



RESEARCH ARTICLE

PENENTUAN KADAR TOTAL FENOLIK DAN FLAVONOID EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI DAUN TERAP (*Artocarpus odoratissimus* Blanco)

Mustika Furi^{1*}, Meldayanti¹, Melzi Octaviani¹

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau; Jalan Kamboja, Kelurahan Simpang Baru, Pekanbaru, 28293

*e-mail korespondensi: mustikafuri@stifar-riau.ac.id

Article History

Received:

24 Mei 2023

Accepted:

15 Agustus 2024

Published:

15 Agustus 2024

ABSTRAK

Daun terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco) merupakan salah satu tumbuhan tradisional yang memiliki beberapa aktivitas farmakologi karena mengandung metabolit sekunder berupa fenolik dan flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar total fenolik dan flavonoid pada dalam ekstrak dan fraksi daun terap dengan metode kolorometri. Metode penelitian penentuan kadar total fenolik menggunakan metode Folin Ciocalteu menggunakan pembanding asam galat dan penentuan kadar flavonoid menggunakan metode pembentukan kompleks $AlCl_3$ dengan pembanding kuersetin dengan pengukuran secara spektrofotometri VU-Visible. Hasil Penelitian diperoleh hasil kadar total fenolik pada ekstrak etanol sebesar 154 mgGAE/g, fraksi *n*-heksana sebesar 124 mgGAE/g, fraksi etil asetat sebesar 106 mgGAE/g dan fraksi air sebesar 40 mg GAE/g. Hasil kadar total flavonoid pada ekstrak etanol sebesar 25 mg QE/g, fraksi *n*-heksana sebesar 32 mgQE/g, fraksi etil asetat sebesar 55 mgQE/g dan fraksi air sebesar 28 mgQE/g. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa kadar total fenolik lebih besar dibandingkan kadar flavonoid di ekstrak dan fraksi.

Kata kunci: Daun terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco), total fenolik, total flavonoid

ABSTRACT

Terap leaves (*Artocarpus odoratissimus* Blanco) is one of traditional plant have several pharmacological activities because of secondary metabolite as know phenol and flavonoids. This study aimed to determine the total content of phenol and flavonoids in extract and applied leaf fraction determined by colorimetric method. Research method for determining total phenol content using the Folin Ciocalteu method using gallic acid as standard and determining total flavonoids content using complex formation method with $AlCl_3$ using quersetin as standard by measurement with UV-Vis spectrophotometry. The results of the total content phenol and flavonoids showed that the ethanol extract of 154 mgGAE/g, *n*-hexane fraction of 124 mgGAE/g, ethyl acetate fraction of 106 mgGAE/g, water fraction of 40 mg GAE/g. Determination of total flavonoids using the $AlCl_3$ complex formation method, obtained results in the ethanol extract of 25 mg QE/g, *n*-hexane fraction of 32 mgQE/g, ethyl acetate fraction of 55 mgQE/g, water fraction of 28 mgQE/g. Based on results, it can be concluded that the total phenol content is higher than total flavonoids content.

Keywords: Terap leaves (*Artocarpus odoratissimus* Blanco), phenol content, flavonoids content.

©Furi et al.

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

PENDAHULUAN

Terap merupakan tumbuhan yang banyak tersebar di pulau Kalimantan, Malaysia, Brunei Darussalam. Buahnya sedang dibudidayakan oleh negara pada Asia Tenggara seperti Thailand dan Filipina (Mindoro, Mindanao, Basilan, dan Sulu). Saat ini juga telah diperkenalkan ke Australia, Brazil dan beberapa negara tropis lainnya karena buahnya yang bisa dimakan dan memiliki banyak khasiat. Secara tradisional daun terap digunakan oleh masyarakat Kalimantan sekitar untuk menurunkan tekanan darah (antihipertensi). Hal ini disebabkan karena adanya metabolit sekunder berupa fenolik dan flavonoid yang terkandung pada bagian daun. Cara peyajiannya dengan mengambil beberapa

lembar dari daun terap kemudian direbus, lalu air rebusan tersebut diminum (Sari et al., 2019).

Senyawa metabolit sekunder ini ditemukan oleh Sari et al (2019) pada penelitiannya terkait identifikasi metabolit sekunder dari daun terap, diketahui bahwa dalam ekstrak metanol daun terap mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, kuinon, saponin, tanin, dan fenol dengan persen rendemen tertinggi yaitu 13,57%. Pada ekstrak etil asetat daun terap juga didapatkan senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, tanin, fenol, serta kuinon dengan persen rendemen sebesar 5,52%. Sedangkan pada ekstrak *n*-heksana daun terap metabolit sekunder yang didapatkan berupa kuinon dan triterpenoid dengan persen rendemen sebesar 2,30%.

Penelitian lain mengenai metabolit sekunder yang ada pada daun terap juga dilaporkan oleh Tasmin *et al* (2014), bahwa pada ekstrak metanol dan fraksi kloroform dari daun terap ini positif mengandung senyawa flavonoid dan berdasarkan hasil isolat fraksi kloroformnya didapatkan senyawa golongan flavonoid yaitu flavan-3-ol. Namun menurut penelitian yang dilakukan oleh Ramadhan *et al* (2020) maserasi menggunakan pelarut etanol jauh lebih banyak kandungan kimia yang tertarik dibandingkan maserasi menggunakan metanol.

Banyaknya kandungan kimia yang ada pada terap membuat peneliti lainnya tertarik untuk mengisolasi senyawa kimia pada tumbuhan terap. Salah satunya isolasi yang dilakukan oleh Khong *et al.* (2017) pada beberapa bagian tumbuhan terap. Pada ekstrak etil asetat akar terap ditemukan pinocembrin dan pinostrobin yang merupakan turunan senyawa flavonoid, kemudian 2 senyawa triterpenoid berupa α -amirin asetat dan β -amirin asetat. Pada ekstrak *n*-heksana kulit batang berhasil diisolasi 2 senyawa yaitu *traxateryl acetate* dan *hexyl dodecanoate*. Adapun pada bagian daunnya ditemukan 2 senyawa golongan steroid berupa β -sitosterol dan stigmasterol. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa hasil KLT dan identifikasi ekstrak daun terap pada penelitian yang dilakukan oleh Naspiah *et al.* (2021) juga ditemukan golongan flavonoid dengan nama rutin dan steroid dengan nama stigmasterol.

Berdasarkan studi literatur, terap memiliki beberapa manfaat yang telah dibuktikan dalam penelitian Rizki *et al* (2021) bahwa ekstrak etanol daun terap berpotensi sebagai antioksidan dengan nilai aktivitas antioksidan sebesar 87,9513 ppm yang artinya bagian daun dari terap masuk ke dalam antioksidan kategori aktif. Selain daun, bagian kulit buah dari terap ini memiliki kandungan fenolik yang unggul sebagai antioksidan dan berpotensi sebagai antikanker (Bakar *et al.*, 2010). Hasil penelitian Furi *et al* (2023) bahwa ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi *n*-butanol daun terap memiliki aktivitas antioksidan kategori sangat kuat dan menunjukkan bahwa ketiga sampel uji ini mempunyai potensi sebagai antioksidan, sedangkan fraksi etil asetat daun terap mempunyai potensi sebagai tabir surya.

Kandungan metabolit sekunder berupa fenolik dan flavonoid pada tumbuhan ini menimbulkan manfaat yang besar dalam kehidupan sehari-hari. Senyawa fenolik memiliki aktivitas biologis yang mampu mengobati berbagai penyakit pada manusia. Salah satu aktivitasnya adalah sebagai antioksidan yang mampu mencegah aterosklerosis, peradangan sendi, penuaan dini, tumor, kanker, dan penyakit degeneratif lainnya dapat disebabkan oleh konsentrasi radikal bebas (Alfian and Susanti, 2012). Senyawa flavonoid juga memiliki aktivitas antioksidan yang berguna untuk mencegah berbagai penyakit (Rohman *et al.*, 2010). Kuersetin adalah golongan flavonoid yang paling banyak

ditemukan pada tumbuhan dan dilaporkan memiliki beberapa aktivitas biologis yang dikaitkan dengan kemampuannya menangkal radikal bebas (Morikawa *et al.*, 2003; Schmalhausen *et al.*, 2007).

Mengetahui besarnya manfaat dari senyawa fenolik dan flavonoid dari tumbuhan, juga didukung dari hasil penelitian terdahulu. Maka peneliti melakukan penelitian ini yang bertujuan untuk mengetahui kandungan total fenolik dan flavonoid dari ekstrak etanol dan fraksi daun terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco) yang diambil di daerah Desa Pangkalan Batang Barat, Kecamatan Bengkalis, Kabupaten Bengkalis, Provinsi Riau.

Pengujian ini dilakukan secara kolorimetri dengan menggunakan pembanding asam galat dan metode Folin-Ciocalteu untuk pengujian kandungan total fenolik. Untuk kandungan total flavonoid digunakan kuersetin sebagai pembanding dengan metode pembentukan kompleks $AlCl_3$ dengan kuersetin sebagai pembanding. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan gambaran mengenai kadar total senyawa fenolik dan flavonoid yang ada pada ekstrak etanol dan fraksi daun terap.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat destilasi (Gopal®), satu unit *rotary evaporator* (Buchi®), lumpang, rak tabung reaksi, pipet tetes, spatel, botol gelap, neraca analitik, microplate reader (Tristar LB 941 Berthold®), dan pipet mikro (Dragonlab), pipet mikro multichanel (Nexty), dan peralatan gelas laboratorium.

Bahan

Bahan yang digunakan yaitu pelarut organik kualitas teknis dan telah didestilasi (*n*-heksana, etil asetat, etanol), kloroform, kloroform amoniak 0,05 N, asam sulfat 2N, pereaksi Mayer, logam magnesium, asam klorida pekat (Merck), besi (III) klorida 1%, asam asetat anhidrat (Merck), asam sulfat pekat (Merck), norit, asam galat (Sigma-Aldrich), reagen Folin-Ciocalteu 0,2 N, natrium hidroksida 1%, kuersetin (Sigma-Aldrich), natrium asetat (CH_3COONa) 1 M, dan aluminium (III) klorida ($AlCl_3$) 10%.

Prosedur

Penyiapan Ekstrak dan Fraksi Daun Terap

Sampel daun terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco) sebanyak 5 kg diperoleh dari Desa Pangkalan Batang Barat, Kecamatan Bengkalis, Kabupaten Bengkalis, Provinsi Riau dilakukan identifikasi di Laboratorium Botani Jurusan Biologi Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA)

Universitas Riau, Pekanbaru. Daun terap diambil kemudian dilakukan sortasi basah dan sortasi kering. Ekstrak etanol daun terap dibuat dengan metode maserasi dengan pelarut etanol yang telah di destilasi. Simplisia kering sebanyak 0,7 g diekstraksi dengan menggunakan metode ekstraksi cara dingin yaitu maserasi dan pelarut yang digunakan etanol. Proses maserasi dilakukan selama lima hari sambil diaduk minimal satu kali sehari dan proses maserasi ini dilakukan tiga kali pengulangan. Maserat etanol dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental etanol daun terap (Furi, 2023).

Fraksi daun terap dibuat dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair dari ekstrak kental etanol daun terap dengan cara bertahap dimulai dengan melarutkan ekstrak daun terap sebanyak 40 g dalam 100 mL akuades kemudian ditambahkan pelarut *n*-heksana hingga terbentuk lapisan *n*-heksana dan lapisan air. Kemudian lapisan *n*-heksana dipipet dan dikumpulkan utk dipekatkan menjadi fraksi *n*-heksana. Lapisan air diekstraksi kembali dengan 100 mL pelarut etil asetat hingga terbentuk 2 lapisan. Lapisan etil asetat dipipet dan dikumpulkan utk dipekatkan menjadi fraksi etil asetat. Kemudian sisa lapisan air dikumpulkan untuk dipekatkan dengan *waterbath* menjadi fraksi air.

Penentuan Kadar Total Fenolik Ekstrak dan Fraksi Daun Terap

Kadar total fenolik ekstrak dan fraksi diukur dengan metode Folin-Ciocalteu dari (Stratil and Kuban, 2008) dengan menggunakan asam galat sebagai standar.

a. Penentuan Kurva Kalibrasi Asam Galat

Asam galat dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm sebanyak 50 µl dimasukkan ke dalam sumuran 96 *wells microplate*, lalu ditambahkan 75 µL reagen Folin-Ciocalteu 0,2 N. Didiamkan selama 8 menit, ditambahkan 60 µL NaOH 1% dan didiamkan campuran tersebut selama 1 jam pada suhu ruang dan terhindar dari cahaya matahari langsung. Selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang 730 nm. Pengukuran absorbansi dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Kemudian dibuat kurva kalibrasi

b. Penentuan Kadar Total Fenolik Ekstrak dan Fraksi

Masing-masing ekstrak dan fraksi daun terap ditimbang tepat 10 mg dilarutkan dengan sedikit metanol, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian tambahkan metanol sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 µg/mL. Larutan tersebut kemudian dipipet 100 µL ke dalam *well* pada baris A. Kemudian sebanyak 50 µL metanol ditambahkan ke baris B dan C, lalu dipipet sebanyak 50 µL dari baris A ke baris B, baris B dipipet 50 µL ditambahkan ke baris C, baris C dipipet sebanyak 50 µL dan dibuang. Sehingga diperoleh konsentrasi uji

pada baris A (1000 µg/mL), B (500 µg/mL) dan C (250 µg/mL). Masing-masing konsentrasi ditambahkan 75 µL reagen Folin-Ciocalteu 0,2 N dan didiamkan selama 8 menit, ditambahkan 60 µL NaOH 1% dan didiamkan campuran tersebut selama 1 jam pada suhu ruang dan terhindar dari cahaya matahari. Selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 730 nm.

Penentuan Kadar Total Flavonoid Ekstrak dan Fraksi Daun Terap

Kadar total flavonoid ekstrak dan fraksi dilakukan dengan metode Folin-Ciocalteu dari (Pękal and Pyrzynska, 2014) menggunakan kuersetin sebagai standar.

a. Penentuan Kurva Kalibrasi Kuersetin

Kuersetin dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm sebanyak 50 µl dimasukkan ke dalam sumuran 96 *wells microplate*, lalu tambahkan 10 µL AlCl₃ 10%, dan 10 µL natrium asetat 1 M. Kemudian diamkan campuran tersebut selama 40 menit pada suhu ruang dan terhindar dari cahaya matahari. Selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 430 nm. Pengukuran absorbansi dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Kemudian buat kurva kalibrasi.

b. Penentuan Kadar Total Flavonoid Ekstrak dan Fraksi

Ekstrak dan fraksi daun terap ditimbang tepat 10 mg lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian tambahkan etanol sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 µg/mL. Larutan tersebut dipipet 100 µL ke dalam *well* pada baris A. Kemudian sebanyak 50 µL etanol ditambahkan ke baris B dan C, lalu dipipet sebanyak 50 µL dari baris A ke baris B, baris B dipipet 50 µL ditambahkan ke baris C, baris C dipipet sebanyak 50 µL dan dibuang. Sehingga diperoleh konsentrasi uji pada baris A (1000 µg/mL), B (500 µg/mL) dan C (250 µg/mL). Masing-masing konsentrasi ditambahkan 10 µL AlCl₃ 10%, dan 10 µL natrium asetat 1 M. Kemudian didiamkan campuran tersebut selama 40 menit pada suhu ruang dan terhindar dari cahaya matahari. Selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 430 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan penentuan kadar total fenolik, dan flavonoid dari ekstrak etanol dan fraksi daun terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco). Penentuan kadar total fenolik dan flavonoid ini menggunakan alat *microplate reader*. *Microplate reader* digunakan dalam penelitian ini karena dalam satu kali analisis dapat mengukur banyak sampel, selain itu reagen serta sampel yang digunakan dalam jumlah kecil (mikro) dan limbah yang dihasilkan pun sedikit (Burgess, 1995).

Daun terap sebanyak 5 kg diambil dari Desa Pangkalan Batang Barat, Kecamatan Bengkalis, Kabupaten Bengkalis, Provinsi Riau. Sampel yang diperoleh ini kemudian dilakukan identifikasi untuk memastikan sampel yang akan digunakan adalah sampel terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco). Identifikasi dan klasifikasi dilakukan di Laboratorium Botani Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau. Hasil identifikasi dengan Nomor: 479/UN19.5.1.13-4.1/EP/2021 menyatakan bahwa tumbuhan tersebut adalah benar tumbuhan terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco). Setelah itu dilakukan proses pembuatan simplisia yang meliputi sortasi basah, pencucian bersih, pengeringan, sortasi kering, lalu pengecilan ukuran partikel.

Simplisia kering sebanyak 0,7 g diekstraksi dengan menggunakan metode ekstraksi cara dingin yaitu maserasi dan pelarut yang digunakan etanol. Pelarut etanol dipilih karena pelarut etanol merupakan pelarut universal yang artinya dapat menarik senyawa kimia dari non polar hingga polar sehingga didapatkan ekstrak total dari simplisia, pelarut ini juga aman dapat bercampur dengan air dan tidak toksik (Gandjar and Rohman, 2007). Kemudian kandungan metabolit sekunder pada daun terap lebih banyak ditemukan dengan maserasi menggunakan pelarut etanol dibanding metanol (Ramadhan *et al* 2020). Sehingga diharapkan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada sampel daun terap dapat tertarik semua oleh pelarut etanol. Pemilihan metode maserasi dikarenakan simplisia berpotensi memiliki senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid tidak tahan panas dan akan rusak apabila pada suhu tinggi (Handayani *et al*, 2016). Sehingga maserasi dipilih karena metodenya yang sangat sederhana baik dalam pengerjaannya, alat maupun pelarut yang digunakan. Cara ekstraksi ini tidak memerlukan pemanasan sehingga senyawa yang tidak tahan panas pada simplisia tidak mudah terurai (Hanani, 2015).

Proses maserasi pada penelitian ini dilakukan berdasarkan hasil penelitian Furi *et al* (2023). Maserasi dipengaruhi oleh 2 unsur yaitu lama proses dan pengadukan. Semakin lama proses, maka akan memperpanjang waktu kontak antara sampel dengan pelarut, semakin banyak pula senyawa kimia berupa metabolit sekunder yang tersari ke dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, kemudian zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat akan didesak keluar. Peristiwa ini terjadi berulang kali sehingga terjadi kesetimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Unsur pengadukan pada maserasi juga mempercepat terjadinya kesetimbangan tersebut. Pengadukan yang dilakukan pada proses maserasi akan meningkatkan konsentrasi kandungan kimia yang masuk ke dalam pelarut. Apabila tidak dilakukan sesekali pengadukan, maka akan mengakibatkan

berkurangnya perpindahan bahan aktif pada proses maserasi tersebut (Marjoni, 2016). Selanjutnya, maserat yang diperoleh diuapkan atau dipisahkan dari pelarutnya dengan cara dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu rendah dan bantuan alat vakum. Vakum yang digunakan bertujuan untuk membuat kondisi titik didih pelarut lebih rendah dengan tekanan yang diberikan sehingga proses penguapan lebih cepat dan menghindari penguraian senyawa kimia tidak tahan panas yang terkandung dalam simplisia (Hanani, 2015). Sehingga diperoleh ekstrak kental etanol berwarna hijau gelap sebanyak 89,676 gram dengan persentase rendemen 12,81%.

Ekstrak difraksinasi dengan tujuan untuk menyederhanakan komponen dan memisahkan senyawa yang terkandung dalam ekstrak berdasarkan tingkat kepolaran senyawa tersebut. Sehingga didapatkan gambaran senyawa apa saja yang terdapat di dalam ekstrak. Ekstrak difraksinasi dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair. Ekstraksi cair-cair dipilih karena metode ini sederhana namun senyawa tertarik dapat maksimal, karena prinsip kerjanya adalah pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran senyawa tersebut (Hanani, 2015; Herdiana and Aji, 2020).

Fraksinasi yang dilakukan menggunakan tiga jenis pelarut dengan derajat kepolaran yang berbeda-beda yaitu *n*-heksana sebagai pelarut senyawa yang bersifat non polar, etil asetat sebagai pelarut senyawa yang bersifat semi polar, dan air sebagai pelarut senyawa yang bersifat polar. Prinsip pemisahan ini mengikuti hukum koefisien distribusi atau koefisien partisi (Hanani, 2015).

Fraksinasi dilakukan dengan melarutkan ekstrak etanol sebanyak 40 gr dengan akuades sebanyak 100 mL di dalam corong pisah. Kemudian ditambahkan *n*-heksana sebanyak 100 mL. Kedua pelarut lalu dikocok dan didiamkan sehingga terbentuk dua lapisan pelarut yang saling tidak bercampur. Fraksinasi dimulai dari pelarut *n*-heksana yang termasuk pelarut non polar yang akan menarik senyawa non polar. Setelah lapisan *n*-heksana diambil, kemudian fraksinasi dilanjutkan dengan menambahkan pelarut yang mempunyai tingkat kepolaran yang berbeda yaitu etil asetat yang bersifat semi polar ke lapisan air kemudian lapisan etil asetat diambil untuk menjadi fraksi etil asetat. Selanjutnya sisa lapisan air dipekatkan sehingga menghasilkan fraksi air yang bersifat polar (Hanani, 2015). Teknik ini juga bertujuan agar terjadi proses fraksinasi dari pelarut non polar ke pelarut polar.

Penambahan pelarut yang sama dilakukan secara berulang dalam setiap tahapan pergantian pelarut. Proses fraksinasi dihentikan ketika pelarut tersebut bening (tidak berwarna), yang kemudian diganti pelarut berikutnya. Terbentuknya warna pada lapisan menandakan bahwa ada senyawa dari bahan yang terekstraksi. Bila tidak berwarna lagi, disimpulkan

bahwa tidak ada lagi senyawa yang berpindah atau terekstraksi. Proses ini terjadi, karena senyawa pada pelarut yang tidak saling campur akan berpindah atau tetap pada pelarut pertama (air), perpindahan ini disebabkan oleh tingkat kepolaran senyawa. Senyawa-senyawa non-polar akan berada pada pelarut non-polar, begitupun sebaliknya senyawa-senyawa polar akan berada pada pelarut polar (*like dissolved likes*) (Herdiana and Aji, 2020). Hasil fraksinasi kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* dan *waterbath* sehingga diperoleh fraksi kental. Hasil perolehan persen rendemen untuk fraksi *n*-heksana sebesar 27,215 %, fraksi etil asetat 36,505% sedangkan persen rendemen yang diperoleh fraksi air 9,16 %.

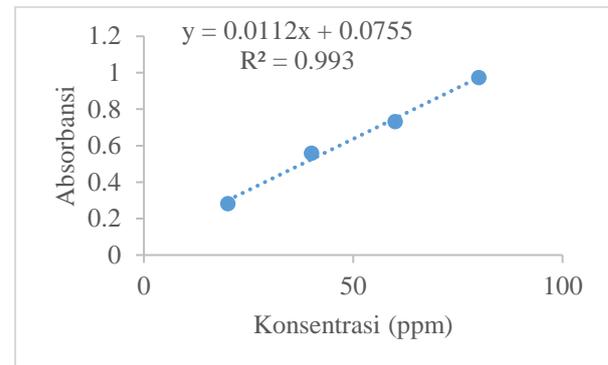
Ekstrak kental etanol serta fraksi daun terap yang diperoleh dari penelitian ini kemudian dilakukan uji untuk penetapan kadar total fenolik dan flavonoid. Pada penetapan kadar total fenolik, digunakan metode *Folin-Ciocalteu*. Reagen *Folin-Ciocalteu* mengandung campuran natrium tungstat, natrium molibdat, litium sulfat, asam klorida pekat, asam fosfat 85%, bromin, akuades (Sánchez et al., 2013).

Prinsip metode *Folin-Ciocalteu* adalah terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru-keunguan yang diukur absorbansinya pada panjang gelombang 730 nm sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Stratil et al. (2008). Karena pada panjang gelombang tersebut diperoleh nilai serapan sampel yang maksimum. Senyawa fenolik bereaksi pada suasana basa, agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat oleh karena itu dibutuhkan natrium hidroksida untuk menciptakan suasana basa agar reaksi dapat berlangsung dengan baik (Stratil et al., 2008).

Baku pembanding (standar) yang digunakan pada penentuan kadar total fenolik adalah asam galat karena senyawa ini merupakan turunan dari asam hidroksi benzoat yang tergolong asam fenol sederhana. Pada penentuan kadar total fenolik diukur pada panjang gelombang maksimum yaitu 730 nm. Diukur pada panjang gelombang tersebut, karena pada panjang gelombang tersebut memberikan absorbansi sampel maksimal. Kemudian kurva kalibrasi asam galat dibuat dengan mengukur absorbansi larutan asam galat pada seri konsentrasi 80; 60; 40; dan 20 µg/mL yang dapat dilihat pada **Gambar 1**. Persamaan regresi linier $y = 0,0112x + 0,0755$ dengan nilai $R^2 = 0,993$ diperoleh dengan memplotkan variasi konsentrasi larutan asam galat (sumbu x) dengan nilai absorbansi asam galat (sumbu y).

Berdasarkan persamaan tersebut, diperoleh kadar total fenolik dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun terap masing-masing sebesar 154 mgGAE/g ekstrak; 124 mgGAE/g fraksi; 106 mgGAE/g fraksi; dan 40 mgGAE/g fraksi. Kandungan total fenolik dalam ekstrak atau fraksi dinyatakan dalam GAE (*Gallic Acid Equivalent*) yaitu

jumlah kesetaraan mg asam galat dalam 1 g sampel (Lee et al., 2003)



Gambar 1. Kurva Kalibrasi Asam Galat

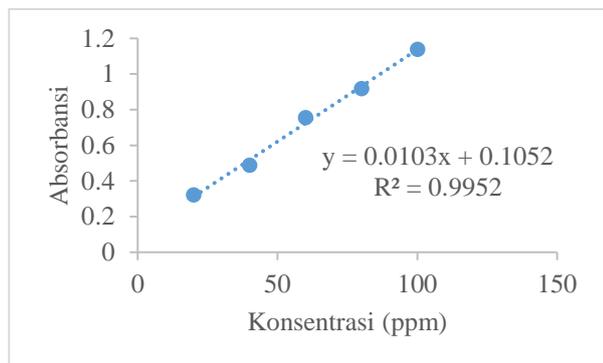
Pada hasil penentuan kadar total fenolik daun terap, kandungan fenolik terbesar pada sampel terdapat pada ekstrak etanol, kemudian fraksi *n*-heksana, etil asetat, lalu air. Pada umumnya, senyawa fenolik larut dalam pelarut polar. Namun, ada beberapa turunan senyawa fenol golongan stilbenoid seperti *trans*-4-isopentenil-5-metoksi-3,4'-dihidroksistilben, 3-(γ,γ -dimetilalil) resveratrol, 5-(γ,γ -dimetilalil) oksiresveratrol, 3-(2,3-dihidroksi-3-metilbutil) resveratrol, dan satu turunan benzofuran baru, 3-(γ,γ -dimetilpropenil) yang ditemukan pada genus *Artocarpus* yaitu *Artocarpus dadah* Miq dimana senyawa tersebut dapat larut dalam senyawa semi polar hingga non polar (Indarto, 2015). Tumbuhan yang termasuk ke dalam famili serta genus yang sama cenderung memiliki kemiripan kandungan kimia yang sama (Politeo et al., 2007).

Senyawa fenolik terbesar terdapat pada ekstrak etanol, hal ini disebabkan karena ekstrak masih dalam bentuk campuran beberapa senyawa mulai dari senyawa non polar hingga polar, sehingga senyawa-senyawa fitokimia banyak terdapat pada ekstrak. Setelah ekstrak etanol kandungan fenolik total juga terdapat pada fraksi *n*-heksana dan etil asetat, ini memungkinkan bahwa senyawa fenolik yang ada pada fraksi tersebut adalah turunan fenol berupa golongan aril-benzofuran, stilbenoid yang larut dalam senyawa semi polar- non polar (Politeo et al., 2007).

Fenolik merupakan senyawa yang berperan dalam memberikan aktivitas antioksidan sehingga diharapkan tumbuhan yang memiliki kandungan metabolit sekunder fenolik yang tinggi juga akan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Semakin besar kandungan total senyawa fenolik dari suatu tumbuhan maka akan semakin besar efek antioksidan yang dimiliki oleh tumbuhan tersebut (Velazquez and Zevallos, 2009). Semakin besar senyawa fenolik dalam suatu sampel, maka intensitas warna biru yang dihasilkan akan semakin pekat dan absorbansinya juga akan meningkat (Turisman et al., 2012).

Pada penentuan kadar total flavonoid ini menggunakan metode kolorimetri dengan reagen yang digunakan adalah AlCl₃. Penetapan kadar total flavonoid ini terbentuk berdasarkan kompleks antara AlCl₃ dan flavonoid pada gugus orto hidroksi keton atau pada 3'4'-dihidroksi pada cincin B yang memberikan efek pergeseran panjang gelombang yang lebih besar (batokromik), diukur pada panjang gelombang 430 nm (Silalahi, 2006; Pękal and Pyrzyńska, 2014).

Baku pembanding (standar) yang digunakan dalam analisis kadar flavonoid ini adalah kuersetin. Kuersetin adalah senyawa kelompok flavonol terbesar, serta memiliki sifat antiradikal paling kuat terhadap radikal hidroksil, peroksil, dan anion superoksida (Winarsi, 2007). Larutan standar kuersetin pada konsentrasi 100; 80; 60; 40 dan 20 µg/mL diukur serapannya dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 430 nm. Diukur pada panjang gelombang tersebut, karena pada panjang gelombang tersebut memberikan absorbansi sampel maksimal. Persamaan regresi $y = 0,0103x + 0,1052$ dengan nilai $R^2 = 0,9952$ diperoleh dengan memplotkan konsentrasi kuersetin (sumbu x) terhadap absorbansinya (sumbu y) dapat dilihat pada **Gambar 2**. Nilai (R) yang mendekati satu menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linear.



Gambar 2. Kurva Kalibrasi Kuersetin

Berdasarkan persamaan tersebut, diperoleh kadar total flavonoid dari ekstrak etanol daun terap, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air berturut-turut sebesar 25 mgQE/g; 32 mgQE/g; 55 mgQE/g; 58,432 mgQE/g, dan 28 mgQE/g yang dapat dilihat pada **Tabel 1**. Kandungan total flavonoid dalam ekstrak etanol atau fraksi dinyatakan dalam QE (*Quercetin Equivalent*) yaitu jumlah kesetaraan mg kuersetin dalam 1 g sampel (Sari, 2017).

Pada uji flavonoid kadar sampel terbesar sampai terkecil berturut-turut adalah fraksi etil asetat, fraksi *n*-heksana, fraksi air, terakhir ekstrak etanol. Senyawa flavonoid pada umumnya merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga mudah larut pada pelarut polar karena berikatan dengan gula. Namun, menurut Markham (1988) ada beberapa senyawa flavonoid seperti isoflavon, flavonon, flavon, dan flavonol

cenderung lebih mudah larut dalam pelarut semi polar hingga non polar. Dari hasil diketahui bahwa kadar flavonoid terbesar ada pada fraksi etil asetat (semi polar) kemudian fraksi *n*-heksana (non polar), hal ini dapat disimpulkan bahwa senyawa flavonoid yang ada pada sampel adalah senyawa aglikon kurang polar seperti isoflavon, flavonon, flavon, dan flavonol.

Tabel 1. Hasil Uji Fenolik dan Flavonoid Daun Terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco)

Pengujian	Sampel			
	Ekstrak Etanol	Fraksi <i>n</i> -heksana	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Air
Kadar Total Fenolik	154 mgGAE/g Ekstrak	124 mgGAE/g Fraksi	106 mgGAE/g Fraksi	40 mgGAE/g Fraksi
Kadar Total Flavonoid	25 mgQE/g Ekstrak	32 mgQE/g Fraksi	55 mgQE/g Fraksi	28 mgQE/g Fraksi

Tumbuhan terap ini telah diisolasi oleh beberapa peneliti terutama pada bagian daunnya ditemukan 2 senyawa golongan steroid berupa β-sitosterol dan stigmasterol Khong *et al.* (2017). Penelitian lain juga dilakukan oleh Naspiah *et al.* (2021) ditemukan golongan flavonoid dengan nama rutin dan steroid dengan nama stigmasterol. Hal ini sejalan dengan hasil penemuan metabolit sekunder yang ada pada sampel segar, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air yang positif mengandung flavonoid dan steroid.

Menurut Kusumowati dkk (2011) senyawa fenolik memberikan kontribusi sebesar 58,8 % terhadap aktivitas antioksidan. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa fenolik memiliki peran yang cukup signifikan sebagai penyumbang antioksidan, sedangkan sisanya dipengaruhi oleh senyawa lain. Begitu pula dengan senyawa flavonoid juga berperan dalam besarnya aktivitas antioksidan yang dimiliki suatu senyawa. Hal ini dikarenakan senyawa flavonoid dan fenolik memiliki gugus hidroksil yang terikat pada karbon yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi, sehingga gugus hidroksil tersebut dapat dengan mudah mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas (Winarsi 2007).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pada daun terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco) memiliki kadar total fenolik berturut-turut adalah 154 mgGAE/g pada ekstrak etanol; 124 mgGAE/g pada fraksi *n*-heksana; 106 mgGAE/g pada fraksi etil asetat dan 40 mg GAE/g pada fraksi air sedangkan untuk kadar total flavonoid berturut-turut

adalah 25 mgQE/g pada ekstrak etanol; 32 mgQE/g pada fraksi *n*-heksana; 55 mgGAE/g pada fraksi etil asetat dan 28 mg GAE/g pada fraksi air. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa kadar total fenolik lebih besar dibandingkan kadar flavonoid di ekstrak dan fraksi. Semakin besar kadar fenolik dan flavonoid dalam tumbuhan, maka semakin besar pula potensinya sebagai antioksidan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Prof. Dr. Fitmawati, M.Si dari Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Riau atas identifikasi sampel tumbuhan. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau, untuk fasilitas laboratorium yang telah diberikan.

CONFLICT OF INTEREST

Penulis menyatakan bahwa tidak ada *conflict of interest* dalam penulisan artikel ini.

REFERENSI

- Alfian, R., and 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.
- Bakar, M., Mohamed, M., Rahmat, A., Burr, S., and Fry, J. 2010. Cytotoxicity and polyphenol diversity in selected parts of *Mangifera pajang* and *Artocarpus odoratissimus* Fruits. *Nutrition & Food Science*, **40(1)**: 29–38.
- Burgess, G. W. 1995. *Prinsip Dasar ELISA dan Variasi Konfigurasinya, Teknologi ELISA Dalam Diagnosis dan Penelitian*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Furi, M. 2023 Uji Aktivitas Antioksidan dan Tabir Surya Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco), *JFI Online*, **15(2)**: 195–205.
- Gandjar, I. G. and Rohman, A. 2007. *Kimia Analisis Farmasi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Hanani, E. 2015. *Analisis Fitokimia*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Handayani, H., Sriherfyna, F. H., and Yunianta. 2016. Ekstraksi antioksidan daun sirsak metode ultrasonik bath (kajian rasio bahan : pelarut dan lama ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, **4(1)**: 262–272.
- Herdiana, I., and Aji, N. 2020. Fraksinasi ekstrak daun sirih dan ekstrak gambir serta uji antibakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, **19**: 100–106.
- Indarto, I. 2015. Isolasi dan identifikasi senyawa fenolik dari kulit akar tumbuhan *Artocarpus dadah* Miq. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Fisika Al-Biruni*, **4(2)**: 205–17.
- Khong H.Y, Nyotia, N, Clifford, J. K, Ahmad, S. H, Isabel, F. L. 2017. Chemical Constituents of *Artocarpus odoratissimus* from Sarawak. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, **7(8)**: 137–41.
- Kusumowati, I. T. D. Melannisa, R. and Ratri, K. 2011. korelasi kandungan fenolik dan aktivitas antioksidan daun jambu mente. *Biomedika* **3(2)**: 25–30.
- Lee, K., Kim, Y., Lee, H., and Lee, C. 2003. Cocoa has more phenolic phytochemical and higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal Agriculture Food Chemistry*, **51**: 7292–7295.
- Marjoni, M. R. 2016. *Dasar-Dasar Fitokimia untuk Diploma III Farmasi*. Jakarta: Trans Info Media Press.
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Padmawinata K. Terjemahan Niksolihin S. *Techniques of Flavonoid Identifications*. Bandung: Penerbit ITB.
- Morikawa, K., Nonaka, M., Narahara, M, Torii, I., Kawaguchi, K., and Yoshikawa, T., and S Kumazawa, Y., and Morikawa. 2003. Inhibitory effect of quercetin on carrageenan-induced inflammation in rats. *Life Science*, **26(6)**: 709–21.
- Naspiah, N., Pratama, M., and Sukardiman. 2021. Xanthine oxidase inhibition activity and ADMET properties of Terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco) leaves metabolites: phytochemical screening and in silico studies. *Pharmacognosy Journal*, **13(5)**: 1150–1160.
- Pecsok, R. L., Shields, L. D., Cairns, T., and Mc. William, I.G. 1976. *Modern Methods of Chemical Analysis*, 2nd ed. New York: Jhon Willey and Sons Inc.
- Pekal, A and Krystyna, P. 2014. Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Analytical Methods*, **7(9)**: 1776–1782.
- Politeo, O., Jukic, M., and Milos, M. Politeo, O., Jukic, M., and Milos, M. 2007. Chemical composition and antioxidant capacity of free volatile aglycones from basil (*Ocimum basilicum* L.)

- compared with its essential oil. *Food Chemistry*, **101(1)**: 379–385.
- Ramadhan, H., Andina, L., Vebruati, V., Nafila, N., Yuliana, K., Baidah, D., Lestari, N. 2020. Perbandingan rendemen dan skrining fitokimia dari ekstrak etanol 96% daun, buah dan kulit buah terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, **11(2)**: 103–112.
- Rizki, M., Nurlily, Fadlilaturrahmah, M. 2021. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun cempedak (*Artocarpus integer*), nangka (*Artocarpus heterophyllus*), dan tarap (*Artocarpus odoratissimus*) asal Kalimantan Selatan. *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*, **4(2)**: 367–372.
- Sánchez-Rangel, J. C., Benavides, J., Heredia, J. B., Cisneros-Zevallos, L., and Jacobo-Velázquez, D. A. 2013. The Folin-Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination. *Analytical Methods*, **5(21)**: 5990–5999.
- Sari, A. K., Fikri, M., and Febrianti, D. K. 2019. Metabolit sekunder pada ekstrak daun terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco) dengan variasi pelarut. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, **2(2)**: 231-240.
- Sari, N. 2017. Penentuan Kadar Total Fenol Dan Total Flavonoid Dari Ekstrak Etanol Buah Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.). *Skripsi*. Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara. Medan
- Schmalhausen, E. V., Zhlobek, E. B., Shalova, I. N., Firuzi, O., Saso, L., and Muronetz, V. I. 2007. Antioxidant and prooxidant effects of quercetin on glyceraldehyde-3- phosphate dehydrogenase. *Food and Chemical Toxicology*, **45(10)**: 1988–1993.
- Silalahi, J. 2006. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: Kanisius.
- Skoog D. A., Holler J. H., N. T. A. 2007. *Principios de Analisis Instrumental*. 6th ed. México D.F.: Mcgrawhill.
- Stratil P., Kuban V., and Fojtova J. 2008. Comparison of the Phenolic content and total antioxidant activity in wines as determined by spectrophotometric methods. *Czech Journal Food Scient*, **26**: 242–253.
- Tasmin, N and Erwin, I. W. K. 2014. Isolasi, identifikasi dan uji toksisitas senyawa flavonoid fraksi kloroform dari daun terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco). *Jurnal Kimia Mulawarman*, **12(1)**: 45–53.
- Turisman, P., Ardiningsih, and Nofiani, R. 2012. Total fenol fraksi etil asetat dari buah asam kandis (*Garcinia dioica* Blue). *Jurnal Kimia Pangan*, **1(1)**: 45–48.
- Velazquez, D. A. J. and Zevallos L. C. 2009. Correlation of antioxidants activity againts phenolic content revisited: a new approach in data analysis for food and medical plants. *Journal of Food Science*, **74(9)**: 107–113.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.