

PENGARUH pH TERHADAP KADAR FLAVONOID PADA GEL EKSTRAK DAUN KITOLOD (*Hipobroma longiflora* (L) G.Don)

Praptanti Sinung Adi Nugroho¹⁾, Ahmad Syaifudin²⁾

^{1,2}Program Studi D3 Farmasi Politeknik Indonusa Surakarta

^{1,2}Jl. Palem No. 8, Jati, Cemani, Sukoharjo, Surakarta

Email: ²ahmad.ssaif9@gmail.com

Abstrak

Tumbuhan kitolod (*Hipobroma longiflora* (L) G.Don) mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan saponin. Kandungannya dipercaya sebagai obat tetes mata, padahal obat herbal dilarang pemerintah apabila dijadikan sebagai obat tetes mata. Oleh karena itu, penelitian ini memberi alternatif sediaan obat yang dapat dipakai sebagai antibakteri topikal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan pH terhadap kadar flavonoid gel ekstrak daun kitolod. Penelitian berbentuk deskriptif eksperimental. Ekstrak etanol daun kitolod diperoleh dengan soxhletasi menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak kental daun kitolod digunakan sebagai zat aktif sediaan gel dengan konsentrasi ekstrak 5%. Pengukuran kadar flavonoid dalam sediaan gel digunakan kurva baku kuersetin dengan konsentrasi 0,5 ppm; 1 ppm; 1,5 ppm; dan 2 ppm. Larutan baku kuersetin diukur serapannya dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal (λ_{\max}) = 442 nm, didapatkan persamaan regresi linier $y = 0.175x + 0.317$. Kandungan flavonoid pada masing-masing sediaan gel yaitu F1 = 0,0090%, gel F2 = 0,0062%, dan gel F3 = 0,0002%. Hasilnya pH dapat mempertahankan kadar flavonoid pada sediaan gel ekstrak daun kitolod yaitu kadar flavonoid tertinggi pada F1 dengan pH 5,4.

Kata kunci: kitolod, gel, flavonoid, spektrofotometer UV-Vis

PENDAHULUAN

Infeksi adalah suatu keadaan saat tubuh kemasukan bibit penyakit (bakteri) sehingga menimbulkan gejala demam atau panas tubuh sebagai suatu reaksi tubuh menolak antigen (bakteri) agar dapat melumpuhkan atau mematikan bakteri tersebut. Apabila gejala demam bersifat mendadak, maka disebabkan oleh infeksi virus, tetapi apabila demam terjadi secara bertahap atau lambat, maka disebabkan oleh infeksi bakteri. Tubuh yang pernah menderita penyakit demam biasanya menimbulkan kekebalan atau imunitas pada tubuh.

Penyakit infeksi merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk negara berkembang, termasuk Indonesia (Radji, 2011). Infeksi disebabkan oleh bakteri, virus, jamur, protozoa, atau beberapa kelompok minor lain (mikroplasma, riketsia, dan klamidia) (Gould & Brooker, 2003). Penggunaan obat secara terus menerus yang tidak sesuai dengan ketentuan dapat menyebabkan munculnya sifat resisten pada bakteri patogen.

Kementerian Kesehatan Indonesia menyatakan kematian bayi (31,6%) dan balita (25,2%) disebabkan oleh diare (Agtini, 2011). *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri gram positif berbentuk kokus yang merupakan bakteri patogen bagi manusia. *Staphylococcus aureus* penyebab 70% kasus infeksi nosokomial (Kayser dkk., 2005). *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan infeksi pada kulit dan jaringan lunak secara invasif seperti pneumonia, osteomielitis, meningitis dan endokarditis (Bartlett & Hulten, 2010).

Tanaman kitolod merupakan tanaman yang berpotensi sebagai obat herbal untuk mengobati infeksi karena jamur dan bakteri. Ekstrak etanol 96% daun kitolod (*Hipobroma longiflora* (L) G.Don) mengandung senyawa kimia seperti alkaloid, saponin, flavonoid dan polifenol (Ali, 2003). Ekstrak etanol daun kitolod telah dibuktikan secara ilmiah dapat menunjukkan daya hambat terhadap jamur *Candida albicans* pada konsentrasi 25%-75% (Febrian dkk., 2016). Fauzia juga telah

membuktikan bahwa ekstrak etanol daun kitolod memiliki aktivitas antituberculosis yang baik pada konsentrasi 10%-50% (Fauzia dkk., 2017). Aditya juga menyebutkan dalam jurnal penelitiannya bahwa isolat flavonoid dapat menunjukkan daya hambat yang baik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Aditya dkk., 2017).

Potensi daun kitolod untuk dijadikan bahan obat untuk mencegah penularan dan pengobatan terhadap suatu penyakit akibat bakteri dan jamur cukup bagus. Hal ini membuat penulis tertarik untuk membuat sediaan gel dari ekstrak etanol daun kitolod karena sediaan gel lebih nyaman dipakai dan praktis sebagai antibakteri lokal dengan mempertimbangkan pengaruh derajat keasaman (pH) terhadap kadar flavonoid sediaan. Diharapkan dengan penentuan pH gel yang tepat, dapat menghasilkan efek terapi sesuai dengan yang dikehendaki.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat uji daya lekat, alat uji daya proteksi, alat uji daya sebar, alat uji homogenitas, batang pengaduk, blender, botol maserasi, corong, gelas kimia, gelas ukur, labu takar 25 ml, lumpang dan alu, mikro pipet, neraca analitik, oven, penangas, pipet tetes, dan Spektrofotometer UV-Vis.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah akuades, asam sitrat, natrium sitrat, carbomer, daun kitolod (*Hipobroma longiflora* (L) G.Don), etanol 96%.

Pembuatan Ekstrak

Simplisia daun kitolod dilakukan ekstraksi dengan menggunakan metode soxhletasi selama 5 jam dengan perbandingan simplisia:pelarut (1:5). Pelarut yang digunakan yaitu etanol 96%. Pemilihan etanol 96% karena etanol 96% dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa flavonoid, alkaloid, antrakuinon, saponin, glikosida. Etanol 96% juga biasa digunakan untuk mengekstraksi senyawa kimia mulai dari yang kurang polar, semi polar, dan polar agar hasilnya dapat maksimal (Siswarni dkk., 2017). Remaserasi dilakukan sebanyak 1 kali 24 jam dengan tujuan penyarian yang dihasilkan lebih efisien.

Pembuatan dan Evaluasi Sediaan Gel

Tabel 1. Formulasi Sediaan Gel

Nama Bahan	Formula dan Komposisi (%b/v)		
	F1	F2	F3
Ekstrak daun kitolod	5	5	5
Carbomer	2	2	2
Gliserin	5	5	5
Propilenglikol	5	5	5
Metil paraben	0,04	0,04	0,04
Trietanolamin	2	2	2
Asam sitrat	0,2	0,6	1
Natrium sitrat	0,2	0,6	1
Akuades ad	100	100	100

Carbomer ditambah air suhu 90°C dan diaduk pada kecepatan 1200 rpm selama 90 menit sampai homogen kemudian didiamkan 24 jam, ditambah gliserin dan propilenglikol. Ekstrak daun kitolod dan metil paraben dilarutkan dalam sebagian air yang telah dipanaskan di penangas air, kemudian ditambah trietanolamin dan akuades kemudian ditambahkan ke basis gel yang sudah terbentuk, diaduk sampai terbentuk gel yang homogen dan dikemas dalam wadah gel (Rowe, 2009).

Evaluasi sediaan gel meliputi:

Uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji daya sebar, uji daya lekat, pengukuran kadar flavonoid (Uji Kualitatif Flavonoid, Uji Kuantitatif Flavonoid).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pH terhadap kadar flavonoid dalam gel ekstrak daun kitolod. Analisis dilakukan dengan metode Spektrofotometri UV-Vis dan kuersetin sebagai larutan baku untuk mengukur kadar flavonoid dalam sediaan gel. Penggunaan Spektrofotometer UV-Vis bertujuan untuk mengukur kadar flavonoid dalam sediaan gel karena mempunyai selektifitas yang tinggi, dapat menganalisis larutan dengan konsentrasi yang sangat kecil dan waktu analisis yang cepat.

Dalam penelitian pada tahap awal dilakukan pengukuran panjang gelombang optimum. Panjang gelombang kuersetin berkisar antara 300-500 nm dengan beberapa konsentrasi. Pengukuran panjang gelombang

optimum dalam penelitian bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang maksimum berdasarkan puncak absorpsi yang paling tinggi. Pengukuran panjang gelombang maksimum digunakan larutan induk kuersetin 6 ppm yang sudah diinkubasi dan diperoleh, $\lambda_{\text{max}} = 442 \text{ nm}$. Hal ini sudah sesuai dengan literatur jurnal yang menyebutkan bahwa panjang gelombang dari kuersetin adalah 440 nm. Perbedaan hasil optimasi λ_{max} hasil penelitian dengan literatur disebabkan oleh perbedaan spesifikasi bahan dan alat yang digunakan dalam pengukuran panjang gelombang maksimal kuersetin.

Identifikasi kandungan senyawa flavonoid dalam ekstrak kental. Identifikasi dilakukan menggunakan metode kualitatif untuk mengetahui ada tidaknya kandungan flavonoid di dalam ekstrak. Mula-mula ekstrak diencerkan dengan etanol 96%, kemudian dimasukkan sedikit logam magnesium dan ditetesi asam klorida (HCl) pekat 3-5 tetes. Pengenceran ekstrak dilakukan untuk melihat perubahan warna yang terjadi setelah adanya reaksi flavonid dengan logam magnesium. Apabila terlalu pekat, perubahan warna yang timbul akibat reaksi flavonoid dengan logam magnesium tidak terlihat. Penambahan logam magnesium dan HCl pekat digunakan untuk mengetahui adanya flavonoid dalam ekstrak daun kitolod. Mekanismenya adalah logam magnesium akan memutus inti benzen piron dengan syarat dalam suasana asam (dengan penambahan HCl). Hasilnya positif mengandung flavonoid karena warna yang timbul adalah oranye.

Evaluasi Gel Ekstrak Daun Kitolod

Evaluasi sediaan gel ekstrak daun kitolod meliputi uji organoleptis, homogenitas, pH, daya lekat, daya sebar, dan daya proteksi. Pengujian dilakukan tiga kali replikasi pada setiap sediaan gel.

Organoleptis

Evaluasi organoleptis digunakan untuk memeriksa ada atau tidaknya perubahan sediaan fisik gel berupa warna, bentuk, bau, dan akseptabilitas. Uji organoleptis meliputi bentuk, warna, bau, dan akseptabilitas. Pada evaluasi organoleptis ketiga sediaan memiliki hasil yang sama yaitu:

Tabel 2. Hasil Uji Organoleptik

Bentuk	gel
Warna	cokelat
Aroma	Khas daun (semacam teh)
Akseptabilitas	ketika dioles berasa dingin dan sedikit lengket, namun setelah gel meresap sempurna, akan membuat bagian kulit yang dioles terasa halus.

Homogenitas

Digunakan untuk memeriksa sediaan homogen atau tidak berdasarkan warna dan keseragaman bentuk dalam sediaan. Uji homogenitas mengamati keseragaman partikel pada sediaan gel ekstrak daun kitolod. Pada evaluasi organoleptis ketiga sediaan memiliki hasil yang sama yaitu homogen.

Daya Lekat

Hasil pengujian daya lekat gel disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Daya Lekat

Uji Daya Lekat	F1 (detik)	F2 (detik)	F3 (detik)
1	16	5,2	5
2	13	3,7	2,8
3	10	1	1
Rata-rata	13	3,3	2,9

Pada Tabel 3 dapat dilihat bahwa hasil pengujian daya lekat paling tinggi pada sediaan F1, dan mengalami penurunan pada F2 dan F3. Penurunan ini terjadi karena semakin rendah pH sediaan, maka konsistensi sediaan gel semakin encer dan kemampuan daya lekatnya menurun. Hasil uji daya lekat paling baik adalah pada F1 dengan waktu 13 detik.

Daya Sebar

Uji daya sebar dilakukan untuk mengetahui kecepatan penyebaran gel pada kulit saat dioleskan pada kulit. Hasil pengujian daya sebar dapat disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Daya Sebar

Beban (gram)	Uji Daya Sebar	F1 (cm)	F2 (cm)	F3 (cm)
33,86	1	2,4	3	3,4
	2	2,4	2,6	3,5
	3	2,4	2,5	3,6
	Rata-rata	2,4	2,7	3,5
83,86	1	2,8	3,5	4,2
	2	3,1	3,7	4,3
	3	3	3,7	4,4
	Rata-rata	2,9	3,6	4,3
133,86	1	3,3	4	5
	2	3,6	4,1	5
	3	3,4	4,2	5
	Rata-rata	3,4	4,2	5
183,86	1	3,6	4,2	5,1
	2	4	4,3	5,3
	3	4	4,4	5,2
	Rata-rata	3,8	4,3	5,2
233,86	1	3,7	4,7	5,7
	2	4,1	4,8	5,3
	3	4,2	4,6	5,5
	Rata-rata	4	4,7	5,5

Pada Tabel 4 dapat dilihat bahwa rata-rata hasil pengujian daya sebar tertinggi adalah sediaan F3. Hal ini sudah sesuai dengan persyaratan yang ada yaitu 5-7 cm. Perbedaan hasil uji daya sebar dikarenakan semakin rendah pH sediaan, maka konsistensi sediaan gel semakin encer dan kemampuan daya sebarannya semakin luas. Hasil uji daya sebar paling luas adalah pada F3 dengan diameter penyebaran 5,5 cm.

Daya Proteksi

Uji daya proteksi digunakan untuk mengamati kemampuan gel dalam melindungi kulit dari pengaruh luar. Hasil pengujian daya proteksi secara triplo terlihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Daya Proteksi

Uji Daya Proteksi	F1 (detik)	F2 (detik)	F3 (detik)
1	10	11	4
2	24	5	4
3	10	4	5
Rata-rata	14,6	6,6	4,3

Pada Tabel 5 dapat dilihat bahwa rata-rata hasil pengujian daya proteksi tertinggi adalah sediaan F1. Secara umum sediaan gel tidak memiliki daya proteksi yang baik, karena komponen penyusun gel yang paling besar adalah air, sehingga sediaan gel cenderung tidak memiliki daya proteksi yang baik.

pH

Uji pH dilakukan untuk mengetahui tingkat keasaman sediaan gel dan untuk menjamin sediaan gel tidak menyebabkan iritasi pada kulit. pH sediaan yang memenuhi kriteria pH kulit yaitu dalam interval 4-6. Hasil pengujian pH secara triplo terlihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji pH

Pengujian	F1	F2	F3
1	5,3	5	4,8
2	5,4	5,2	4,8
3	5,5	5,1	4,8
Rata-rata	5,4	5,1	4,8

Pada Tabel 6 dapat dilihat bahwa rata-rata hasil pengujian pH sudah sesuai dengan persyaratan pH kulit yaitu di antara 4-6. Ketiga sediaan gel sudah memenuhi persyaratan pH sediaan.

Pengukuran Kadar Flavonoid

Pengukuran kadar flavonoid pada gel ekstrak daun kitolod dengan Spektrofotometer UV-Vis. Dimulai dengan pembuatan kurva baku kuersetin, sehingga didapatkan regresi linier kurva baku. Persamaan digunakan untuk menghitung kadar flavonoid dalam gel berdasarkan absorbansi sampel yang didapat.

Pembuatan Kurva Baku Kuersetin

Kurva baku kuersetin dilakukan dengan membuat larutan standar konsentrasi 0,5 ppm; 1 ppm; 1,5 ppm; 2 ppm; dan 2,5 ppm. Larutan standar kuersetin didapat dari pengenceran larutan induk 1000 ppm. Sebelum dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis, terlebih dahulu diinkubasi dengan larutan kalium asetat 10% dan aluminium klorida 10%. Pengukuran dengan Spektrofotometri UV-Vis dilakukan dengan mencari panjang gelombang maksimal, didapatkan panjang gelombang maksimal (λ) = 442 nm pada konsentrasi larutan 6 ppm.

Absorbansi yang terbaca pada Spektrofotometer UV-Vis hendaknya diantara 0,2 sampai 0,8 atau 20% sampai 80% jika dibaca sebagai transmittan. Anjuran ini berdasarkan kesalahan dalam pembacaan T adalah 0,05 atau 0,5%. Hasil pengukuran absorbansi terlihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Pengukuran Kurva Standar Kuersetin

No	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (A)
1	0,5	0,431
2	1	0,483
3	1,5	0,528
4	2	0,695
5	2,5	0,763

Pada kurva standar persamaan regresi linier pada pengukuran absorbansi adalah $y = 0,1752x + 0,3172$

Keterangan: $a = 0,1752x$
 $b = 0,3172$
 $r = 0,9731$

Pengukuran Kadar Flavonoid dalam Gel

Penetapan kadar flavonoid pada gel dilakukan dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis. Gel dilarutkan dalam akuades dan dikocok sampai homogen, selanjutnya ditambah dengan larutan kalium asetat 10% dan aluminium klorida 10% kemudian diinkubasi selama 30 menit. Larutan uji diukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimal (λ_{max}) = 442 nm. Konsentrasi dihitung berdasarkan persamaan regresi linier yang didapatkan pada penentuan kurva baku. Hasil pengukuran absorbansi sampel terlihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil Pengukuran Flavonoid Gel Ekstrak Daun Kitolod

Gel	Absorbansi	Rata-rata	Kadar Flavonoid (%)
F1	0,474	0,475	0,0090
	0,475		
	0,476		
F2	0,425	0,426	0,0062
	0,426		
	0,428		
F3	0,320	0,321	0,0002
	0,321		
	0,322		

Berdasarkan hasil pengukuran dan perhitungan pada Tabel 8, dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan konsentrasi flavonoid pada ketiga formula. Data kadar flavonoid didapatkan pada F1 = 0,0090%; F2 = 0,0062%; dan F3 = 0,0002%. Secara deskriptif, terdapat pengaruh pH terhadap kadar flavonoid gel ekstrak daun kitolod. Gel F1 dapat

mempertahankan kadar flavonoid paling baik dengan pH gel 5,4.

Kadar flavonoid yang berbeda pada ketiga sediaan gel dikarenakan perbedaan konstanta dielektrik pada variasi pH dalam sediaan gel ekstrak daun kitolod. Semakin rendah pH sediaan, semakin rendah pula konstanta dielektrik kepolaran sediaan, sehingga kadar flavonoid dalam gel semakin menurun. Flavonoid dalam ekstrak daun kitolod dapat terjaga dengan baik apabila konstanta dielektrik kepolaran dalam sediaan gel sesuai dengan konstanta dielektrik kepolaran flavonoid (Suci, 2017).

Pengukuran kadar flavonoid menggunakan metode Spektrofotometer UV-Vis dengan penambahan $AlCl_3$ dan kalium asetat. Mekanisme dari metode ini adalah terbentuknya kompleks $AlCl_3$ dengan flavonoid yang menghasilkan kompleks warna. Pemeriksaan dengan $AlCl_3$ hanya dapat digunakan untuk mendeteksi flavonoid dengan gugus orto dihidroksi dan hidroksi karbonil atau yang hanya memiliki gugus orto dihidroksi saja (Suci, 2017).

KESIMPULAN

Dalam penelitian yang telah dilakukan terhadap ketiga formula gel ekstrak daun kitolod, terdapat pengaruh perbedaan pH terhadap kadar flavonoid. Dimana kandungan flavonoid gel F1 = 0,0090%, gel F2 = 0,0062%, dan gel F3 = 0,0002%. Kadar flavonoid tertinggi didapat pada F1 dengan pH gel 5,4.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditya, C.N., Agung, T.P., & Sri, M. (2017). Isolasi, identifikasi, uji aktivitas senyawa flavonoid sebagai antibakteri dari daun mangga. *Indonesian Journal of Chemical Science*. ISSN 2502-6844, 6(2): 91-96.
- Agcini, M.D. (2011). *Morbiditas dan mortalitas diare pada balita di indonesia tahun 2000-2007*. Jakarta: Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan.
- Ali, I. (2003). *Khasiat dan manfaat kitolod penakluk gangguan pada mata*. Jakarta: Agro Media Pustaka.

- Bartlett, M.D., & Kristina, G.H. (2010). *Staphylococcus aureus pathogenesis secretion systems, adhesins, and invasins*, The Pediatric Infectious Disease.
- Fauzia. N.A., Sri, A.F.K., & Yopi, I. (2017). Anti tuberculosis activity test of kitolod leaf etanol extract (*Laurentia longiflora* (L.) Peterm.). *USEAS*. ISSN 239-3470, 3(7): 76-82.
- Gould, D. & Brooker, C. (2003). *Mikrobiologi terapan untuk perawat*. Jakarta: EGC.
- Kayser, F.H. (2005). *Color atlas of medical microbiology*. New York: Thieme.
- Radji, M. (2011). *Mikrobiologi panduan mahasiswa farmasi & kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Suci, N.R., & Ismiyati. (2017). Pengaruh variasi pH terhadap kadar flavonoid pada ekstraksi propolis dan karakteristiknya sebagai antimikroba. *Jurnal Konversi*. ISSN: 2252-7311. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Jakarta.