

Penetapan Kandungan Total Fenolik-Flavonoid pada Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterman)

Hafiz Ramadhan*, Dea Permata Rezky, Eka Fitri Susiani
Program Studi S1 Farmasi, STIKES Borneo Lestari, Banjarbaru, Indonesia

*Corresponding author: hafizramadhan14@gmail.com

Submitted: 26 Mei 2020

Accepted: 3 Desember 2020

Published: 27 April 2021

Abstract

Background: Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterman) is one of the typical plants of Kalimantan which has potentially bioactive because it has a high phenol and flavonoid content. This plant is used in medicine by people for generations and is rarely found, so need to know the chemicals that are efficacious in the bark. **Objective:** This study aims to determine the total levels of phenolic and flavonoids of ethyl acetate fraction from the methanol extract of Kasturi bark. **Methods:** Qualitative analysis was done through phenolic phytochemical screening with $FeCl_3$ reagent, whereas flavonoids using $Mg-HCl$, $NaOH$ 10%, and H_2SO_4 . Thin-layer chromatography (TLC) was also carried out with methanol eluent and 10% $FeCl_3$ spotting appearance for phenolic compounds, 5% $AlCl_3$ and citroborate for flavonoid compounds. Determination of total phenolic and flavonoid levels using colorimetric methods with the Folin-Ciocalteu complex reagents in phenolic and $AlCl_3$ complex reactants on flavonoids whose absorbance was measured using UV-Vis spectrophotometer. **Results:** The results showed that the value of rendement of methanol extract of Kasturi bark is 10.38% and its ethyl acetate fraction is 4.2%. Phytochemical screening and TLC was identified phenolic and flavonoid content. The ethyl acetate fraction from the methanol extract of Kasturi bark contains a total phenolic level of 3.92 mg GAE/g fraction and a total flavonoid level of 5.14 mg QE/g fraction. **Conclusion:** The study can be concluded that the ethyl acetate fraction from the methanol extract of Kasturi bark contains flavonoid and phenolic compounds that can be used as alternatives natural medicine sources.

Keywords: kasturi bark, ethyl acetate fraction, phenolic, flavonoid

Abstrak

Pendahuluan: Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterman) adalah salah satu dari tumbuhan khas Kalimantan yang memiliki berpotensi bioaktif karena memiliki kandungan fenol dan flavonoid yang tinggi. Tanaman ini digunakan dalam pengobatan oleh masyarakat secara turun temurun dan langka untuk ditemukan, sehingga perlu diketahui zat kimia berkhasiat pada bagian kulit batangnya. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar total fenolik dan flavonoid fraksi etil asetat dari ekstrak metanol kulit batang kasturi (*M. casturi* Kosterman). **Metode:** Analisis kualitatif melalui skrining fitokimia fenolik dengan reagen $FeCl_3$, sedangkan untuk flavonoid menggunakan $Mg-HCl$, $NaOH$ 10%, dan H_2SO_4 . Kromatografi lapis tipis (KLT) juga dilakukan dengan eluen metanol dan penampak bercak $FeCl_3$ 10% untuk senyawa fenolik, $AlCl_3$ 5% dan sitroborat untuk senyawa flavonoid. Penentuan kadar total fenolik dan flavonoid menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi kompleks Folin-Ciocalteu pada fenolik dan pereaksi kompleks $AlCl_3$ pada flavonoid yang absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. **Hasil:** Hasil penelitian diperoleh rendemen ekstrak metanol kulit batang Kasturi sebesar 10,38% dan rendemen fraksi etil asetatnya sebesar 4,2%. Hasil skrining fitokimia dan KLT teridentifikasi kandungan fenolik dan flavonoid. Fraksi etil asetat dari ekstrak metanol kulit batang Kasturi mengandung kadar total fenol sebesar 3,92 mg GAE/g fraksi dan kadar total flavonoid sebesar 5,14 mg QE/g fraksi. **Kesimpulan:** Kesimpulan dari penelitian ini adalah fraksi etil asetat dari

ekstrak metanol kulit batang Kasturi mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai alternatif sumber obat bahan alam.

Kata kunci: kulit batang kasturi, fraksi etil asetat, fenolik, flavonoid

PENDAHULUAN

Spesies-spesies dari genus *Mangifera* dikenal sebagai buah-buahan yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat, diantaranya adalah mangga (*Mangifera indica*), pakel (*Mangifera foetida* L.), kweni (*Mangifera odorata*) dan kasturi (*Mangifera casturi* Kosterman) (Santoni dkk., 2015). Genus *Mangifera* mengandung potensial bioaktif dan merupakan salah satu penghasil antioksidan tinggi karena memiliki kandungan golongan senyawa fenolik dan flavonoid tinggi yang berperan dalam menghasilkan aktivitas tersebut (Mirfat dkk., 2013). Kandungan fenolik yang terdapat pada genus *Mangifera* antara lain yaitu asam galat, α -tokoferol, 3-metil galat, propil galat, dan juga mangiferin (Kim dkk., 2010; Sulaiman & Ooi, 2012). Genus tersebut juga mengandung beberapa jenis flavonoid antara lain yaitu kaempferol 3-O-glukosida, kuersetin 3- β -D glukosida, katekin, epikatekin, daidzein dan genistein (Khoo & Ismail, 2008; Kim dkk., 2010; Ribeiro dkk., 2008).

Salah satu tumbuhan dari genus tersebut yang merupakan tanaman khas berasal dari Kalimantan adalah Kasturi (Aksara dkk., 2013). Tanaman ini telah banyak digunakan dalam pengobatan karena secara tradisional telah digunakan oleh masyarakat secara turun temurun. Tanaman ini juga sudah langka untuk ditemukan, maka akan sulit untuk diteliti sehingga perlu diketahui zat kimia berkhasiat yang terkandung didalamnya, agar terjaga kelestariannya dan bermanfaat dalam dunia kesehatan (Kostermans & Bompard, 2014). Aktivitas antioksidan dari Kasturi sudah terbukti sangat kuat pada bagian buah (Suhartono dkk., 2012; Sutomo dkk., 2017b), daun (Bakti dkk., 2017), dan kulit batang (Prayitno dkk., 2016). Keberadaan Kasturi yang terancam punah dan belum dibudidayakan karena umur berbuahnya yang sangat panjang dan pohonnya yang sangat besar dan tinggi sehingga potensi bagian kulit batangnya perlu dieksplorasi dan dimanfaatkan secara maksimal (Marliani dkk., 2016). Selain berperan sebagai antioksidan, bagian kulit batang Kasturi memiliki potensi dikembangkan menjadi bahan obat karena berpotensi sebagai antibakteri (Rosyidah dkk., 2012; Santi dkk., 2016; Syarifuddin dkk., 2014) dan aktivitas sitotoksik (Ariyani dkk., 2010).

Aktivitas yang dihasilkan kulit batang Kasturi berhubungan dengan kandungan senyawa fenolik dan flavonoidnya. Kadar senyawa yang tersari dari tanaman sangat berperan dalam menghasilkan aktivitas biologis, sehingga pemilihan pelarut yang tepat sangat berpengaruh dalam ekstraksi kulit batang Kasturi. Penggunaan pelarut metilen klorida pada maserasi kulit batang Kasturi telah dilakukan oleh Prayitno dkk. (2016) untuk aktivitas antioksidan, tetapi hasil yang didapatkan tidak menunjukkan adanya aktivitas antioksidan. Penggunaan pelarut etanol pada ekstraksi kulit batang Kasturi juga didapatkan kadar fenolik yang lebih rendah dibandingkan bagian daun dan kulit buah (Marliani dkk., 2016). Sedangkan ekstraksi menggunakan metanol untuk kulit batang Kasturi berpotensi besar dalam menghasilkan aktivitas biologis seperti antidiabetes (Mustikasari & Ariyani, 2008) aktivitas sitotoksik (Rosyidah & Mustikasari, 2008) dan antibakteri (Rosyidah dkk., 2012). Pengujian pada ekstrak metanol kulit batang Kasturi juga menunjukkan hasil skrining metabolit sekunder yang lebih banyak meliputi tanin, fenol, flavonoid, alkaloid, terpenoid dan saponin (Sutomo dkk., 2017a). Selain itu penggunaan pelarut metanol lebih efektif dalam mengekstraksi kandungan mangiferin yang merupakan komponen kimia utama pada genus *Mangifera* (Shinde & Chavan, 2014).

Berdasarkan penelusuran literatur yang menunjukkan hasil skrining metabolit sekunder pada ekstrak metanol kulit batang kasturi mengandung senyawa golongan fenolik dan flavonoid, melatarbelakangi dilakukannya penelitian penentuan kadar total fenolik dan flavonoid dari fraksi etil asetat yang berasal dari ekstrak metanol kulit batang Kasturi. Penelitian ini diharapkan bahwa fraksi etil asetat dari ekstrak metanol kulit batang Kasturi memiliki kandungan dan kadar flavonoid dan fenolik yang tinggi seperti pada bagian daun dan kulit buahnya, sehingga dapat berguna sebagai alternatif sumber obat bahan alam, khususnya aktivitas antioksidan.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan untuk penelitian adalah metanol teknis (*Shagufta Laboratory*), etil asetat teknis

(*Shagufta Laboratory*), metanol *p.a.* (*Merck*), FeCl_3 (*Merck*), AlCl_3 (*Merck*), asam asetat (*Merck*), Na_2CO_3 (*Merck*), reagen *Folin-Ciocalteu* (*Merck*), silica gel GF_{254} (*Merck*), aquadest, kuersetin (*Sigma-aldrich*), asam galat (*Sigma-aldrich*). dan simplisia kulit batang Kasturi yang diperoleh dari Kota Banjarbaru, Kalimantan Selatan.

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bejana maserasi, *blender* (*Sharp*[®]), cawan penguap, labu ukur (*Pyrex*[®]), *rotary evaporator* (*IKARF10*[®]), kuvet, spektrofotometer UV-Vis (*PG Instruments T60*[®]), tabung reaksi (*IWAKI*[®]), timbangan analitik (*Scout Pro*[®]), dan *waterbath* (*Memmert*[®]).

Metode

Ekstraksi simplisia kulit batang kasturi

Simplisia kulit batang Kasturi diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol (1 : 5). Ekstraksi dilakukan selama 1 x 24 jam dan remaserasi sebanyak 2 kali (2 x 24 jam). Hasil ekstraksi disaring dan filtrat diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* dan dipekatkan dengan *waterbath* pada suhu 50°C (Sutomo dkk., 2017a).

Fraksinasi ekstrak methanol kulit batang kasturi

Ekstrak kental dilarutkan dalam 100 mL metanol : air (1 : 2) dalam corong pisah, kemudian difraksinasi dengan n-heksan 100 mL dengan 3 kali pengulangan, didiamkan sampai terbentuk dua lapisan. Residu fraksi air dipisahkan dan ditambahkan 100 mL etil asetat dengan pengocokan dan 3 kali pengulangan. Fraksi etil asetat dipekatkan dengan *waterbath* pada suhu 60°C (Tanaya dkk., 2015).

Skrining fitokimia flavonoid dan fenolik pada fraksi etil asetat

Uji fenol

Sampel konsentrasi 1% dalam metanol ditambahkan 1 mL FeCl_3 5%, hasil uji positif mengandung senyawa fenol apabila terbentuk warna biru kehitaman (Marliani dkk., 2016).

Uji flavonoid

Sampel konsentrasi 1% dalam metanol diujikan dengan 3 pereaksi warna. Pada uji pertama sampel ditambahkan beberapa tetes NaOH 10%. Jika warna kuning-coklat muncul dan kemudian memudar ketika ditambahkan HCl encer menunjukkan positif flavonoid (Khairiah dkk., 2018). Pada pengujian kedua jika sampel membentuk endapan merah setelah penambahan reagen HCl pekat dengan logam Mg , serta jika pada pengujian ketiga setelah sampel ditambahkan HCl dan H_2SO_4 pekat membentuk warna coklat, maka

juga menunjukkan positif kandungan flavonoid (Tanaya dkk., 2015).

Identifikasi senyawa flavonoid dan fenolik dengan kromatografi lapis tipis (KLT)

Identifikasi senyawa fenol

Fraksi etil asetat dari ekstrak metanol kulit batang kasturi konsentrasi 100 ppm dalam metanol, ditotolkan pada plat KLT silica gel GF_{254} menggunakan eluen metanol tunggal hingga terelusi sempurna, kemudian diamati bercak pada UV 254 nm dan 366 nm. Setelah itu dilakukan penyemprotan dengan reagen FeCl_3 10%. Hasil positif mengandung fenol jika noda berwarna hitam (Marliani dkk., 2016).

Identifikasi senyawa flavonoid

Hasil KLT seperti perlakuan pada identifikasi fenol diamati bercaknya pada UV 254 nm dan 366 nm. Setelah itu bercak disemprot dengan AlCl_3 5% dan pereaksi sitroborat. Jika bercak menjadi berwarna kuning pada penampak bercak AlCl_3 5% maupun pereaksi sitroborat menunjukkan positif kandungan flavonoid (Ahmad dkk., 2015; Marliani dkk., 2016).

Penentuan kadar total flavonoid dari fraksi etil asetat

Percobaan merujuk pada penelitian (Chang dkk., 2002) yang diawali dengan penetapan λ maks dari larutan kuersetin 100 ppm sebanyak 1 mL ditambah 1 mL AlCl_3 dan 8 mL asam asetat 5% kemudian diukur absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis, sehingga didapat λ maks 415 nm. Penentuan *operating time* juga diberi perlakuan serupa pada interval 1 menit, sehingga didapat absorbansi stabil pada 0 - 6 menit. Penetapan kadar total flavonoid menggunakan standar kuersetin sebagai kurva baku dengan seri konsentrasi 40, 60, 80, 100, dan 120 ppm. Seri kurva baku dan fraksi diberi perlakuan yang sama seperti penentuan λ maks yang sebelumnya didiamkan selama *operating time* sebelum pembacaan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Penetapan kadar total flavonoid dalam fraksi didapat dengan memasukkan absorbansi pada regresi linier kurva baku (Anwar dkk., 2017; Bakti dkk., 2017). Kadar total flavonoid dinyatakan sebagai total ekuivalen kuersetin per 1 g fraksi (mg *QE/g*). Kadar total flavonoid dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Rosita dkk., 2017):

$$\text{Kadar total flavonoid} = \frac{C \times V \times F_p}{M}$$

Keterangan:

C: Konsentrasi Kuersetin

V: Volume Fraksi

M: Berat Fraksi

Fp: Faktor Pengenceran

Penentuan kadar total fenolik dari fraksi etil asetat

Pada tahap ini langkah pertama dilakukan penetapan λ maks dari konsentrasi 100 ppm sebanyak 0,5 mL ditambah 2 mL reagen *Folin-Ciocalteu* dan didiamkan selama 3 menit, kemudian tambahkan 4 mL larutan Na₂CO₃ 1 M, divorteks dan diinkubasi pada ruangan gelap selama 20 menit. Pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis didapatkan λ maks 738 nm. Penetapan kadar total fenolik menggunakan standar asam galat sebagai kurva baku dengan seri konsentrasi 25, 50, 75, 100, dan 125 ppm. Seri kurva standar asam galat dan fraksi diberi perlakuan yang sama seperti penentuan λ maks dan diukur absorbansinya pada 738 nm. Penetapan kadar total fenolik dari fraksi didapat dengan memasukkan absorbansi pada regresi linier kurva baku (Das dkk., 2014; Wahdaningsih dkk., 2017). Kadar total fenolik ditunjukkan dengan miligram ekuivalen asam galat per gram fraksi (mg GAE/g). Kadar total fenolik dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Rollando & Monica, 2018):

$$\text{Kadar total fenolik} = \frac{C \times V \times Fp}{M}$$

Keterangan:

C: Konsentrasi Asam Galat

V: Volume Fraksi

M: Berat Fraksi

Fp: Faktor Pengenceran

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kulit batang Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterman) diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Semua flavonoid baik dalam bentuk glikosida maupun flavonoid dalam bentuk bebas dapat larut dalam pelarut methanol karena sifatnya yang cenderung polar (Tanaya dkk.,

2015). Metode maserasi digunakan untuk ekstraksi karena prosedur dan peralatannya sederhana, prosesnya mudah, tetapi sudah dapat mensari zat aktif simplisia dengan maksimal (Sa`adah & Nurhasnawati, 2015). Selain itu, metode maserasi tidak menggunakan suhu tinggi yang mungkin dapat merusak senyawa-senyawa kimia dalam simplisia, yang berperan dalam menghasilkan aktivitas biologis (Al Ridho, 2014). Hasil ekstraksi kulit batang Kasturi dengan pelarut metanol didapatkan rendemen sebesar 10,38%. Hasil tersebut tidak jauh berbeda dengan rendemen dari ekstrak metanol kulit batang Kasturi yang diacu pada penelitian Sutomo dkk. (2017a) yaitu 12,78%.

Proses fraksinasi ekstrak metanol kulit batang Kasturi menggunakan 3 pelarut organik yang berbeda tingkat kepolarannya, dengan tujuan untuk memisahkan komponen yang terkandung dalam ekstrak berdasarkan tingkat kepolarannya menjadi fraksi yang bersifat polar, semi polar dan non polar, terutama untuk ekstrak tanaman yang mengandung lebih dari satu macam golongan fenolik dan flavonoid (Tanaya dkk., 2015). Pada tahap penambahan n-heksana terhadap campuran ekstrak metanol-air bertujuan untuk menarik komponen yang bersifat non polar. Setelah dipisahkan dengan fraksi n-heksana, kemudian fraksi metanol-air ditambahkan pelarut etil asetat untuk menarik komponen yang bersifat semipolar (Rahayu dkk., 2015). Pemilihan fraksi etil asetat sebagai sampel uji didasarkan pada kemampuan pelarut etil asetat dalam menarik komponen fenolik utama dalam genus *Mangifera* yang merupakan golongan xanton yaitu mangiferin (Shinde & Chavan, 2014).

Rendemen fraksi etil asetat kulit batang Kasturi yang didapat sebesar 4,2%. Hasil tersebut dipengaruhi oleh tingkat kepolaran pelarut organik yang digunakan pada proses fraksinasi, sehingga mempengaruhi jenis dan banyaknya senyawa yang terekstrak (Ritna dkk., 2016). Penelitian tersebut selaras dengan hasil skrining fitokimia fraksi etil asetat dari ekstrak metanol kulit batang Kasturi yang menunjukkan positif mengandung fenolik dan flavonoid setelah uji warna seperti pada Tabel 1.

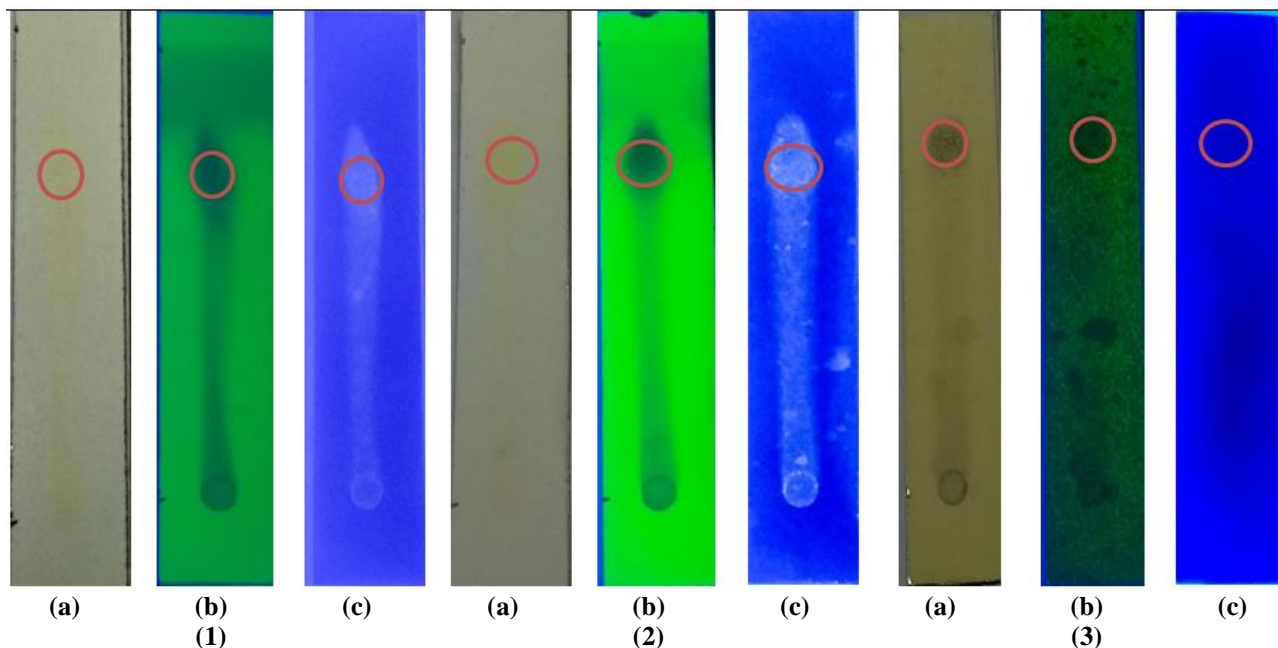
Tabel 1. Hasil uji warna pada skrining fitokimia fraksi etil asetat dari kulit batang kasturi

| Metabolit Sekunder | Pereaksi | Pengamatan | Hasil |
|--------------------|--|----------------------------------|-------|
| Flavonoid | HCl pekat + Mg | Terbentuk merah jingga dan buih | (+) |
| | HCl + H ₂ SO ₄ pekat | Terbentuk warna coklat | (+) |
| | NaOH 10% + HCl encer | Terbentuk warna coklat kehijauan | (+) |
| Fenolik | FeCl ₃ 5% | Terbentuk warna hijau hitam | (+) |

(+) = Positif mengandung metabolit sekunder

Uji kualitatif menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) juga dilakukan untuk lebih menegaskan hasil yang didapat dari uji warna. Pada fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak methanol terdeteksi bercak berwarna kuning pada penampak bercak sitroborat dan AlCl₃ dengan R_f masing-masing sebesar 0,83 dan 0,86 (Gambar 1). Warna yang terbentuk mengindikasikan bahwa pada fraksi etil asetat kulit batang Kasturi mengandung senyawa flavonoid. Pada bercak yang sama terbentuk warna hitam setelah diberi penyemprot

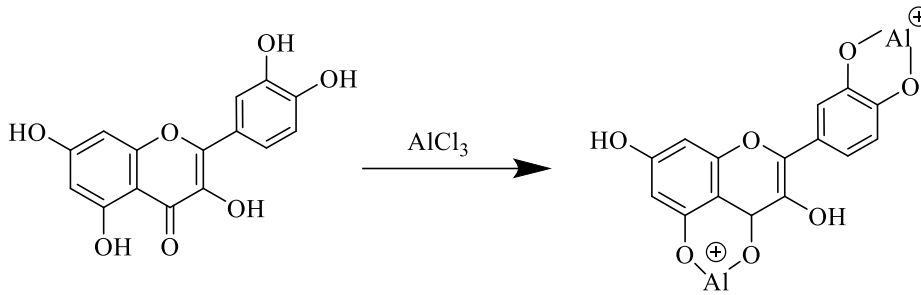
FeCl₃ dengan R_f sebesar 0,81 yang mengindikasikan bahwa bercak flavonoid yang terdeteksi merupakan golongan senyawa fenol (Marliani dkk., 2016). Pada paparan sinar UV 254 nm, ternyata lempeng-lempeng KLT tersebut tampak berwarna gelap dengan latar berflouresensi, sedangkan pada sinar 366 nm bercak tampak berflouresensi dan latar lempeng tampak gelap (Ih dkk., 2017). Hasil tersebut menguatkan bahwa sampel mengandung flavonoid dan fenolik seperti penampakan bercak KLT pada Gambar 1.



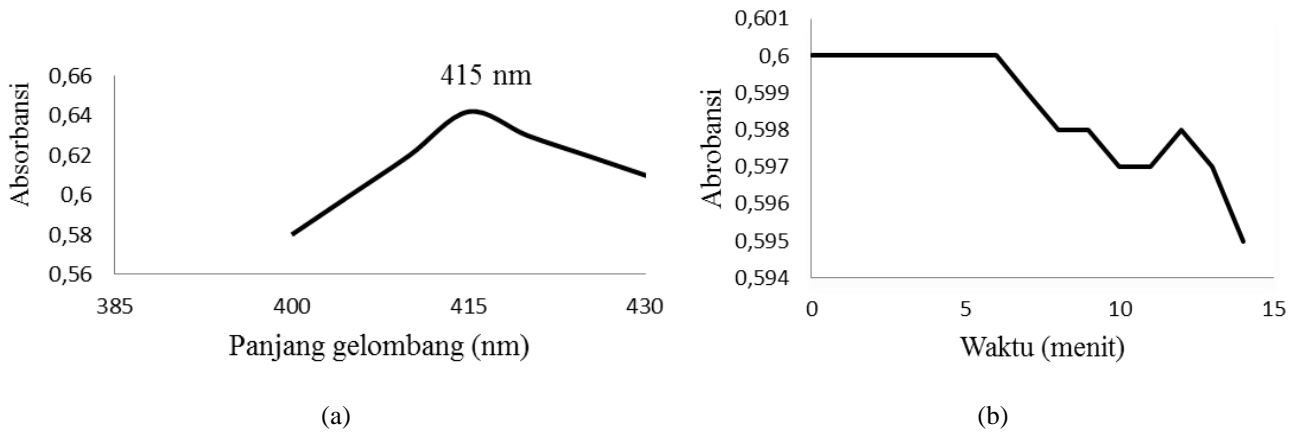
Gambar 1. Hasil uji kualitatif menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) pada pengamatan secara (a) visual, (b) di bawah UV 254 nm, dan (c) di bawah UV 366 nm untuk flavonoid dengan (1) penampak bercak sitroborat dan (2) penampak bercak AlCl₃, serta untuk fenol dengan (3) penampak bercak FeCl₃

Berdasarkan skrining fitokimia dan uji kualitatif yang menunjukkan positif flavonoid dan fenolik, maka dilakukan penetapan kadar total flavonoid dalam sampel fraksi. Prinsip penetapan kadar flavonoid didasarkan pada pembentukan kompleks AlCl₃ dengan gugus orto dihidroksi dan gugus hidroksi keton pada senyawa flavonoid (Harborne, 2006). Contohnya pada reaksi antara kuersetin dengan reagen AlCl₃ seperti pada Gambar 2, sehingga penetapan kadar flavonoid menggunakan standar kuersetin sebagai kurva baku yang diukur pada panjang gelombang maksimal kuersetin yang didapatkan pada penelitian ini yaitu 415 nm dengan nilai absorbansi 0,643. Panjang

gelombang (λ) tersebut dapat digunakan pada penelitian ini karena masih merupakan kisaran panjang gelombang flavonoid golongan flavonol seperti kuersetin yaitu 415 - 425 nm. Pengukuran absorbansi juga harus dilaksanakan pada waktu optimum senyawa bereaksi dengan reagen, agar absorbansi yang terukur maksimal (Pekal & Pyrzynska, 2014). Pada penelitian ini *operating time* atau waktu pengukuran dimana saat pembentukan kompleks antara flavonoid dengan AlCl₃ telah sempurna didapatkan absorbansi yang stabil pada 0 - 6 menit. Grafik panjang gelombang maksimum dan *operating time* ditunjukkan oleh Gambar 3.



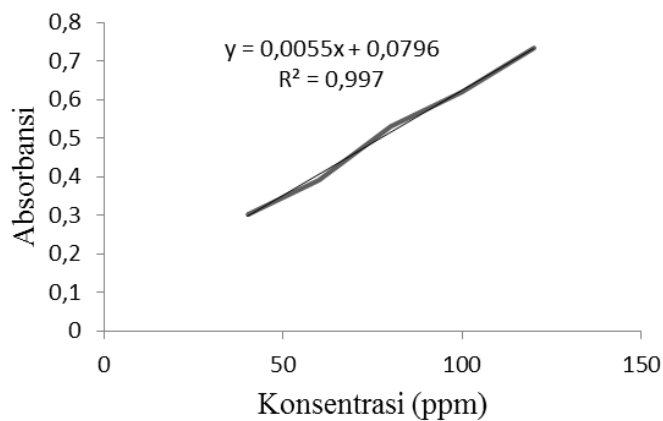
Gambar 2. Reaksi kuersetin dengan reagen AlCl₃



Gambar 3. Grafik (a) panjang gelombang maksimum dan (b) *operating time* kuersetin

Persamaan kurva baku kuersetin dari seri kadar 40, 60, 80, 100, dan 120 ppm seperti grafik pada Gambar 4 digunakan sebagai pembanding ekuivalen senyawa flavonoid yang terdapat dalam fraksi etil asetat kulit batang Kasturi, untuk penentuan kadar flavonoid totalnya. Hasil perhitungan kadar yang ditunjukkan Tabel 2 didapatkan rata-rata dari 3 replikasi yaitu 51,4966 mg QE/g atau 5,1496%. Kadar yang

terkandung terlihat jelas lebih rendah dibandingkan kadar total flavonoid dalam ekstrak etanol kulit batang Kasturi pada penelitian Marliani dkk. (2016) yaitu 7,92%, karena kadar yang terukur bukan merupakan kadar total flavonoid dari ekstrak tetapi dalam skala fraksi, sehingga kadar tersebut sudah sesuai dengan hasil yang diharapkan dari suatu fraksi.



Gambar 4. Grafik persamaan kurva baku kuersetin

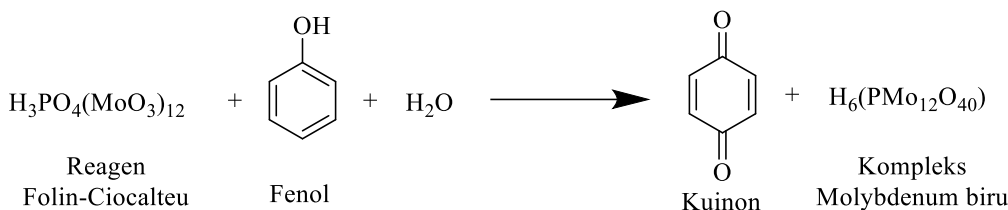
Tabel 2. Hasil perhitungan kadar total flavonoid dalam fraksi etil asetat dari ekstrak metanol kulit batang kasturi

| Sampel fraksi | Absorbansi sampel | QE (b%/b) | Rerata QE (b%/b) ± SD |
|---------------|-------------------|-----------|-----------------------|
| Replikasi 1 | 0,375 | 4,6163 | 5,1496 ± 0,46197 |
| Replikasi 2 | 0,377 | 5,4072 | |
| Replikasi 3 | 0,378 | 5,4254 | |

QE = quercetin equivalent

Pada penetapan kadar total fenolik dalam fraksi etil asetat dari ekstrak metanol kulit batang kasturi menggunakan metode kolorimetri *Folin-Ciocalteu*, yang memiliki prinsip reduksi dan oksidasi. Reaksi pada Gambar 5 menunjukkan bahwa senyawa fenol bereaksi dengan senyawa fosfomolibdatfosfotungstat

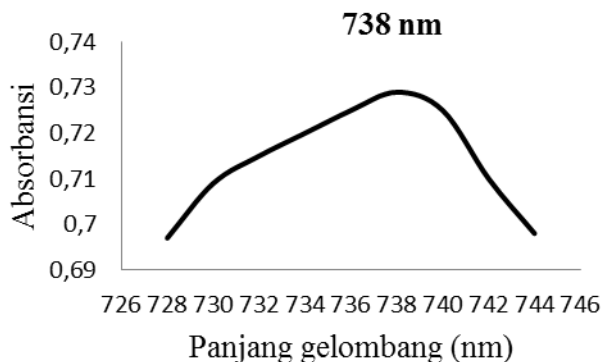
(*Folin-Ciocalteu*) yang akan membentuk warna kuning, dan ketika ditambahkan Na_2CO_3 akan membentuk warna biru (Ismail dkk., 2012). Standar asam galat merupakan senyawa golongan asam fenolik yang dapat mengalami reaksi tersebut, sehingga digunakan sebagai kurva baku.



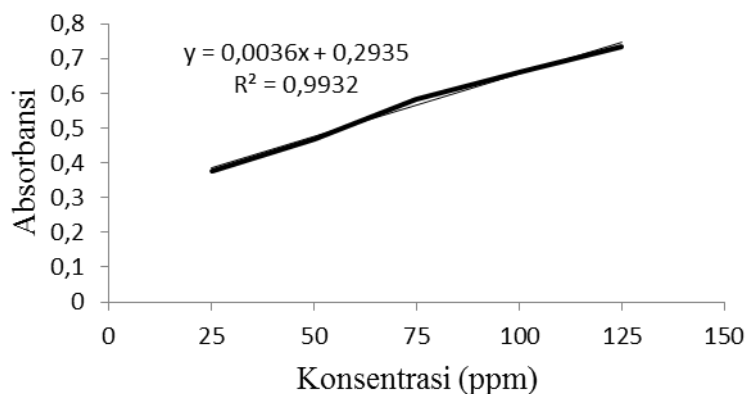
Gambar 5. Reaksi fenol dengan reagen *Folin-Ciocalteu*

Pengukuran kurva baku seri kadar asam galat 25, 50, 75, 100, dan 125 ppm pada panjang gelombang 738 nm, karena konsentrasi 100 ppm yang diukur memiliki nilai absorpsi tertinggi 0,729 pada panjang gelombang tersebut (Gambar 6). Pengukuran absorbansi menggunakan *operating time* masa inkubasi 20 menit yang mengacu pada penelitian Das dkk. (2014), karena pada penelitian ini tidak didapatkan waktu optimum reaksi yang menunjukkan absorbansi stabil. Kadar total fenol dalam fraksi fraksi etil asetat dari ekstrak metanol kulit batang Kasturi ditentukan dengan memasukkan absorbansi fraksi ke dalam persamaan kurva baku asam galat (Gambar 7). Berdasarkan hasil perhitungan kadar dari 3 replikasi absorbansi pada Tabel 3 diperoleh rata-rata total kadar fenolik dalam fraksi fraksi etil asetat dari ekstrak

metanol kulit batang Kasturi yaitu 39,21233 mg GAE/g fraski etil asetat atau 3,921233%. Hasil tersebut juga menunjukkan bahwa kadar total fenol dalam fraksi fraksi etil asetat dari ekstrak metanol lebih rendah dibandingkan dalam ekstrak etanol kulit batang Kasturi pada penelitian Marliani dkk. (2016) yaitu 16%. Hal tersebut disebabkan sifat dari golongan senyawa fenolik yang bersifat polar karena dapat membentuk ikatan hidrogen dengan air, sehingga senyawa fenolik cenderung kurang terlarut dalam fraksi semi polar seperti etil asetat (Pratiwi dkk., 2016). Seperti halnya kadar flavonoid, pada penelitian ini kadar yang terukur bukan merupakan kadar total fenolik dari ekstrak tetapi total kadar dalam skala fraksi, sehingga kadar tersebut juga sudah sesuai dengan hasil yang diharapkan dari suatu fraksi.



Gambar 6. Grafik panjang gelombang maksimum asam galat



Gambar 7. Grafik persamaan kurva baku asam galat

Tabel 3. Hasil perhitungan kadar fenol total dalam fraksi etil asetat dari ekstrak metanol kulit batang kasturi

| Sampel | Absorbansi sampel | GAE (b%/b) | Rerata GAE (b%/b) ± SD |
|-------------|-------------------|------------|------------------------|
| Replikasi 1 | 0,416 | 3,4027 | 3,921233 ± 0,449923 |
| Replikasi 2 | 0,443 | 4,1527 | |
| Replikasi 3 | 0,445 | 4,2083 | |

GAE = gallic acid equivalent

Hasil penetapan kadar fenolik dan flavonoid pada fraksi etil asetat dari kulit batang Kasturi ini memberikan informasi penting bahwa berdasarkan kadar flavonoid yang terkandung mendekati jumlah kadar flavonoid dalam ekstrak etanol kulit batang Kasturi. Penggunaan metanol sebagai pelarut ekstraksi memberikan efektivitas yang tinggi dalam mengikat flavonoid, disebabkan metanol memiliki polaritas yang tinggi dalam mengikat senyawa flavonoid terutama golongan fenolik (Adham dkk., 2019). Hal ini menunjukkan bahwa komponen flavonoid yang terkandung dalam fraksi etil asetat dari kulit batang Kasturi dapat dikatakan cukup tinggi dan berpotensi untuk dikembangkan dan dieksplorasi lebih lanjut terkait aktivitas biologis yang dihasilkan, karena aktivitas tidak hanya dihasilkan dari kadar yang terkandung tetapi struktur kimia dari senyawa yang terkandung juga berperan dalam menghasilkan aktivitas biologis. Penelitian ini dapat menjadi dasar informatif bahwa golongan fenolik dan flavonoid pada tumbuhan Kasturi dapat berperan dalam menghasilkan aktivitas biologis yang menjanjikan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat dari ekstrak metanol kulit batang Kasturi mengandung senyawa fenolik dan flavonoid melalui skrining fitokimia dan kromatografi lapis tipis. Penetapan kadar total flavonoid yang diperoleh sebesar 5,1496 mg QE/g fraksi etil asetat

kulit batang Kasturi dan kadar total fenolik sebesar 3,921233 mg GAE/g fraksi etil asetat kulit batang Kasturi sehingga berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai alternatif sumber obat bahan alam. Pada penelitian ini tidak dilakukan pengujian terhadap ekstrak dan fraksi yang lain, sehingga direkomendasikan untuk dilakukan pada penelitian berikutnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan kepada Laboratorium Bahan Alam dan Program Studi S1 Farmasi STIKES Borneo Lestari Banjarbaru yang telah memberikan sumbangsih dan menyediakan sarana serta prasarana terhadap penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Adham, D., Taufiqurrahman, I. & Helmi, Z. N. (2019). Flavonoid Level Analysis of Binjai Leaf Extract (*Mangifera Caesia*) in Ethanol, Methanol, and N-Hexane Solvents. *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*; 4; 46–49.

Ahmad, A. R., Juwita, J. & Ratulangi, S. A. D. (2015). Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.SM). *Pharmaceutical Sciences and Research*; 2; 1–10.

- Aksara, R., Musa, W. J. A. & Alio, L. (2013). Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangga (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Entropi*; 8; 514–519.
- Al Ridho, E. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhidrazyl). *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*; 1; 1-14.
- Anwar, K., Fadlillaturrahmah & Sari, D. P. (2017). Analisis Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Binjai (*Mangifera caesia* Jack.) dan Pengaruhnya Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus yang Diinduksi Fruktosa-Lemak Tinggi. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*; 2; 20–30.
- Ariyani, D., Rosyidah, K., Ersam, T. & Santoso, M. (2010). Isolasi Senyawa Fenolat Berkhasiat Sitotoksik dari Kulit Batang Kasturi (*Mangifera casturi*). *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*; 4; 101–107.
- Bakti, A. A., Triyasmono, L. & Rizki, M. I. (2017). Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Uji Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.) dengan Metode DPPH. *Jurnal Pharmascience*; 4; 102–108.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. & Chern, J. C. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colometric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*; 10; 78-82.
- Das, N., Islam, M. E., Jahan, N., Islam, M. S., Khan, A., Islam, M. R. & Parvin, M. S. (2014). Antioxidant Activities of Ethanol Extracts and Fractions of *Crescentia cujete* Leaves and Stem Bark and the Involvement of Phenolic Compounds. *BMC Complementary and Alternative Medicine*; 14; 1–9.
- Harborne, J. B. (2006). Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan (Cetakan ke-4). Bandung: Penerbit ITB.
- Ih, H., Fajriaty, I., Rahmawani, S. P. & Abdurrachman. (2017). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis dari Ekstrak Etanol Herba Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn.). *Seminar Nasional Pendidikan MIPA dan Teknologi IKIP PGRI Pontianak, Pontianak*; 403–414.
- Ismail, J., Runtuwene, M. R. & Fatimah, F. (2012). Penentuan Total Fenolik dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Biji dan Kulit Buah Pinang Yaki (*Areca vestiaria* Giseke). *Jurnal Ilmiah Sains*; 12; 84.
- Khairiah, K., Taufiqurrahman, I. & Putri, D. K. T. (2018). Antioxidant Activity Test of Ethyl Acetate Fraction of Binjai (*Mangifera caesia*) Leaf Ethanol Extract. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*; 51; 164–168.
- Khoo, H. E. & Ismail, A. (2008). Determination of Daidzein and Genistein Contents in *Mangifera* Fruit. *Malaysian Journal of Nutrition*; 14; 189–198.
- Kim, H., Moon, J. Y., Kim, H., Lee, D. S., Cho, M., Choi, H. K., Kim, Y. S., Mosaddik, A. & Cho, S. K. (2010). Antioxidant and Antiproliferative Activities of Mango (*Mangifera indica* L.) Flesh and Peel. *Food Chemistry*; 121; 429–436.
- Kostermans, A. J. & Bompard, J. M. (2014). The Mangoes: Their Botany, Nomenclature, Horticulture and Utilization. London: Academic Press.
- Marliani, L., Naimah, A. & Roni, A. (2016). Penetapan Kadar Fenolat dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun, Kulit Batang, dan Kulit Buah Kasturi (*Mangifera casturi*). *Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia Ke-50, Samarinda*; 275–281.
- Mirfat, A. H. S., Razali, M. & Salma, I. (2013). Antioxidant Properties of Wild *Mangifera* Species in Malaysia. *Acta Horticulturae*; 651–659.
- Mustikasari, K. & Ariyani, D. (2008). Studi Potensi Binjai (*Mangifera caesia*) dan Kasturi (*Mangifera casturi*) sebagai Antidiabetes Melalui Skrining Fitokimia pada Akar dan Batang. *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*; 2; 64–73.
- Pekal, A. & Pyrzyńska, K. (2014). Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. *Food Analytical Methods*; 7; 1776–1782.
- Pratiwi, L., Fudholi, A., Martien, R. & Pramono, S. (2016). Ekstrak etanol, Ekstrak etil asetat, Fraksi etil asetat, dan Fraksi n-heksan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai Sumber Zat Bioaktif Penangkal Radikal Bebas. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*; 1; 71–82.
- Prayitno, B., Rosyidah, K. & Astuti, M. D. (2016). Uji Antioksidan Senyawa Terpenoid dari Fraksi M-17 Ekstrak Metilena Klorida Kulit Batang

- Tumbuhan Kasturi (*Mangifera casturi*). *Jurnal Pharmascience*; 3; 32–36.
- Rahayu, S., Kurniasih, N. & Amalia, V. (2015). Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Limbah Kulit Bawang Merah sebagai Antioksidan Alami. *al-Kimiya*; 2; 1–8.
- Ribeiro, S. M. R., Barbosa, L. C. A., Queiroz, J. H., Knödler, M. & Schieber, A. (2008). Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Brazilian Mango (*Mangifera indica* L.) Varieties. *Food Chemistry*; 110; 620–626.
- Ritna, A., Anam, S. & Khumaidi, A. (2016). Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Fraksi Etil Asetat Benalu Batu (*Begonia* Sp.) Asal Kabupaten Morowali Utara. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)*; 2; 83–89.
- Rollando & Monica, E. (2018). Penetapan Kandungan Fenolik Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air Ekstrak Metanol Kulit Batang Faloak (*Sterculia quadrifida* R. Br). *Scientia: Jurnal Farmasi dan Kesehatan*; 8; 29–36.
- Rosita, J. M., Taufiqurrahman, I. & Edyson. (2017). Perbedaan Total Flavonoid Antara Metode Maserasi Dengan Sokletasi Pada Ekstrak Daun Binjai (*Mangifera caesia*). *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*; 1; 100–105.
- Rosyidah, K. & Mustikasari, K. (2008). Uji Hayati Bslt Terhadap Batang Kasturi (*Mangifera casturi*). *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*; 2; 74–79.
- Rosyidah, K., Nurmuhaimina, S. A., Komari, N. & Astuti, M. D. (2012). Aktivitas Antibakteri Fraksi Saponin dari Kulit Batang Tumbuhan Kasturi (*Mangifera casturi*). *ALCHEMY*; 1; 65–69.
- Sa`adah, H. & Nurhasnawati, H. (2015). Perbandingan Pelarut Etanol dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Menunting*; 9; 149–153.
- Santi, N., Prahatamaputra, A. & Ajizah, A. (2016). Uji Antibakteri Infusa Kulit Batang Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) terhadap Bakteri *Escherichia coli* secara In Vitro. *Jurnal Wahana-Bio*; 16; 36–42.
- Santoni, A., Sabariah & Efdi, M. (2015). Isolasi dan Elusidasi Struktur Senyawa Triterpenoid dari Kulit Batang Ambacang (*Mangifera foetida* L.) serta Uji Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Riset Kimia*; 9; 1.
- Shinde, S. S. & Chavan, A. R. (2014). Isolation of Mangiferin from Different Varieties of *Mangifera Indica* Dried Leaves. *International Journal of Scientific & Engineering Research*; 5; 928–934.
- Suhartono, E., Viani, E., Rahmadhan, M. A., Gultom, I. S., Rakhman, M. F. & Indrawardhana, D. (2012). Total Flavonoid and Antioxidant Activity of Some Selected Medicinal Plants in South Kalimantan of Indonesian. *APCBEE Procedia*; 4; 235–239.
- Sulaiman, S. F. & Ooi, K. L. (2012). Polyphenolic and Vitamin C Contents and Antioxidant Activities of Aqueous Extracts from Mature-Green and Ripe Fruit Fleshes of *Mangifera sp.* *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 60; 11832–11838.
- Sutomo, Agustina, N., Arnida & Fadilaturrehman. (2017a). Studi Farmakognostik dan Uji Parameter Nonspesifik Ekstrak Metanol Kulit Batang Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.). *Jurnal Pharmascience*; 4; 94–101.
- Sutomo, Azhari, H., Arnida, F. & Yunus, R. (2017b). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Dari Buah Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.). *Jurnal Pharmascience*; 4; 246–254.
- Syarifuddin, N. I., Badruz, S. & Ni'mah, M. (2014). Perbandingan Daya Hambat Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) dengan Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* 2302-Unr Secara In Vitro. *Jurnal Pharmascience*; 1; 48–52.
- Tanaya, V., Retnowati, R. & Suratmo. (2015). Fraksi Semi Polar dari Daun Manga Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.). *Kimia Student Journal*; 1; 778–784.
- Wahdaningsih, S., Wahyuono, S., Riyanto, S. & Murwanti, R. (2017). Penetapan Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol dan Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus* (F.A.C. Weber) Britton Dan Rose). *PHARMACON*; 6; 295–301.