

EVALUASI KANDUNGAN TOTAL POLIFENOL DAN ISOLASI SENYAWA FLAVONOID PADA DAUN GEDI MERAH (*Abelmoschus manihot* L.)

Elly Suoth¹, Hindang Kaempe¹ dan Aryani Tampi¹

¹Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Kristen Indonesia Tomohon

ABSTRAK

Suoth dkk., 2013. Evaluasi Kandungan Total Polifenol Dan Isolasi Senyawa Flavonoid Pada Daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* L.)

Di Sulawesi Utara tanaman Gedi Merah sudah di kenal oleh sebagian masyarakat, karena tanaman ini banyak dijadikan sebagai sayuran. Gedi Merah digunakan sebagai pengobatan alternatif untuk menurunkan kadar kolesterol, hipertensi dan antidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan total polifenol yang terdapat pada daun gedi merah dan mengisolasi serta mengidentifikasi kandungan flavonoid pada daun gedi merah. Setelah dilakukan pengujian diketahui bahwa kandungan total polifenol ekstrak gedi merah sangat tinggi yang dihitung berdasarkan kandungan total fenol (1003,5 mg/Kg), kandungan total flavonoid (722,5 mg/Kg) dan kandungan total tannin (1029 mg/Kg). Ekstrak gedi merah mengandung flavonoid golongan flavanon dan flavanonol.

Kata kunci : polifenol, isolasi, *Abelmoschus manihot* L.

ABSTRACT

Suoth et al., 2013. Evaluation of total polyphenolics and isolation of flavonoids in red gedi (*Abelmoschus manihot* L.) leaves

In North Sulawesi Red " Gedi " plants already known by most people , because this plant is widely used as a vegetable. Red Gedi plant is used as an alternative treatment to lower cholesterol levels , hypertension and antidiabetic. This study aims to determine the content of total polyphenols contained in the leaves of red and gedi isolate and identify the content of flavonoids in the leaves of red gedi. After testing is known that the total polyphenol content of red gedi extract very high which is calculated based on the total phenol content (1003.5 mg/kg) , total flavonoid content (722.5 mg/kg) and total tannin content (1029 mg/Kg). Red gedi extract contains flavonoids and flavanones groups flavanonol.

Keywords : polyphenolics, isolation, *Abelmoschus manihot* L.

PENDAHULUAN

Di Sulawesi Utara tanaman Gedi Merah sudah di kenal oleh sebagian masyarakat, karena tanaman ini banyak dijadikan sebagai sayuran. Namun berdasarkan spesiesnya tanaman gedi terbagi atas dua jenis yaitu Gedi Merah dan Hijau. Gedi Hijau biasanya dikonsumsi oleh masyarakat sebagai sayuran, sedangkan tanaman Gedi Merah tidak dijadikan sayuran seperti tanaman Gedi Hijau. Berdasarkan informasi dari masyarakat sekitar, tanaman Gedi Merah digunakan sebagai pengobatan alternatif untuk menurunkan kadar kolesterol, hipertensi dan antidiabetes.

Berbagai penelitian dan pengembangan yang memanfaatkan kemajuan teknologi dilakukan sebagai upaya peningkatan mutu dan keamanan produk yang diharapkan dapat lebih meningkatkan kepercayaan terhadap manfaat obat yang berasal dari bahan alam. Banyak penelitian yang telah dilakukan dengan

pembuatan ekstrak tumbuhan berkhasiat obat yang dilanjutkan dengan mengisolasi untuk standardisasi kandungannya dengan tujuan memelihara keseragaman mutu, keamanan, dan khasiatnya.

Dari hasil penelitian sebelumnya sediaan infus Daun Gedi Merah mengandung senyawa kimia yang bermanfaat bagi kesehatan (Tea, 2012). Hal ini telah dibuktikan dengan adanya penelitian Uji efektifitas pada Daun Gedi Merah sebagai antidiabetes.

Bertolak dari hal di atas, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa apa saja yang terdapat dalam daun Gedi Merah dan mengisolasi salah satu senyawa metabolit sekunder tanaman Daun Gedi Merah, yang berkhasiat sebagai antidiabetes.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun Gedi Merah, H₂SO₄, n-

Butanol, Asam Asetat, Aquades, Serbuk Magnesium, Iso-amilalkohol, HCl, Amonia, Kloroform, Dietil eter, Besi (III) klorida, Pereaksi Mayer, Pereaksi Wagner, Pereaksi Dragendorf, Pereaksi Lieberman Buchard, Folin-Ciocalteu (50%), Na_2CO_3 , NaNO_2 , Etanol, Lempong KLT (GF 254), Tissue.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Alat Chambber, Lampu UV, Pensil, Mistar, Spectrofotometer (Genesys 10S), Spectrofotometer (Genesys 20), Rotary Evaporator (IKA ® RV 10), Oven (Memmer), Timbangan Analitik (AND), Gelas Ukur, Gelas Bekker, Erlmeyer, Tabung reaksi. Hoot Plat (IEC), Batang pengaduk, Toples, Gunting, Pipet, Serbet, Camera (Canon 650D), Vortex (Mixer VM 300).

Ekstraksi

Daun Gedi yang telah bersih kemudian di keringkan pada oven dengan suhu 50°C selama 12 jam kemudian sebanyak 100 gram sampel kering di ekstraksi dengan menggunakan pelarut air panas selama 15 menit dan berulang sampai pelarut berwarna jernih. Ekstrak yang didapat kemudian dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator.

Analisis Kualitatif

Ekstrak yang didapat dianalisis kualitatif untuk mengetahui komponen kimia yang menyusun atau yang terdapat dalam Daun Gedi Merah.

1. Penapisan Alkaloid

Ekstrak sebanyak 2 gram di partisi dengan 10 ml kloroform, setelah itu sampel ditambahkan 5 ml amonia 0,005 N. lalu pada tabung reaksi filtrat ditambahkan 5 tetes asam klorida 2M, kemudian dikocok hingga terbentuk dua lapisan yaitu fraksi asam dan fraksi kloroform. Lapisan asam dipipet kedalam tiga tabung reaksi, selanjutnya pada tabung 1 diuji dengan pereaksi Mayer, larutan pada tabung 2 diuji dengan pereaksi Dragendroff dan larutan pada tabung 3 diuji dengan peraksi Wagner. Terjadinya endapan menunjukkan bahwa Daun Gedi Merah mengandung Alkaloid, dengan pereaksi Mayer memberikan endapan berwarna putih, dengan pereaksi Dragendorff memberikan endapan merah jingga dan dengan pereaksi Wagner memberikan endapan berwarna coklat (Sianturi, 2001).

2. Penapisan Tanin

Ekstrak ditambahkan 5 tetes NaCl 10%, disaring lalu filtrat ditambahkan 5 tetes FeCl_3 1%.. Apabila berwarna hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin. (Sianturi, 2001).

3. Penapisan Terpenoid dan Steroid

Ekstrak dilarutkan kembali dalam pelarut air kemudian difraksinasi dengan pelarut dietil eter

kemudian fraksi dietil eter ditambahkan pereaksi Liberman-Burchard, kemudian dikocok. Bila terbentuk larutan merah menunjukkan adanya terpenoid dan biru atau hijau menunjukkan adanya steroid.

4. Penapisan Saponin

Sebanyak 2 gram Daun Gedi Merah ditambahkan 5 ml dietil eter, lalu dipisahkan debris dan filtrat. Debris yang ada ditambahkan 5 ml aquades kocok sampai timbul busa. Adanya busa ini menandakan bahwa Daun Gedi Merah mengandung saponin (Sianturi, 2001).

5. Penapisan Flavonoid

Sebanyak 2 gram Daun Gedi Merah ditambahkan 10 ml air panas lalu dipanaskan lagi selama 5 menit. Sebanyak 5 ml filtratnya diuji dengan menambahkan sedikit serbuk Magnesium, 1 ml asam klorida pekat dan 1 ml iso amilalkohol kemudian dikocok. Apabila terjadi warna merah/kuning/jingga pada lapisan alkohol menunjukan adanya flavonoid (Sianturi, 2001).

Analisis kuantitatif

1. Penentuan Total Fenolik

Kandungan total fenol dalam ekstrak ditentukan dengan metode Jeong *et al.* (2005). Dalam sampel ekstrak sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu (50%) dalam tabung reaksi dan kemudian campuran ini divortex selama 3 menit. Setelah interval waktu 3 menit, ditambahkan 1 mL larutan Na_2CO_3 2%. Selanjutnya campuran disimpan dalam ruang gelap selama 30 menit. Absorbansi ekstrak dibaca dengan spektrofotometer pada λ 750 nm. Hasilnya dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat dalam mg/kg ekstrak. Kurva kalibrasi dipersiapkan pada cara yang sama menggunakan asam galat sebagai standar.

2. Penentuan Total Flavonoid

Prosedur penentuan kandungan total flavonoid menggunakan metode Zhishen *et al.* (1999). 1 ml ekstrak ditambahkan dengan 5,7 mL aquades, 0,3 mL NaNO_2 dan 3 mL aluminium klorida 10%, divortek dan didiamkan selama 5 menit. Setelah 6 menit 2 mL campuran larutan tersebut ditambahkan dengan 2 mL NaOH 1 M, kemudian divortex dan dibaca pada λ 415 nm. Kandungan total flavonoid dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin dalam mg/kg ekstrak. Kurva kalibrasi dipersiapkan pada cara yang sama menggunakan kuersetin sebagai standar.

3. Penentuan tanin Terkondensasi

Kandungan tanin terkondensasi sampel ditentukan menurut metode Julkunen-Titto (1985). Sebanyak 0,1 ml larutan sampel dimasukkan dalam tabung

reaksi yang dibungkus aluminium foil, lalu ditambahkan 2 ml larutan vanillin 4% (b/v) dalam etanol dan divortex. Kemudian ditambahkan 1 ml HCL pekat dan divortex lagi. Absorbansi sampel dibaca pada λ 500 nm setelah campuran itu campuran diinkubasi selama 20 menit pada suhu kamar. Kandungan tanin terkondensasi dinyatakan sebagai ekuivalen katekin dalam mg/kg ekstrak. Kurva kalibrasi dipersiapkan pada cara yang sama menggunakan katekin sebagai standar.

Isolasi Flavonoid dari Daun Gedi Merah

Ekstrak Daun Gedi Merah dengan menggunakan beberapa pelarut yang positif terdapat flavonoid kemudian dihidrolisis dengan H_2SO_4 2M ditotolkan pada lempeng KLT dengan menggunakan fase gerak berupa n-butanol, asam asetat dan air (4:1:5). Penampakan noda yang digunakan yaitu berupa uap amonia pekat serta pengamatan dibawah lampu UV pada panjang gelombang 256 nm dan 366 nm.

Identifikasi Flavonoid dari Daun Gedi Merah

Identifikasi flavonoid dengan menggunakan spektrofotometer dilakukan dengan cara mengumpulkan isolat-isolat yang terbentuk pada KLT kemudian dilarutkan dengan pelarut etanol 95 %. Selanjutnya isolat yang telah larut di rekam pada alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-400 nm yang sebelumnya telah distandarisasi dengan etanol 95 %.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Kualitatif

Penelitian ini dimulai dengan melakukan skrining metabolit sekunder untuk mengetahui senyawa apa saja yang terkandung dalam daun Gedi Merah dengan menggunakan pelarut air. Hasil yang diperoleh ternyata daun Gedi Merah hanya mengandung metabolit sekunder berupa senyawa flavonoid dan tanin yang merupakan senyawa polifenol.

Hasil skrining metabolit sekunder pada daun Gedi Merah dengan menggunakan pelarut air dapat dilihat pada Tabel dibawah ini :

Tabel 1. Hasil skrining metabolit sekunder pada Daun Gedi Merah Dengan Pelarut Air

No	Jenis Senyawa	Hasil	Ket
	Alkaloid		
1	- Wagner	Tidak Terjadi endapan coklat	-
	- Dragendrof	Tidak Terjadi endapan merah oranye	-
	- Mayer	Tidak Terjadi endapan putih	-
2	Steroid	Terjadi perubahan warna hijau/biru	-
3	Terpenoid	Tidak terjadi perubahan warna merah/ungu	-
4	Saponin	Tidak Berbusa	-
5	Flavonoid	Terbentuk warna orange/jingga	+
6	Tanin	Terbentuk warna hijau kehitaman	+

Analisis Kuantitatif Senyawa Polifenol

Evaluasi kandungan polifenol pada ekstrak Daun Gedi Merah dengan pelarut air dilakukan dengan menghitung jumlah kandungan total dari senyawa fenol, flavonoid dan tanin. Kandungan total

fenolik, flavonoid dan tanin yang diperoleh dari penelitian dengan menggunakan ekstrak Daun Gedi Merah konsentrasi 1:1 seperti pada Tabel 4 dibawah ini :

Tabel 2. Kandungan total senyawa fenolik, flavonoid dan tanin

Metabolit sekunder	Rata-rata
Fenolik	1003,5
Flavonoid	722,5
Tanin	1029

Isolasi Senyawa Flavonoid Dengan Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Isolasi senyawa flavonoid ekstrak Daun Gedi Merah dilakukan dengan metode KLT. KLT yang digunakan terbuat dari silika gel dengan ukuran 4 cm x 8 cm GF254 (Merck). Setelah dielusi plat diamati

dibawa sinar UV dengan panjang gelombang 265 nm dan 366 nm kemudian di uapi dengan uap amonia dan dilihat kembali di bawah lampu UV. Hasil KLT dari ekstrak Daun Gedi Merah dapat dilihat pada table dibawah ini.

Tabel 3. Hasil KLT Dari Ekstrak Daun Gedi Merah

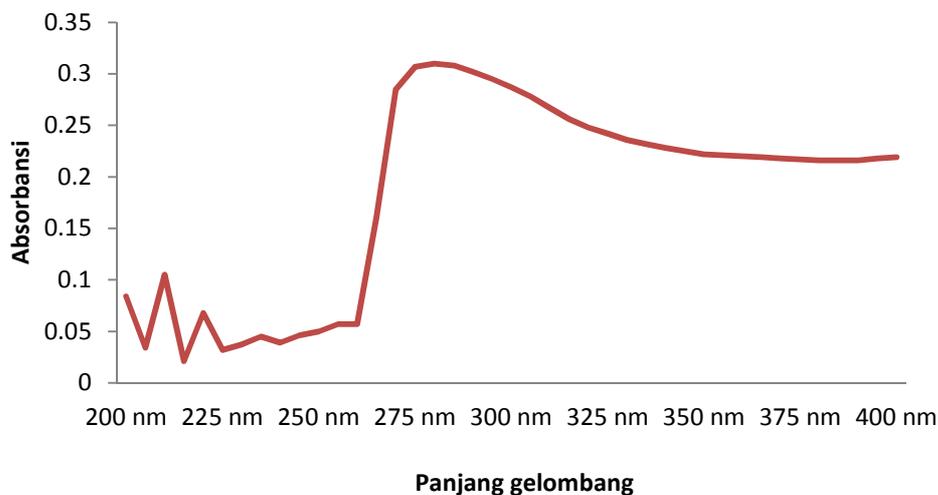
Warna sebelum diuapi Amonia	Warna sesudah diuapi Amonia	Sebelum diuapi Amonia		Sesudah diuapi Amonia		Harga Rf
		Warna pada λ 256	Warna pada λ 366	Warna pada λ 256	Warna pada λ 366	
Nihil	Nihil	Coklat Tua / Hitam	Kuning Kehijauan	Coklat Tua / Hitam	Kuning	0,984
Nihil	Nihil	Coklat Tua / Hitam	Kuning Kehijauan	Coklat Tua / Hitam	Kuning	0,984
Nihil	Nihil	Coklat Tua / Hitam	Kuning Kehijauan	Coklat Tua / Hitam	Kuning	0,984
Nihil	Nihil	Coklat Tua / Hitam	Kuning Kehijauan	Coklat Tua / Hitam	Kuning	0,984
Nihil	Nihil	Coklat Tua / Hitam	Kuning Kehijauan	Coklat Tua / Hitam	Kuning	0,968
Nihil	Nihil	Coklat Tua / Hitam	Kuning Kehijauan	Coklat Tua / Hitam	Kuning	0,968
Nihil	Nihil	Coklat Tua / Hitam	Kuning Kehijauan	Coklat Tua / Hitam	Kuning	0,968
Nihil	Nihil	Coklat Tua / Hitam	Kuning Kehijauan	Coklat Tua / Hitam	Kuning	0,968

Berdasarkan hasil diatas (Tabel 3) jika dibandingkan dengan literatur yang ada, menunjukkan bahwa senyawa flavonoid yang terkandung di dalam ekstrak Daun Gedi Merah diduga merupakan senyawa flavonoid golongan senyawa Isoflavon, flavanon dan flavanonol dilihat dari warna sebelum diuapi amonia pada lampu UV dengan panjang gelombang 256 yaitu coklat tua atau hitam dan setelah diuapi dengan amonia warna dibawah lampu UV untuk panjang gelombang 256 nm warnanya tetap tidak berubah sedangkan untuk panjang gelombang 366 nm sebelum diuapi amonia berwarna kuning kehijauan dan sesudah diuapi dengan amonia berubah menjadi kuning.

Hasil Identifikasi Senyawa Flavonoid dengan menggunakan spektrofotometer Uv-Vis

Hasil dari identifikasi senyawa flavonoid dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada grafik dibawah ini.

Dari hasil identifikasi dapat dilihat bahwa panjang gelombang maksimum dari isolat dugaan flavonoid terdapat pada panjang gelombang antara 275-290 nm. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa pada ekstrak Daun Gedi Merah positif mengandung senyawa flavonoid golongan flavanon dan flavanonol. Hal tersebut diperkuat oleh Harbone (1987) bahwa rentang serapan maksimum dari senyawa flavonoid golongan flavanon dan flavanonol terdapat pada panjang gelombang 275-290 nm.



Gambar 1. Grafik Identifikasi senyawa flavonoid dengan spektrofotomer Uv-Vis

Pada penelitian ini daun Gedi Merah diekstraksi menggunakan pelarut air. Pemilihan pelarut tersebut didasarkan pada pemastian mutu dari sediaan sirup yang telah dibuat dan diuji aktivitasnya sebagai antidiabetes dan berdasarkan penelitian tersebut terbukti bahwa sediaan sirup ekstrak Daun Gedi Merah dengan pelarut air menunjukkan aktivitasnya sebagai antidiabetes (Aguw, 2013). Selain itu penggunaan pelarut air juga mendukung tersarinya senyawa polifenol dalam Daun Gedi Merah yang merupakan senyawa aktif sebagai antidiabetes. Polifenol adalah kelompok zat kimia yang ditemukan pada tumbuhan. Zat ini memiliki tanda khas yakni memiliki banyak gugus fenol dalam molekulnya.

KESIMPULAN

1. Total polifenol ekstrak gedi merah sangat tinggi yang dihitung berdasarkan kandungan total fenol (1003,5 mg/Kg), kandungan total flavonoid (722,5 mg/Kg) dan kandungan total tannin (1029 mg/Kg).
2. Ekstrak gedi merah mengandung flavonoid golongan flavanon dan flavanonol.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A. 1989. *Buku Materi Pokok Kimia Organik Bahan Alam*. Universitas Terbuka, Depdikbud. Jakarta
- Aguw, V. G. 2013. *Uji Aktivitas Sirup Ekstrak Polifenol Daun Gedi Merah Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih*. Skripsi. UKIT
- Fessenden R.J & Fessenden J.S., 1997.p *Kimia Organik*. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Gritter, R. J. 1991.*Pengantar Kromatografi Edisi Kedua*. Terjemahan Kokasih Padmawinata. Bandung : Penerbit ITB.
- Harborne, J. B, 1987, *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* (diterjemahkan oleh K. Panduwinata dan Soediro,I.), terbitan ke-2, Penerbit ITB, Bandung.
- Hung, C. Y. & Yen. G. C. 2002. Antioxidant of Phenolic Compounds Isolated from *Mesona Procumbens* Hemsil. *J. Agric. Food Chem.* 50: 2993-2997.
- Jeong, S.M., S.Y. Kim, R. R. Kim, S.C.Jo, K. C. Nam D.U Ahn & S. C. Lee. 2004. *Effect of Heat Treatment on the Antioxidant Activity of Extracts from Citrus peels*. *J. Agric Food Chem.* 52. 3389-3393.
- Julkunen-Titto, R, 1985. *Phenolic Constituents in the Leaves of Northern Willows : Methods for the analysis of Certain Phenolics*. *J. Agric. Food Chem.* 33:213-217.
- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Penerbit ITB, Bandung
- Manitto, P. 1981. *Biosintesis Produk Alami*. Penerbit IKIP Semarang Press: Semarang
- Muldja. M.H.1955. *Analisis Instrumental* Surabaya: Airlangga Universitas Press
- Mursyidi, A. 1989. *Analisis metabolit sekunder*. UGM. Yogyakarta
- Robinson. T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung : ITB
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Shao-Yu Z., Nai-Ning S., Wen-Yuan G., Wei J., Hong-Quan D. & Pei-Gen X., 2006, *Progress in the treatment of chronic glomerulonephritis with traditional Chinese medicine*, *Asian Journal of*

- Pharmacodynamic and Pharmacokinetics* 6 (4): 317-325.
- Sudjadi., 1988. *Metode Pemisahan*. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Penerbit Kanisius. Yogyakarta
- Skoog, D.A., 1996, *Penyidikan Spektrometri Senyawa Organik* Edisi ke-4, Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Tan Hoan Tjay & Kirana Rahardja. 2002. *Obat-obat Penting Edisi Kelima. Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya*. Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia. Jakarta
- Tea Y. 2012. *Uji Efektivitas Infus Daun Gedi Merah Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Pada Tikus Putih*. Skripsi. UKIT
- Underwood, 1981. *Analisa Kimia kuantitatif Edisi Keempat*. Jakarta: Erlangga
- Winarto, G. 2007. *Tanaman Obat Tradisional*. Penerbit : PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Zhishen, J, Mengcheng T & Jiungming, W 1999, Research on antioxidant activity of flavonoids from natural materials, *journal of food Chemistry*, vol. 64, pp. 555-9