

PENETAPAN KADAR FLAVONOID PADA EKSTRAK DAUN STEVIA (*Stevia Rebaudiana(Bertoni)*) DENGAN VARIASI KONSENTRASI PELARUT

Marzela Pancaya Putra¹⁾, Aptika Oktaviana Trisna Dewi²⁾, Nindyasiwi Arimbi³⁾, Diah Ayu Oktaviani⁴⁾, Sihhono⁵⁾, Margaretha Debiyani Boan⁶⁾

^{1,2,3,4,5,6} Program Studi D3 Farmasi, Politeknik Indonusa Surakarta,
^{1,2,3,4,5,6} Jl. Palem No. 8, Jati, Cemani, Sukoharjo, Surakarta

^{1*}e22113@poltekindonusa.ac.id, ²aptikaotd@poltekindonusa.ac.id, ³e22003@poltekindonusa.ac.id,
⁴e22004@poltekindonusa.ac.id, ⁵e22039@poltekindonusa.ac.id, ⁶e22096@poltekindonusa.ac.id

Abstrak

Stevia leaves (*Stevia rebaudiana* B.) are plants from the Compisitae family as a substitute for natural sweeteners. This study aims to determine the flavonoid content of stevia leaves (*Stevia rebaudiana* B.). Stevia leaf extract was obtained by maceration method with ethanol solvent concentration of 30%, 50%, 70% and 90% for 1x24 hours. Phytochemical screening test of stevia leaf extract (*Stevia rebaudiana* B.) contains alkaloid, saponin, phenolic and tannin compounds. Determination of flavonoid content of stevia leaf extract by UV-Vis spectrophotometry. The results of flavonoid content determination with concentrations of 30%, 50%, 70% and 90% were 0.0426%, 0.0594%, 0.0606%, and 0.0880%. Based on the results of the study, it can be concluded that the highest flavonoid content with ethanol concentration of 90% is 0.0880%.

Keywords: Stevia, Flavonoids, UV-Vis Spectrophotometry

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki lahan luas dengan kondisi alam yang mendukung bagi pertanian dan perkebunan, serta diberikan keanekaragaman flora yang sebagian besar dapat dijadikan sebagai tanaman obat. Berbagai tumbuhan alam asli di Indonesia sebagai antioksidan ditujukan untuk meningkatkan kualitas kesehatan masyarakat dengan biaya yang relatif terjangkau (Samosir *et al.*, 2024). Salah satu tanaman yang digunakan dengan kandungan antioksidan adalah tanaman stevia.

Stevia (*Stevia rebaudiana* B.) adalah tumbuhan herbal yang asalnya dari Paraguay di Amerika Selatan. Tumbuh secara liar dan dapat dijumpai di lingkungan yang cenderung semi kering. Tumbuhan semak dengan daun berwarna hijau ini memiliki kemampuan tumbuh dengan kisaran tinggi antara 65 cm hingga 180 cm dan termasuk dalam keluarga tumbuhan Asteraceae. Daun stevia terkandung sejumlah zat seperti alkaloid, tannin, dan flavonoid yang memperlihatkan aktivitas antiplak. Selain itu, terdapat zat-zat yang bertindak sebagai enzim di dalamnya yang berperan dalam penguraian gula, menghentikan aktivitas dekstran sukrosa,

sehingga dapat menghambat fermentasi oleh bakteri kariogenik (Ramadayani *et al.*, 2023).

Pada penelitian sebelumnya, banyak peneliti yang meneliti tentang kandungan antioksidan dan kandungan total senyawa fenol yang terdapat dalam ekstrak daun stevia. Ekstrak etanol dari maserasi daun stevia memiliki nilai total fenol, nilai total flavonoid, dan aktivitas antioksidannya lebih besar dibandingkan dengan proses ekstraksi soxhlet. Tanaman stevia (*Stevia rebaudiana Bertoni* M.) diketahui mempunyai beberapa manfaat dalam bidang farmasi dan digunakan sebagai terapi karena berfungsi sebagai antioksidan, antijamur, dan non karsinogenik. Selain itu, stevia memiliki kandungan metabolit lain yang memiliki potensial bioaktif, alkaloid, klorofil yang larut dalam air, xantofil, asam amino, lemak, flavonoid, senyawa fenol, tanin, dan asam askorbat. Beberapa senyawa aktif seperti flavonoid, fenolat, tannin dan antraquinon (Putri *et al.*, 2019)

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid pada daun Stevia (*Stevia Rebaudiana. B*) dengan variasi konsentrasi pelarut etanol 30%, 50%, 70%, dan 90%.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah simplisia daun stevia (*Stevia Rebaudiana* .B.), AlCl_3 10%, CH_3COOK 1M, Quersetin, Etanol 96%, Akuades.

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung reaksi, Beker glass, rak tabung, labu ukur, pipet tetes, spatel, kaca arloji, kertas saring, cawan porselin, blender kasar (*grinder blender stainles*), ayakan mesh 40, corong, *rotary evaporator*, desikator, *waterbath*, mikropipet, kuvet, spektrofotometri UV-Vis.

Prosedur Kerja

Prosedur Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Stevia

Simplisia daun Stevia diblender kasar menggunakan *Grinder blender stainles*. Hasil dari saring menggunakan Ayakan mesh nomor 40, setelah diayak ditimbang seberat 100gram.

Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 400 g daun stevia ditimbang kemudian dimasukkan kedalam 4 toples kaca dengan masing-masing berat simplisia 100 g untuk maserasi dituang secara perlahan pelarut etanol masing masing konsentrasi 30%, 50%, 70%, dan 90% sebanyak 1 Liter, proses perendaman dilakukan selama 1×24 jam pada suhu kamar dengan diaduk setiap 8jam sekali. Filtrat dipisahkan dari ampasnya dengan menggunakan corong dan kain flanel, kemudian disaring kembali dengan kertas saring. Maserat di pekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu tidak lebih 40°C dengan tekanan 100 mBar, kemudian diuapkan diatas *waterbath* dengan suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental (Apriyati *et al.*, 2022)

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui zat-zat kimia yang terkandung dalam ekstrak daun stevia. Pembuatan larutan untuk dilakukan uji yaitu diambil 1 g ekstrak kental dan dilarutkan dalam etanol 96% sebanyak 10ml

a. Alkaloid

Larutan ekstrak diambil 1 ml ditambahkan dengan reagen mayer atau reagen dragendroff, bila terbentuk endapan kuning atau endapan merah menunjukkan adanya alkaloid.

b. Saponin

Larutan ekstrak diambil 1 ml ditambahkan 2 ml akuades, lalu digojog kuat selama 30 detik, jika busa yang dihasilkan tetap berlangsung selama 1 menit menunjukkan adanya saponin

c. Fenolik

Larutan ekstrak diambil 1 ml ditambahkan 3-4 tetes larutan FeCl_3 , jika terbentuk larutan warna hitam menunjukan adanya fenolik

d. Tanin

Larutan ekstrak diambil 1 ml ditambahkan 1% gelatin yang mengandung NaOH 4%, jika terbentuk endapan putih menunjukkan adanya tanin

e. Flavonoid

Pengujian alkali tes: larutan ekstrak 1 ml di tambahkan beberapa tetes larutan NaOH 4%, jika ekstrak positif mengandung flavonoid akan terbentuk larutan berwarna kuning intens dimana warna akan memudar jika di tambahkan larutan asam lemah.

Pengujian dengan timbal asetat: larutan ditambahkan beberapa tetes larutan timbal asetat, jika terbentuk endapann kuning menunjukan adanya senyawa flavonoid

Pengujian Diterpenes: larutan ekstrak 1 ml di tambahkan dengan 3-4 tetes larutan tembaga asetat. Hasil positif mengandung diterpen dengan terbentuknya warna hijau zamrud (Tim Dosen Pengampu, 2024)

Pembuatan Larutan Baku

Pembuatan larutan kuersetin 1000 ppm ditimbang sebanyak 0,1 gram di larutkan dengan etanol 96 % dimasukkan kedalam dalam labu takar 100mL hingga tanda batas,

Pembuatan Larutan AlCl_3 10%

Sebanyak 2,5 gram ditimbang dan dilarutkan dengan akuades 25 mL dimasukkan kedalam labu takar 25 mL hingga tanda batas

Pembuatan Larutan CH_3COOK 1 M

Sebanyak 4,9 gram ditimbang dan dilarutkan dengan akuades 50mL dimasukkan kedalam labu takar 50 mL hingga tanda batas.

Pembuatan Larutan Blanko

Pembuatan larutan blanko dengan mengambil 0,5 ml etanol 96% dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan 0,2 ml AlCl_3 dan 2 ml CH_3COOK lalu ditambahkan etanol 96% sampai 10 ml, kemudian di kocok sampai homogen. Selanjutnya larutan di inkubasi selama 2 jam pada suhu ruang.

Penentuan Operating Time

Sebanyak 0,5 mL larutan kuersetin 1000 ppm, dimasukkan ke labu ukur 10 mL (konsentrasi 50 ppm) lalu ditambah etanol hingga tanda batas. Diambil 0,5 mL larutan kuersetin 50 ppm dimasukkan ke labu takar 5 mL, tambahkan 0,1 mL $AlCl_3$ 10%, 1 mL CH_3COOK lalu ditambah etanol 96% sampai tanda batas, selanjutnya diukur besarnya absorbansi larutan tersebut pada panjang gelombang maksimal selama 60 menit.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Sebanyak 0,5 mL larutan kuersetin 1000 ppm, dimasukkan ke labu ukur 10 mL (konsentrasi 50 ppm) dan ditambah etanol hingga tanda batas. Diambil 0,5 mL larutan kuersetin 50 ppm dimasukkan ke labu takar 5 mL, 0,1 mL $AlCl_3$ 10%, 1 mL CH_3COOK 1 M dan etanol hingga tanda batas, Diinkubasi pada *range operating time* dan ukur serapannya dengan rentang panjang gelombang 400 – 600 nm

Penentuan Kurva Baku Kuersetin

Larutan induk kuersetin 1000 ppm dibuat menjadi beberapa konsentrasi diantaranya 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, dan 60 ppm. Kemudian dipipet 0.5 mL dari masing-masing seri konsentrasi, tambahkan $AlCl_3$ 10% 0,1 mL dan 1mL CH_3COOK 1 M ditambahkan etanol 96% sampai tanda batas labu takar 5 mL, inkubasi pada *range operating time* dan dilakukan pembacaan absorbansinya pada panjang gelombang maksimal.

Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Stevia

Sebanyak 0,25 g sampel ditimbang dan dilarutkan dalam masing-masing pelarut etanol 30%, 50%, 70%, dan 90%, kedalam labu takar 100mL. Sehingga diperoleh konsentrasi 2500 ppm. Kemudian dilakukan preparasi sampel dengan cara mengambil larutan ekstrak 0,5mL, ditambahkan 0,1 mL $AlCl_3$ 10%, 1 mL CH_3COOK , lalu di tambahkan akuades hingga tanda batas labu takar 5 mL.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Simplisia yang digunakan adalah daun stevia (*Stevia Rebaudiana*(Bertoni)). Simplisia daun stevia yang telah diperoleh kemudian diblender halus menggunakan *grinder blender*. Simplisia yang sudah halus diekstraksi menggunakan metode maserasi, simplisia di

rendam dengan konsentrasi pelarut 30%, 50%, 70%, dan 90% sebanyak 1 L selama 1x24 jam. Diaduk selama setiap 8 jam sekali, lalu disaring menggunakan kain flanel dan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dilakukan *rotary evaporator* pada suhu 60°C dengan tekanan 100 mBar, setelah kadar etanol ekstrak habis kemudian hasil ekstrak dikeringkan diatas *waterbath* sampai diperoleh ekstrak kental.

Tabel 1. Hasil Kadar Air dan Rendemen Ekstrak Daun Stevia

Konsentrasi (%)	Kadar Air (%)	Rendemen (%)
30	14,65	44,56
50	14,58	20,92
70	11,64	37,90
90	13,74	18,17

Ekstrak kental dilakukan pengukuran rendemen dan kadar air bertujuan untuk mengetahui kandungan air dalam ekstrak. Hasil rendemen dan kadar air yang diperoleh dari ekstrak daun stevia yang tertinggi pada konsentrasi 30% yaitu 44,56% dan. 14,65%. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai kadar rendemen dan kadar, maka semakin tinggi tingkat kepolaran dari pelarut maka daya ekstraksi akan semakin bagus (Cikita, *et al.*, 2016). Hal tersebut juga bisa disebabkan oleh semakin menurunnya konsentrasi etanol, kandungan air dalam etanol semakin meningkat dimana pelarut semakin polar (Fauziyah, *et al.*, 2022).

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui metabolit sekunder dalam ekstrak. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun stevia dengan variasi konsentrasi pelarut etanol 30%, 50%, 70%, dan 90% pada uji senyawa alkaloid, saponin, fenolik dan tanin dengan variasi konsentrasi pelarut menunjukkan hasil positif mengandung senyawa tersebut. Pada hasil penelitian oleh (Samosir *et al.*, 2024), hasil uji tanin dan saponin adalah positif. Pada hasil penelitian Howlader *et al.*, (2016), hasil uji senyawa fenolik, flavonoid, dan alkaloid adalah positif.

Tabel 2. Skrining Fitokimia Daun Stevia

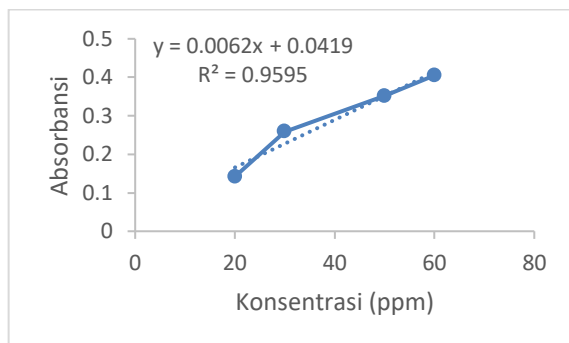
Nama Senyawa	Hasil Uji			
	Etanol 30%	Etanol 50%	Etanol 70%	Etanol 90%
Alkaloid	+	+	+	+

Saponin	+	+	+	+
Fenolik	+	+	+	+
Tanin	+	+	+	+
Flavonoid	-	-	-	+

Analisis kuantitatif senyawa flavonoid dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis untuk mengetahui kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol daun stevia. Dalam daun stevia terdapat flavonoid yang mengandung senyawa aromatik terkonjugasi pada pengujian menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga serapan pada spektrum sinar ultraviolet kuat (Aminah *et al.*, 2017).

Pengukuran kadar flavonoid ekstrak daun stevia dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum, hasil yang diperoleh dari penentuan kadar flavonoid pada panjang gelombang 436 nm dan nilai absorbansi 0,379. Hasil persamaan regresi linear yaitu $y = 0,0061x + 0,0416$ dengan nilai r^2 0,95996 seperti pada Gambar 1.

Berdasarkan hasil pengukuran kurva baku kuersetin, menunjukkan bahwa konsentrasi 60 ppm memiliki absorbansi tertinggi, dimana semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin tinggi nilai absorbansi yang diperoleh.



Gambar 1. Kurva Baku Kuersetin

Kuersetin merupakan golongan senyawa polar namun memiliki kelarutan rendah dalam air dan lebih larut pada senyawa alkohol dan pelarut organik. Kuersetin termasuk ke dalam golongan senyawa flavonoid dan dapat larut dalam pelarut etanol. Kuersetin memiliki sifat kelarutan yang sama dengan pelarut etanol sehingga dapat terlarut menggunakan pelarut tersebut (etanol) (Yunita & Khodijah, 2020).

Tabel 3. Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Stevia

Konsentrasi (%)	Absorbansi	X (ppm)	Kadar (%)
30	0,142	34,932	0,0426
50	0,259	62,272	0,0594
70	0,352	65,306	0,0606
90	0,405	80,125	0,0880

Hasil kadar flavonoid total yang diperoleh perbedaan konsentrasi pelarut etanol 30% sebesar 0,4226%, etanol 50% sebesar 0,0594%, etanol 70% sebesar 0,0606%, dan etanol 90% sebesar 0,0880%, dapat dilihat pada Tabel 3. Penelitian oleh yang dilakukan oleh (Riwanti, *et al.*, 2020), menunjukkan bahwa kadar flavonoid total yang diperoleh untuk ekstrak etanol 50%, 70% dan 96% berturut-turut adalah 0,0539%, 0,1300%, dan 0,1180% sehingga dapat disimpulkan bahwa kadar flavonoid total paling tinggi terdapat pada ekstrak etanol 70%. Berdasarkan hasil yang diperoleh maka nilai kadar flavonoid mengalami kenaikan kadar berdasarkan konsentrasi pelarut yang digunakan.

KESIMPULAN DAN SARAN

a. Kesimpulan

Berdasarkan hasil kadar flavonoid total daun stevia yang didapatkan dengan berbagai konsentrasi pelarut etanol 30%, 50%, 70%, dan 90% yaitu 0,0426 %, 0,0594%, 0,0606%, dan 0,0880%. Dari keempat konsentrasi yang digunakan kadar total flavonoid yang tertinggi pada konsentrasi 90%.

b. Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah melakukan pengujian *trial and error* agar lebih teliti dalam menentukan konsentrasi pelarut yang digunakan, pengujian dilakukan oleh satu penguji.

DAFTAR PUSTAKA

- Aminah, Tomayahu, N., & Abidin, Z. (2017). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea Americana* Mill.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. In *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 4(2).
- Apriyati, E., Murdiati, A., & Priyanto Triwitono. (2022). Pengaruh Lama Waktu Maserasi Terhadap Kadar Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor. *Jurnal Teknologi Pangan*, 16(1).

- Cikita, I., Hasibuan, I. H. & Hasibuan, R., 2016. Pemanfaatan Flavonoid Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus Androgynus* (L) Merr) Sebagai Antioksidan Pada Minyak Kelapa. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 5(1).
- Fauziyah, N., Sutresna, Y. & Widysanti, A., 2022. Kajian Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Karakteristik Oleoresin Ampas Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roscoe) Limbah Penyulingan. *Teknotan*, 16(3).
- Howlader, M. M. S., Ahmed, S. R., Kubra, K., & Bhuiyan, M. K. H. (2016). Biochemical and phytochemical evaluation of *Stevia rebaudiana*. *Asian Journal of Medical and Biological Research*, 2(1), 121–130. <https://doi.org/10.3329/ajmbr.v2i1.27577>
- Putri, Y. D., Kartamihardja, H., & Lisna, I. (2019). Formulasi dan Evaluasi Losion Tabir Surya Ekstrak Daun Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni M). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 6(1), 32. <https://doi.org/10.25077/jsfk.6.1.32-36.2019>
- Ramadayani, N. A., Aniar, M., & Swasono, H. (2023). Pengaruh Kombinasi Ciplukan (*Physalis angulata* L) dan Daun Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) Terhadap Sifat Kimia dan Organoleptik pada Teh Alami. In *Jurnal Multidisiplin West Science*, 2(8).
- Riwanti, P., Izazih, F. & Amaliyah, 2020. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50,70 dan 96% *Sargassum polycystum* dari Madura. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 2(2).
- Samosir, S. R., Auliafendri, N., Iva, M., & Naibaho, D. (2024). Uji Efektivitas Antioksidan Dari Kombinasi Ekstrak Daun Stevia (*Stevia Rebaudiana* (Bertoni) Bertoni) Dan Daun Teh Hijau (*Camellia Sinensis* (L.) Kuntze) Dengan Menggunakan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil), 7(2). Online. <https://jurnal.uimedan.ac.id/index.php/JURNALFARMASI> <https://jurnal.uimedan.ac.id/index.php/JURNALFARMASI>
- Tim Dosen Pengampu. (2024). *Petunjuk Praktikum Fitokimia*. Politeknik Indonusa Surakarta.
- Yunita, E., & Khodijah, Z. (2020). Pengaruh Konsentrasi Pelarut Etanol saat Maserasi terhadap Kadar Kuersetin Ekstrak Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) secara Spektrofotometri UV-Vis Effect of the Different Ethanol Concentration during Maceration on Quercetin Level of Tamarind (*Tamarindus indica* L.) Leaves Extract by Spectrophotometry UV-Vis. In *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 17(20).