

Kandungan Fitokimia, Total Fenol, dan Total Flavonoid Ekstrak Buah Harendong (*Melastoma affine* D. Don)

Novilia Eka Syafitri^{1*}, Maria Bintang², Syamsul Falah²

¹Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor 16680, Indonesia

²Departemen Biokimia, Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor 16680, Indonesia

Received: 25 July 2014; Accepted 31 October 2014

*Corresponding author: Novilia Eka Syafitri, S.Si; Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor 16680; email: nvliaesya@yahoo.com

ABSTRACT

Melastoma affine plant has effect on health such as curing wound and toothache, also as an antimalarial drug. The fruit of this plant is purple and probably contain secondary metabolite compounds such as phenols and flavonoids. The total amount of both compounds may be different in unripe and ripe fruit. The aims of this research were to analyze secondary metabolite compounds and determine total phenol and total flavonoid of *Melastoma affine* fruit extract. The samples used in this study were unripe and ripe *Melastoma affine* fruits. Both of samples were extracted by three different solvents (water, 70% ethanol, and 96% ethanol) and obtained 6 extracts. Based on phytochemical test, each extract from unripe and ripe *Melastoma affine* fruit contained alkaloid, triterpenoid, flavonoid, phenol, and tanin. The extract with highest total phenols was 70% ethanolic extract from unripe fruit (189.56 mg/g GAE), while the extract with highest total flavonoids was 96% ethanolic extract from unripe fruit (225.50 mg/g CE). Based on this result, we conclude that unripe fruit of *Melastoma affine* has more total phenols and total flavonoids than ripe fruit.

Keywords: flavonoid, *Melastoma affine*, phenol, phytochemical

ABSTRAK

Tanaman harendong (*Melastoma affine* D. Don) secara empiris diketahui memiliki manfaat untuk kesehatan diantaranya mengobati luka dan sakit gigi serta sebagai antimalaria. Buah dari tanaman ini berwarna ungu dan diduga mengandung senyawa metabolit sekunder termasuk fenol dan flavonoid. Jumlah kedua senyawa ini mungkin berbeda pada buah mentah atau buah masak. Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis senyawa metabolit sekunder, menentukan komponen total fenol, dan total flavonoid dari ekstrak buah harendong (*Melastoma affine* D. Don) baik pada

buah mentah maupun buah masak. Sampel yang digunakan berupa buah harendong mentah dan masak. Kedua jenis sampel tersebut diekstraksi menggunakan tiga pelarut yang berbeda (air, etanol 70%, dan etanol 96%). Ekstraksi buah harendong mentah menghasilkan ekstrak air, etanol 70%, dan etanol 96% dan ekstraksi buah harendong masak juga menghasilkan ekstrak air, etanol 70%, etanol 96%. Komponen fitokimia ekstrak kasar dari ekstrak buah harendong mentah maupun ekstrak buah masak meliputi alkaloid, triterpenoid, flavonoid, fenol, dan tanin. Ekstrak dengan total fenol tertinggi adalah ekstrak etanol 70% buah mentah sebesar 189.56 mg/g GAE, sedangkan total flavonoid tertinggi adalah ekstrak etanol 96% buah mentah sebesar 225.50 mg/g CE. Oleh karena itu disimpulkan bahwa buah harendong mentah mengandung lebih banyak total fenol dan total flavonoid dibandingkan buah masak.

Kata kunci: fenol, fitokimia, flavonoid, harendong

1. PENDAHULUAN

Tanaman harendong dengan nama latin yaitu *Melastoma affine* D. Don tumbuh sebagai tanaman liar, yaitu di tepi rawa, belukar, padang rumput, tempat-tempat terbuka, hutan sekunder sampai pada ketinggian 2500 m dpl. Bagian buah dari tanaman ini merupakan bagian bunga yang kelopaknya telah berguguran. Buah masak berwarna ungu dan memiliki rasa manis (Gambar 1). Tanaman harendong telah banyak digunakan sebagai obat tradisional di beberapa daerah di Indonesia. Menurut Zuhud (1995), di Pananjung Pangandaran, daun harendong dapat digunakan sebagai obat luka dengan cara dikunyah dan ditempelkan pada bagian yang luka. Di daerah Kampar, rebusan daun keduduk (nama lain dari harendong) digunakan sebagai obat antimalaria

(Uji 1995), sedangkan di Kecamatan Pamarican, Kabupaten Ciamis, daun *M. malabathricum* (spesies lain dari tanaman harendong) yang masih muda diseduh, kemudian digunakan untuk kumur pada saat sakit gigi (Purwanto dan Walujo 1992).

Penelitian yang berhubungan dengan tanaman harendong masih jarang dilakukan, terutama yang berkaitan dengan analisis senyawa kimia yang menggunakan buah harendong sebagai sampel penelitian. Senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman meliputi senyawa metabolit sekunder. Senyawa ini ditemukan di setiap tanaman, namun dengan jenis dan kadar yang berbeda-beda. Senyawa metabolit sekunder erat kaitannya dengan fungsi perlindungan bagi tumbuhan itu sendiri



Gambar 1 Buah harendong mentah (kiri) dan masak (kanan).

dan juga dapat berfungsi bagi kesehatan manusia. Senyawa metabolit sekunder terbagi menjadi tiga kelompok utama, yaitu komponen-komponen polifenol termasuk flavonoid dan fenol, terpenoid, serta alkaloid (Crozier *et al.* 2006). Senyawa flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan tingkat tinggi termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga, buah, dan biji (Harborne dan Phillips 1991). Senyawa fenol yang umum dijumpai pada bagian buah adalah tanin. Senyawa ini berperan dalam melindungi tanaman terutama bagian buah dari serangan herbivora (Crozier *et al.* 2006).

Penelitian ini bertujuan menganalisis senyawa metabolit sekunder secara kualitatif, menentukan komponen total fenol dan total flavonoid dari ekstrak buah harendong (*Melastoma affine* D. Don) baik pada buah mentah maupun buah masak. Jumlah komponen flavonoid dan fenol diduga berbeda pada tingkat kematangan buah harendong yang berbeda.

2. BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang diteliti adalah buah harendong berasal dari daerah Lebak-Banten dengan nama latin *Melastoma affine* D. Don yang terdiri atas dua jenis kematangan buah yang berbeda, yaitu buah mentah dan buah masak. Bahan-bahan lain yang digunakan adalah pereaksi Meyers, Dragendorf, Wagner, Folin Ciocalteu 10%, NaHCO₃ 7.5%, metanol pro-analis, NaOH 1 M, NaNO₂ 5%, AlCl₃ 10%, asam galat, katekin hidrat. Alat-alat yang digunakan adalah cawan porselin, neraca analitik, eksikator/desikator, vortex, oven, blender, pipet mikro, rotary evaporator, penangas air, dan spektrofotometer UV/Vis.

Preparasi Sampel

Sampel segar diambil sebanyak 2 kg buah harendong mentah dan 2 kg buah harendong masak dari Malingping, Lebak-Banten. Semua bahan dipisahkan dari kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dan dicuci hingga bersih. Buah harendong terutama buah mentah yang masih dilindungi oleh bagian kulit, dipisahkan antara kulit dan isinya. Semua sampel ditiriskan dan dikeringkan dengan oven pada suhu 40-50°C selama 4-5 hari hingga kadar air tetap. Sampel kering lalu dihaluskan dengan *blender* dan diayak dengan ukuran 100 mesh. Simplisia yang didapat dibungkus dengan plastik dan disimpan untuk pengujian selanjutnya.

Penentuan Kadar Air Simplisia

Penentuan kadar air ini menggunakan metode menurut *Association of Official Analytical Chemist* (2006). Cawan porselin dikeringkan di dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit, kemudian didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang bobot kosongnya. Sampel berupa simplisia ditimbang sekitar 3 gram dan dimasukkan ke cawan porselin. Sampel beserta cawannya dikeringkan pada suhu 105°C selama 3 jam di dalam oven. Setelah didinginkan dalam desikator selama 30 menit, cawan beserta isinya ditimbang. Prosedur dilakukan berulang kali sampai didapatkan bobot tetap. Penentuan kadar air dilakukan sebanyak 3 kali ulangan (triplo). Penentuan kadar air dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$\text{Kadar Air} = (a-b)/a \times 100\%$$

Dimana: a = bobot sebelum dikeringkan (g), b = bobot setelah dikeringkan (g)

Ekstraksi Sampel

Ekstraksi buah harendong menggunakan metode maserasi menurut Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (2004). Maserasi adalah metode ekstraksi dengan perendaman sampel dengan pelarut tertentu. Proses ekstraksi pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 70%, etanol 96%, dan air. Sebanyak 30 gram buah harendong yang telah menjadi bentuk simplisia ditambahkan pelarut dengan perbandingan 1:10, dimasukkan ke dalam Labu Erlenmeyer 500 ml, lalu didiamkan selama 24 jam pada maserator yang dilengkapi *shaker*. Maserat dipisahkan dan proses diulang dua kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Semua maserat dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C-80°C sampai diperoleh sampel yang menyerupai pasta atau serbuk.

Uji Fitokimia (Harborne 1987)

Alkaloid

Ekstrak sebanyak 0.1 gram ditambahkan 10 mL kloroform dan ditambahkan beberapa tetes amonia. Fraksi kloroform dipisahkan dan diasamkan dengan beberapa tetes H₂SO₄ pekat. Fraksi asam diambil dan dibagi menjadi 3 tabung, kemudian ditambahkan pereaksi Dragendorf, Meyer, dan Wagner. Keberadaan alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada pereaksi Meyer, endapan merah pada pereaksi Dragendorf, dan endapan coklat pada endapan pereaksi Wagner.

Steroid/ triterpenoid

Sebanyak 1 g contoh dilarutkan dengan 25 mL etanol panas 50°C, kemudian disaring

ke dalam pinggan porselin dan diuapkan sampai kering. Residu dilarutkan dengan eter dan dipindahkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 3 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes H₂SO₄ pekat (Uji Lieberman Burchard). Warna merah atau ungu menunjukkan triterpenoid dan warna hijau atau biru menunjukkan steroid.

Flavonoid

Sampel ditambahkan serbuk magnesium 0.1 mg dan 0.4 mL amil alkohol (campuran asam klorida 37 % dan etanol 95 % dengan volume yang sama) dan 4 mL alkohol kemudian campuran dikocok. Pembentukan warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan hasil flavonoid.

Saponin (uji busa)

Saponin dapat dideteksi dengan uji busa dalam air panas. Busa yang stabil selama 10 menit dan tidak hilang pada penambahan 1 tetes HCl 2 N menunjukkan saponin.

Tanin

Ekstrak sebanyak 1 gram ditambahkan 10 mL akuades kemudian dididihkan. Setelah dingin filtrat ditambahkan 5 mL FeCl₃ 1 % (b/v). Apabila terjadi perubahan warna menjadi biru tua, berarti sampel mengandung tanin.

Uji Fenol hidrokuinon (pereaksi FeCl₃)

Sebanyak 1 gram sampel diekstrak dengan 20 mL etanol 70%. Ekstrak sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan 2 tetes larutan FeCl₃ 5%. Pembentukan warna hijau atau hijau biru menunjukkan senyawa fenol dalam bahan.

Pengukuran Total Fenol dalam Ekstrak Buah Harendong

Konsentrasi fenol yang terkandung dalam ekstrak buah harendong diukur menggunakan metode spektrofotometri (Singleton 1999). Ekstrak dengan konsentrasi 1 mg/mL atau setara dengan 10 mg dalam 10 mL metanol digunakan dalam analisis. Sebanyak 0.5 mL ekstrak yang telah dilarutkan dengan metanol diambil, ditambah dengan 2.5 mL reagen Folin Ciocalteu 10% yang dilarutkan dalam air, dan ditambah dengan 2.5 mL NaHCO_3 7.5%. Blanko yang digunakan berupa campuran 0.5 mL metanol, 2.5 mL reagen Folin Ciocalteu yang dilarutkan dalam air, dan 2.5 mL NaHCO_3 7.5%. Sampel-sampel tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 45°C selama 45 menit. Pengulangan dilakukan sebanyak tiga kali dan pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 765 nm. Prosedur yang sama dilakukan untuk membuat kurva standar asam galat. Berdasarkan pengukuran absorbansi, total fenol dapat dibaca dari kurva standar, lalu total fenol ekstrak ditunjukkan dalam *gallic acid equivalent* (GAE) (mg/g) dengan rumus seperti dibawah ini.

$$\text{Total fenol GAE} = c (V/m)$$

Keterangan:

c = konsentrasi total fenol dari kurva standar asam galat (mg/L)

V = volume ekstrak (L)

m = berat ekstrak (g)

Pengukuran Total Flavonoid (Modifikasi Kim et al. 2003)

Sebanyak 10 mg ekstrak dilarutkan dalam 10 mL akuades, lalu sebanyak 5 mL larutan

ekstrak diambil dan ditambah dengan 0.3 mL NaNO_2 5%. Tahap selanjutnya, campuran ekstrak ditambahkan 0.3 mL AlCl_3 10% yang dilarutkan dengan metanol dan diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit. Setelah inkubasi, sebanyak 2 mL NaOH 1 M ditambahkan dan volume dicukupkan hingga 10 mL dengan akuades. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 510 nm. Pengukuran dilakukan 3 kali ulangan dan penentuan total flavonoid dinyatakan dalam *catechin equivalent* (CE) (mg/g) dengan rumus seperti di bawah ini.

$$\text{Total flavonoid CE} = c (V/m)$$

Keterangan:

c = konsentrasi total flavonoid dari kurva standar katekin (mg/L)

V = volume ekstrak (L)

m = berat ekstrak (g)

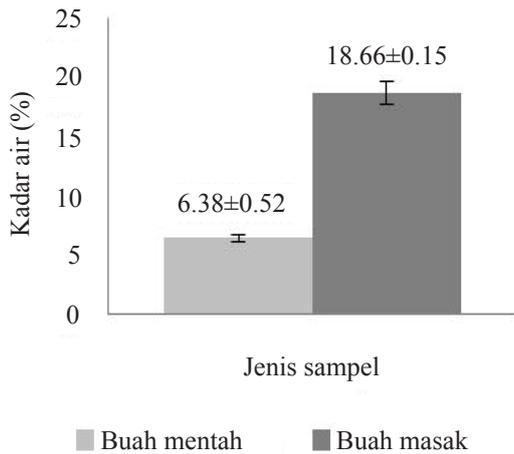
Analisis Data

Penentuan beda nyata untuk total fenol dan total flavonoid dilakukan dengan analisis menggunakan One-Way ANOVA pada *software* SPSS 18.

3. HASIL

Kadar Air Buah Harendong

Penentuan kadar air buah harendong menggunakan sampel berupa simplisia buah harendong mentah dan simplisia buah harendong masak. Simplisia buah harendong mentah mengandung kadar air sebesar 6.38%, sedangkan simplisia buah masak mengandung kadar air sebesar 18.66% (Gambar 2).



Gambar 2 Kadar air simplisia buah harendong

Ekstrak Buah Harendong

Ekstraksi sampel buah harendong menggunakan metode maserasi. Sampel yang digunakan berupa buah mentah dan buah masak yang dimaserasi menggunakan tiga pelarut yang berbeda, yaitu air, etanol 70%, dan etanol 96%. Hasil ekstraksi buah harendong mentah berupa ekstrak air, etanol 70% (EtOH 70%), dan etanol 96% (EtOH 96%). Hasil ekstraksi buah harendong masak juga berupa ekstrak air, etanol 70% (EtOH 70%), dan etanol 96% (EtOH 96%). Rendemen ekstrak

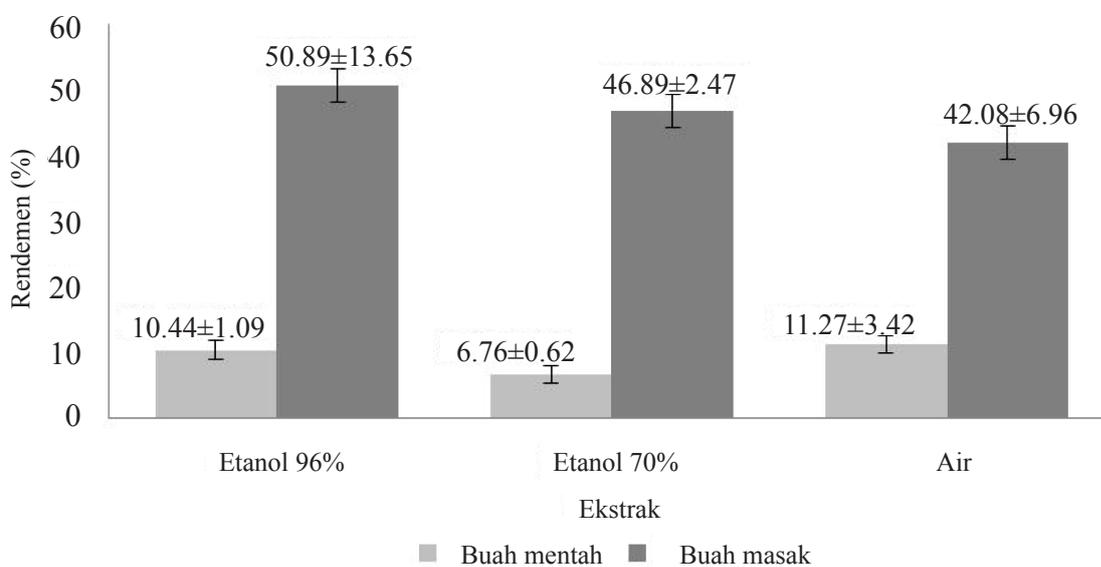
dihitung dengan cara membagi bobot ekstrak dengan bobot sampel kering. Secara umum, buah harendong mentah memiliki rendemen yang lebih rendah dibandingkan dengan buah masak. Nilai rendemen untuk buah harendong mentah berdasarkan perbedaan jenis pelarut yang tertinggi adalah rendemen ekstrak air, sedangkan rendemen buah masak paling tinggi adalah rendemen ekstrak etanol 96% (Gambar 3).

Senyawa Fitokimia Buah Harendong

Uji fitokimia meliputi uji alkaloid, triterpenoid/sterol, flavonoid, saponin, tanin, dan fenol. Hasil uji fitokimia ekstrak buah harendong mentah dan masak positif untuk uji alkaloid, triterpenoid, flavonoid, tanin, dan fenol, sedangkan bereaksi negatif untuk uji saponin (Tabel 1).

Total Fenol Buah Harendong

Hasil pengukuran total fenol secara umum menunjukkan bahwa ekstrak buah mentah mengandung lebih banyak fenol dibandingkan



Gambar 3 Rendemen buah harendong

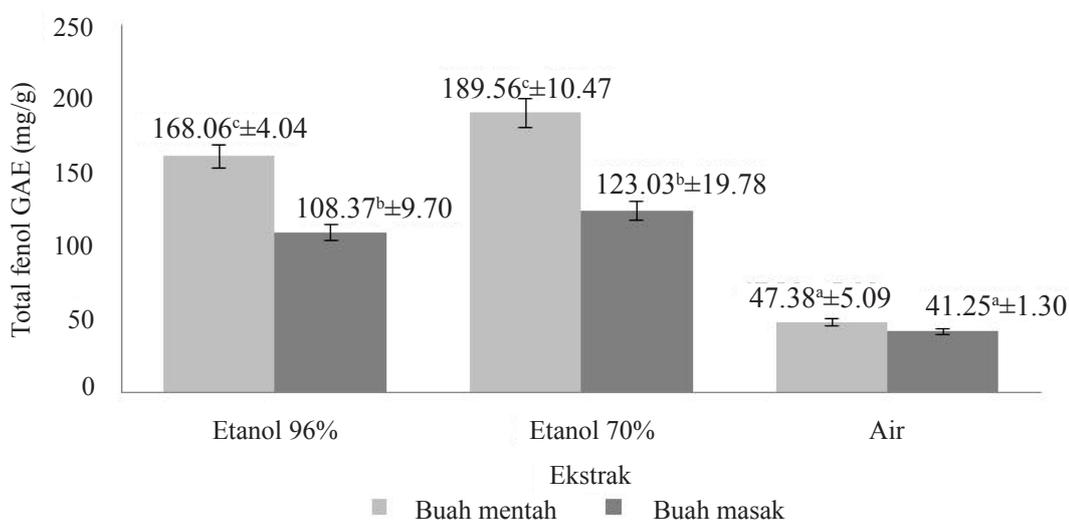
Tabel 1 Uji fitokimia ekstrak buah harendong

Uji	Buah mentah			Buah mentah		
	Air	EtOH 70%	EtOH 96%	Air	EtOH 70%	EtOH96%
Dragendorf	+	+	+	+	+	+
Alkaloid	Wagner	+	+	+	+	+
	Meyer	+	+	+	+	+
Triterpenoid	+	++	++	+	+++	++
Flavonoid	+	+++	+++	++	+++	+++
Saponin	-	-	-	-	-	-
Tanin	+	+++	+++	+++	+++	+++
Fenol	+	+	+	+	+	+

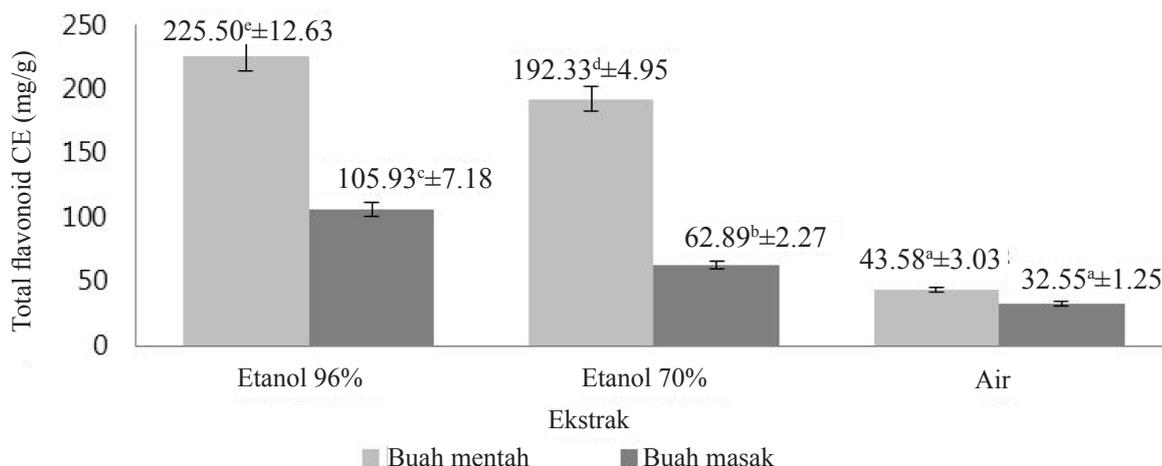
dengan ekstrak buah masak. Nilai total fenol dari ekstrak buah harendong mentah untuk ekstrak etanol 96% sebesar $168.06^c \pm 4.04$ mg/g GAE, ekstrak etanol 70% sebesar $189.56^c \pm 10.47$ mg/g GAE, dan ekstrak air sebesar $47.38^a \pm 5.09$ mg/g GAE. Nilai total fenol dari ekstrak buah harendong masak untuk ekstrak 96% sebesar $108.37^b \pm 9.70$ mg/g GAE, ekstrak etanol 70% sebesar $123.03^b \pm 19.78$ mg/g GAE, dan ekstrak air sebesar $41.25^a \pm 1.30$ mg/g GAE. Ekstrak dengan total fenol tertinggi adalah ekstrak etanol 70% dari sampel buah harendong mentah (Gambar 4).

Total Flavonoid

Hasil pengukuran total flavonoid pada ekstrak buah harendong mentah dan masak diperoleh bahwa buah harendong mentah mengandung total flavonoid lebih tinggi dibandingkan dengan buah harendong masak. Total flavonoid untuk ekstrak dari sampel buah harendong mentah adalah ekstrak etanol 96% sebesar $225.50^e \pm 12.63$ mg/g CE, ekstrak etanol 70% sebesar $192.33^d \pm 4.95$ mg/g CE, dan ekstrak air sebesar $43.58^a \pm 3.03$ mg/g CE. Nilai total flavonoid untuk ekstrak dari buah harendong masak yaitu untuk ekstrak etanol 96% sebesar $105.93^c \pm 7.18$ mg/g CE, ekstrak etanol 70%



Gambar 4 Total fenol ekstrak buah harendong. Data yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan data tidak berbeda nyata



Gambar 5 Total flavonoid ekstrak buah harendong. Data yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan data tidak berbeda nyata

sebesar 62.89^b±2.27 mg/g CE, dan ekstrak air sebesar 32.55^a±1.25 mg/g CE. Ekstrak yang memiliki total flavonoid tertinggi adalah ekstrak etanol 96% buah mentah (Gambar 5)

4. PEMBAHASAN

Tanaman harendong memiliki buah yang berwarna ungu dan diduga memiliki senyawa metabolit sekunder termasuk flavonoid dan fenol. Ada dua jenis buah harendong yang digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini, yaitu buah harendong mentah dan buah harendong masak. Buah mentah berupa bagian bunga yang telah berkembang menjadi buah yang telah hilang semua kelopaknya dan telah dihilangkan bagian kulit luarnya. Buah masak berupa bagian bunga yang telah menjadi buah dewasa, telah merekah sehingga tidak dilindungi oleh kulit lagi dan berwarna ungu.

Sampel dikeringkan dengan oven pada suhu 40-50°C selama 4-5 hari sampai bobot sampel tetap. Penentuan kadar air menggunakan sampel berupa simplisia. Buah harendong masak memiliki kadar air simplisia yang lebih besar dibandingkan dengan buah mentah. Berdasarkan

data kadar air simplisia, buah harendong mentah memiliki kadar air kurang dari 10% yaitu sebesar 6.38±0.52 %, sedangkan buah harendong masak mengandung kadar air yang lebih besar dari 10% yaitu sebesar 18.66±0.15 %. Nilai kadar air yang baik untuk simplisia adalah tidak lebih dari 10%. Hal ini bertujuan untuk mencegah tumbuhnya bakteri dan jamur pada tahap penyimpanan (Katno 2008). Oleh karena itu dapat dinyatakan bahwa simplisia buah harendong mentah lebih tahan dalam proses penyimpanan dibandingkan dengan simplisia buah masak.

Analisis senyawa metabolit sekunder buah harendong menggunakan dua metode pengujian, yaitu penapisan fitokimia sebagai uji kualitatif dan pengukuran total fenol dan flavonoid sebagai uji kuantitatif. Penapisan fitokimia adalah uji kualitatif untuk mengetahui kandungan kimia berupa metabolit sekunder suatu sampel. Uji fitokimia dilakukan pada 3 jenis ekstrak dari buah harendong mentah (ekstrak air, EtOH 70%, dan EtOH 96%) dan 3 jenis ekstrak dari buah harendong masak (ekstrak air, EtOH 70%, dan EtOH 96%).

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa semua ekstrak baik ekstrak buah harendong mentah maupun ekstrak buah masak memiliki kandungan senyawa kimia yang sama, yaitu alkaloid, triterpenoid, flavonoid, tanin, dan fenol, namun tidak mengandung saponin. Saponin banyak terdapat di daun dan akar, tetapi jarang ditemukan di bagian buah (Cseke *et al.* 2006). Jenis senyawa metabolit sekunder yang sama yang terkandung dalam buah mentah dan buah masak menunjukkan bahwa kematangan buah yang berbeda tidak mempengaruhi jenis senyawa yang terkandung di dalamnya. Berdasarkan hasil uji kualitatif ada perbedaan pada tingkat kepekatan warna yang ditimbulkan (Tabel 1). Hal ini menunjukkan ada perbedaan jumlah senyawa pada masing-masing ekstrak yang mungkin disebabkan oleh jenis kepolaran dan kematangan buah yang berbeda. Analisis senyawa metabolit sekunder dilanjutkan dengan analisis secara kuantitatif meliputi pengukuran total fenol dan total flavonoid ekstrak buah mentah dan buah masak. Kedua pengukuran ini dilakukan untuk membuktikan kebenaran adanya perbedaan jumlah senyawa pada dua jenis buah yang berbeda kematangan.

Total fenol dalam penelitian ini diduga sebagai asam galat karena standar pengukuran untuk total fenol menggunakan asam galat. Senyawa fenol pada sampel bereaksi dengan reagen redoks yang spesifik, yaitu Folin-Ciocalteu untuk membentuk kompleks warna biru (Schofield *et al.* 2001). Reaksi pembentukan kromofor biru melibatkan reaksi fosfotungstat fosfomolibdenum (Gulcin *et al.* 2004). Nilai total fenol dinyatakan dalam *gallic acidequivalent* (GAE) dengan persamaan garis $y = -0.0472 + (9.5078 \times 10^3)x$. Asam galat merupakan penyusun senyawa tanin terhidrolisis (Cseke *et al.* 2006).

Senyawa tanin berperan dalam mengatur rasa buah. Buah mentah biasanya mengandung tanin lebih banyak dibandingkan buah masak, sehingga buah mentah cenderung memiliki rasa pahit (Crozier *et al.* 2006). Menurut Myhara *et al.* 1999, jumlah tanin tinggi pada masa awal perkembangan dibandingkan setelah dewasa. Hal ini sesuai dengan data hasil pengukuran total fenol pada ekstrak buah harendong mentah yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak buah harendong masak.

Total fenol pada ekstrak etanol 96% dan etanol 70% baik buah mentah maupun buah masak menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($P < 0.05$), sedangkan total fenol untuk ekstrak air pada kedua jenis buah berbeda nyata. Jika dibandingkan antar jenis buah, maka ekstrak etanol 96% dan ekstrak etanol 70% buah mentah berbeda nyata dengan kedua ekstrak pada buah masak, namun tidak berbeda nyata untuk ekstrak air (Gambar 3). Berdasarkan data total fenol, ekstrak terbaik adalah ekstrak buah harendong mentah dengan pelarut etanol 70%.

Total flavonoid dinyatakan dalam *catechin equivalent* (CE) dengan persamaan garis $y = 0.0446 + 0.0131x$. Pengukuran total flavonoid menggunakan metode spektrofotometri yang berdasarkan pada pembentukan kompleks aluminium. Penambahan pereaksi NaNO_2 pada penentuan total flavonoid bersifat spesifik untuk rutin, luteolin, dan katekin, serta dapat membantu mendeteksi flavonoid lainnya pada panjang gelombang 510 nm. Oleh karena itu, penggunaan standar berupa senyawa katekin pada penelitian ini diharapkan dapat mewakili senyawa flavonoid yang ada dalam sampel buah harendong. Pereaksi AlCl_3 yang ditambahkan setelah NaNO_2 berfungsi untuk membentuk kompleks dengan flavonoid. Pereaksi ini

selektif untuk flavonol (quersetin, rutin, quersetin, galangin) dan flavon luteolin (Pekal dan Pyrzynska 2014). Oleh karena itu, senyawa lain yang juga sering digunakan sebagai standar dalam pengukuran total flavonoid adalah quersetin dan rutin.

Salah satu senyawa flavonoid yang sering ditemukan di bagian buah, yaitu antosianidin yang banyak diproduksi pada buah mentah untuk melindungi buah dari sinar matahari dan serangga. Buah masak lebih banyak mengandung antosianin (turunan antosianidin) dibandingkan dengan antosianidin. Antosianin mengandung lebih banyak gula yang diproduksi untuk menarik serangga penyerbuk (Crozier *et al.* 2006). Kandungan gula pada buah masak dapat meningkatkan berat kering ekstrak sehingga mengurangi kandungan total flavonoid pada jumlah yang sama dengan berat kering ekstrak buah mentah. Oleh karena itu, kandungan total flavonoid ekstrak buah mentah lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak buah masak pada jumlah sampel yang sama. Hal ini juga terlihat pada hasil rendemen kedua sampel yang menunjukkan bahwa rendemen sampel buah mentah lebih kecil dibandingkan buah masak, namun total fenol dan total flavonoid tertinggi ada pada buah mentah.

Berdasarkan data total flavonoid (Gambar 4), semua ekstrak menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Ekstrak etanol 96% buah mentah mengandung total flavonoid yang tertinggi dibandingkan dengan kelima ekstrak lainnya, sedangkan ekstrak etanol 96% buah masak adalah ekstrak dengan total flavonoid tertinggi dibandingkan dengan ekstrak air dan ekstrak etanol 70% dari buah masak. Oleh karena itu, dapat dinyatakan bahwa total flavonoid lebih banyak terlarut dalam pelarut etanol 96% dan

lebih banyak terkandung dalam buah mentah dibandingkan dengan buah masak.

Ekstrak yang memiliki total flavonoid tertinggi adalah ekstrak etanol 96% buah mentah, sedangkan ekstrak dengan total fenol tertinggi adalah ekstrak etanol 70% buah mentah. Hasil ini diduga dipengaruhi oleh kepolaran pelarut yang dapat dikaitkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Stankovic *et al.* (2011) yang menyatakan bahwa kandungan fenol tertinggi ada pada pelarut dengan kepolaran tinggi, sedangkan kandungan flavonoid tertinggi ada pada pelarut dengan kepolaran sedang. Etanol 70% adalah pelarut yang lebih polar dibandingkan dengan etanol 96%, sehingga senyawa fenol akan cenderung untuk terlarut lebih banyak dalam etanol 70%, sedangkan senyawa flavonoid akan terlarut lebih banyak dalam etanol 96%.

Berdasarkan hasil penelitian, ekstraksi dua sampel (buah mentah dan buah masak) dengan tiga pelarut yang berbeda (air, etanol 70% dan etanol 96%) menghasilkan enam ekstrak yang berbeda. Penapisan fitokimia menunjukkan bahwa semua ekstrak mengandung senyawa metabolit sekunder yang sama, yaitu alkaloid, triterpenoid, flavonoid, tanin, dan fenol. Ekstrak yang memiliki total flavonoid tertinggi adalah ekstrak etanol 96% buah mentah, sedangkan ekstrak dengan total fenol tertinggi adalah ekstrak etanol 70% buah mentah.

5. DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2006. *Official Methods of Analysis*. Washington DC: Association of Official Analytical Chemist.
- [BPOM RI] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2004. *Ekstrak Tumbuhan Indonesia Vol. 2*. Jakarta: BPOM.

- Crozier A, Clifford MN, Ashihara H. 2006. *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure, and Role in the Human Diet*. Iowa: Blackwell Publishing Ltd.
- Cseke LJ, Kirakosyan A, Kaufman PB, Warber SL, Duke JA, brielmann HL. 2006. *Natural Products from Plants Second Edition*. New York: Taylor & Francis Group.
- Gulcin I, Sat IG, Beydemir S, Elmastas M, Kufrevioglu OI. 2004. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). *Food Chem*. 87:393-400.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: Penerbit ITB.
- Harborne UA, Phillips DA. 1991. Release and modification of nod-gene-inducing flavonoids from alfalfa seeds. *Plant Physiol*. 95:804-807.
- Katno. 2008. Penanganan Pasca Panen Tanaman Obat. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional. Depkes.
- Kim DO, Jeong SW, Lee CY. 2003. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*. 81:321-326.
- Myhara RM, Karkalas J, Taylor MS. 1999. The composition of maturing Omani dates. *Journal of Science and Food Agriculture*. 79:1345-1350.
- Pekal A, Pyrzynska K. 2014. Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Anal. Methods*. 1-7. DOI: 10.1007/s12161-014-9814-x.
- Purwanto Y, Walujo EB. 1992. Etnobotani suku Dani di lembah Baliem-Irian Jaya: suatu telaah tentang pengetahuan dan pemanfaatan sumber daya alam tumbuhan. Di dalam: *Prosiding Seminar dan Lokakarya Nasional Etnobotani*; Cisarua-Bogor, 19-20 Feb 1992. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. hlm 132-148.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*. 299:152-178.
- Stankovic MS, Niciforovic N, Topuzovic M, Solujic S. 2011. Total phenolic content, flavonoid concentrations and antioxidant activity, of the whole plant and plant parts extracts from *Teuchium montanum* L. var. *Montanum*, *F. supinum* (L.) Reichenb [catatan penelitian]. *Biotechnol*. 25:2222-2227.
- Sunarti S. 2000. Potensi *melastoma* sebagai tanaman hias. Di dalam: *Prosiding Seminar Hari Cinta Puspa dan Satwa Nasional*; Kebun Raya Bogor, 5 Nov 2000. Bogor: Herbarium Bogoriense, Balitbang Botani, Puslitbang Biologi-LIPI. 2000. Hlm 224-230.
- Uji T. 1995. Pemanfaatan tumbuhan obat antimalaria pada beberapa suku di Indonesia. Di dalam: *Prosiding Seminar dan Lokakarya II*; Yogyakarta, 24-25 Jan 1995. Yogyakarta: Ikatan Pustakawan Indonesia. hlm 89-95.
- Zuhud EAM. 1995. Keanekaragaman tumbuhan obat di Cagar Alam Pananjung Pangandaran. Di dalam: *Prosiding Seminar Etnobotani II*; Yogyakarta, 24-25 Jan 1995. Yogyakarta: Ikatan Pustakawan Indonesia. hlm 39-51.