

ANALISIS KADAR TOTAL FLAVONOID EKSTRAK ETANOL DAUN ADAS (*FOENICULUM VULGARE*) SECARA SPEKTROFOTOMETRI VISIBEL

ANALYSIS OF TOTAL FLAVANOID LEVELS OF FENNEL LEAVES (*FOENICULUM VULGARE*) ETHANOL EXTRACT BY SPECTROPHOTOMETRY VISIBEL

Alifia Ni'ma¹ , Novena Yety Lindawati²

¹Program Studi DIII Farmasi, STIKES Nasional Surakarta, Surakarta 57552, Indonesia

²Program Studi S1 Farmasi, STIKES Nasional Surakarta, Surakarta 57552, Indonesia

 alifianima272@gmail.com

 <https://doi.org/10.31603/pharmacy.v8i1.4972>

Article info:

Submitted : 20-04-2021

Revised : 14-06-2021

Accepted : 16-11-2021



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

Publisher:

Universitas Muhammadiyah Magelang

ABSTRAK

Flavonoid merupakan senyawa di alam yang berperan dalam meningkatkan imunitas tubuh. Flavonoid pada tumbuhan hijau dapat bersumber dari daun adas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui total kadar flavonoid pada daun adas (*Foeniculum vulgare*) secara Spektrofotometri Visibel. Sampel diekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Analisis kualitatif flavonoid menggunakan NaOH encer, metode wilstater cyanidin, dan AlCl₃. Kuersetin dipilih sebagai larutan standar. Analisis kuantitatif dilakukan dengan menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi AlCl₃ sebagai pembentuk senyawa kompleks. Analisis kuantitatif dilanjutkan dengan Spektrofotometri Visibel pada *operating time* 28 menit, dengan panjang gelombang maksimal 430,5 nm. Analisis kualitatif menunjukkan ekstrak etanol daun adas positif mengandung flavonoid. Kadar total flavonoid pada ekstrak etanol daun adas yaitu 99,2 mg QE/g ekstrak dengan koefisien variasi 1,27%.

Kata kunci: Daun Adas; Total Flavonoid; Kolorimetri; Spektrofotometri Visibel

ABSTRACT

Flavonoid is the compounds in nature that play a role in increasing body immunity. Flavonoids in green plants can be sourced from fennel leaves. The aims of the study were to determine the total levels of flavonoids in fennel leaves (*Foeniculum vulgare*) using Visible Spectrophotometry. Maceration extracted samples using ethanol 96% solvent. Qualitative analysis of flavonoids using dilute NaOH, Wilstater-cyanidin method, and AlCl₃. Quersetin used as standard solution. Quantitative analysis was carried out by colorimetric method with AlCl₃ reagent as a complex compound. Quantitative analysis was continued with Visible Spectrophotometry on operating time at the 28th minute and a wavelength of 430.5 nm. Qualitative analysis indicate that the ethanol extract of fennel leaves was positive flavonoids. The total flavonoid content of fennel leaves ethanol extract was 99.2 mg QE/g extract with a coefficient of variation 1.27%.

Keywords: Fennel Leaves; Total Flavonoid; Colorimetry; Visible Spectrophotometry

1. PENDAHULUAN

Corona virus merupakan penyakit infeksi berat yang disebabkan oleh virus, dapat menular, dan menyerang sistem pernafasan manusia. Kasus Covid-19 dimulai pada Desember 2019 di kota Wuhan, Provinsi Hubei, China setelah adanya pelaporan kasus pneumonia berat dari China kepada *World Health Organization* (WHO). Pencegahan kasus Covid-19 dapat dilakukan dengan cara rajin cuci tangan, menjaga serta meningkatkan imunitas tubuh.

Flavonoid termasuk senyawa yang ada di alam yang dapat berperan dalam meningkatkan sistem imun (Haeria et al., 2017). Senyawa fenol alam yaitu flavonoid dapat ditemukan di bagian-bagian tumbuhan yaitu pada kulit, daun, buah, biji, dan akar (Wahyulianingsih et al., 2016). Flavonoid juga terdapat pada semua tumbuhan hijau sehingga dapat ditemukan disetiap ekstrak tumbuhannya. Daun adas merupakan salah satu tumbuhan hijau dari famili Apiaceae yang mengandung flavonoid, dan dapat menjadi alternatif sumber makanan yang mampu meningkatkan dan menjaga sistem imunitas tubuh. Daun adas juga banyak dikonsumsi oleh masyarakat sebagai bumbu, bahan sayuran, dan juga ramuan obat tradisional.

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol daun adas yaitu flavonoid, terpenoid, alkaloid, steroid, polifenol, saponin, dan tannin (Abdul & Qonitah, 2019). Daun adas memiliki kandungan flavonoid quersetin 3-arabinose, dan tiga golongan flavonol glikosida, kaemferol 3-arabinoside, kaemferol 3-glukoronid, dan quersetin 3-glukoronid. Quersetin dan kaemferol merupakan senyawa flavonoid golongan flavonol yang mampu berperan dalam meningkatkan sistem imun, yaitu dengan cara meningkatkan aktivitas interleukin-2 dan proliferasi limfosit (Rauf et al., 2016). Flavonoid melalui mekanismenya juga dapat digunakan untuk pengobatan arteroskelosis, antiinflamasi, antitumor, antitrombogenik, antivirus, dan antiosteoporosis (Simanjuntak, 2012). Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa bagian tanaman adas yang telah diteliti kandungan total flavonoidnya yaitu pada biji adas dengan kandungan flavonoid sebesar $9,325 \pm 1,25$ mg QE/g biji kering (Dua et al., 2013).

Penelitian mengenai kadar total flavonoid di dalam daun adas belum ada yang melaporkan, dan keberadaan kandungannya sejauh ini baru dilakukan melalui uji kualitatif dengan skринning fitokimia. Kegiatan penelitian bertujuan untuk mengetahui total kadar senyawa flavonoid pada ekstrak etanol daun adas secara spektrofotometri visibel. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang total kadar flavonoid daun adas (*Foeniculum vulgare*) yang dapat bermanfaat dalam meningkatkan imunitas tubuh.

2. METODE

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi timbangan analitik (Ohaus EP 214 sensitivitas penimbangan 0,00001 g), timbangan teknik (ACIS BC 500 sensitivitas penimbangan 0.1 g), rotary evaporator (IKA RV 10 basic V), seperangkat alat spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV mini1280), labu takar (Iwaki), gelas takar (Pyrex), gelas beaker (Pyrex), maserator, cawan porselin, tabung reaksi (Iwaki), corong kaca (Pyrex), pipet tetes, pipet ukur (Iwaki), push ball, batang pengaduk, blender, dan kain hitam.

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu daun adas (*Foeniculum vulgare*) yang diserbukkan kemudian diekstrak, standar kuersetin (Sigma Aldrich), etanol 96% (Medika), etanol p.a(E. merck), $AlCl_3$ (E. merck), CH_3COOK (E. merck), magnesium, NaOH (E. merck), HCl (E. merck), dan aquadestilata.

2.2. Determinasi Sampel

Tanaman adas (*Foeniculum vulgare*) yang diperoleh dari kawasan pertanian di Desa Kadipiro, Kelurahan Genting, Kecamatan Cepogo, Kabupaten Boyolali, Jawa Tengah, kemudian dilakukan identifikasi di B2P2TOOT Tawangmangu.

2.3. Penyiapan Sampel

Daun adas disortasi basah, dipilih daun adas segar berwarna hijau tua. Daun adas ditimbang sebanyak ± 5 kg, dicuci bersih, dikeringkan selama 3 hari di bawah panas matahari, dan ditutup kain hitam. Daun adas yang sudah kering disortasi kering, kemudian diserbukkan, dan diayak dengan mesh 40 untuk menghasilkan serbuk yang seragam.

2.4. Ekstraksi Sampel

Ekstraksi maserasi sampel dilakukan dengan merendam 200 g serbuk simplisia dalam 1500 mL etanol 96% (1:7.5). Serbuk simplisia dimaserasi 3x24 jam dengan pengadukan beberapa kali, dan hasil maserat disaring. Ampas dimaserasi kembali 1x24 jam dalam 500 mL etanol 96% (1:2.5), saring maserat, uapkan dengan *rotary* evaporator, dan dipekatkan waterbath suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental, dan pembuatan ekstrak direplikasi sebanyak tiga kali (Lindawati & Ma'ruf, 2020). Ekstrak kental ditimbang dan dihitung % rendemen.

2.5. Uji Kualitatif Flavonoid

2.5.1. Uji Kualitatif Flavonoid Menggunakan Pereaksi NaOH Encer

Sejumlah sampel diambil, tambahkan pereaksi NaOH encer, dan amati perubahan yang terjadi. Sampel dikatakan positif jika larutan membentuk warna kuning (Lindawati & Ma'ruf, 2020).

2.5.2. Uji Wilstater Cyanidin

Sejumlah sampel diambil, masukkan ke dalam tabung reaksi, dan tambahkan serbuk Mg dan HCl pekat. Sampel dikatakan positif jika larutan membentuk warna merah-orange (Yuda et al., 2013).

2.5.3. Uji Kualitatif Flavonoid Menggunakan Pereaksi AlCl₃

Larutan sampel diambil, tambahkan pereaksi AlCl₃, dan amati perubahan yang terjadi. Sampel dikatakan positif jika larutan membentuk warna kuning (Marpaung & Wahyuni, 2018).

2.6. Uji Kuantitatif Flavonoid

2.6.1. Penyiapan Larutan Uji

a. Larutan Aluminium Klorida 10%

Lakukan penimbangan serbuk AlCl₃ sebanyak 1.0 gram, larutkan dengan sebagian aquadest di dalam beakerglass, selanjutnya encerkan dengan aquadest pada labu takar hingga 10,0 mL.

b. Kalium Asetat 1 M

Lakukan penimbangan serbuk CH₃COOK sebanyak 0,9814 gram, larutkan dengan sebagian aquadest di dalam *beaker glass*, selanjutnya encerkan dengan aquadest pada labu takar hingga 10,0 mL.

c. Larutan Blangko

Lakukan pipet larutan etanol p.a sebanyak 3 mL, CH₃COOK 1 M 0,2 mL, AlCl₃ 10% 0,2 mL, selanjutnya encerkan dengan aquadest pada labu takar hingga 10,0 mL.

2.6.2. Penyiapan Larutan Baku Kuersetin

a. Baku Induk Kuersetin 1000 ppm

Lakukan penimbangan 50,0 mg serbuk kuersetin, larutkan dengan etanol p.a di dalam beakerglass, selanjutnya masukkan ke labu takar, dan encerkan dengan etanol p.a hingga 50,0 mL.

b. Baku Kerja Kuersetin 80 ppm

Lakukan pipet sebanyak 0.8 mL dari baku induk, selanjutnya diencerkan dengan etanol p.a hingga 10,0 mL, sehingga diperoleh konsentrasi larutan 80 ppm.

2.6.3. Penentuan Operating Time (OT)

Lakukan pipet baku kerja 80 ppm sebanyak 1 mL, tambahkan etanol p.a 3 mL, larutan AlCl₃ 0,2 mL, dan larutan CH₃COOK 1 M 0.2 mL, selanjutnya encerkan menggunakan aquadest hingga 10,0 mL. Absorbansi diukur dari menit 0-40 dengan interval waktu 1 menit, menggunakan panjang gelombang maksimum teoritis 430 nm, sampai didapatkan absorbansi yang stabil (Lindawati & Ma'ruf, 2020).

2.6.4. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Larutan baku kerja 80 ppm dipipet 1 mL, tambahkan etanol p.a 3 mL, larutan AlCl_3 0.2 mL, dan larutan CH_3COOK 1 M 0.2 mL, selanjutnya tambahkan aquadest sampai 10,0 mL. Larutan didiamkan sampai tercapainya *operating time*, kemudian ukur absorbansi pada panjang gelombang 400 – 500 nm (Lindawati & Ma'ruf, 2020).

2.6.5. Penentuan Kurva Kalibrasi

Pembuatan kurva kalibrasi dari larutan baku induk 1000 ppm yang dipipet sebanyak 0,4 mL, 0,6 mL, 0,8 mL, 1,0 mL, dan 1,2 mL, selanjutnya diencerkan dengan etanol p.a hingga 10,0 mL untuk mendapatkan konsentrasi (40, 60, 80, 100, dan 120 ppm). Masing-masing seri konsentrasi dipipet 1 mL, masukkan ke dalam labu takar 10.0 mL, tambahkan etanol p.a 3 mL, larutan AlCl_3 0,2 ml, dan larutan CH_3COOK 1 M 0,2 ml, selanjutnya encerkan dengan aquadest sampai dengan 10,0 mL. Lakukan pengukuran seri kurva kalibrasi menggunakan panjang gelombang maksimum, dan waktu *operating time* mulai dari kadar terkecil sampai kadar terbesar.

2.6.6. Linieritas Kurva Kalibrasi

Persamaan regresi linier didapatkan dari perhitungan hubungan antara seri konsentrasi dengan absorbansi, kemudian tentukan koefisien korelasi, dan hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi dari hasil kurva kalibrasi.

2.6.7. Penetapan Total Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Adas

Lakukan penimbangan ekstrak etanol daun adas sebanyak 250 mg, selanjutnya diencerkan dengan aquadest hingga 25,0 mL. Larutan ekstrak etanol daun adas dipipet 1 mL, tambahkan etanol p.a 3 mL, larutan AlCl_3 0,2 mL, dan larutan CH_3COOK 1 M 0,2 mL, selanjutnya tambahkan aquadest hingga 10,0 mL. Larutan didiamkan sampai tercapainya waktu *operating time* dan lakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometri visibel dengan panjang gelombang maksimal.

2.7. Analisis Data Penelitian

Perhitungan total kadar flavonoid menggunakan persamaan regresi linier, yang didapatkan dari hubungan antara konsentrasi vs absorbansi yang dihasilkan dari seri konsentrasi yang digunakan. Kadar flavonoid dihitung menggunakan persamaan 1:

$$y=a+bx \quad (1)$$

Keterangan:

y = serapan

a = konstanta

x = konsentrasi (ppm)

r = koefisien korelasi

b = kemiringan (slope) kurva linier atau koefisien regresi

Kriteria seksama pada analisis kadar total flavonoid ekstrak etanol daun adas dapat diberikan jika metode yang digunakan memberikan koefisien variasi $\leq 2\%$ (Wisudyaningsih, 2012). Semakin kecil perolehan % KV maka data yang diperoleh akan semakin baik. Perhitungan (%KV) koefisien variasi tercantum pada persamaan 2:

$$\%KV = \frac{SD}{Rata - rata kadar sampel} \times 100\% \quad (2)$$

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Determinasi Sampel

Sampel dilakukan determinasi untuk memastikan identitas tanaman sampel, dan menghindari kesalahan pada saat pengumpulan bahan. Determinasi sampel yang dilakukan di

B2P2TOOT menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah tanaman adas (*Foeniculum vulgare* Mill.).

3.2. Penyiapan Sampel

Sampel daun adas disortasi basah dan dilakukan pencucian bertujuan untuk memisahkan dan memudahkan penghilangan kotoran, dan benda asing yang melekat pada sampel. Sampel kemudian dikeringkan dengan bantuan sinar matahari selama 3 hari, dengan ditutup kain hitam. Proses pengeringan untuk mengurangi kandungan air di dalam sampel sehingga dapat menghentikan reaksi enzimatik, menghasilkan simplisia yang tidak mudah rusak, dan tahan lama pada penyimpanan, sedangkan pengeringan ditutup menggunakan kain hitam bertujuan untuk mempercepat proses pengeringan, dan dapat meminimalisir kerusakan senyawa yang tidak tahan terhadap panas tinggi. Proses pengeringan dihentikan ketika daun mudah untuk dipatahkan.

Sampel yang telah kering disortasi kering, kemudian diserbukkan, dan diayak dengan mesh 40. Sortasi kering bertujuan untuk memisahkan kotoran, benda asing, dan simplisia yang belum kering benar. Proses penyerbukan untuk memperluas permukaan sehingga proses ekstraksi dan kontak antara sampel dengan pelarut akan berjalan lebih maksimal, sedangkan pengayakan dengan mesh 40 bertujuan untuk menghasilkan serbuk yang seragam, tidak terlalu halus dan terlalu kasar. Semakin besar ukuran serbuk maka semakin panjang jarak pelarut untuk mencapai dinding sel dan melarutkan isi sel, sedangkan serbuk yang terlalu halus dapat memberikan kesulitan ketika proses penyarian dikarenakan ruang antar sel menjadi lebih sempit (Subositi, 2014).

3.3. Ekstraksi Sampel

Metode ekstraksi sampel menggunakan metode ekstraksi maserasi (ekstraksi secara dingin). Tujuan ekstraksi yaitu untuk menyari senyawa metabolit sekunder flavonoid di dalam daun adas. Ekstraksi maserasi digunakan karena prosesnya yang sederhana, tidak membutuhkan banyak biaya, mudah dilakukan, dan prosesnya yang tidak melibatkan panas sehingga meminimalisir rusaknya senyawa di dalam sampel, terutama senyawa flavonoid yang tidak tahan terhadap suhu tinggi.

Pelarut etanol 96% digunakan untuk proses ekstraksi dikarenakan sifatnya yang polar sehingga tepat untuk menyari senyawa organik polar yaitu senyawa flavonoid. Etanol 96% juga memiliki kelebihan bersifat tidak toksis, netral, tidak berbahaya bagi lingkungan serta titik didih yang rendah sehingga mudah diuapkan (Nofita et al., 2020).

Maserasi dilakukan 3 x 24 jam, dan di maserasi kembali selama 1x 24 jam. Maserasi kembali bertujuan untuk menyari senyawa-senyawa yang masih tertinggal pada ampas sehingga proses penyarian dapat dimaksimalkan. Filtrat hasil maserasi dan maserasi kembali, selanjutnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu maksimal 50°C. Filtrat hasil penguapan, kemudian dipekatkan menggunakan waterbath dengan suhu maksimal 50°C. Suhu maksimal yang digunakan 50°C bertujuan untuk meminimalisir kerusakan senyawa flavonoid yang diakibatkan karena pengaruh suhu tinggi. Proses pemekatan bertujuan untuk mempermudah proses penguapan pelarut sehingga dapat memisahkan pelarut dengan filtrat yang diperoleh, dan didapatkan ekstrak kental.

Hasil karakteristik ekstrak etanol daun adas dari tiga replikasi yaitu berbentuk ekstrak kental, berwarna hijau kekuningan, dan berbau khas. Hasil rendemen dapat dilihat pada **Tabel 1**.

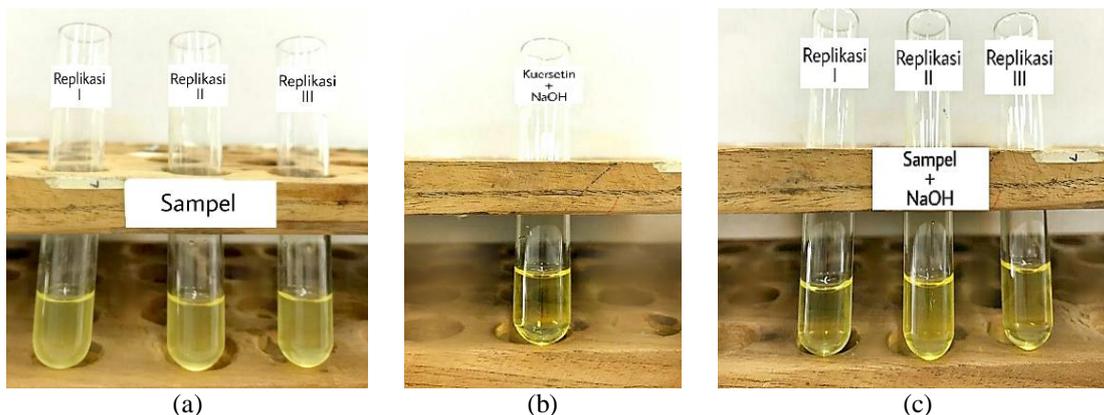
Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstraksi Ekstrak Etanol Daun Adas

Replikasi	% Rendemen (b/b)	± SD	Organoleptis
1	9,6 %	0.0577	Bentuk ekstrak kental, berbau khas, warna hijau kekuningan
2	9,5 %		
3	9,5%		

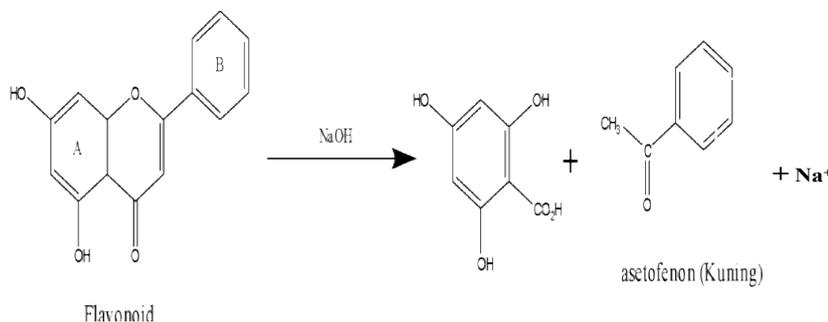
3.4. Uji Kualitatif

Uji kualitatif bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa flavonoid yang berada di dalam ekstrak etanol daun adas. Uji kualitatif dilakukan dengan menggunakan pereaksi NaOH encer, Wilstater cyanidin, dan AlCl_3 .

Uji kualitatif dengan pereaksi NaOH, dikatakan positif mengandung flavonoid jika membentuk warna kuning pada larutan. Hasil uji kualitatif sampel ekstrak etanol daun adas dari tiga kali replikasi dengan penambahan NaOH encer menunjukkan positif mengandung flavonoid dengan terbentuknya warna kuning bening dan intensif dibandingkan sampel (**Gambar 1**). Warna kuning yang terbentuk dikarenakan terjadinya peruraian, dan pemutusan struktur isoprene oleh basa pada flavonoid turunan senyawa flavon atau flavonol yang menghasilkan molekul asetofenon (**Gambar 1**), reaksinya ditunjukkan pada **Gambar 2**.



Gambar 1. Hasil uji flavonoid dengan pereaksi NaOH encer menghasilkan warna kuning bening dan intensif (C)

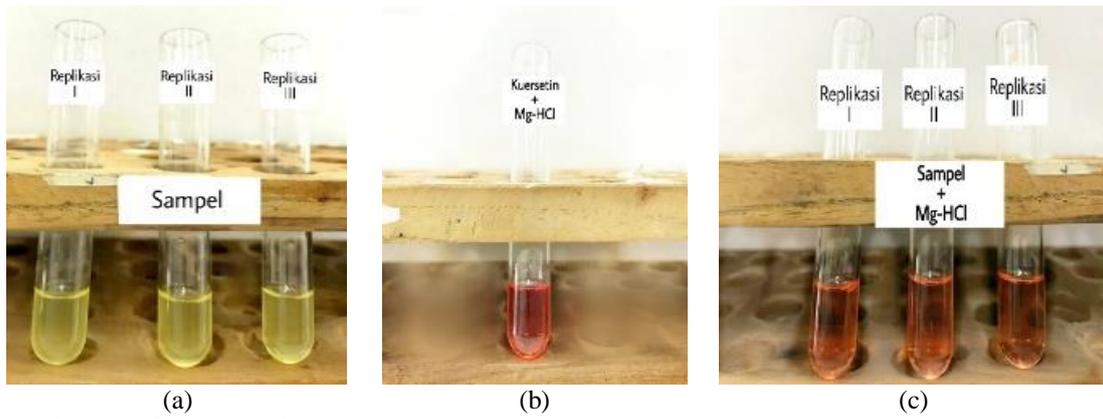


Gambar 2. Reaksi flavonoid dengan NaOH (Kusnadi & Devi, 2017)

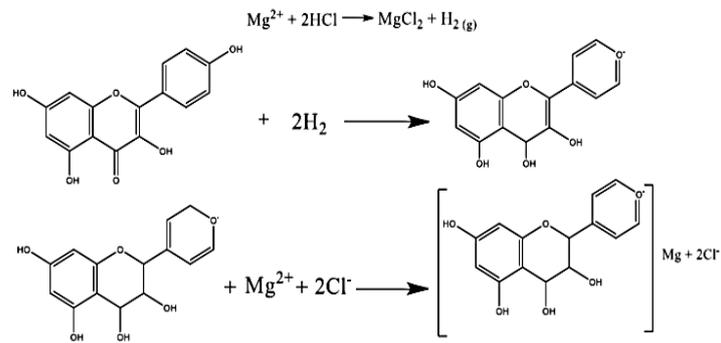
Uji kualitatif wilstater cyanidin dilakukan dengan menambahkan serbuk Mg dengan HCl pekat, dan akan membentuk warna merah – orange apabila mengandung senyawa flavonoid. Hasil uji kualitatif sampel ekstrak etanol daun adas dari tiga replikasi dengan penambahan serbuk Mg dan HCl pekat positif mengandung flavonoid yang ditunjukkan dengan terbentuknya warna orange kemerahan pada larutan (**Gambar 3**).

Penambahan HCl untuk mendeteksi senyawa yang mengandung inti benzopiranon. Kemudian setelah penambahan HCl dihasilkan garam benzopirillium (garam flavilium). Reduksi dengan serbuk Mg dan HCl pekat akan dihasilkan senyawa kompleks orange kemerahan pada flavonol (**Gambar 4**).

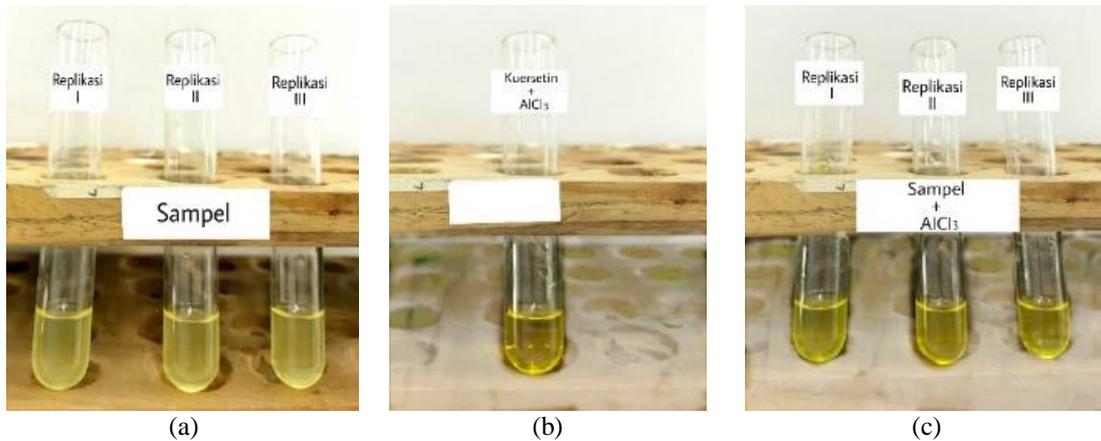
Uji kualitatif dengan pereaksi AlCl_3 , dikatakan positif mengandung flavonoid jika terbentuk warna kuning pada larutan. Hasil uji kualitatif sampel ekstrak etanol daun adas dari tiga kali replikasi dengan penambahan AlCl_3 menunjukkan positif mengandung flavonoid dengan terbentuknya warna yang kuning intensif (**Gambar 5**). Warna kuning intensif yang dihasilkan merupakan hasil reaksi antara flavonoid dengan AlCl_3 yang membentuk senyawa kompleks (**Gambar 6**).



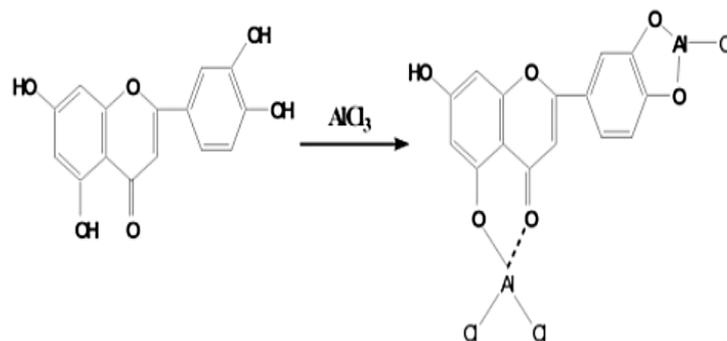
Gambar 3. Hasil uji flavonoid dengan metode Wilstater Cyanidin menghasilkan warna orange kemerahan (C)



Gambar 4. Reaksi flavonoid dengan Mg-HCl (Lindawati & Ma'ruf, 2020)



Gambar 5. Hasil uji flavonoid dengan AlCl₃ menghasilkan warna kuning intensif (C)



Gambar 6. Reaksi pembentukan kompleks flavonoid dengan AlCl₃ (Estikawati & Lindawati, 2019)

3.5. Uji Kuantitatif Flavonoid

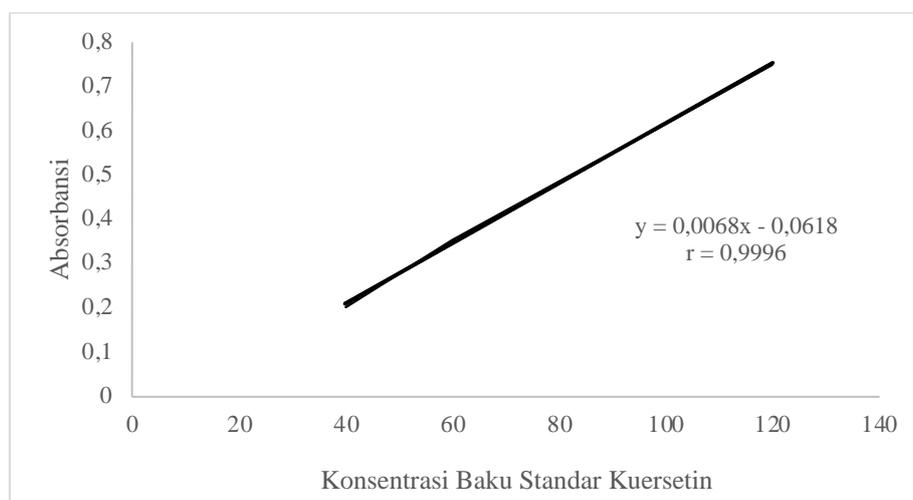
Uji kuantitatif untuk mengetahui kadar total flavonoid di dalam sampel ekstrak etanol daun adas. Analisis kadar total senyawa flavonoid adas dilakukan dengan spektrofotometri visibel, dikarenakan senyawa flavonoid memiliki gugus kromofor, gugus auksokrom, sistem aromatik terkonjugasi, dan merupakan larutan berwarna yang memiliki kemampuan menyerap radiasi elektromagnetik pada daerah UV dan visibel.

Penetapan jumlah total flavonoid daun adas dilakukan dengan metode kolorimetri yang memiliki prinsip pengukuran berdasarkan reaksi pembentukan warna, yang dilakukan dengan pereaksi spesifik $AlCl_3$ dan kuersetin sebagai pembanding. Kuersetin dipilih sebagai baku pembanding dikarenakan kuersetin termasuk flavonoid yang terkandung dalam sampel, dapat bereaksi dengan $AlCl_3$ membentuk kompleks, dan merupakan flavonoid golongan flavonol (Permadi et al., 2015). Keuntungan metode kolorimetri $AlCl_3$ yaitu metodenya lebih sederhana, cepat, dan mudah dilakukan (Nugraha et al., 2016). Reaksi antara kuersetin dengan $AlCl_3$ akan membentuk senyawa kompleks stabil berwarna kuning yang lebih tajam sehingga mengakibatkan pergeseran panjang gelombang serapan dari daerah UV ke daerah visibel.

Penentuan OT untuk mendapatkan waktu pengukuran yang stabil, dan dimaknai sebagai waktu yang dibutuhkan kuersetin untuk bereaksi sempurna dengan pereaksi ($AlCl_3$) sehingga terbentuk senyawa produk kompleks kuersetin yang stabil. *Operating time* dilakukan dengan interval waktu 1 menit dikarenakan semakin pendek interval waktu yang digunakan untuk pengukuran absorbansi, maka penentuan operating time akan semakin teliti. Hasil *operating time* diperoleh pada menit ke-28.

Penentuan panjang gelombang maksimal untuk mengetahui panjang gelombang didapatkannya absorbansi yang maksimal. Panjang gelombang maksimal yang diperoleh yaitu 430,5 nm dengan absorbansi 0,464. Serapan diukur menggunakan panjang gelombang maksimal dikarenakan memiliki kepekaan, dan keakuratan yang maksimal, perubahan absorbansi karena adanya perubahan konsentrasi adalah yang terbesar, pita serapan disekitar panjang gelombang maksimal adalah datar, dan jika dilakukan pengukuran ulang maka kesalahan yang disebabkan oleh pemasangan ulang akan kecil sekali, sehingga hukum Lambert-Beer akan terpenuhi dengan baik, dan diperoleh kurva baku yang linier.

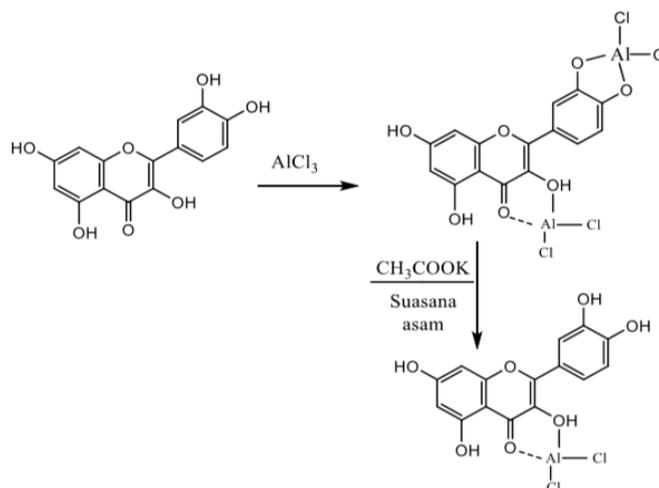
Pembuatan kurva kalibrasi dipilih menggunakan seri konsentrasi 40, 60, 80, 100, dan 120 ppm, karena berdasarkan pada berlakunya hukum Lambert Beer yang menyatakan bahwa syarat serapan yaitu antara 0,2-0,8. Hal tersebut untuk menghindari terjadinya kesalahan fotometrik, dimana pada rentan serapan tersebut kesalahan analisis masih dalam batas yang diterima yaitu 0,5-1% (Asmorowati & Lindawati, 2019).



Gambar 7. Kurva kalibrasi kuersetin

Gambar 7 menunjukkan hasil persamaan regresi linier yaitu $y = 0,0068x - 0,0618$, dan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9996. Nilai r yang didapatkan mendekati 1 membuktikan persamaan regresi tersebut linier, sehingga dapat dikatakan bahwa absorbansi dengan konsentrasi berbanding lurus, dan mempunyai korelasi yang sangat kuat.

Kandungan total flavonoid ekstrak etanol daun adas ditentukan dengan metode kolorimetri dimana larutan sampel ditambahkan dengan $AlCl_3$ dan CH_3COOK . Larutan $AlCl_3$ berfungsi membentuk kompleks berwarna antara flavonoid dengan $AlCl_3$ sehingga menyebabkan bergesernya panjang gelombang ke arah visibel ditandai larutan menghasilkan warna kuning lebih intensif. CH_3COOK berfungsi untuk mempertahankan dan menstabilkan panjang gelombang pada daerah visibel (Lindawati, dan Ma'ruf, 2020). Prinsip analisis total kadar flavonoid dengan metode kolorimetri $AlCl_3$ yaitu pembentukan kompleks antara gugus keton (atom C-4) dan gugus hidroksi (atom C-3 atau C-5) yang bertetangga dari flavon dan flavonol dengan pereaksi $AlCl_3$ (**Gambar 8**).



Gambar 8. Reaksi flavonoid dengan $AlCl_3$ (Lindawati & Ma'ruf, 2020)

Hasil total kadar flavonoid ekstrak etanol daun adas dapat dilihat pada **Tabel 2**. **Tabel 2** menunjukkan kadar rata-rata dari ketiga replikasi adalah 99.2 mg QE/g ekstrak, dengan nilai % KV sebesar 1,27%.

Tabel 2. Hasil penetapan total kadar flavonoid ekstrak etanol daun adas

Sampel	Replikasi	Kadar terukur (mgQE/g ekstrak)	Rata-rata (mgQE/g ekstrak)	±SD	% KV
Ekstrak etanol daun adas	1	97,9	99.2	1,2583	1,27%
	2	100,4			
	3	99,4			

Koefisien variasi digunakan untuk mengetahui kesesuaian hasil pengukuran satu dengan hasil pengukuran yang lain dari suatu seri pengukuran dari sampling acak secara berulang-ulang dari sampel yang homogen. Nilai koefisien variasi pada sampel ekstrak etanol daun adas memenuhi persyaratan karena hasilnya $\leq 2\%$. Hasil tersebut membuktikan bahwa data pada analisis total kadar flavonoid ekstrak etanol daun adas memiliki tingkat ketelitian kerja yang baik dari tiga replikasi. Keterbatasan pada penelitian yaitu hanya menggunakan sampel yang diperoleh dari kawasan pertanian di Desa Kadipiro, Kelurahan Genting, Kecamatan Cepogo, Kabupaten Boyolali.

4. KESIMPULAN

Analisis kadar total flavonoid dalam ekstrak etanol daun adas (*Foeniculum vulgare*) yang dapat bermanfaat dalam meningkatkan imunitas tubuh diperoleh hasil sebesar 99,2 mg QE/g

ekstrak dengan %KV sebesar 1,27%. Penelitian selanjutnya perlu menggunakan berbagai jenis pelarut untuk mengeksplorasi kandungan metabolit sekunder lainnya yang terkandung dalam daun adas.

5. KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan dalam pelaksanaan penelitian ini.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Abdul, A., & Qonitah, F. (2019). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Adas terhadap Kadar Hormon Prolaktin pada Tikus Betina Post Partum. *Jurnal Farmasetis*, 8(2), 39–44. <https://doi.org/10.32583/farmasetis.v8i2.616>
- Asmorowati, H., & Lindawati, N. Y. (2019). Penetapan kadar flavonoid total alpukat (*Persea americana* Mill .) dengan metode spektrofotometri. *Ilmiah Farmasi*, 15(2), 51–63.
- Dua, A., Mittal, A., Gupta, S., & Mahajan, R. (2013). Bioreactive Compounds and Antioxidant Properties of Methanolic Extract of Fennel (*Foeniculum Vulgare* Miller). *International Research Journal of Pharmacy*, 4(5), 241–245. <https://doi.org/10.7897/2230-8407.04551>
- Estikawati, I., & Lindawati, N. Y. (2019). Penetapan Kadar Flavonoid Total Buah Oyong (*Luffa acutangula* (L .) Roxb.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis*, 5(2), 96–105.
- Haeria, Tahar, N., & Ramadhani, N. H. (2017). Uji Efektivitas Imunomodulator Ekstrak Etanol Korteks Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* Hout .Merr.) terhadap Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Makrofag pada Mencit (*Mus musculus*) Jantan. *Jf Fik Uinam*, 5(4), 294–302.
- Kusnadi, & Devi, E. T. (2017). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) Dengan Metode Refluks. *Pancasakti Science Education Journal*, 2(9), 56–67.
- Lindawati, N. Y., & Ma'ruf, S. H. (2020). Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Kacang Merah (*Phaseolus Vulgaris* L.) Secara Spektrofotometri Visibel. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(1), 83. <https://doi.org/10.51352/jim.v6i1.312>
- Marpaung, M. P., & Wahyuni, R. C. (2018). Identifikasi Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Akar Kuning (*Fibraurea chloroleuca* Miers). *Talenta Conference Series: Tropical Medicine (TM)*, 1(3), 095–098. <https://doi.org/10.32734/tm.v1i3.269>
- Nofita, D., Sari, S. N., & Mardiah, H. (2020). Penentuan Fenolik Total dan Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata* J.R& G.Forst) secara Spektrofotometri. *Chimica et Natura Acta*, 8(1), 36. <https://doi.org/10.24198/cna.v8.n1.26600>
- Nugraha, T., Kiki, M., & Kodir, A. R. (2016). Pengujian Aktivitas Antioksidan pada Fraksi Berbeda dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Dari Daun Jalantir (*Erigeron sumatrensis* Retz .) yang Berasal dari Jawa Barat Indonesia Antioxidant Activity Test on Different Fraction and Determination of Flavonoid. *Prosiding Farmasi*, 2(2), 755–762.
- Permadi, A., Sutanto, & Wardatun, S. (2015). Perbandingan Metode Ekstraksi Bertingkat Dan Tidak Bertingkat Terhadap Flavonoid Total Herba Ciplukan Secara Kolorimetri. *Jurnal Online Mahasiswa Bidang Farmasi*, 1(1), 1–10.
- Rauf, A., Haeria, & Anas, D. D. (2016). Efek Imunostimulan Fraksi Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. MERR) Terhadap Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Makrofag pada Mencit Jantan (*Mus Muculus*). *Jurnal Farmasi UIN Alauddin Makassar*, 4(4), 9–15.
- Simanjuntak, K. (2012). Peran Antioksidan Flavonoid dalam Meningkatkan Kesehatan. *Bina Widya*, 23(3), 135–140. <https://doi.org/10.1111/j.1551-2916.1988.tb00228.x>
- Subositi, A. P. D. (2014). Analisis Ukuran Partikel Bahan Penyusun Ramuan Jamu Dan Volume Air Penyari Terhadap Mutu Ekstrak Yang Dihasilkan. *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik*, 111–115.
- Wahyulianingsih, W., Handayani, S., & Malik, A. (2016). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(2), 188–193. <https://doi.org/10.33096/jffi.v3i2.221>
- Wisudyaningsih, B. (2012). Studi preformulasi: validasi metode spektrofotometri ofloksasin dalam larutan dapar fosfat. *Stomatognatic*, 9(2), 77–81.
- Yuda, I. K. A., Anthara, M. S., & Dharmayudha, A. A. G. O. (2013). Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Estrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia*) dan Pengaruhnya Terhadap

Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Alokstan. *Buletin Veteriner Udayana*, 5(2), 87–95.