

PENETAPAN KADAR FLAVONOID SEBAGAI KUERSETIN DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL DAUN INGGU (*Ruta angustifolia L.*)

Shafa Noer dan Rosa Dewi Pratiwi
Fakultas MIPA, Universitas Indraprasta PGRI Jakarta
shafa_noer@yahoo.co.id

ABSTRAK

Daun Inggu (*Ruta angustifolia L.*) sangat berpotensi untuk dijadikan bahan baku obat tradisional karena mengandung berbagai zat fitokimia yang potensial. Organ utama yang paling banyak digunakan sebagai obat tradisional adalah daunnya. Salah satu zat fitokimia yang terkandung dalam daun inggu adalah flavonoid sebagai kuersetin. Fungsi flavonoid yaitu melindungi struktur sel, meningkatkan efektifitas vitamin C, antiinflamasi dan sebagai antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid yang terdapat dalam daun Inggu terutama kuersetinnya serta mengetahui aktivitas antioksidan. Kuersetin berhubungan erat dengan efek antioksidan karena kemampuannya dalam mereduksi radikal bebas. Preparasi sampel daun inggu dilakukan dengan teknik ekstraksi maserasi dengan pelarut metanol 96%. Penentuan kandungan flavonoid total dilakukan dengan menggunakan metode etanol-HCl. Analisis kadar kuersetin dalam flavonoid total ditentukan dengan Spektrofotometri UV-Visibel pada panjang gelombang (λ) 200-400 nm dan panjang gelombang (λ) maksimal pada 250 nm. Sedangkan metode yang digunakan untuk pengujian antioksidan adalah metode 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Hasil analisis menunjukkan kadar flavonoid daun inggu sebagai kuersetin adalah 3,95% b/b sedangkan hasil uji aktivitas antioksidan IC 50% adalah 150,26 ppm. Kadar ini masuk ke golongan sedang dan dapat dikatakan daun inggu memiliki potensi penangkal radikal bebas walaupun tidak terlalu besar.

Kata kunci : *Ruta angustifolia* ,flavonoid, kuersetin, antioksidan.

ABSTRACT

Inggu (*Ruta angustifolia L.*) leaves have the potential used as raw materials for traditional medicine. The main organ most widely used is its leaves. One of the phytochemicals contained in inggu leaves is flavonoids as quercetin. The function of flavonoids is to protect cell structure, increase the effectiveness of vitamin C, anti-inflammatory and as an antibiotic. This study aims to determine the levels of flavonoids contained in Inggu leaves, especially quercetin, and to determine antioxidant activity. Quercetin is closely related to the effects of antioxidants because of its ability to reduce free radicals. Extraction was carried out by maceration method with 96% methanol as a solvent. Determination of total flavonoid content was carried out using ethanol-HCl method. Analysis of quercetin levels in total flavonoids was determined by UV-Visible Spectrophotometry at wavelength (λ) 200-400 nm and maximum wavelength (λ) at 250 nm. Antioxidant activity test using the 2.2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method. The results of the analysis showed that the leaf flavonoid content as quercetin was 3.95% w / w while the results of the 50% IC antioxidant activity test were 150.26 ppm. This level belongs to the medium group and it can be said that inggu leaves have potential to prevent free radicals even though they are not too large.

Keywords: *Ruta angustifolia*, flavonoids, quercetin, antioxidants.

PENDAHULUAN

Produk bahan alam yang berasal dari tanaman telah menyumbangkan nilai yang tinggi untuk pencarian dan sintesis obat baru (Atanasov et al., 2015). Sekitar 25% dari obat yang diresepkan di seluruh dunia diperoleh dari tanaman. *World Health Organization* (WHO) telah mempertimbangkan *phytotherapy* dalam program kesehatannya untuk negara-negara berkembang dan telah menyarankan prosedur dasar untuk validasi obat-obatan herbal (WHO, 2016). Tanaman obat dapat digunakan sebagai sumber daya terapi untuk pencegahan dan pengobatan penyakit dalam berbagai bentuk. Sebagai

contoh, dalam pengobatan tradisional di rumah, tumbuhan digunakan secara langsung seperti teh herbal, sedangkan untuk kegunaan *phytopharmaceutical* yang lebih luas, tumbuhan dibuat menjadi ekstrak atau fraksi. Obat-obatan berbasis tanaman harus mempunyai senyawa yang aktif secara farmakologis, diisolasi melalui prosedur ekstraksi dan pemurnian, dikarakterisasi secara ilmiah untuk mengetahui keefektifannya, dan disetujui untuk keamanan dan kualitasnya (WHO, 2016).

Tanaman obat mengandung berbagai senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai agen terapi. Dalam jangka waktu yang panjang, potensi terapeutik pada tanaman telah dieksplorasi dan beberapa lainnya masih dalam penelitian. Anti-inflamasi, antimalaria, antiviral, analgesik, dan antitumor termasuk di antara beberapa efek terapeutik tanaman obat (Raina et al., 2014). Metabolit primer dan sekunder adalah dua senyawa kimia yang secara umum disintesis oleh tanaman. Metabolit primer seperti karbohidrat, lipid, asam amino, peptida, protein, enzim, dan turunan purin dan pirimidin terdapat dalam bentuk yang kurang beragam dan terutama terlibat dalam fungsi fisiologis dasar. Metabolit sekunder diproduksi sebagai hasil interaksi tanaman dengan lingkungan dan tidak memainkan peran langsung dalam fisiologi tanaman. Namun, ini penting untuk meningkatkan ketahanan tanaman terhadap predasi, serangan hama dan infeksi mikroba. Metabolit sekunder terutama dapat dikategorikan sebagai terpen/terpenoid, fenilpropanoid, dan fenolik (Raut & Karuppaiyil, 2016).

Spesies *Ruta* diketahui memiliki berbagai kelas produk kimia alami seperti alkaloid, coumarin, flavonoid, lignan, saponin, dan triterpen. Banyak dari senyawa ini menunjukkan berbagai aktivitas biologis seperti abortif, antidotal, antijamur, antiinflamasi, antioksidan, depresan dan fitotoksik (Amar et al., 2012).

Antioksidan merupakan senyawa yang berguna mengatasi kerusakan oksidatif akibat radikal bebas dalam tubuh sehingga berperan mencegah berbagai macam penyakit (Handayani et al., 2014). Kuersetin dikategorikan sebagai *flavonol* yaitu salah satu dari enam subkelas senyawa *flavonoid* (Li et al., 2016). Berbagai efek biologis dari kuersetin telah diteliti, diantaranya adalah sebagai anti kanker, anti inflamasi, dan anti virus (Li et al., 2016). Selain itu, kuersetin juga dapat digunakan sebagai sumber antioksidan (Siswarni et al., 2017).

Ruta angustifolia, atau yang biasa dikenal sebagai tanaman inggu di Indonesia, merupakan salah satu tanaman obat yang telah banyak digunakan dari zaman dahulu untuk mengatasi berbagai macam penyakit. Potensi *Ruta angustifolia* sebagai tanaman obat telah menarik perhatian ahli fitokimia untuk mengungkap kandungan bahan alam pada tanaman ini. Penelitian-penelitian sebelumnya mengeksplorasi manfaat senyawa kimia yang diisolasi dari daun *Ruta angustifolia* dan mendapatkan bahwa senyawa-senyawa ini mempunyai potensi besar digunakan sebagai kandidat obat (Noer et al., 2018). Dengan potensi tersebut, maka peneliti merasa perlu untuk mengeksplor lebih jauh tentang kandungan fitokimia berpotensi obat dari tanaman ini yang belum banyak diteliti

sebelumnya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar flavonoid sebagai kuersetin serta aktivitas antioksidan dari tanaman inggu.

METODE

Preparasi Sampel : Daun inggu dicuci bersih dan ditiriskan, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dengan tidak menjemurnya langsung di terik matahari. Pengerian dilanjutkan dengan cara menjemur daun inggu selama 5 hari, kemudian dihaluskan (tumbuk) sampai terbentuk serbuk.

Metode Maserasi : Daun inggu serbuk ditempatkan pada wadah kaca untuk proses maserasi. Serbuk daun inggu direndam dalam metanol 96% sampai simplisia terendam semua. Remaserasi dilakukan selama 4 hari sambil sesekali diaduk kemudian hasilnya disaring dengan kain flannel bersih sehingga didapatkan *filtrate* metanol. Filtrate yang diperoleh diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* dilanjutkan dengan *water bath* untuk memperoleh ekstrak kental.

Identifikasi Senyawa Flavonoid (Kualitatif) : Uji kualitatif dengan uji reagen dari ekstrak etanol daun inggu dilarutkan dengan sedikit pelarut, kemudian dilakukan skrining fitokimia yang meliputi : Sebanyak 0,5 g fraksi aktif dilarutkan dalam 10 ml air dan dipanaskan diatas penangas air kemudian larutan tersebut. Sebanyak lebih kurang 100 mg serbuk magnesium dimasukkan kedalam tabung pertama lalu ditambah 1 ml asam klorida pekat dan dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Warna merah, kuning, jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid.

Uji kandungan kadar Flavonoid sebagai Kuersetin Pada Daun Inggu (Kuantitatif) : Ekstrak etanol daun Inggu (*Ruta angustifolia*) sebanyak 200 mg dimasukan dalam labu takar 100 mL. Ekstrak digenapkan dengan akuades sampai batas atas labu takar. Mengambil 5 mL dari stok larutan yang dibuat diatas dengan pipet dan memasukkannya ke dalam labu takar 10 mL, kemudian menambahkan 500 µl reagent Folin Cialcoteu, dikocok selama 1 menit. Sebelum menit ke delapan ditambahkan 4 mL natrium karbonat (Na_2CO_3) 10% dan dikocok selama 1 menit, kemudian digenapkan dengan akuades sampai batas volume labu takar. Setelah itu, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 200-400 nm menggunakan UV-Vis. Jumlah kuersetin dihitung dengan persamaan :

$$F1 = \frac{C.V.F.10^{-6}}{m} \times 100\%$$

Keterangan:

F1 = Jumlah flavonoid

C = Kesetaraan kuersetin (ppm)

V = Volume total ekstrak etanol (mL)

F = Faktor pengenceran

m = Berat sampel (g)

Uji Aktivitas Antioksidan : Aktivitas antioksidan dalam ekstrak daun inggu dilakukan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) menggunakan spektrofotometer UV . Sebanyak 5 mL dari larutan uji yaitu ekstrak daun inggu dicampur dengan 1 mL dari larutan 1 mM DPPH dengan pelarut metanol. Larutan yang dihasilkan kemudian dibiarkan selama 30 menit sebelum dilakukan uji dengan spektrofotometri. Dideteksi absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Dihitung persentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan persamaan :

$$\% \text{Inhibisi} = 1 - \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko sampel}} \times 100\%$$

Dihitung nilai IC₅₀ yang diperoleh dari persamaan regresi linier % inhibisi DPPH terhadap konsentrasi sampel.

HASIL

Secara kualitatif senyawa flavonoid khususnya kuersetin terbukti ada dalam daun Inggu. Sebagian besar flavonoid yang terdapat pada tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosidanya dan dalam bentuk campuran atau jarang sekali ada sebagai senyawa tunggal. Flavonoid yang teridentifikasi pada penelitian ini dapat dinyatakan sebagai kuersetin (flavonol) karena pita spektrumnya muncul pada daerah pita serapan maksimum pada 250-280 nm dan 330-385 nm, yaitu pada 263 nm pada pita I dan 356 nm pada pita II. Hasil ini telah dibandingkan dengan nilai absorbansi senyawa standar kuersetin.

Kadar kuersetin secara kuantitatif yang diperoleh dalam penelitian ini, yaitu sebesar 3,95 % menunjukkan hasil yang lebih besar dari penelitian sebelumnya yang menggunakan pelarut etanol. Dengan pelarut etanol, hasil pengujian kadar kuersetin pada ekstrak daun inggu menunjukkan hasil yang lebih rendah yaitu 1,67% (Noer et al., 2018). Dalam penelitian ini digunakan pelarut methanol. Metanol diharapkan dapat melarutkan senyawa flavonoid dan fenolik yang ada pada ekstrak daun inggu. Selain itu, metanol juga bersifat universal sehingga dapat menarik sebagian besar senyawa kimia yang terkandung di dalam simplisia (polar dan non polar)(Salamah & Widyasari, 2015).

Hasil uji aktivitas antioksidan IC 50% adalah 150,26 ppm. Metode yang digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan pada penelitian ini adalah metode penangkapan radikal DPPH. Metode ini memiliki aktivitas penangkap radikal bebas yang tinggi dalam pelarut organik, seperti metanol atau etanol pada suhu kamar (Salamah & Widyasari, 2015). Nilai IC₅₀ < 50 ppm dikategorikan sampel mempunyai aktivitas antioksidan sangat kuat, nilai IC₅₀ 50 ppm-100 ppm berarti sampel dikategorikan mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat, nilai IC₅₀ 100 ppm-150 ppm berarti sampel dikategorikan mempunyai aktivitas antioksidan yang sedang dan nilai IC₅₀ 150 ppm-200 ppm berarti aktivitas antioksidan lemah (Molyneux, 2004). Mengacu pada rujukan diatas, maka aktivitas antioksidan pada sampel daun inggu dengan pelarut metanol dalam penelitian ini menunjukkan kekuatan

yang sedang. Hal ini sejalan dengan penelitian pada ekstrak daun inggu dengan pelarut etanol, yaitu menunjukkan nilai IC50 sebesar 100,99 ppm yang menandakan bahwa kadar antioksidan yang dimiliki oleh tanaman ini memiliki aktivitas yang sedang. Hal ini menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki potensi antioksidan yang walaupun tidak terlalu besar, namun dapat dimanfaatkan sebagai salah satu nilai tambah dari manfaat lainnya (Noer, Dewi, & Gresinta, 2017).

Antioksidan alami berfungsi sebagai reduktor, penekan oksigen singlet, penangkap radikal bebas, dan sebagai pengkhelat logam (Khaira, 2010). Kuersetin telah terbukti merupakan sumber antioksidan yang sangat baik, dan juga dapat digunakan sebagai anti peradangan (Boots, Haenen, & Bast, 2008). Sebagai flavonoid yang melimpah di tanaman, kuersetin bersifat aman dimakan dan telah dilakukan pengujian efek biologisnya pada hewan (Li et al., 2016).

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak methanol daun inggu mempunyai kuersetin sebagai salah satu sumber antioksidan dengan kadar yang tidak terlalu besar. Hasil pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan kategori sedang. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa pemanfaatan kuersetin dan antioksidan dari ekstrak methanol daun inggu dapat dilakukan untuk berbagai manfaat kesehatan. Namun diperlukan penelitian lanjutan agar potensi antioksidan dan kuersetin dari ekstrak methanol daun inggu ini dapat berefek secara maksimal saat digunakan sebagai obat.

SIMPULAN

Uji kualitatif terhadap flavonoid menunjukkan hasil yang positif, uji kuantitatif menggunakan UV-vis didapatkan kadar flavonoid sebagai kuersetin sebesar 3,95 % b/b. Sedangkan aktivitas hasil uji aktivitas antioksidan IC 50% dengan metode DPPH adalah 150,26 ppm. Kadar ini masuk ke golongan sedang dan dapat dikatakan daun inggu memiliki potensi penangkal radikal bebas walaupun tidak terlalu besar.

UCAPAN TERIMAKASIH

Alhamdulillah puji syukur kepada Allah SWT karena berkat karunia dan rahmatNya penulis dapat menyelesaikan artikel ini. Penulis menyadari bahwa tanpa adanya campur tangan berbagai pihak, artikel ini tidak dapat diselesaikan sebagaimana mestinya. Terimakasih penulis tujukan kepada Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) atas penyediaan sampel dan lab uji. Semoga penelitian ini dapat menjadi salah satu literatur yang memperkaya pengetahuan tentang tanaman obat yang ada di Indonesia.

DAFTAR RUJUKAN

- Amar, Z., Abdelwahab, B., Abdelhakim, B., & Nouredine, G. (2012). ARTICLE Environmental impact on the Chemical Composition and yield of essential oils of Algerian. *Advances in Environmental Biology*, 6(10), 2684–2688.
- Atanasov, A. G., Waltenberger, B., Pferschy-Wenzig, E. M., Linder, T., Wawrosch, C., Uhrin, P., ... Stuppner, H. (2015). Discovery and resupply of pharmacologically

- active plant-derived natural products: A review. *Biotechnology Advances*, 33(8), 1582–1614. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.08.001>
- Boots, A. W., Haenen, G. R. M. M., & Bast, A. (2008). Health effects of quercetin : From antioxidant to nutraceutical. *Biotechnology Advances*, 585, 325–337. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.03.008>
- Handayani, V., Ahmad, A. R., & Sudir, M. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etlintera elatior* (Jack) R . M . Sm) Menggunakan Metode DPPH. *Pharm Sci Res*, 1(2), 86–93.
- Khaira, K. (2010). Menangkal Radikal Bebas dengan Antioksidan. *Jurnal Sainstek*, 2, 183–187.
- Li, Y., Yao, J., Han, C., Yang, J., Chaudhry, M. T., Wang, S., ... Yin, Y. (2016). Quercetin , Inflammation and Immunity, 1–14. <https://doi.org/10.3390/nu8030167>
- Molyneux, P. (2004). The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 26(December 2003), 211–219. <https://doi.org/10.1287/isre.6.2.144>
- Noer, S., Dewi, R., & Gresinta, E. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan dan Uji Antibakteri *Fusobacterium nucleatum* dari Ekstrak Etanol Daun *Ruta angustifolia*. *Prosiding Seminar Nasional 2017 Fak. Pertanian UMJ*, 272–277.
- Noer, S., Pratiwi, R. D., & Gresinta, E. (2018). Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin , Saponin Dan Flavonoid Sebagai Kuersetin) Pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta angustifolia* L .). *Jurnal Ilmu-Ilmu MIPA*, 18(2), 19–29.
- Raina, H., Soni, G., Jauhari, N., Sharma, N., & Bharadvaja, N. (2014). Phytochemical importance of medicinal plants as potential sources of anticancer agents. *Turkish Journal of Botany*, 38(6), 1027–1035. <https://doi.org/10.3906/bot-1405-93>
- Raut, J. S., & Karuppayil, S. M. (2016). Phytochemicals as Inhibitors of Candida Biofilm. *Current Pharmaceutical Design*, 22, 1–24. <https://doi.org/10.2174/1381612822666160601>
- Salamah, N., & Widayari, E. (2015). AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL DAUN KELENGKENG (*Euphoria longan* (L) Steud .) DENGAN METODE PENANGKAPAN RADIKAL 2 , 2 ' DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZYL , (L). *Pharmaciana*, 5(1), 25–34.
- Siswarni, M.Z., Putri, Y.I., Rinda, R. (2017). Ekstraksi Kuersetin Dari Kulit Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav.) Menggunakan Pelarut Etanol dengan Metode Maserasi Dan Sokletasi. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 6(1), 36–42.
- World Health Organization. (2016). WHO traditional medicine strategy 2014-2023. Geneva 27, Switzerland: WHO Press 2013 [Cited 28 March, 2016]. Available from (www.who.int).