



**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK KASAR DAN
TERPURIFIKASI BIJI PINANG (*Areca cetechu L.*)**

ARTIKEL

**DISUSUN OLEH:
DINA SIHOT REJEKI GULTOM
(050115A020)**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS NGUDI WALUYO
TAHUN 2020**

LEMBAR PENGESAHAN ARTIKEL

Artikel dengan judul “ **Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Kasar Dan Terpurifikasi Biji Pinang (*Areca cetechu L.*)** ” yang disusun oleh :

Nama : DINA SIHOT REJEKI GULTOM
NIM : 050115A020
Fakultasi : Ilmu Kesehatan
Program Studi : S1 Farmasi Universitas Ngudi Waluyo

Telah disetujui dan disahkan oleh pembimbing utama skripsi program studi S1 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Ngudi Waluyo.

Ungaran, Februari 2020

Pembimbing Utama



Agitya Resti Erwiyani, S.Farm., M.Sc., Apt
NIDN.0610088703

PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK KASAR DAN TERPURIFIKASI BIJI PINANG (*Areca catechu L.*)

DETERMINATION OF TOTAL FLAVONOID LEVELS OF CRUDE AND PURIFIED EXTRACT OF PINANG SEEDS EXTRACT
(Areca catechu L.)

Dina Sihot Rejeki Gultom⁽¹⁾, Agitya Resti Erwiyani⁽²⁾, Dian Oktianti⁽³⁾

^(1,2,3)Program Studi S1-Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan,

Universitas Ngudi Waluyo Ungaran

Email : Enossampeallo96@gmail.com

ABSTRAK

Latar belakang : Biji Pinang (*Areca catechu L.*) adalah tanaman obat yang efektif menyembuhkan luka. Biji Pinang mengandung Flavonoid yang bertindak sebagai Antiinflamasi. Ekstrak dapat memisahkan senyawa yang bersifat polar dan bersifat non polar. Purifikasi merupakan metode untuk mendapatkan komponen bahan alam yang murni dan bebas dari komponen lain yang tidak dibutuhkan.

Tujuan : Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan total flavonoid ekstrak kasar dan terpurifikasi Biji Pinang (*Areca catechu L.*) secara kuantitatif dan kualitatif.

Metode : Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dan Pengujian flavonoid Total menggunakan Metode Chang, dengan menggunakan reagen AlCl₃ dan dinyatakan dalam mgQE/g

Hasil : Dari penelitian hasil skrining fitokimia dari ekstrak kasar dan terpurifikasi Biji pinang positif mengandung flavonoid, saponin, tanin, dan fenol. Kandungan flavonoid total ekstrak kasar sebesar 71,48 mgQE/g, ekstrak terpurifikasi n-heksan sebesar 119,99 mgQE/g, ekstrak terpurifikasi etil asetat sebesar 93,96 mgQE/g dan ekstrak terpurifikasi campuran n-heksan + etil asetat sebesar 73,2 mgQE/g

Kesimpulan : ekstrak terpurifikasi n-heksan biji pinang positif mengandung flavonoid dengan kadar flavonoid lebih tinggi dibandingkan ekstrak kasar biji pinang

Kata kunci : Biji pinang, (*Areca catechu L.*), flavonoid total, purifikasi

ABSTRACT

Background : Areca catechu L. is a medicinal plant that effectively heals wounds. Areca catechu L seed contains flavonoids which act as anti-inflammatory. Extracts can separate polar and non-polar compounds. Purification is a method for obtaining natural components that are pure and free of other components that are not needed.

Objective : This study aims to determine the total content of crude and purified Areca catechu L extract in quantitatively and qualitatively.

Method : Extraction was done by maceration method with 96% ethanol solvent and Total flavonoid testing using Chang Method, using AIC13 reagent and expressed in mgQE / g

Results : From the research results from phytochemical screening of crude extracts and purified extract. Positive areca seed contains flavonoids, saponins, tannins and phenols. Total flavonoid crude extract was 71.48 mgQE / g, n-hexane purified extract was 119.99 mgQE / g, ethyl acetate purified extract was 93.96 mgQE / g and purified extract of n-hexane + ethyl acetate mixture was 73, 2 mgQE / g

Conclusion : n-hexane purified extract of positive areca catechu L seed contains flavonoids with higher flavonoid levels than crude extracts of areca catechu L

Keywords : Areca catechu L., total flavonoid, purification

Latar Belakang

Pinang (*Areca catechu L.*) merupakan salah satu tanaman obat yang sering digunakan oleh masyarakat di Indonesia. Pada umumnya tanaman pinang digunakan sebagai stimulan, dicampur dengan sirih, kapur dan tembakau. Beberapa laporan menyatakan bahwa pinang memiliki banyak khasiat medis, diantaranya sebagai antioksidan, antimikrobal, dan penyembuhan luka, serta meningkatkan kewaspadaan dan kemampuan kerja.

Senyawa flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Flavonoid memiliki aktivitas antioksidan di dalam tubuh sehingga disebut bioflavonoid. Aktivitas antioksidan dari senyawa alamiah yang berasal dari tanaman seperti flavonoid disebabkan adanya gugus hidroksi pada struktur molekulnya. Flavonoid merupakan senyawa polar, maka flavonoid akan larut baik dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilformamida dan lain-lain (Arifin & Ibrahim, 2018). Senyawa flavonoid tidak tahan pemanasan dan mudah teroksidasi pada suhu yang tinggi. Senyawa flavonoid mengalami kerusakan pada suhu pemanasan 85°C dan senyawa fenol dapat mengalami degradasi pada suhu pemanasan 90°C selama 4 menit. Pada penelitian (Rairisti, *et al.*, 2014). menyatakan bahwa adanya flavonoid pada ekstrak etanol biji pinang, kandungan catechin yang merupakan subkelas dari flavonoid pada biji pinang berperan sebagai antiinflamasi. Biji pinang mengandung komponen utama berupa polifenol (20%) seperti tanin dan flavonoid. Terdapat penelitian tentang ekstrak hidroetanol biji pinang mempunyai efek antiinflamasi, mekanisme ini dimungkinkan karena adanya kandungan catechin yang dapat menghambat COX-selanjutnya menghambat pembentukan prostaglandin E2 sehingga proses inflamasi berkepanjangan dapat dicegah dan respon peradangan seperti nyeri dan bengkak dapat dihentikan. (Handayani & Sentat, 2016).

Peningkatan aktivitas bahan aktif senyawa alam dapat dilakukan dengan purifikasi. Purifikasi merupakan metode untuk mendapatkan komponen bahan alam murni dari komponen kimia lain yang tidak dibutuhkan dan kemurnian bahan harus 95-

100%. Komponen kimia dalam ekstrak yang tidak dibutuhkan seperti lipid, pigmen (klorofil), tanin, plastisiser, dan pelumas yang dapat berasal dari alat. Penggunaan ekstrak terpurifikasi adalah untuk meminimalkan massa suatu ekstrak dalam tujuan praktis pembuatan sediaan secara farmasetis karena beberapa komponen yang terkandung dapat direduksi dengan proses tersebut.

Pada penelitian ini, peneliti tertarik untuk melakukan penetapan kadar flavonoid total ekstrak kasar dan terpurifikasi biji pinang (*Areca catechu L.*) dengan variasi pelarut ekstrak cair dengan uji flavonoid total. Dengan tujuan untuk menghitung kadar flavonoid total yang terdapat dalam ekstrak kasar dan terpurifikasi biji pinang (*Areca catechu L.*) dengan etanol 96%.

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan dalam jenis penelitian eksperimental murni yaitu untuk menentukan penetapan kadar flavonoid ekstrak kasar dan terpurifikasi biji pinang (*Areca catechu L.*) dengan metode spektrofotometri UV-Vis .

1. Alat dan bahan

Seperangkat alat ekstrak dengan metode maserasi, blender, oven, spektrofotometri UV-Vis, gelas standar, gelas ukur, batang pengaduk, kertas saring, corong kaca, erlenmeyer, rotary evaporator RE 100-Pro, waterbath memmert dan corong pisah

Pada penelitian ini bahan yang akan digunakan adalah biji pinang (*Areca catechu L.*), etanol 96%, n-heksan, aquades, etil asetat, kuersetin.

2. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di laboratorium Ekologi dan Biosistematik Fakultas Sains dan Matematika Biologi Universitas Diponegoro semarang dengan karakteristik bahan yang akan digunakan adalah buah pinang dengan spesifikasi biji satu, bentuk seperti kerucut pendek dengan ujung membulat, pangkal agak datar dengan suatu lekukan datar, panjang 15-30 mm, permukaan luar berwarna kecoklatan sampai coklat kemerahan, agak berlekuk-lekuk menyerupai jala dengan warna yang lebih muda.

3. Ekstrak dan Purifikasi

Pembuatan ekstrak biji pinang (*Areca catechu*) dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk biji pinang (*Areca catechu L.*) sebanyak 300 mg yang telah diblender dan diayak, dilarutkan dalam etanol 96 %. Pelarut yang digunakan sebanyak 3000 ml maserasi dilakukan selama 2 hari dan dilanjutkan remaserasi selama 2 hari dalam ruangan yang terlindung cahaya matahari dan dilakukan pengadukan 1x24 jam. kemudian ekstrak yang diperoleh dari maserat pertama disaring menggunakan kain flannel. Setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dilakukan remaserasi.Maserat pertama dan maserat kedua yang telah dikumpulkan,selanjutnya diuapkan menggunakan penangas air (*rotary evaporator*) dengan suhu 78°C sehingga mendapatkan ekstrak kental dan murni (Rahmadani *et al.*, 2008).

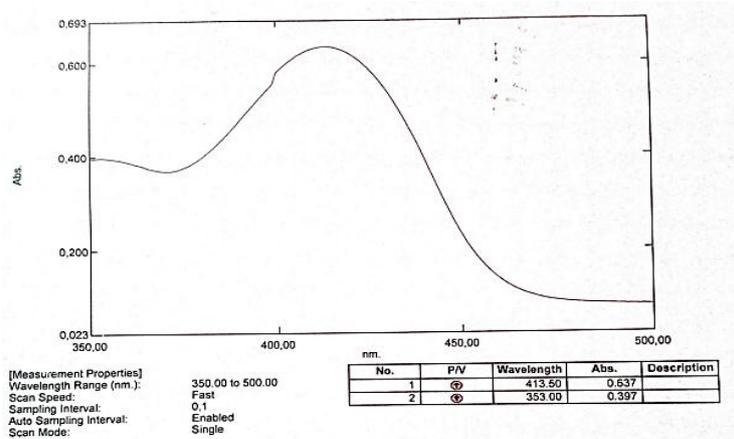
Pembuatan ekstrak terpurifikasi dilakukan dengan pelarut n-heksan (non polar), etil asetat (semi polar), dan campuran (non polar dan semi polar). Ditimbang masing – masing 10 gram ekstrak biji pinang , dilarutkan dengan100 ml etanol 96% dan pelarut n-heksan, etil asetat dan campuran (n-heksan + etil asetat dimasukkan dalam corong pisah digojog hingga homogen. Proses purifikasi dilakukan berulang hingga

terbentuk dua lapisan dan lapisan atas bewarna bening. Larutan hasil pemisahan tersebut dikumpulkan dan di evaporasi sehingga didapatkan ekstrak terpurifikasi.

4. Penetapan kadar flavonoid total

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan cara membuat larutan induk kuersetin 1000 µg/mL yaitu dengan menimbang kuersetin sebanyak 10,0 mg ditambahkan etanol 96% analisis ke dalam labu ukur 10 mL (Januarti dan Wijayanti, 2018). Larutan induk 1000 ppm dipipet 1 mL dan dilarutkan dalam labu takar 10 mL menggunakan etanol pro analisis hingga batas (kadar kuersetin menjadi 100ppm). Sejumlah 0,5 mL larutan kuersetin 100 ppm direaksikan dengan 1,5 mL etanol 96%, 0,1 mL AlCl₃ 10%, 0,1 mL asam asetat 5%, dan 2,8 mL etanol pa. Kemudian dilakukan pembacaan pada rentang panjang gelombang 350-500 nm dngan panjang gelombang maksimal 413,50 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis sebanyak 3x replikasi



b. Penentuan *Operating Time* Kuersetin

Penentuan operating time dilakukan dengan mengambil sebanyak 0,5 mL dari larutan kuersetin 100 µg/mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu direaksikan dengan 1,5 mL etanol 95%; 0,1 mL AlCl₃ 10%, 0,1 mL asam asetat 5%, dan 2,8 mL etanol pa. Larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh dengan interval waktu rentang waktu 0-30 menit, sampai diperoleh absorbansi yang stabil (Ipandi, Triyasmono, & Prayitno, 2016).

c. Penentuan Kurva Baku Kuersetin

Kurva baku dibuat menggunakan larutan induk dengan kadar 1000 ppm dengan cara mempipet larutan 5 mL, 6 mL, 7 mL, 8 mL 9 mL, 10mL, 11 mL, 12mL masing-masing dilarutkan dalam labu takar 10 mL menggunakan pelarut etanol pro analisis (kadar kuersetin menjadi, 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm, 80 ppm, 90 ppm, 100 ppm, 110 ppm, 120 ppm). Dipipet masing-masing sejumlah 0,5 ml ditambah dengan 1,5 mL etanol 96%, 0,1 ml aluminium klorida (AlCl₃) 10%, 0,1 mL asam asetat 5% dan ditambahkan etanol pa 2,8 mL. Setelah itu diinkubasi selama operating time dan serapannya diukur pada λ maks yang diperoleh menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Kemudian dibuat kurva kalibrasi dengan menghubungkan nilai serapan sebagai koordinat (y) dan konsentrasi larutan standar sebagai absis (x) (Azizah *et al.*, 2014).

d. Penetapan kadar flavonoid totak ekstrak kasar dan terpurifikasi biji pinang (*Areca catechu L.*)

Kandungan flavonoid total merujuk pada prosedur Chang *et al.*, (2002) dengan beberapa konsentrasi menggunakan kuersetin sebagai standar. Penentuan kadar flavonoid total yaitu dengan menimbang ekstrak etanol biji pinang masing-masing sebanyak 10,0 mg kemudian larutkan dalam labu takar 10 mL menggunakan etanol pro analisis hingga batas. Larutan kemudian dipipet sebanyak 0,5 mL ditambahkan dengan 1,5 mL etanol 96%, 0,1 mL AlCl₃ 10%, 0,1 mL asam asetat 5%, dan 2,8 mL aquades. Setelah diinkubasi selama operating time yang diperoleh dari kuersetin, kemudian diukur absorbansinya pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang yang telah didapatkan dengan pembanding kuersetin (λ maks). Dilakukan 3 kali pengulangan.

5. Analisis data

Analisi kadar flavonoid total dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis dan membandingkan Kadar flavonoid total ekstrak kasar dan terpurifikasi menggunakan uji ANOVA dihitung dengan memasukkan nilai absorbansi sampel pada panjang gelombang 350-500 nm dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Nilai absorbansi dimasukkan ke dalam persamaan garis linear $y = bx + a$ yang diperoleh dari kurva standar kuersetin. Kurva standar diperoleh dari hubungan antara konsentrasi kuersetin (mg/L) dengan absorbansi. Hasil dinyatakan dalam satuan mg ekivalen kuersetin dengan cara membuat persamaan dalam jumlah mg/L sampel yang digunakan dengan kesetaraan kuersetin tiap gram dan dinyatakan dalam satuan mgQE/g sampel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman merupakan tahap awal yang dilakukan pada sebuah penelitian sebelum melangkah ke tahap selanjutnya. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel tanaman yang digunakan adalah benar yaitu biji pinang (*Areca catechu L.*).

2. Ekstrak dan purifikasi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi Sebanyak 300 gram serbuk Biji Pinang dilakukan menggunakan pelarut 3,000 mL etanol 96%. Pemilihan etanol sebagai pelarut dikarenakan beberapa sifat dari etanol seperti absorpsinya baik, bersifat netral, tidak beracun, kapang sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, proses evaporasi memerlukan panas yang rendah dan zat kontaminan dapat larut dalam etanol dalam jumlah terbatas (Vonna *et al.*, 2015). Ekstrak kental biji pinang yang diperoleh berwarna merah kecoklatan sebanyak 65,55 gram dengan rendemen sebesar 21,85 % maka hasil rendemen yang didapatkan sesuai dengan ketentuan rendemen yang baik yaitu memiliki nilai lebih dari 10 % dari berat ekstrak .

Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dilakukan purifikasi dengan pelarut n-heksan, etil asetat dan campuran kedua larutan yaitu n-heksan dan etil asetat dengan etanol 96% dengan perbandingan 1:1. Purifikasi ekstrak adalah salah satu cara untuk menghilangkan senyawa yang tidak diinginkan dalam ekstrak seperti klorofil, karbohidrat, lilin, resin dan sejenisnya yang jika ditinjau dari sudut pandang aktivitas sangat jarang diperlukan bahkan seringkali menyebabkan ketidakstabilan sifat fisika ekstrak ketika akan diformulasikan. Keberadaan senyawa atau zat tersebut lebih banyak merugikan pada kestabilan dan mengurangi kadar senyawa

aktif di dalam ekstrak sehingga harus dihilangkan. Purifikasi ekstrak diharapkan akan meningkatkan khasiat ekstrak disamping memperkecil jumlah dosis pemberian kepada pengguna (Srijanto *et al.*, 2012).

Hasil ekstraksi purifikasi kemudian diuapkan menggunakan waterbath dengan suhu 78⁰C dan didapatkan ekstrak kental purifikasi n-heksan sebesar 96,3 gram dengan rendemen sebesar 83% b/b sedangkan ekstrak kental purifikasi etil asetat sebanyak 75,5 gram dengan rendemen sebesar 80,07% b/b dan ekstrak kental terpurifikasi campuran yaitu n-heksan dan etil asetat sebesar 88,7 gram dengan rendemen sebesar 52 % b/b.

3. Skrining fitokimia

Dalam penelitian ini Identifikasi flavonoid dilakukan dengan uji shinoda Dimana perubahan warna pada identifikasi flavonoid dengan tes shinoda tersebut disebabkan oleh terjadinya hidrolisis flavonoid dengan penambahan asam kuat yaitu HCL yang selanjutnya akan membentuk kompleks dengan serbuk magnesium dan menghasilkan perubahan warna menjadi merah atau jingga. Pada ekstrak kasar dan terpurifikasi biji pinang yaitu n-heksan, etil asetat dan campuran menghasilkan reaksi yang positif sehingga diduga ekstrak mengandung flavonoid. Pada saponin menunjukkan hasil positif yaitu terdapat buih – buih pada ekstrak kasar dan terpurifikasi Biji Pinang sehingga diduga ekstrak mengandung saponin. Pada fenol ekstrak kasar dan terpurifikasi direaksikan dengan FeCL₃ menghasilkan perubahan warna menjadi hijau kehitaman sehingga diduga ekstrak mengandung fenol, dan pada senyawa tanin yaitu ekstrak kasar dan terpurifikasi di reaksi dengan NaCl 10 % dan ditambahkan pelarut FeCL₃ menghasilkan perubahan warna menjadi hijau yang menunjukkan ekstrak Biji Pinang mengandung tanin.

Penentuan kadar Flavonoid total

1. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 413,50 nm dengan absorbansi 0,637. Penetapan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk menentukan panjang gelombang pengukuran kompleks antara kuersetin dengan AlCl₃ memberikan absorbansi optimum. Penetapan panjang gelombang maksimum merupakan faktor penting dalam analisis kimia dengan metode spektrofotometri. Pengukuran pada panjang gelombang maksimum akan memberikan perubahan absorbansi paling besar untuk setiap satuan kadar. Selain itu, kurva absorbansi pada sekitar panjang gelombang maksimum relatif datar sehingga jika akan dilakukan pengukuran ulang dan replikasi akan meminimalkan terjadinya kesalahan pengukuran. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh pada penelitian ini yaitu 413,50 nm, artinya absorbansi kompleks antara kuersetin dengan AlCl₃ terbaca secara maksimum pada panjang gelombang 350-500 nm. Hal ini sesuai dengan penelitian panjang gelombang maksimum yang dilakukan oleh (Samosir, *et al* 2012), yang memperoleh panjang gelombang maksimum kuersetin berada pada 415 nm,
2. Penentuan *operating time* diukur pada spektrofotometri pada menit 0-30, dan dihitung absorbansinya tiap menit. Dari hasil pengukran *operating time* didapatkan absorbansi pada menit ke 1- 9.
3. Kurva baku merupakan standar dari sampel yang dapat digunakan sebagai acuan untuk sampel tersebut pada percobaan. Pembuatan kurva baku bertujuan mengetahui hubungan antara konsentrasi larutan dengan nilai absorbansinya sehingga konsentrasi sampel dapat diketahui. Pemilihan kurva baku dilakukan berdasarkan

replikasi yang memiliki nilai r yang paling mendekati satu. Nilai r yang mendekati satu menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang baik antara kadar kuersetin dan absorbansi. Penentuan kurva baku pada penelitian ini menggunakan kuersetin dengan konsentrasi 100 ppm, kemudian didiamkan selama *operating time*. Nilai koefisien korelasi (r) yang didapatkan yaitu 0,998 dan 0,9987 menunjukkan hubungan linearitas antara dua variabel. Nilai $r > 0,99$ menunjukkan bahwa terdapat hubungan linearitas yang baik antar variabel tersebut. Penentuan kurva baku kuersetin. Selanjutnya dilakukan dengan membuat 5 larutan seri kadar yang dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 413,50 nm dan dengan waktu inkubasi selama 1- 9 menit.

Penetapan kadar Flavonoid biji pinang (*Areca catechu L*)

Tabel 4.9 Hasil uji kadar flavonoid total

Sampel	Replikasi	Absorbansi	Mean kadar flavonoid (mgQE/g)
Ekstrak kasar	1	0,433	71,4833
	2	0,439	
	3	0,443	
Ekstrak terpurifikasi n-heksan	1	0,977	119,990
	2	0,979	
	3	0,974	
Ekstrak terpurifikasi etil asetat	1	0,662	93,9600
	2	0,665	
	3	0,664	
Ekstrak terpurifikasi etil+n-heksan	1	0,452	73,2000
	2	0,453	
	3	0,455	

Tabel 4.10 Hasil Uji Normalitas

Sampel	shapiro-Wilk			
	Statistic	Df	Sig.	
Kadar flavonoid Total	1	0,987	3	0,780
	2	0,904	3	0,398
	3	0,964	3	0,637
	4	0,964	3	0,637

Keterangan : Nilai signifikan dalam uji Normalitas $>0,05$ sehingga dapat dikatakan data tersebut Normal

Hasil uji Anova terhadap perbandingan kadar flavonoid total tiap sampel dapat dilihat pada tabel berikut

Tabel 4.11 Perbandingan Kadar Flavonoid Total Antar Sampel

Kadar flavonoid	Ekstrak kasar	N	Rerata	Nilai p
		3	71,4833	0,000<0,05
	Terpurifikasi n-heksan	3	119,990	(berbeda signifikan)
	Terpurifikasi etil asetat	3	93,9600	(berbeda signifikan)
	Terpurifikasi campuran n-heksan + etil asetat	3	73,2000	(Berbeda signifikan)

Keterangan : berdasarkan uji one way anova didapatkan nilai $p = 0,000 (<0,05)$, maka disimpulkan data dari keempat memiliki perbedaan yang signifikan

Hasil Uji post hoc menggunakan LSD terhadap perbandingan kadar flavonoid total tiap sampel dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 4.12 Hasil Post Hoc Tests

Sampel	Perbedaan rerata	Nilai P	Keterangan
Ekstrak kasar	-1,71667	0,000	<0,05 (berbeda signifikan)
Terpurifikasi n-heksan	48,50667	0,000	<0,05 (berbeda signifikan)
Terpurifikasi etil asetat	46,79000	0,000	<0,05 (berbeda signifikan)
Terpurifikasi campuran n-heksan + etil asetat	22,47667	0,000	<0,05 (berbeda signifikan)

Keterangan : berdasarkan uji post hoc menggunakan parameter LSD diperoleh nilai signifikan 0,000 ($p < 0,05$), maka disimpulkan bahwa perbandingan kadar flavonoid antar sampel memiliki perbedaan yang signifikan.

Penetapan kadar flavonoid total ditentukan dengan metode kolorimetri oleh Chang *et al.*, 2002. Pada penetapan kadar flavonoid total, masing-masing ekstrak direaksikan dengan $AlCl_3$ dan asam asetat menghasilkan larutan berwarna merah. Warna merah larutan disebabkan karena terbentuknya kompleks asam yang stabil dengan gugus keton pada C-4 atau gugus hidroksil pada C-3 atau C-5 dari flavon dan flavonol (Chang *et al.*, 2002).

Perolehan kadar flavonoid ekstrak kasar yaitu sebesar 71,483 mgQE/g. Kadar sebelum dilakukan purifikasi ekstrak tersebut lebih kecil dibandingkan dengan kadar flavonoid setelah dilakukan purifikasi. Setelah dilakukan purifikasi diperoleh kadar 119,99 mgQE/g pada purifikasi n-heksan, sedangkan pada purifikasi etil asetat dan campuran (n-heksan + etil asetat) diperoleh kadar 93,96 mgQE/g dan 73,20 mgQE/g. Hal ini karena di dalam ekstrak biji pinang tersari berbagai jenis flavonoid yang memiliki perbedaan sifat kepolaran. Pada ekstrak terpurifikasi, semua flavonoid yang terdapat pada ekstrak biji pinang dapat dihitung baik yang bersifat polar maupun non polar. Dalam penelitian ini kadar flavonoid total ekstrak kasar lebih sedikit dibandingkan dengan ekstrak terpurifikasi disebabkan masih adanya zat pengotor yang terkandung dalam ekstrak kasar. Ekstak terpurifikasi dengan n-heksan memiliki kadar flavonoid tertinggi dibandingkan dengan ekstrak kasar, terpurifikasi etil asetat dan campuran n-heksan dan etil asetat dikarenakan hal ini diduga flavonoid pada Biji Pinang lebih banyak yang bersifat non polar sehingga ikut tersari ke dalam pelarut n-heksan, sedangkan pelarut etil asetat, mengikat senyawa semi polar dan non polar sehingga akan terekstrak pada pelarut etil asetat

Analisis data penelitian secara statistik dengan Anova dilakukan dengan menggunakan SPSS (*Statistical Package for Social Science*) version 21.0 for windows. Didahului uji normalitas dan uji homogenitas. Untuk uji normalitas diperoleh nilai signifikan $> 0,05$ maka disimpulkan bahwa data terdistribusi normal dan uji homogenitas diperoleh nilai signifikannya ($> 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa data homogen. Dilanjutkan pengujian statistik dengan uji anova untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan bermakna dari setiap ekstrak kasar dan terpurifikasi biji pinang. Dari hasil anova tersebut didapatkan perbedaan yang signifikan diantara sampel.

Berdasarkan uji statistika kadar flavonoid dengan menggunakan bantuan SPSS (*Statistical Package for Social Science*) version 21.0 for windows terdapat perbedaan dari masing-masing sampel. Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah populasi data terdistribusi secara normal atau tidak. Uji normalitas dalam penelitian ini akan dianalisis menggunakan tes Shapiro-Wilk dengan bantuan SPSS dengan tingkat signifikansi 0,05. Populasi data dikatakan terdistribusi secara normal apabila hasil tes

Shapiro-Wilk $> 0,05$ (Rojihah *et al*, 2015). Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk pada setiap variabel nilai signifikan pada masing- masing variabel lebih dari 0,05 sehingga dapat dikatakan bahwa data yang diperoleh terdistribusi secara normal.

Kemudian dilakukan Uji Post Hoc (LSD) untuk mengetahui perlakuan mana saja yang memiliki pengaruh berbeda terhadap kadar flavonoid total. Berdasarkan hasil yang diperoleh ada perbedaan bermakna disetiap perlakuan dengan perlakuan yang lai. Nilai kadar flavonoid yang diperoleh berbeda - beda tiap sampel, kadar flavonoid ekstrak purifikasi n-heksan lebih tinggi dibanding dengan kadar flavonoid ekstrak terpurifikasi etil asetat dan campuran n-heksan + etil asetat. Hal ini dikarenakan pada ekstrak purifikasi n-heksan(non polar) tersari pengotor yang bersifat non polar, seperti minyak atsiri, resin, klorofil dan senyawa yang bersifat non polar yang terbuang dalam proses purifikasi n-heksan. Sehingga kandungan Flavonoid dalam Biji Pinang kemungkinan memiliki sifat semi polar sampai polar.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian “Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Kasar dan Terpurifikasi Biji Pinang (*Areca catechu L.*) dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Hasil dari skrining fitokimia dari ekstrak kasar dan terpurifikasi biji pinang diduga positif mengandung flavonoid, fenol, saponin dan tanin.
2. Kadar flavonoid total ekstrak kasar dan terpurifikasi n- heksan, etil asetat dan campuran n-heksan+ etil asetat berturut-turut yaitu sebesar 71,4833 mgQE/g, 119,990 mgQE/g, 93,9600 mgQE/g, dan 73,2000 mgQE/g.

Saran

Perlu adanya penelitian lanjutan mengenai perbandingan antioksidan pada masing-masing ekstrak terpurifikasi biji pinang (*Areca catechu L.*).

DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21–29.
- Azizah, D. N., Kumolowati, E., Faramayuda, F., Keahlian, K., Farmasi, B., Farmasi, F., Yani, A. (2014). Penetapan Kadar Flavonoid Metode $AlCl_3$ Pada Ekstrak Metanol Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*) *Jurnal ilmiah farmsai* . 2(2), 45–49.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H., & Chern, J. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drugs Analysis*, 10(3), 178–182.
- Handayani, F., & Sentat, T. (2016). Uji Aktivitas Ekstrk Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Kulit Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), 131–142.
- Ipandi, I., Triyasmono, L., & Prayitno, B. (2016). Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kajajahi (*Leucosyke capitellata Wedd*). *Pharmascience*, 3(1), 93–100.
- Rairisti, A., Wahdaningsih, S., & Wicaksono, A. (2014). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol

Biji Pinang (*Areca catechu L.*). *Naskah Publikasi.vol 2 no 31*

Samosir, A. P., Runtuwene, M. R. J., & Citraningtyas, G. (2012). Uji Aktivitas Antioksidan Dan Total Flavonoid Pada Ekstrak Etanol Pinang Yaki (*Areca vestiaria*). *Jurnal MIPA Univ Sam Ratulangi*, 1(2), 1–6.

Srijanto, B., Bunga, O.P., Khojayanti L., Rismana E., dan Sriningsih (2012) pemurnian ekstrak etanol sambiloto (*Adrographis paniculata* Ness) Dengan Teknik Ekstrak cair-cair , *prosiding insinas*, 1 (1) : 26-29.