

Standarisasi dan Analisis Kandungan Flavonoid Total Daun Pulai (*Alstonia scholaris* L.)

A.Mu'thi Andy Suryadi^{1*}, Mahdalena Sy. Pakaya², Mohamad Adam Mustapa³, Andi Makkulawu⁴, Faramita Hiola⁵

^{1,2,3,4,5} Jurusan Farmasi Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo, Jl. Jenderal Sudirman No. 06 Kota Gorontalo 96128, Indonesia

* Penulis Korespondensi. Email: a.muthi@ung.ac.id

ABSTRAK

Tumbuhan pulai (*Alstonia scholaris*) merupakan salah satu tumbuhan yang sering digunakan untuk pengobatan tradisional. Daun pulai (*Alstonia scholaris*) merupakan salah satu bagian tumbuhan yang banyak digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional untuk pengobatan demam, gatal-gatal, malaria dan diare. Kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman ini adalah flavonoid, tannin, dan steroid. Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan beberapa parameter spesifik maupun nonspesifik dan penetapan kadar flavonoid total dari ekstrak etanol 70% daun pulai. Standarisasi ekstrak tumbuhan obat perlu dilakukan sebagai upaya penjaminan mutu obat tradisional. Hasil uji standarisasi untuk parameter spesifik menunjukkan organoleptic ekstrak berupa ekstrak kental, berwarna hijau kehitaman, rasa pahit pekat dan berbau khas, dengan kandungan senyawa larut air (20,14%±0,1649), senyawa larut etanol (9,495±0,0928). Hasil standarisasi untuk parameter non spesifik menunjukkan kadar air (9,17%±0,02055), kadar abu total (1,76%±0,00547), kadar abu tidak larut asam (2,82%±0,01257) dan susut pengeringan (5,08%±0,04636). Sedangkan hasil untuk analisis kadar flavonoid fraksi ekstrak etanol 70% daun pulai di lakukan pada panjang gelombang 438,36 nm dengan nilai absorbansi yaitu 0,0011. Kadar total flavonoid dihitung dengan persamaan linear standar kuersetin yaitu $y = 0,0643x + (-0,0232)$ dengan koefisien korelasi (R) = 0,9974 dengan kadar flavonoid total sebesar 0,377%.

Kata Kunci:

Daun Pulai (*Alstonia scholaris*); Standarisasi Spesifik Non Spesifik; Spektrofotometri UV-Vis

Diterima:
23-10-2023

Disetujui:
04-01-2024

Online:
15-01-2024

ABSTRACT

The island plant (*Alstonia scholaris*) is one of the plants that is often used for traditional medicine. Pulai plant (*Alstonia scholaris* L.) is often used as a traditional medicine to treat fever, itch, malaria, and diarrhea. The secondary metabolite compounds obtained from this plant are flavonoid, tannin, and steroid. This study aims to determine the specific and non-specific parameters and the total flavonoid levels of Pulai's 70% ethanol extract. The standardization of medicine plant extract is needed as an effort to traditional medicine quality control. The standardization test result for specific parameter showed that the organoleptic extract was a dark green and thick extract, bitter, and had a distinctive smell, containing water soluble content (20.14% ±0.1649) and ethanol soluble content (9.495%±0.0928). The standardization for non-specific parameter showed water content (9.17%±0.02055), total ash content (1.76%±0.00547), acid insoluble ash content (2.82%±0.01257), and drying shrinkage (5.08%±0.04636). Meanwhile, the analysis of flavonoid level of Pulai's 70% ethanol extract fraction was done at

the wavelength of 438.36 nm and the absorbance value of 0.0011. The total flavonoid content was analyzed using quercetin standard linear equation of $y=0.0643x + (-0.0232)$ with the correlational coefficient (R)- 0.9974, and the total flavonoid content of 3.77%.

Copyright © 2024 Jsscr. All rights reserved.

Keywords:

Pulai leaf (*Alstonia scholaris*); Standardization of specific and non-specific; UV-Vis Spectrofotometry

Received:

2023 -10-23

Accepted:

2024-01-04

Online:

2024 -01-15

1. Pendahuluan

Bidang kesehatan di Indonesia akhir-akhir ini mulai menyuarkan istilah *back to nature* atau kembali ke alam dengan mengembangkan tumbuh-tumbuhan yang berpotensi sebagai tumbuhan obat, mengingat tingginya potensi kekayaan alam Indonesia yang sangat memungkinkan berbagai jenis tumbuhan hidup dan berkembang dengan subur. Banyaknya jenis tumbuhan yang tumbuh di Indonesia menjadikan Indonesia memiliki beragam jenis tumbuhan yang dapat dijadikan sebagai tumbuhan obat. Menurut Ditjen POM [1], Indonesia memiliki kurang lebih 30.000 jenis tumbuhan dan sekitar 7.000 tumbuhan berkhasiat dan digunakan sebagai obat tradisional.

Salah satu tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat dan banyak digunakan masyarakat untuk pengobatan tradisional adalah tumbuhan pulai. Pulai (*Alstonia scholaris*) adalah tumbuhan yang dapat ditemukan di Indonesia dan banyak digunakan sebagai bahan obat [2]. Melihat keberadaan tumbuhan pulai yang banyak ditemukan di Indonesia, maka tumbuhan ini sering dijadikan sebagai obat tradisional dalam lingkungan masyarakat secara turun temurun. Bagian dari tumbuhan pulai yang sering digunakan untuk pengobatan yaitu daun, kulit batang dan bunga. Masyarakat di Indonesia memanfaatkan tumbuhan pulai secara tradisional untuk pengobatan demam, gatal-gatal, malaria, batuk berdahak, diare, kencing manis, penurun kolesterol, cacingan, rematik akut, dan hipertensi.

Tanaman pulai diketahui mengandung senyawa flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan, sehingga diharapkan dapat melindungi sel terhadap oksidasi lipid. Flavonoid merupakan kandungan khas pada tanaman hijau, yang sebagian besar mempunyai kegunaan sebagai antioksidan, antiinflamasi dan sebagai anti kanker [3]. Selain mengandung flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan, secara empiris pulai digunakan sebagai obat penyakit kulit, hal ini berhubungan dengan manfaat flavonoid yang dapat berfungsi sebagai antihistamin dengan mekanisme stabilisasi sel mast sehingga menghambat pelepasan histamine [4,5].

Banyak penelitian mengenai tumbuhan pulai (*Alstonia scholaris*) yang mengarah pada pengembangan obat tradisional. Hal ini memerlukan adanya upaya untuk menjamin mutu dan keamanan (*safety*) dari obat tradisional, mulai dari pemilihan simplisia, penyarian senyawa dalam ekstrak, hingga seluruh proses selesai dan beredar pada masyarakat. Produk obat yang dibuat dari bahan alam harus dan telah memenuhi semua persyaratan obat tradisional. Salah satu upaya untuk memenuhi persyaratan tersebut maka diperlukan proses standarisasi. Standarisasi ekstrak bertujuan untuk mempertahankan konsistensi senyawa aktif yang akan diproduksi dan pemekatan kandungan senyawa aktif pada ekstrak. Persyaratan mutu ekstraksi terdiri dari parameter standar spesifik dan non spesifik.

Berdasarkan penjelasan di atas, kami tertarik untuk melakukan pengujian terhadap parameter standarisasi spesifik dan non spesifik pada ekstrak tumbuhan Pulai

(*Alstonia scholaris*) sehingga dapat mengetahui hasil parameter spesifik dan non spesifik dari ekstrak tumbuhan pulai serta melakukan pengujian menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis untuk mengetahui persen kadar flavonoid pada ekstrak tumbuhan pulai (*Alstonia scholaris*).

2. Metode

Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental untuk menetapkan standarisasi baik parameter spesifik dan nonspesifik, melakukan uji kualitatif senyawa metabolit sekunder serta uji kuantitatif kadar flavonoid total dengan metode spektrofotometri UV-Vis dari ekstrak daun pulai (*Alstonia scholaris*).

Bahan penelitian

Bahan yang digunakan adalah simplisia daun pulai (*Alstonia scholaris* L.), $AlCl_3$, asam asetat anhidrat, aquadest, bubuk magnesium, dragendrof, etanol 70% dan 95 %, etil asetat, $FeCl_3$, H_2SO_4 , HCl, kloroform, lempeng KLT, libermen burchard, n-heksan, NaOH, dan pereaksi mayer.

Alat penelitian

Alat yang digunakan yaitu, batang pengaduk, blender (*Philips*®), cawan porselin, chamber, corong, deksikator (*duran*®), gelas kimia (*pyrex*®), gelas ukur (*pyrex*®), kain saring, kertas saring, krus silicat, lampu UV 366 nm, Oven (*memmert type UN260*®), penotol, pipet tetes, quersetin, rotary evaporator (*RV 8 V Ika germany*®), spektrofotometri Uv-Vis, Spetrofotometri serapan atom, sendok tanduk, tabung reaksi (*pyrex*®), tanur (*thermolyne*®), timbangan analitik (*krem*®), toples, dan vial.

Ekstraksi Daun Pulai (*Alstonia scholaris* L.)

Tumbuhan pulai (*Alstonia scholaris*) diperoleh dari Desa Haya-haya, Kecamatan Limboto Barat, Kabupaten Gorontalo, Provinsi Gorontalo. Daun pulai yang telah diambil dicuci bersih, dirajang kemudian dikeringkan. Pengeringan dilakukan dibawah sinar matahari tidak langsung dan kemudian simplisia kering dihaluskan agar memperoleh serbuk simplisia. Serbuk yang telah didapatkan selanjutnya diayak dengan menggunakan ayakan No. 60. Sebanyak 300 gram simplisia daun pulai (*Alstonia scholaris*) diekstraksi menggunakan metode maserasi bertingkat dengan pelarut, N-Heksan, etil asetat dan etanol 70% dengan masing-masing pelarut sebanyak 3000 ml. Maserasi dilakukan selama 3×24 jam untuk masing-masing pelarut disertai dengan proses pengadukan secara berkala. Setelah selesai proses maserasi, sampel disaring untuk memisahkan filtrat dan residu. Seluruh filtrat yang didapatkan dari masing-masing proses ekstraksi dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai mendapatkan ekstrak kental dan kemudian ditimbang bobot ekstrak dan dihitung persentase rendamen.

Penetapan Parameter Spesifik

Penetapan Organolepik

Penetapan ini menggunakan panca indra untuk mengetahui bentuk, warna, bau, dan rasa dari sampel.

Penetapan Senyawa Larut Dalam Air

Ekstrak sebanyak 2 g ekstrak dimaserasi selama 24 jam dengan 40 ml air-kloroform (1 mL kloroform dalam 39 mL air) menggunakan labu bersumbat, dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama. Kemudian dibiarkan selama 18 jam. Setelah itu

disaring. Uapkan 8 mL filtrat. Residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Dihitung kadar dalam persen senyawa yang larut dalam air terhadap berat ekstrak awal [6].

Penetapan Senyawa Larut Dalam Etanol

Sebanyak 2 gram ekstrak dimaserasi selama 24 jam dengan 40 mL etanol 95% menggunakan labu bersumbat, dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama. Kemudian dibiarkan selama 18 jam. Disaring dengan cepat untuk menghindari terjadinya penguapan etanol. Kemudian diuapkan 8 mL filtrat hingga kering. Residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap.

Skrining Fitokimia

Uji Flavonoid

Masing-masing ekstrak etanol, etil asetat dan N-Heksan sebanyak 1 ml dimasukan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium dan 2 mL HCl pekat kemudian dikocok. Apabila terbentuk larutan berwarna merah, kuning, atau jingga menunjukkan adanya flavonoid [8].

Uji alkaloid

Sebanyak 5 tetes filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes HCl 2N serta 2 tetes pereaksi Dragendorf. Jika terbentuk endapan berwarna coklat kemerahan dari warna jingga, hal ini menunjukkan adanya senyawa alkaloid [8].

Uji Terpenoid dan Steroid

Masing-masing ekstrak etanol, etil asetat dan N-heksan sebanyak 1 ml dimasukan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat dan 2 mL H₂SO₄. Jika terbentuk cincin berwarna merah positif terpenoid, sedangkan jika terbentuk cincin ungu positif steroid [8].

Uji Saponin

Masing-masing ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan sebanyak 1 ml dimasukan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan 2 mL aquadest kemudian dipanaskan selama 2-3 menit, tunggu hingga dingin kemudian dikocok selama 10 detik, diamati perubahan yang terjadi. Apabila terbentuk buih selama tidak kurang dari 10 menit serta dengan penambahan HCl 2N buih tidak hilang maka positif mengandung saponin [8].

Uji Tanin

Masing-masing ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan sebanyak 1 ml dimasukan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan 1 mL larutan FeCl₃ %. Apabila berubah warna biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tannin [8].

Pemisahan Menggunakan KLT

Hasil ekstrak yang mengandung paling banyak senyawa diidentifikasi kembali menggunakan KLT. Ekstrak ditotolkan pada lempeng silika dan dielusi menggunakan fase gerak yang sesuai berdasarkan literature. Hasil penampakan dilihat menggunakan lampu UV 366 dan dihitung nilai R_f.

Parameter Non Spesifik

Penetapan Kadar Air

Sebanyak 1 gram ekstrak ditimbang dimasukkan ke dalam cawan yang sebelumnya telah dipanaskan. Kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 5 jam. Dimasukkan cawan dalam deksikator hingga suhu kamar dan dicatat bobot tetap yang diperoleh [6].

Penetapan Kadar Abu

Sebanyak 2 g ekstrak dimasukkan ke dalam krus silikat yang sebelumnya telah dipijarkan dan ditimbang kemudian ekstrak dipijarkan di atas pembakar (tanur) secara bertahap sampai pada suhu 500°C-600°C hingga arang tersebut habis, setelah itu dihitung bobot [6].

Penetapan Kadar Abu tidak larut asam

Abu yang telah diperoleh dari penetapan kadar abu sebelumnya, dididihkan dengan pelarut HCl sebanyak 25 mL selama 5 menit. Kemudian bagian yang tidak larut asam dikumpulkan disaring menggunakan kertas saring dan dipijarkan hingga bobot tetap dan ditimbang (A1). Tentukan kadar Abu [7].

Penetapan Susut Pengeringan

Sebanyak 2 g ekstrak ditimbang dalam cawan porselin yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit. Sebelum ditimbang ekstrak tersebut diratakan menggunakan batang pengaduk hingga terbentuk lapisan setebal (5-10 mm). Lalu dikeringkan pada suhu 105°C selama 30 menit dalam oven. Kemudian cawan dikeluarkan dari oven dan dimasukkan dalam deksikator sampai dingin. Kemudian dicatat bobot tetap yang diperoleh [7].

Penetapan Kadar Flavonoid

Penentuan panjang gelombang quersetin

Penentuan panjang gelombang quersetin dilakukan dengan cara membuat quersetin 100 ppm, kemudian sebanyak 1 mL larutan quersetin bereaksi dengan 1 mL $AlCl_3$ 2% dan ditambahkan 8 mL asam asetat 5% larutan dibiarkan selama 30 menit kemudian lakukan pembacaan pada rentang panjang gelombang 200-600 nm [8].

Pembuatan kurva standar quersetin

Ditimbang sebanyak 25 mg baku standar quersetin dan dilarutkan dalam 25 mL etanol 70%. Larutan stok dipipet sebanyak 1 mL dan dicukupkan volumenya sampai 10 mL dengan methanol sehingga diperoleh 100 ppm. Dari larutan standar quersetin 100 ppm kemudian dibuat beberapa konsentrasi yaitu 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm dari masing-masing konsentrasi larutan standar quersetin dipipet 1 mL. Kemudian ditambahkan 1 mL $AlCl_3$ 2% dan ditambahkan 8 mL asam asetat 5%. Kemudian sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum

Penentuan kadar flavonoid Pulai (*Alstonia scholaris*)

Ditimbang sebanyak 25 mg ekstrak dan dilarutkan dalam 25 mL metanol, larutan stok dipipet sebanyak 1 mL dan dicukupkan volumenya sampai 10 mL dengan metanol. Diambil 1 mL larutan ekstrak kemudian ditambahkan 1 mL AlCl₃ 2 % dan ditambahkan 8 mL asam asetat 5% dan sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Untuk penetapan kadar senyawa flavonoid dalam sampel ekstrak etanol daun pulai dapat dihitung dengan rumus [12] :

$$\text{Kadar senyawa flavonoid} = \frac{X \mu\text{g} / \text{mL} \times \text{volume akhir (mL)}}{\text{berat peimbangan sampel}}$$

Keterangan : X = konsentrasi (ppm)
vol = volume pengenceran yang digunakan (ml)

3. Hasil dan Pembahasan

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi bertingkat menggunakan tiga pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam untuk masing-masing pelarut dengan perbandingan sampel dan pelarut sebanyak 300 gram : 3 Liter. Dari banyak sampel dan pelarut diperoleh hasil rendamen seperti pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Persentase Rendamen Ekstrak Daun Pulai (*Alstonia scholaris*)

Fraksi	Berat Sampel (g)	Pelarut (mL)	Berat Ekstrak Kental (g)	Rendemen (%)
N-Heksan	300	3000	9	3
Etil Asetat	278	3000	18	6,47
Etanol 70%	247	3000	31	12,55

Hasil menunjukkan persentase rendemen dari ke tiga pelarut berbeda-beda. Rendamen pada ekstrak n-heksan hanya diperoleh sebesar 3%, pada etil asetat sebesar 6,47% dan pada hasil etanol memperoleh hasil paling besar yaitu 12,55%, hal dikarenakan kemampuan dari masing-masing pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang beda. Sehingga etanol dengan sifat polar dapat menarik lebih banyak senyawa daripada pelarut non polar dan semi polar seperti n-heksan dan etil asetat [9,10]. Berdasarkan hasil rendamen yang diperoleh, hanya rendamen ekstrak etanol 70% yang memenuhi standar. Menurut Depkes RI [6], hasil rendamen yang diperoleh dapat menunjukkan bahwa ekstraksi yang dilakukan berlangsung sempurna dan masuk dalam rang 10-15%.

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit apasaja yang terkandung dalam masing-masing ekstrak. Uji ini dilakukan dengan menggunakan pereaksi warna yang berbeda-beda untuk tiap senyawa metabolit sekunder. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun pulai (*Alstonia scholaris*) dapat dilihat pada tabel 2. Hasil menunjukkan ekstrak daun pulai mengandung senyawa metabolit sekunder berupa senyawa flavonoid, tannin dan steroid pada fraksi ekstrak etanol dan senyawa steroid pada fraksi ekstrak etil asetat, sedangkan pada fraksi n-heksan tidak teridentifikasi adanya senyawa metabolit sekunder.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Pulai (*Alstonia scholaris*)

Fraksi pelarut	Hasil Senyawa				
	Alkaloid (dragendrfof)	Flavonoid (HCl+Mg)	Tannin (FeCl ₃)	Soponin (air panas +HCl)	Steroid/terpenoid (H ₂ SO ₄ + as. asetat anhidrat)
Etanol 70%	-	+	+	-	+
Etil asetat	-	-	-	-	+
N-Heksan	-	-	-	-	-

Ekstrak etanol 70% yang memiliki kandungan senyawa flavonoid kemudian di lakukan uji organoleptik yang meliputi bentuk, warna, rasa dan bau. Hasil organoleptik dari ekstrak etanol 70% daun pulai dapat dilihat pada tabel 3. Uji organoleptik bertujuan untuk memberikan pengenalan awal ekstrak secara objektif dan sederhana yang dilakukan dengan menggunakan panca indra. Uji organoleptik meliputi pemeriksaan bentuk ekstrak yang kental, warna ekstrak yang hijau kehitaman, bau atau aroma yang khas, dan rasa dari ekstrak yang pahit pekat.

Tabel 3. Hasil Organoleptik Ekstrak Etanol 70% Daun Pulai (*Alstonia scholaris*)

Sampel	Uji Organoleptik	Hasil
Ekstrak Daun Pulai (<i>Alstonia Scholaris</i>)	Warna	Hijau Kehitaman
	Bentuk	Ekstrak Kental
	Rasa	Pahit Pekat
	Bau	Khas

Fraksi etanol 70% selanjutnya diuji parameter sari larut pelarut tertentu. Pelarut yang dimaksud adalah air dan etanol. Pengujian ini dilakukan dengan melarutkan ekstrak pada air ataupun etanol dan dilihat banyaknya kandungan senyawa yang terlarut dalam pelarut-pelarut tersebut. Hasil menunjukkan senyawa dalam ekstrak daun pulai lebih banyak terlarut dalam air dengan presentase sebesar 20,14% dan senyawa yang terlarut dalam etanol hanya sebanyak 9,49%, hal ini karena tingkat kepolaran air lebih tinggi sehingga banyaknya senyawa polar yang tertarik dalam air dibandingkan senyawa yang terlarut dalam etanol. Serta air dapat melarutkan senyawa-senyawa polar seperti senyawa flavonoid dan senyawa tanin [11].


Tabel 4. Hasil Uji Sari Larut Pelarut Tertentu Ekstrak Etanol 70% Daun Pulai

Sampel	Parameter	Hasil	±SD
Daun Pulai	Senyawa larut dalam air	20,14%	0,1649
	Senyawa larut Etanol	9,49%	0,0928

Penentuan Pola kromatogram menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan dengan menggunakan perbandingan fase gerak yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda dan hampir mendekati kepolaran senyawa yang akan ditentukan dengan melihat jalan noda dan dihitung nilai Rf. Eluen yang digunakan pada kromatografi lapis tipis yaitu berupa perbandingan antara N-Heksan: Etil asetat dengan perbandingan 7:3. Jarak noda dan nilai Rf yang ditempuh fraksi ekstrak etanol 70% dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Etanol 70% Daun Pulai

Eluen N-Heksan : Etil asetat (7:3)	Jerak tempuh noda (cm)	Jerak tempuh pelarut (cm)	Harga Rf
Daun pulai (<i>Alstonia scholaris</i> L.)	0,9	4	Rf ₁ 0,22
	1,5	4	Rf ₂ 0,37
	2.1	4	Rf ₃ 0,52
	2,6	4	Rf ₄ 0,67



Pola kromatogram pada tabel 5 menunjukkan semakin besar nilai Rf dari sampel maka semakin besar pula jarak yang ditempuh oleh senyawa pada plat KLT [12]. Nilai Rf menunjukkan perbandingan waktu tertahannya analit dalam fase diam terhadap waktu tertahannya fase gerak. Nilai Rf yang teridentifikasi pada sampel yaitu 0,22; 0,37; 0,52 dan 0,67. Ke empat nilai Rf ini diperkirakan masuk dalam rentang nilai Rf untuk senyawa flavonoid yaitu pada rentang 0,2-0,8. Nilai Rf untuk senyawa flavonoid berkisar antara 0,2-0,8 dengan dinyatakan lain dapat dilihat dari hasil fluoresensi yang

Parameter nonspesifik merupakan pengujian yang meliputi uji kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, dan susut pengeringan. Hasil dari ke empat parameter ini dapat dilihat pada tabel 6. Berdasarkan hasil yang diperoleh sampel ekstrak etanol 70% memiliki kadar air yang masih baik karena masih masuk dalam range untuk penetapan standar kadar air ekstrak kental yaitu 5-30% [14]. Pentapan kadar air dalam suatu ekstrak atau bahan sangat diperlukan karena jika bahan mengandung kadar air yang cukup tinggi dapat menyebabkan bahan cepat ditumbuhi jamur dan mudah rusak. Hal sependapat dikatakan oleh Supriningrum [15], bahwa kadar air yang besar dapat menyebabkan pertumbuhan mikroba karena air merupakan media pertumbuhan mikroorganisme dan juga sebagai media terjadinya reaksi enzimatik yang dapat menguraikan senyawa aktifnya.

Tabel 6. Hasil Uji Parameter Nonspesifik Etanol 70% Daun Pulai

Parameter	Hasil	±SD	Syarat
Kadar Air	9,17%	1,1188	5-30%
Susut Pengeringan	5,08%	1,1390	<11%
Kadar Abu Total	1,76%	0,0380	<10%
Kadar Abu tidak larut asam	2,82%	0,0212	<4,60%

Penentuan kadar abu ini bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari awal proses sampai mendapat sisa dari pengabuan [16]. Hasil rata-rata yang diperoleh dari penelitian ini yaitu $1,76\% \pm 0,0038$ dan hasil ini masih masuk dalam rentang yang disyaratkan, di mana syarat kadar abu total yaitu $<10,2\%$ [6]. Menurut Saragih [17], apabila semakin tinggi kadar abu suatu bahan, maka semakin tinggi mineral yang terkandung dalam bahan tersebut.

Penentuan kadar abu tidak larut asam dilakukan untuk melihat besarnya kandungan mineral eksternal yang tidak diinginkan yang biasa berupa senyawa-senyawa pengotor dan adanya logam [18]. Hasil rata-rata yang diperoleh yaitu $2,82\% \pm 0,0212$ yang berarti hasil tersebut memenuhi parameter standar untuk kadar abu tidak larut asam yaitu $<4,60\%$ [6]. Menurut Kartikasari dkk, [19] adanya kandungan abu tidak larut dalam asam yang rendah menunjukkan adanya pasir atau pengotor yang lainnya dalam kadar yang rendah. Pengujian susut pengeringan dilakukan untuk menentukan batasan maksimal rentang besarnya senyawa yang hilang ketika sampel saat dalam proses pengeringan [20]. Hasil yang diperoleh dari pengujian susut pengeringan yaitu $5,08\% \pm 1,1390$. Berdasarkan hasil yang diperoleh susut pengeringan ekstrak etanol 70% masih memenuhi stantar susut pengeringan Depkes RI [6], yaitu kurang dari sama dengan 11%.

Tabel 7. Nilai Absorbansi Larutan Baku Kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
5	0,327
10	0,633
15	0,887
20	1,275
25	1,628

Nilai absorbansi yang telah diperoleh dari pengukuran larutan baku, selanjutnya dimasukkan dalam persamaan regresi untuk menentukan panjang gelombang dari kuersetin, dan nilai hasil pengukuran absorbansi sampel digunakan untuk menghitung kadar flavonoid total dari ekstrak sampel pulai. hasil regresi linier dari konsentrasi larutan baku kuersetin dengan nilai serapannya sehingga memperoleh persamaan $y=0,0643x-0,0232$ dengan nilai koefisien determinasi (R) yaitu 0,9974 yang menunjukkan semakin baik nilai serapannya. Hasil dari nilai absorbansi dan panjang gelombang kadar total flavonoid dapat dilihat pada tabel 7 dan tabel 8.

Tabel 8. Panjang Gelombang Dan Perhitungan Kadar Total Flavonoid Daun Pulai

Sampel Ekstrak Daun Pulai	Hasil
Panjang gelombang maksimum	438,36 nm
Kadar flavonoid total	37,7 $\mu\text{g/ml}$

Penetapan kadar flavonoid ekstrak etanol 70% daun pulai (*Alstonia scholaris*) dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 438 nm. Hal ini di lihat dari nilai absorbansi tertinggi kuersetin. Penentuan kadar flavonoid ditentukan dengan persamaan regersi kurva standar dengan

konsentrasi larutan kuersetin adalah 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm. dengan nilai absorbansi masing-masing 0.327 ; 0.633; 0.887; 1.275 dan 1.628. Hasil absorbansi yang diperoleh dari larutan standar memperlihatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi zat maka akan semakin tinggi pula nilai serapannya, sehingga hal ini menunjukkan hubungan lurus antara konsentrasi dan nilai absorbansinya [21]. Nilai absorbansi yang diperoleh dimasukkan dalam persamaan regresi yang diperoleh persamaan $y = 0.0643x - 0.0232$ dengan nilai $R = 0.9974$. Persamaan regresi yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk menentukan kadar flavonoid total pada ekstrak daun pulai (*Alstonia scholaris*).

Menurut Mukhriani dkk, [22], untuk menghitung kadar flavonoid total terlebih dahulu dihitung rata-rata nilai absorbansi sampel, dari hasil rata-rata tersebut masukan ke dalam persamaan garis linier sehingga diperoleh kadar total flavonoid untuk ekstrak etanol adalah 37,7 µg/ml (3,77%). Senyawa flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang dapat memberikan aktifitas sebagai antioksidan, antibakteri, antivirus dan juga sebagai antihistamin [23].

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa Ekstrak Daun Pulai (*Alstonia scholaris*) berdasarkan pengujian standarisasi meliputi parameter spesifik dan non-spesifik memenuhi standarisasi mutu bahan baku. Serta kadar total flavonoid ekstrak daun Pulai (*Alstonia scholaris*) yakni sebesar 37,7 µg/ml (3,77%).

Referensi

- [1]. Ditjen POM. (2014). *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- [2]. Silalahi M. (2015). *Pengetahuan mahasiswa prodi Pendidikan Biologi FKIP UKI terhadap keanekaragaman tumbuhan di lingkungan kampus Universitas Kristen Indonesia Cawang, Jakarta Timur sebagai langkah awal untuk mewujudkan Green Campus*. Laporan Penelitian. Prodi Pendidikan Biologi, FKIP. Universitas Kristen Indonesia, Jakarta
- [3]. Trinovita, Yulis., Mundriyastutik, Yayuk., Fanani, Zaenal., dan Fitriyani, Ana Nurul. (2019). "Evaluasi Kadar Flavonoid Total pada Ekstrak Etanol Daun Sangketan (*Achyranthes aspera*) dengan Spektrofotometri". *Indonesia Jurnal Farmasi* Vol. 4 No.1
- [4]. Zuraida, Z., Sulistiyani Sulistiyani, Dondin Sajuthi, Irma Herawati Suparto. (2017). Fenol, Flavonoid, Dan Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Alstonia Scholaris* R.Br). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan, Institute Pertanian Bogor*. Vol. 35, No. 3 ISSN : 0216-4329 (211-219)
- [5]. Kawuri, W. T., Ratih, D. Y., & Novan A. S., (2019). Efek Antihistamin Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava*) Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Engan Diinduksi Ovalbumin. *Smart Medical Journal*. Vol. 2 No. 1 Eissn: 2621-0916
- [6]. Departemen Kesehatan, (2000). *Parameter Standar Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: BPOM
- [7]. Ditjen POM. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia. Edisi Kesatu*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

- [8]. Ipandi, I., Liling Triyasmono, Budi Ptayitno. (2016). Penentuan Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kajajahi (*Leucosyke Capitellata* Wedd.). *journal farmasi sandi karsa*. 4 (7) 155-160
- [9]. Agoes, G., (2007). *Teknologi Bahan Alam*. Bandung : ITB Press
- [10]. Siregar, A. F., Sabdono A., & Pringgenies, D., (2012). Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas Aeruginosa*, *Staphylococcus Epidermis*, Dan *Micrococcus Luteus*. *Journal Of Marine Reaserch*, 1(2), 152-160
- [11]. Supriningrum, Risa, Nurul Fatimah dan Yenni E. P. (2019). *Karakterisasi Spesifik Dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Putat (Planchonia valida)*. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda : samarinda
- [12]. Rohman A. (2009). *Kromatografi Untuk Analisis Obat*. Yogyakarta: Graha Ilmu
- [13]. Anthony C Moffat, M David Osselton BW. (2011). *Clarke's Analysis Of Drugs And Poisons. Fourth Edi*. Watts J, Editor. USA : Pharmaceutical Press;
- [14]. Voight. (1995). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Hal 577
- [15]. Supriningrum, R. Fitri H., dan Liya. (2017). Karakterisasi dan skrining fitokimia daun singkil (*Premna corymbosa* Rottl & Wild). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 2(2): 241
- [16]. Hidayanti. (2017). *Standarisasi Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Dan Kulit Batang Beremuk (Crescentia cufete Lin.)*. Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta Issn2528-5912
- [17]. Saragih, R. (2014). Uji kesukaan panelis pada teh daun torbangun (*Coleus ambonicus*). *E-Journal WIDYA Kesehatan dan Lingkungan*, 1(1): 52
- [18]. Vernanda, Dkk. (2019). Standarisasi Spesifik Dan Nonspesifik Simplisia Dan Ekstrak Etanol Bawang Putih Tunggal Terfermentasi (*Allium sativum* Lin.). *Journal Of Pharmacy Science And Practice* Vol. 6 No.2
- [19]. Kartikasari, D., Nurkhasanah, Suwijiyo, P. (2014). *Karakterisasi Simplisia Dan Ekstrak Etanol Daun Bertoni (Stevia rebaudiana) Dari Tiga Tempat Tumbuh*. *Proceeding Seminar Nasional Perkembangan Terbaru Pemanfaatan Herbal Sebagian Agen Preventif Pada Terapi Kanker..* Halaman:149- 150
- [20]. Marpaung ,Mauritz Pandapotan. , Anggun Septiyani. (2020). Penentuan Parameter Spesifik Dan Nonspesifik Ekstrak Kental Etanol Batang Akar Kuning (*Fibraurea chloroleuca* Miers). *Journal saince*. 1(3) 231-236 Universitas Kader Bangsa: Palembang
- [21]. Mulja, M., Suharman, (1995), *Analisis Instrumen*, Cetakan 1, 26-32, Airlangga University Press, Surabaya.
- [22]. Mukhriani, Faridha Yenny Nonci, Sitti Munawarah. (2015). *Analisis Kadar Flavonoid Total pada Ekstrak Daun Sirsak (Annona muricata L,,) dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis*. JF Fik UINAM 3, no 2
- [23]. Wang CM, Chen HT, Wu ZY, Jhan YL, Shyu CL, & Chou CC. (2016). Antibacterial and synergistic activity of pentacyclic triterpenoids isolated from *Alstonia scholaris*. *Molecules*, 21(139): 1-1