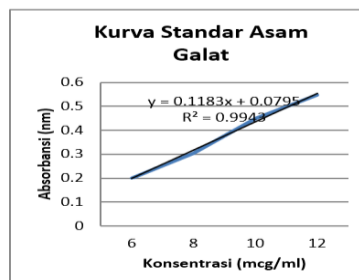
Persamaan regresi kuersetin yaitu $y = 0,0608x + 0,057$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar $r = 0,9982$ (dapat dilihat pada Gambar 3). Absorban dipengaruhi oleh konsentrasi dan dipengaruhi oleh faktor lain seperti suhu, alat, cahaya, dan lain-lain. Nilai r yang mendekati 1 menunjukkan kurva kalibrasi linier dan terdapat hubungan antara konsentrasi larutan kuersetin dengan nilai absorban. Batas deteksi (BD) didapat $2,150992 \mu\text{g/mL}$ artinya konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi terkecil yang dapat dideteksi, dan batas kuantitas (BK) didapat $6,518157 \mu\text{g/mL}$ yang merupakan konsentrasi terkecil yang tidak menimbulkan bias perhitungan.



Gambar 4. Kurva Standar Kuersetin

Kadar Senyawa Tanin

Penetapan kadar tanin dengan cara spektrofotometri Uv-Vis menggunakan reagen *folin ciocalteu*. Reaksi pembentukan yang terjadi adalah reduksi oksidasi dimana tanin sebagai oksidator. Hasil oksidasi akan membentuk warna biru yang dapat dibaca panjang gelombang maksimal. Reagen *folin ciocalteu* digunakan karena senyawa fenolik dapat bereaksi dengan folin membentuk larutan berwarna yang dapat diukur absorbansinya. Senyawa fenolik beraksi dengan reagen folin ciocalteu hanya dalam suasana basa digunakan Na_2CO_3 Panjang gelombang maksimum asam galat yaitu 546 nm. Penentuan kurva kalibrasi dilakukan dengan membuat konsentrasi empat deret konsentrasi asam galat yaitu konsentrasi 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm. Hasil penetapan kadar tanin ekstrak etanol umbi sarang semut menggunakan spektrofotometri UV-Vis diperoleh nilai rata-rata dengan 3 kali pengulangan yaitu 31,385 GAE/g atau 3,1385%. Persamaan regresi asam galat yaitu $y = 0,0592x + 0,1571$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar $r = 0,9934$ (dapat dilihat pada Gambar 4). Batas deteksi (BD) didapat $0,594678 \mu\text{g/mL}$ artinya konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi terkecil yang dapat dideteksi, dan batas kuantitas (BK) didapat $1,802056 \mu\text{g/mL}$ yang merupakan konsentrasi terkecil yang tidak menimbulkan bias perhitungan.



Gambar 5. Kurva Standar Asam Galat

IV. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut: Pada penetapan kadar total EEUSS yang dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis mengandung senyawa flavonoid yang merupakan jenis golongan flavonol yang ditandai dengan bercak warna kuning keputihan dengan kadar 47.251 QE/g (4.725%) terhadap kuersetin dan terdapat senyawa tanin yang merupakan jenis golongan tanin terkondesasi yang ditandai dengan warna hijau kehitaman dengan kadar 31.385 GAE/g (3.1385%) terhadap asam galat.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfian, R. & Susanti, H. (2012). Penetapan kadar fenolik total ekstrak metanol kelopak bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan variasi tempat tumbuh secara spektrofotometri. *Pharmaciana*. 2(1): 73-80.
- Demirezer, L. O., Kruuzum-Uz, A., Bergere, I., Schiewe, H. J., dan Zeeck, A. 2001. The Structures of Antioxidant and Cytotoxic Agents from Natural Source: Antraquinones and Tannin from Roots of *Rumex patientia*. *Phytochemistry*. 58: 1213-1217. C. C. Chan, Y. C. Lee, H. Lam, and X.-M. Zhang, *Analytical Method*
- Depkes Departemen Kesehatan Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia*. Ed ke 4. Departemen Kesehatan RI: Jakarta. 1288.
- Fatmawati, D., Puspitasari, P.K. and Yusuf, I., 2011, Efek Sitotoksik Ekstrak Etanol Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*) Pada Sel Line Kanker Serviks HeLa Uji Eksperimental Secara In Vitro Cytotoxic Effect of Ethanolic Extract of Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*) on HeLa Cervix Cancer Cell Line, *Sains Medika*, 3(2), 112–120.
- Kholifah N.W, Muhartono, Nora R. 2017, Sarang Semut (*Myrmecodia pendans*) sebagai Antikanker, *Medula* volume 7, No 5 Universitas Lampung.
- Oktaviani WD, Saraswati LD, Rahfiludin MZ. Hubungan Kebiasaan Konsumsi Fastfood, Aktivitas fisik, Pola Konsumsi, Karakteristik Remaja dan Orang Tua dengan Indeks Massa Tubuh (IMT) (Studi Kasus Pada Siswa SMA Negeri 9 Semarang Tahun 2012). *Jurnal Kesehatan Masyarakat [Internet]*. 2012 [cited 2013 Feb 15]; 1(2):542-553.
- Rohman, A., 2009, *Kromatografi Untuk Analisis Obat*, Graha Ilmu: Yogyakarta.
- Soeksmanto, A., Subroto, M.A., Wijaya, H. and Simanjuntak, P., 2010, Anticancer activity test for extracts of sarang semut plant (*Myrmecodya pendens*) to HeLa and MCM-B2 cells, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 13(3), 148–151. Willey & Sons, Inc, 2006. *webbiana leaves*,” *International Journal of ChemTech Research*, 2009.
- Sujarnoko T. Studi meta-analisis efek senyawa metabolit sekunder tanin terhadap kualitas silase. Bogor: Institut Pertanian Bogor;2012.

Accepted Date	Revised Date	Decided Date	Accepted to Publish
19 Februari 2024	21 Maret 2024	16 April 2024	Ya