

SKRINING FITOKIMIA DAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ASETON DAN ETIL ASETAT BIJI BUAH BISBUL (*Diospyros discolor*) TUMBUHAN ENDEMIK BOGOR

Dian Arrisujaya, Devy Susanty, Resha Ratna Kusumah
Program Studi Kimia, Universitas Nusa Bangsa
Email: arrisujaya@unb.ac.id

ABSTRAK

Beberapa bagian dari *Diospiros discolor* (tanaman Bisbul) telah dilaporkan memiliki berbagai khasiat terkait dengan kandungan flavonoid pada masing-masing bagian tanaman tersebut. Biji buah bisbul belum dilaporkan dan diduga mempunyai kandungan yang sama dengan bagian lain. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dan kadar flavonoid total pada ekstrak biji bisbul. Pada penelitian ini, biji buah bisbul diekstrak menggunakan pelarut aseton dan etil asetat. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi selama 4×24 jam dengan penggantian pelarut. Rendemen ekstrak aseton dan etil asetat biji buah bisbul yaitu 30,12% dan 28,14%. Kandungan metabolit sekunder pada masing-masing ekstrak diketahui melalui skrining fitokimia. Hasil Uji fitokimia menunjukkan kedua ekstrak mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, Triterpenoid/Steroid, dan Tanin. Analisis kadar flavonoid total pada kedua ekstrak dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-VIS. Kadar flavonoid total ekstrak etil asetat lebih tinggi dari ekstrak aseton yaitu masing-masing $423,60 \pm 2,68$ dan $377,03 \pm 1,50$ mg Ekuivalen Katekin/ g ekstrak.

Kata Kunci: Flavonoid, Fitokimia, *Diospyros discolor*, Aseton, Etil Asetat

ABSTRACT

Some parts of Diospiros discolor (Bisbul plant) have been reported to have various properties related to the flavonoid content in each part of the plant. Bisbul seeds have not been reported and are thought to have the same content as other parts. This research was conducted to determine the content of secondary metabolites and total flavonoids in extract of Bisbul seeds. In this study, Bisbul seeds were extracted using acetone and ethyl acetate. Extraction was carried out by maceration method for 4 × 24 hours with solvent replacement. The yield of acetone extract and ethyl acetate of Bisbul seeds were 30.12% and 28.14%. The content of secondary metabolites in each extract was known through phytochemical screening. Phytochemical Test Results show that both extracts contain alkaloids, flavonoids, saponins, Triterpenoids / Steroids, and tannins. Analysis of total flavonoid was performed using a UV-VIS spectrophotometer. Total flavonoids of ethyl acetate extract were higher than acetone extract, respectively 423.60 ± 2.68 and 377.03 ± 1.50 mg catechins equivalent/g extract.

Keywords: Flavonoids, Phytochemicals, Diospyros discolor, Acetone, Ethyl Acetate

LATAR BELAKANG

Diospyros discolor berasal dari Filipina dan buahnya dibudidayakan secara komersial (Hung, Chen, dan Roan 2015). Di Indonesia, *Diospiros discolor* dikenal dengan nama tanaman bisbul dan dilaporkan hanya tumbuh atau endemik di daerah Bogor. Khasiat dari tanaman ini sudah banyak dilaporkan diantaranya kulit pohon secara tradisional digunakan untuk pengobatan batuk, demam, disentri, dan diare. Buahnya digunakan untuk mengobati luka dan sebagai obat kumur pada kasus sariawan atau stomatitis aftosa (Lee *et al.*, 2012).

Buah bisbul mengandung senyawa flavonoid sebagai antioksidan, namun manfaat ini kurang diketahui oleh sebagian masyarakat karena rasanya yang pahit dan sepat. Daun buah bisbul memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 15,06 µg/mL (Howlader *et al.*, 2012) sedangkan Menurut Rahmawan dan Dwiyatmaka (2013), fraksi etil asetat sari buah bisbul memiliki daya antioksidan sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 30,0 µg/mL. Nilai flavonoid total untuk buah bisbul matang sebesar 0,56% dan untuk buah bisbul mentah sebesar 0,55%. (Sukmana, Lukmayani, dan Kodir, 2017).

Biji buah bisbul belum dilaporkan dan diduga mempunyai kandungan yang sama dengan bagian lain yang telah dilaporkan. Kandungan flavonoid dan antioksidan pada biji buah bisbul dapat diukur dari ekstrak simplisianya. Ekstraksi dilakukan dengan teknik maserasi dan menggunakan dua pelarut, yaitu aseton dan etil asetat dengan perbandingan (1:3). Pengujian total flavonoid menggunakan standar katekin yang dijadikan kompleks berwarna sehingga dapat dibaca oleh spektrofotometri UV-VIS.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah biji buah bisbul (*Diospyros discolor*) yang diperoleh dari Pasar Tradisional Bogor, aseton pro analisis, etil asetat pro analisis, katekin, asam klorida pro analisis, reagen mayer, serbuk magnesium, kloroform, asetat anhidrida, asam sulfat pro analisis, besi (III) klorida, natrium nitrit, aluminium (III) klorida anhidrat, natrium hidroksida.

Alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-VIS (Agilent, US), spektrofotometer UV-VIS (Optizen, Korea), mesin grinder, neraca analitik digital (Sartorius), oven (Mettler), desikator/dry box (Ailite), magnetic stirrer (Fischer Scientific), ayakan mesh 100, kertas saring no. 41 (Whatman) dan peralatan gelas laboratorium.

Metode

1. Pembuatan Serbuk Simplisia Biji Buah Bisbul

Biji buah bisbul dibersihkan dari kotoran yang menempel, kemudian dicuci dengan air bersih dan dijemur di udara terbuka. Setelah kering, biji bisbul dihaluskan dengan cara digrinding dengan mesin dan diayak dengan ayakan 100 mesh.

2. Pembuatan Ekstrak Biji Buah Bisbul

Simplisia biji buah bisbul sebanyak 150 gram diekstraksi dengan pelarut aseton dan etil asetat sebanyak 450 mL menggunakan teknik maserasi. Perendaman dilakukan selama 4×24 jam dengan penggantian pelarut dan penyaringan setiap 1×24 jam. Ekstrak dievaporasi dengan rotary evaporator pada suhu 60°C sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental kemudian ditimbang.

Rendemen ekstrak dinyatakan dalam persen dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot Ekstrak Biji Buah Bisbul (g)}}{\text{Bobot Simplisia Awal (g)}} \times 100\% \quad (1)$$

3. *Skrining Fitokimia*

Identifikasi Alkaloid

Ekstrak kental biji bisbul sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 2 mL etanol 70% kemudian diaduk, ekstrak ditambahkan 5 mL HCl 2 N kemudian dipanaskan pada penangas air. Setelah dingin, campuran disaring dan filtrate ditambahkan beberapa tetes reagen Mayer. Sampel kemudian diamati hingga keruh atau ada endapan (Mojab *et al.*, 2003).

Identifikasi Flavonoid

Ekstrak kental biji bisbul sebanyak 1 mL dipanaskan dipenangas air dan disaring, kemudian filtrat diambil sebanyak 0,5 mL dan ditambahkan 5 mL NH₃ encer, kemudian ditambahkan H₂SO₄ pekat beberapa tetes, jika larutan berubah menjadi kuning maka sampel mengandung flavonoid (Supriyanto *et al.*, 2017)

Identifikasi Saponin

Ekstrak kental biji bisbul sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 2 mL etanol 70% kemudian diaduk, ditambahkan dengan 20 mL akuabides dan dikocok. Jika terbentuk busa yang stabil menunjukkan adanya saponin (Mojab *et al.*, 2011).

Identifikasi Triterpenoid/Steroid

Ekstrak kental biji bisbul sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, ekstrak ditambahkan 2 mL etanol 70% kemudian diaduk, dan ditambahkan 1 mL kloroform. Ekstrak ditambahkan 1 mL asetat anhidrida lalu didinginkan. Setelah dingin, ekstrak ditambahkan H₂SO₄ pekat. Jika terjadi warna kemerahan, menunjukkan adanya triterpenoid, pembentukan cincin warna merah menunjukkan adanya steroid .

Tanin

Ekstrak kental biji bisbul sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 2 mL etanol 70% kemudian diaduk, ekstrak ditambahkan FeCl₃ sebanyak 3 tetes, jika menghasilkan biru karakteristik, biru-hitam, hijau atau biru-hijau dan endapan.

4. *Kadar Flavonoid Total (Do et al., 2014) (Modifikasi)*

Pembuatan Larutan uji

Ekstrak masing-masing ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan metanol hingga 10 mL (Konsentrasi larutan 1.000 µg/mL). Ekstrak dipipet sebanyak 5 mL larutan uji kemudian ditambahkan metanol hingga 10 mL (konsentrasi larutan 500 µg/mL).

Pembuatan Larutan Standar

Katekin ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan metanol hingga 10 mL (Konsentrasi larutan 1.000 µg/mL) kemudian dipipet 0,2 - 3 mL ke dalam labu ukur dan ditambah metanol hingga 10 mL dan didapatkan konsentrasi 20 - 300 µg/mL.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan deret standar katekin 200 µg/mL dimasukkan sebanyak 1 mL ke dalam vial yang sebelumnya sudah ditambahkan 4 mL akuades dan 0,3 mL

larutan NaNO₂ 5%, kemudian didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya larutan ditambahkan dengan 0,3 mL AlCl₃ 10% dan didiamkan selama 6 menit, kemudian ditambahkan 2 mL NaOH 1M, dan 2,4 mL akuades, kemudian dihomogenkan. Setelah itu absorbansinya diukur pada panjang gelombang 300-700 nm.

Pengukuran Serapan Dengan Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Masing-masing deret standar dan larutan uji sebanyak 1 mL ke dalam vial yang sebelumnya sudah ditambahkan 4 mL akuades dan 0,3 mL larutan NaNO₂ 5%, kemudian didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya larutan ditambahkan dengan 0,3 mL AlCl₃ 10% dan didiamkan selama 6 menit, kemudian ditambahkan 2 mL NaOH 1M, dan 2,4 mL akuades, kemudian dihomogenkan. Setelah itu absorbansinya diukur pada panjang gelombang maksimum. Kandungan flavonoid total dalam mg ekivalen katekin per gram ekstrak (mg EK/g ekstrak) didapatkan dengan menggunakan rumus berikut:

$$Flavonoid\ Total = \frac{C \times V \times FP}{m} \quad (2)$$

Dimana, *C* merupakan konsentrasi ekstrak (mg/L), *V* merupakan volume sampel (L), *FP* merupakan factor pengenceran dan *m* adalah bobot sampel (g).

Analisa data

Hasil analisis dinyatakan sebagai rerata ± standar deviasi (SD) dari tiga ulangan pengukuran. Ada tidaknya perbedaan yang signifikan (p < 0,05) diantara hasil yang diperoleh menggunakan analisis *independent sample t-Test* dengan program Microsoft Excel 2010.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Biji Buah Bisbul

Hasil ekstraksi biji buah bisbul dari pelarut aseton dan etil asetat dapat dilihat pada Tabel 1 berikut:

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Biji Buah Bisbul

Tahapan Ekstraksi	Besaran	
	Aseton	Etil Asetat
Simplisia biji buah bisbul	150 g	150 g
Ekstrak kental	45,18 g	42,21 g
Rendemen ekstrak	30,12 %	28,14%

Ekstrak dari pelarut aseton memiliki persen rendemen yang lebih besar jika dibandingkan ekstrak pelarut etil asetat. Hal ini dikarenakan karena perbedaan dalam polaritas, dispersibilitas dan penetrasi, dan secara selektif mengekstrak fitokimia yang berbeda (Zhang, 2015). Aseton merupakan pelarut semi polar dan etil asetat lebih cenderung tergolong kedalam pelarut non polar. Proses ekstraksi terjadi dengan mengalirnya bahan pelarut kedalam sel yang menyebabkan protoplasma membengkak, dan bahan didalam sel terlarut sesuai dengan kelarutannya (Voight, 1995). Kepolaran pelarut akan saling berkaitan dengan kepolaran senyawa yang diekstrak.

Rendemen hasil ekstrak metanol biji bisbul dilaporkan lebih besar yaitu 38,67 % (Resha Ratna Kusumah, komunikasi pribadi, 6 Agustus 2019), karena

perolehan senyawa berdasarkan pada kesamaan sifat kepolaran terhadap pelarut. Tingkat polaritas diantara ketiga pelarut yaitu metanol > aseton > etil asetat.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan tahap awal yang dilakukan pada saat pengujian, dimana dalam uji ini dapat melihat golongan senyawa yang terdapat dalam bahan yang akan diuji. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Biji Buah Bisbul

Golongan Senyawa	Ekstrak Biji Bisbul		
	Aseton	Etil Asetat	Metanol*
Alkaloid	++	++	++
Flavonoid	+	+	++
Saponin	+++	+	++
Triterpenoid/Steroid	+	++	+
Tanin	++++	++++	++++

Keterangan:

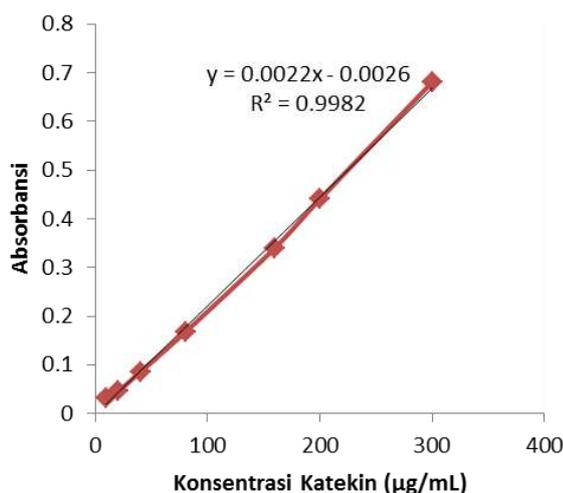
Tanda (+) menunjukkan reaksi positif,

*(Resha Ratna Kusumah, komunikasi pribadi, 6 Agustus, 2019)

Skrining fitokimia ekstrak biji buah bisbul menunjukkan hasil yang sama diantara kedua pelarut yaitu positif terhadap kelima uji. Positif senyawa alkaloid dengan menggunakan pereaksi Mayer ditunjukkan terbentuknya endapan putih. Uji flavonoid dengan menggunakan NH_3 encer terbentuk warna kuning. Senyawa saponin positif dengan terbentuknya busa. Uji triterpenoid dan steroid akan membentuk merah kecoklatan dan cincin merah. Sedangkan senyawa tannin positif jika terbentuk warna biru dongker.

Uji Kadar Flavonoid Total

Pengujian total flavonoid pada biji buah bisbul dilakukan pada dua hasil ekstrak, yaitu ekstrak aseton dan etil asetat dengan menggunakan standar katekin. Hasil pengukuran standar katekin dapat dilihat pada Gambar 1. Penentuan kadar flavonoid total menggunakan metode kolorimetri AlCl_3 dengan sedikit modifikasi. Penentuan kadar flavonoid total didasarkan pada kurva kalibrasi $y = 0,0022x - 0,0026$ dengan $R_2 = 0,9982$, dimana y adalah absorbansi dan x adalah konsentrasi dari katekin. Hasil rerata pengukuran total flavonoid dapat dilihat pada Tabel 3.



Gambar 1. Kurva Standar Katekin

Tabel 3. Perbandingan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Biji Buah Bisbul

Jenis Pelarut	Flavonoid Total (mg EK/g ekstrak)	Ref.
Metanol	335.40 ± 8.62	(Resha Ratna Kusumah, komunikasi pribadi, 6 Agustus, 2019)
Aseton	377.03 ± 1.50	Sekarang
Etil asetat	423.60 ± 2.68	Sekarang

Keterangan:

Nilai yang dilaporkan merupakan nilai rerata ± SD dari tiga kali ulangan

Kadar flavonoid total ekstrak biji buah bisbul dengan pelarut etil asetat lebih besar mencapai 423,60 ± 1,50 mg EK/g ekstrak) jika dibandingkan ekstrak dengan pelarut aseton. Hasil ini berbanding terbalik dengan persen rendemen yang dihasilkan lebih tinggi ekstrak dengan pelarut aseton. Hubungan antara kadar flavonoid dan persen rendemen menunjukkan perbedaan yang nyata dengan nilai $p < 0,05$. Persen rendemen ekstrak yang besar tidak selalu menunjukkan kadar flavonoid total yang besar juga.

Senyawa flavonoid merupakan bahan metabolit sekunder yang ada pada tanaman. Senyawa flavonoid termasuk kedalam golongan senyawa fenolik yang diketahui mempunyai kemampuan antioksidan. Kadar flavonoid total biji buah bisbul antara pelarut aseton dan etil asetat berkisar 17,03 – 17,85 %, cukup tinggi dan berpotensi sebagai bahan antioksidan. Hasil ini juga menunjukkan fakta bahwa selain bagian lain tanaman *Diospyros discolor* berkhasiat (Lee *et al.* 2012), bagian biji buah bisbul ini juga mempunyai potensi yang sangat tinggi jika dilihat dari kandungan flavonoid totalnya.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Rendemen ekstrak aseton dan etil asetat biji buah bisbul yaitu 30,12% dan 28,14%. Kandungan metabolit sekunder kedua ekstrak yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, Triterpenoid/Steroid, dan Tanin. Kadar flavonoid total ekstrak etil asetat

lebih tinggi dari ekstrak aseton yaitu masing-masing $423,60 \pm 2,68$ dan $377,03 \pm 1,50$ mg Ekuivalen Katekin/ g ekstrak.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai identifikasi senyawa flavonoid yang terdapat didalam biji buah bisbul, sehingga dapat diaplikasikan sesuai peruntukannya.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini didanai dengan program Penelitian Kompetitif Nasional dengan Skim Penelitian Dosen Pemula (PDP) tahun pelaksanaan 2019 sesuai kontrak nomor: 2656/L4/PP/2019 tanggal 19 Maret 2019 oleh Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., dan Ju, Y. H. 2014. Effect of Extraction Solvent on Total Phenol Content, Total Flavonoid Content, and Antioxidant Activity of *Limnophila Aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis* 22 (3): 296–302.
- Howlader, M. S. I., Rahman, M. M., Khalipa, A. B. R., Ahmed, F., & Rahman, M. M. (2012). Antioxidant and Antidiarrheal Potentiality of *Diospyros blancoi*. *International Journal of Pharmacology* 5: 403-409.
- Hung, S. F., Chen, I. Z. dan Roan, S. F. 2015. Preliminary Results of Fruit Selection and Induced Parthenocarpy of Mabolo (*Diospyros Blancoi* A. DC.). *Genetic Resources and Crop Evolution* 62 (8): 1127–1134.
- Lee, K. Y., Jung, J. Y., Lee, M. Y., Jung, D., Cho, E. S., dan Son, H. Y. 2012. *Diospyros Blancoi* Attenuates Asthmatic Effects in a Mouse Model of Airway Inflammation. *Inflammation* 35 (2): 623–32.
- Mojab, F., Kamalinejad, M., Ghaderi, N., dan Vahidipour, H. R. 2003. Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 2 (2): 77-82.
- Rahmawan, J. B. Y. dan Dwiyatmaka, Y. 2013. Penetapan Kandungan Fenolat Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Radikal DPPH Fraksi Etil Asetat Sari Buah Apel Beludru (*Diospyros blancoi* A. DC.). *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas* 10 (2): 101–110.
- Sukmana, I. K., Lukmayani, Y., dan Kodir, R. A. 2017. Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Polifenol Total dari Ekstrak Etanol Buah Bisbul (*Diospyros blancoi* A. DC.) dengan Perbedaan Kematangan. *Prosiding Farmasi* 3 (2): 421–425.
- Supriyanto, Simon, B.W., Rifa'I, M., Yunianta. 2017. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica* Juss). *Prosiding SNATIF ke-4*: 523–529 .
- Voight, R. 1995. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi Edisi 5. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta
- Zhang, Q. 2015. Effects of Extraction Solvents on Phytochemicals and Antioxidant Activities of Walnut (*Juglans regia* L.) Green Husk Extracts. *European Journal of Food Science and Technology* 3 (5): 15–21.