

**PENETAPAN KADAR FENOLIK TOTAL DAN KADAR TANIN TOTAL
EKSTRAK ETANOL 96% DAUN WIJAYA KUSUMA (*Epiphyllum
oxypetalum* (DC.) Haw.) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI**

**DETERMINATION OF TOTAL PHENOLIC LEVELS AND TOTAL TANIN
CONTENTS OF 96% ETHANOL EXTRACT WIJAYA KUSUMA LEAF
(*Epiphyllum oxypetalum* (DC.) Haw.) USING SPECTROPHOTOMETRY
METHOD**

¹Agustin Yumita*, ²Ni Putu Ermi Hikmawanti, ³Riskha Fitri Andini, ⁴Iis Nurwiati
^{1,2,3,4}Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA,
Jalan Delima II/IV Jakarta Timur, Indonesia 13460.

Info Artikel

Sejarah Artikel :

Submitted: 2021-12-18

Accepted: 2023-12-07

Publish Online: 2023-
12-23

Kata Kunci:

Fenolik, Tanin,
Spektrofotometri,
*Epiphyllum
oxypetalum*.

Keywords:

Phenolics, Tannins,
Spectrophotometry,
*Epiphyllum
oxypetalum*.

Abstrak

Latar belakang: Indonesia memiliki berbagai macam tanaman hias, salah satunya merupakan spesies kaktus. Spesies kaktus yang paling banyak dibudidayakan adalah *Epiphyllum oxypetalum* (DC.) Haw. atau dikenal dengan nama Wijaya Kusuma. Berdasarkan uji fitokimia, ekstrak etanol daun Wijaya Kusuma dilaporkan mengandung senyawa golongan flavonoid, fenol, tanin dan saponin. **Tujuan:** Ekstrak etanol 96% daun wijaya kusuma akan ditentukan kadar fenolik total dan kadar tannin total menggunakan metode spektrofotometri. **Metode:** Penentuan kadar fenolik total menggunakan metode Folin-Ciocalteu dan asam galat sebagai pembanding. Penentuan kadar tannin total dengan metode Vanilin-HCl dan katekin sebagai pembanding. **Hasil:** Hasil penapisan fitokimia dan identifikasi KLT mengandung senyawa fenol dan tannin. Kadar fenolik total ekstrak etanol daun *E. oxypetalum* sebesar $369,7 \pm 57,675$ mg GAE/g ekstrak, sedangkan kadar tannin total sebesar $31,56 \pm 1,285$ %b/b EK. **Simpulan:** Ekstrak etanol 96% daun Wijaya Kusuma menunjukkan hasil positif mengandung fenolik dan tannin yang ditunjukkan dengan kadar total senyawa tersebut.

Abstract

Background: One of the numerous ornamental plants found in Indonesia is a cactus variety. The most extensively cultivated cactus species is *Epiphyllum oxypetalum* (DC.) Haw., often known as Wijaya Kusuma. Based on phytochemical screening, it is known that the ethanolic extract of Wijaya Kusuma contains flavonoids, phenolic, tannins and saponins. **Objective:** The total phenolic content and total tannin content of a 96 percent ethanol extract of wijaya kusuma leaves will be measured using spectrophotometric techniques. **Method:** Total phenolic content was measured using the Folin-Ciocalteu method with gallic acid as a comparison, and total tannin content was measured using the Vanilin-HCl method with catechin as a comparison. **Results:** The results of phytochemical screening and TLC identification contained phenolic compounds and tannins. The total phenolic content of the *E. oxypetalum* leaf extract was 369.7 ± 57.675 mg GAE/g extract, while the total tannin content was 31.56 ± 1.285 %w/w EK. **Conclusions:** The 96% ethanol extract of Wijaya Kusuma leaves showed positive results containing phenolic and tannin as indicated by the total content of these compounds.

PENDAHULUAN

Lingkungan memberikan banyak manfaat bagi kehidupan manusia. Pemanfaatan perkarangan merupakan salah satu bentuk eksplorasi sumber daya alam serta lingkungan yang telah memberikan banyak kebaikan pada manusia dan makhluk hidup lainnya (Nurmayulis & Hermita, 2015).

Menurut (Atmojo, 2015) menyebutkan bahwa masyarakat memiliki pengetahuan bagaimana memanfaatkan tanaman sebagai obat yang kebanyakan hanya terbatas pada pengetahuan empiris yang merupakan bentuk komunikasi masyarakat terhadap lingkungannya terutama pada tumbuhan. Salah satu tanaman yang dimanfaatkan masyarakat Indonesia adalah *Epiphyllum oxypetalum* (DC.) Haw. atau yang lebih dikenal dengan nama wijaya kusuma. Wijaya kusuma merupakan tanaman yang termasuk spesies kaktus dalam keluarga cactaceae. Wijaya kusuma adalah tanaman kaktus hias yang banyak dibudidayakan dalam genusnya. Tanaman yang di Indonesia memiliki banyak makna mistis ini nyatanya merupakan tanaman asli Meksiko Selatan atau dikenal dengan sebutan *Queen of the Night* yang bunganya akan mekar di malam hari. Nama *oxypetalum* mengacu pada bentuk dari kelopak yang tajam (Dandekar et al., 2015; Devi et al., 2018).

Tanaman ini dilaporkan mempunyai beberapa aktivitas farmakologi yang cukup baik. Penelitian yang dilakukan (Dandekar et al., 2015) membuktikan bahwa ekstrak etanol daun wijaya kusuma mempunyai aktivitas antiinflamasi, analgesik, antioksidan dan antibakteri. Menurut Dwita et al., (2019) melaporkan daun wijaya kusuma efektif dalam mempercepat penyembuhan luka pada tikus diabetes dengan konsentrasi pemberian 20%. Sedangkan (Artini & Aryasa, 2019; Dwita et al., 2019) menyatakan bunga wijaya kusuma mampu menurunkan kadar asam urat pada dosis 400 mg/kgBB.

Fenolik adalah salah satu senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antoksidan alami dalam tumbuhan. Umumnya senyawa fenolik alami berupa polifenol, salah satunya adalah tannin (Dhurhanian & Novianto, 2018)). Tanin adalah senyawa metabolit sekunder yang kompleks yang sifatnya larut dalam air. Senyawa tanin mempunyai kemampuan dalam mengendapkan protein dan pengkelat logam (Ashok & Upadhyaya, 2012).

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, diketahui ekstrak etanol daun wijaya kusuma dilaporkan memiliki kandungan senyawa golongan flavonoid, fenol, tanin dan saponin (Devi et al., 2018). Senyawa fenolik dan tannin dilaporkan memiliki banyak aktivitas farmakologi yang cukup baik. Sehingga perlu dilakukan penentuan kadar fenolik total dengan tehnik spektrofotometri dengan menggunakan standar asam galat sebagai pembanding dan penentuan kadar tannin total dengan tehnik spektrofotometri dengan pembanding standar katekin terhadap ekstrak etanol daun *E. oxypetalum*.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Daun *Epiphyllum oxypetalum* (DC.) Haw segar diambil dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITRO, Bogor) dan dideterminasi di Pusat Pemanfaatan dan Inovasi Iptek, LIPI Cibinong, Jawa Barat. Etanol 96% (PT. RIV Chemicals, Indonesia), Etanol p.a (Merck KGaA, Jerman), dan asam galat dan katekin (Markherb, Indonesia) sebagai pembanding.

Peralatan yang dipakai selama penelitian yakni: maserator, blender Miyako BL-152GF, Indonesia), *Vacuum rotary evaporator* seri N-1200 BS (EYELA, Shanghai, Cina), *waterbath*

(LOKAL tipe H-WBE-8L), dan Spektrofotometer UV-Vis Seri UV-1601 (Shimadzu, Kyoto, Jepang).

Pembuatan Simplisia Daun *E. oxypetalum*

Daun *E. oxypetalum* segar disortasi basah yang kemudian dicuci bersih menggunakan air yang mengalir. Daunnya yang cukup tebal dirajang untuk mempermudah proses pengeringan. Pengeringan dilakukan selama \pm 12-14 hari dengan cara dikering-anginkan terhindar dari cahaya matahari langsung. Daun yang kering selanjutnya dihancurkan untuk memperkecil ukuran partikel menggunakan blender dan ukuran serbuk dihomogenkan menggunakan ayakan mesh 40.

Metode Ekstraksi Maserasi

Serbuk simplisia kering daun *E. oxypetalum* sebanyak 1500 gram dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% di suhu ruang. Sampel direndam selama 24 jam dimana 6 jam pertama dilakukan pengadukan secara berkala. Filtrat yang diperoleh disaring dengan kertas saring Whatmann dan residu diremaserasi sebanyak 3 kali pengulangan hingga tersari sempurna. Filtrat dipisahkan dengan *vacuum rotary evaporator* disuhu 50°C yang dilanjutkan dengan *waterbatch* disuhu 50°C untuk memperoleh ekstrak kental (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

Parameter Mutu Ekstrak Daun *E. oxypetalum*

Ekstrak etanol 96% daun *E. oxypetalum* dilakukan pengujian organoleptic, perhitungan rendemen ekstrak, susut pengeringan dengan metode gravimetri dan kadar abu dengan mengikuti prosedur yang tercantum dalam Farmakope Herbal Indonesia (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

Identifikasi Kualitatif Fenolik dan Tanin

Ekstrak etanol daun *E. oxypetalum* sebanyak 50 mg ditambahkan air panas sebanyak 10ml, disaring dan filtrat dibagi dalam 4 tabung. Identifikasi ini mengacu pada prosedur yang tercantum dalam (Hanani, 2015). Tabung I sebagai blanko, tabung II ditambahkan larutan gelatin 1% sebanyak 2-3 tetes, dan tabung III ditambahkan larutan NaCl-gelatin (larutan gelatin 1% dalam larutan NaCl 10%, perbandingan 1:1) sebanyak 2-3 tetes. Terbentuknya endapan putih menunjukkan adanya tannin dalam sampel. Tabung IV ditambahkan dengan pereaksi FeCl₃ yang jika positif ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman.

Identifikasi KLT Senyawa Fenol dan Tanin

Lempeng silica gel 60 F₂₅₄ yang sudah diaktivasi ditotolkan sampel ekstrak, asam galat sebagai standar fenolik dan katekin sebagai standar tannin. Fase gerak yang digunakan untuk uji kualitatif KLT senyawa fenolik adalah etil asetat : n-heksana dengan perbandingan 7:5. Sedangkan untuk identifikasi senyawa tannin fase gerak yang digunakan yaitu butanol : asam asetat : air dengan perbandingan 4:1:1 yang sudah dibuat sehari sebelumnya dan diambil lapisan atasnya. Spot noda diamati dibawah lampu UV 254nm dan lampu UV 366 nm. Penampak bercak yang digunakan yakni pereaksi FeCl₃ 5%.

Penentuan Kadar Fenolik dengan Spektrofotometri

Kadar fenolik total ekstrak etanol daun *E. oxypetalum* ditentukan dengan menggunakan pereaksi Folin ciocalteu yang kemudian diukur dengan spektrofotometer (Blainski et al., 2013). Pembuatan kurva kalibrasi menggunakan larutan asam galat sebagai standar dibuat rangkaian

konsentrasi 212, 370, 528, 686, dan 844 µg/ml. Hubungan konsentrasi larutan asam galat sebagai x dengan absorbansinya sebagai y diplot sampai diperoleh persamaan garis linier $y=bx\pm a$. Ekstrak etanol daun *E. oxypetalum* ditambahkan dengan pereaksi Folin ciocalteu yang telah diencerkan (1:10) dan larutan Na_2CO_3 7,5%, diinkubasi 60 menit selanjutnya diukur absorbansinya dengan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 741,00 nm disuhu ruang. Pengujian sampel dilakukan 3 kali pengulangan. Kadar fenolik total dinyatakan sebagai miligram ekuivalen asam galat tiap 1 gram ekstrak.

Penentuan Kadar Tanin dengan Spektrofotometri

Prosedur penentuan kadar tannin dengan metode ini mengacu pada prosedur (Nur, 2020). Larutan sampel dipipet sebanyak 1 ml dimasukan kedalam labu ukur 25ml, lalu ditambahkan 1 mL reagen vanilin 10% (dalam etanol 95%) dan ditambahkan 2 mL larutan HCl pekat. Larutan diinkubasi di suhu ruang selama 45 menit. Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 500 nm. Pengujian sampel dilakukan 3 kali pengulangan. Kadar tanin dihitung sebagai mg ekuivalen katekin (EC)/g ekstrak atau %b/b EK.

HASIL PENELITIAN

Pemeriksaan mutu ekstrak etanol 96% daun *E. oxypetalum* dapat dilihat pada **Tabel 1**. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase rendemen ekstrak sebesar 5,75%. Kadar abu total yang dilakukan dengan 3 kali pengulangan menunjukkan hasil 1,69% dan hasil susut pengeringan diperoleh 5,49%.

Hasil identifikasi kualitatif tannin dimana tabung II diberi penambahan gelatin dan tabung III diberi gelatin-NaCl menunjukkan hasil berupa terbentuknya endapan putih. Sedangkan tabung IV yang ditambahkan pereaksi FeCl_3 menunjukkan perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Hasil skrining ditunjukkan pada **Tabel 2**. Profil KLT sampel ekstrak dengan pembanding standar asam galat menunjukkan warna spot noda yang sama setelah disemprot dengan FeCl_3 dan nilai Rf keduanya 0,7. Sedangkan untuk profil KLT senyawa tannin menunjukkan nilai Rf sampel ekstrak etanol *E. oxypetalum* ketika diamati dibawah sinar UV254, dan setelah disemprot dengan FeCl_3 diperoleh nilai Rf 0,82, dan nilai Rf pada pembanding katekin baik di UV254, dan setelah disemprot FeCl_3 menunjukkan nilai Rf yang sama. Analisis dengan kromatografi lapis tipis sampel ekstrak etanol *E. oxypetalum* dengan pembanding standar dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 1. Paramater Mutu Ekstrak Etanol 96% Daun *E. oxypetalum*

No.	Jenis Uji	Hasil
1	Organoleptis	
	Bentuk	Ekstrak kental
	Warna	Coklat kehitaman
	Bau	Khas
	Rasa	Agak pahit
2	Rendemen Ekstrak	5,75%
3	Kadar abu total	1,69%
4	Susut Pengeringan	5,49%

Tabel 2. Hasil Identifikasi Kualitatif Fenolik - Tanin Ekstrak Etanol 96% Daun *E. oxypetalum*

No.	Pereaksi	Hasil
1	Gelatin 1%	+
2	Gelatin-NaCl	+
3	FeCl ₃	+

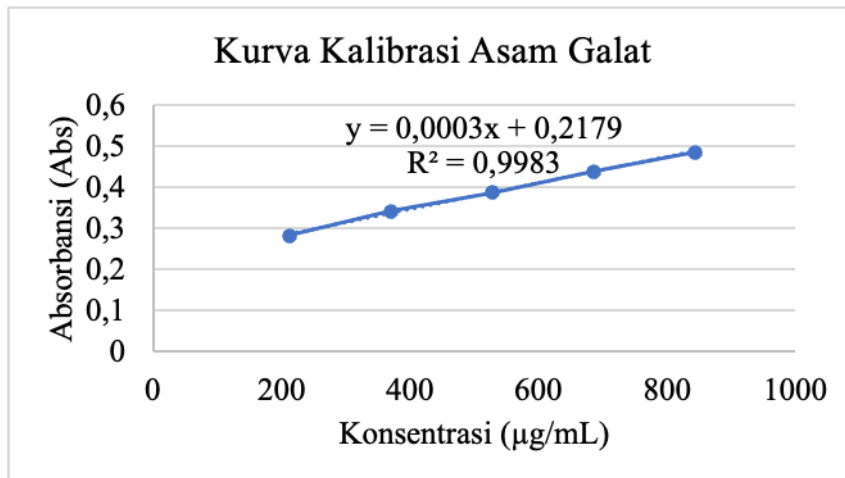
Tabel 3. Identifikasi Kualitatif KLT Fenolik dan Tanin ekstrak Etanol 96% Daun *E. Oxypetalum*

Sampel	Sebelum disemprot FeCl ₃ (UV254)	Setelah disemprot FeCl ₃	Nilai Rf
Fenolik			
Ekstrak Etanol 96% Daun <i>E. oxypetalum</i>	Coklat tua/Hitam	Hijau kecokelatan	0,7
Asam galat	Coklat tua/Hitam	Hijau kecokelatan	0,7
Tanin			
Ekstrak Etanol 96% Daun <i>E. oxypetalum</i>	Coklat tua/Hitam	Hijau kecokelatan	0,82
Katekin	Coklat tua/Hitam	Hijau kecokelatan	0,82

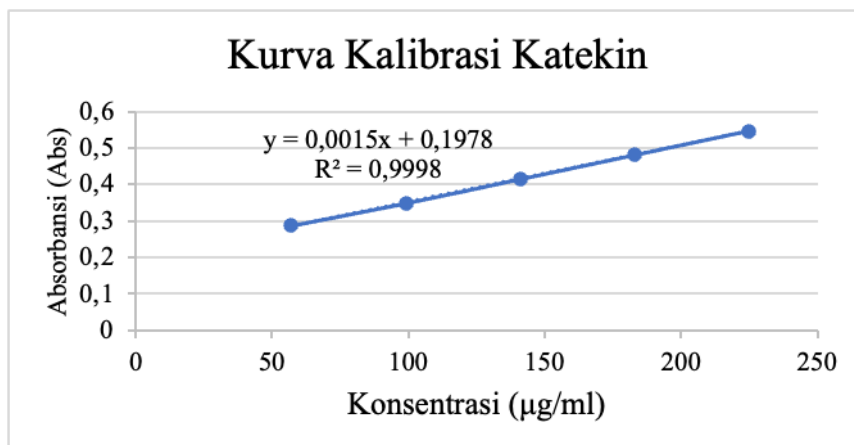
Berdasarkan **Gambar 1.** rentang konsentrasi asam galat yang digunakan adalah 212 – 847 ppm. Larutan standar asam galat adalah senyawa golongan fenolik turunan dari asam hidroksibenzoat yang sifatnya stabil dan sederhana (Sari & Ayuhecaria, 2017). Kurva kalibrasi asam galat menunjukkan persamaan regresi linier $y = 0,0003x \pm 0,2179$ dengan nilai R sebesar 0,9983. Dalam pengukuran senyawa fenolik total dilakukan 3 kali pengulangan dengan hasil kadar fenolik total senyawa ekstrak daun etanol *E. oxypetalum* adalah $369,7 \pm 57,675$ mg GAE/g ekstrak yang menyatakan dalam satu gram ekstrak etanol daun wijaya kusuma setara dengan 369,7 mg asam galat.

Berdasarkan **Gambar 2.** rentang konsentrasi katekin yang digunakan untuk penentuan kurva baku katekin adalah 57 ppm – 225 ppm. Kurva kalibrasi katekin menghasilkan persamaan garis linier $y = 0,015x + 0,1978$ dengan nilai $r = 0,9998$. Nilai r yang mendekati 1 menunjukkan persamaan regresi tersebut adalah linier. Kandungan tannin dalam sampel ditentukan berdasarkan penambahan reagen vanillin 10%. Sebagian besar senyawa katekin dan derivatnya dapat dideteksi dengan penambahan vanillin HCl yang memberikan warna merah (Macek, 1972). Larutan senyawa kompleks berwarna merah diukur serapannya pada panjang gelombang 500nm. Pengujian dikerjakan dengan 3 kali pengulangan. Hasil penetapan kadar tannin

menggunakan metode spektrofotometri diperoleh kadar tannin total ekstrak etanol *E. oxypetalum* sebesar $31,56 \pm 1,285\%$ b/b EK.



Gambar 1. Kurva Kalibrasi Asam Galat



Gambar 2. Kurva Kalibrasi Katekin

PEMBAHASAN

Maserasi banyak dipilih karena pengerjaannya yang cukup sederhana dan murah, akan tetapi proses ekstraksinya membutuhkan waktu yang cukup lama (Naviglio et al., 2019). Maserasi digunakan dengan tujuan memaksimalkan perolehan senyawa tannin yang terkandung dalam sampel. Pelarut etanol 96% yang dipakai dalam penelitian ini bertujuan untuk menarik senyawa tannin yang terkandung dalam sampel. Etanol diketahui menjadi pelarut terbaik dibandingkan pelarut metanol, nheksana dan aseton dalam menarik senyawa tannin ditanaman putri malu (Marnoto, 2012). Untuk mendapatkan senyawa katekin umumnya diekstraksi menggunakan pelarut air, pelarut organic polar dan campurannya (Vuong et al., 2010 ; Pineiro et al., 2004). Penelitian lain yang dilakukan Hu et al., (2015) katekin dapat dengan mudah diekstraksi dari teh hijau dengan pelarut campuran etanol dan air.

Standarisasi mutu ekstrak yang dilakukan menunjukkan hasil susut pengeringan ekstrak etanol *E. oxypetalum* sebesar 5,49% yang masuk dalam standar persyaratan yang tercantum

dalam Farmakope Herbal Indonesia yakni <10%. Susut pengeringan dalam hal ini memungkinkan hilangnya molekul air, pelarut etanol dan minyak atsiri akibat pemanasan (Utami et al.,2017). Pengujian kadar abu ekstrak bertujuan untuk melihat kandungan mineral internal maupun eksternal dari awal proses hingga menjadi ekstrak. Kadar abu total ekstrak etanol *E. oxypetalum* sebesar 1,69%, yang menggambarkan semakin tinggi persentase kadar abu maka mineral yang terkandung dalam sampel ekstrak juga semakin tinggi (Depkes RI, 2000).

Hasil skrining fitokimia senyawa tannin dalam daun *E. oxypetalum* dengan penambahan pereaksi FeCl₃ maupun dengan gelatin menunjukkan hasil positif. Penambahan FeCl₃ akan menunjukkan keberadaan gugus fenol yang juga memungkinkan adanya tannin yang merupakan senyawa polifenol. Terjadinya perubahan warna menjadi hijau kehitaman akibat terbentuknya kompleks antara tannin dengan FeCl₃. Sampel ekstrak menunjukkan reaksi positif membentuk kompleks berwarna hijau kehitaman karena penambahan FeCl₃. Reaksi ini menandakan keberadaan katekin dalam sampel ekstrak (Fajrina et al, 2017 ; Nur et al.,2020). Namun, identifikasi spesifik untuk mengetahui keberadaan tannin yakni dengan uji gelatin. Senyawa tannin akan menimbulkan endapan sekalipun dalam jumlah sedikit maupun banyak apabila ditambahkan dengan larutan gelatin (Harborne, 1987). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Supendra & Khandelwal (2012) ; Devi et al., (2018) terhadap ekstrak etanol daun *E. oxypetalum* menunjukkan hasil positif adanya fenol dan tannin.

Kromatografi lapis tipis merupakan metode pemisahan senyawa kimia yang menggunakan fase diam dan fase gerak. Prinsip metode ini adalah adsorpsi dan partisi yang dipengaruhi oleh fase diam dan fase gerak yang digunakan. Masing-masing komponen kimia akan bermigrasi keatas dengan jarak yang berbeda sesuai tingkat afinitas masing-masing senyawa tersebut (Stahl, 2013). Identifikasi KLT dimulai dengan memilih fase gerak yang tepat agar dapat memisahkan komponen senyawa berupa spot noda dalam jumlah yang banyak. Penjenuhan bertujuan agar proses elusi berjalan lebih mudah akibat tekanan dari uap pelarut (Makatamba et al, 2020). Uji kualitatif senyawa fenolik dalam ekstrak etanol daun *E. oxypetalum* dengan metode KLT menggunakan pembanding asam galat dan fase gerak etil asetat – nheksana 7:5. Lempeng yang sudah ditotol dengan sampel ekstrak dan pembanding standar kemudian dielusi sehingga diperoleh spot noda yang dapat terdeteksi dibawah sinar UV254 nm. Saat diamati dibawah sinar UV 254 nm terlihat noda berwarna coklat tua/hitam dengan perkiraan nilai Rf yang sama antara kedua sampel ekstrak maupun pembanding asam galat. Selanjutnya lempeng disemprot dengan FeCl₃ sehingga memunculkan warna noda hijau kecoklatan disampel ekstrak daun wijaya kusuma dan pembanding asam galat. Nilai Rf sampel ekstrak 0,7 dan nilai Rf asam galat 0,7. Identifikasi ini menunjukkan bahwa sampel ekstrak etanol daun *E. oxypetalum* positif terdapat senyawa fenolik (**Tabel 3**).

Identifikasi kualitatif senyawa tannin dalam ekstrak daun wijaya kusuma dengan metode KLT menggunakan pembanding katekin yang ditotolkan pada lempeng silika gel 60 F₂₅₄ dan dielusi dengan butanol : asam asetat : air (4:1:1). Setelah dielusi, diamati dibawah lampu UV 254 nm yang menunjukkan adanya spot noda dengan nilai Rf 0,82 (**Tabel 3**). Komponen kimia akan terlihat dibawah sinar UV 254 nm jika memiliki minimal dua ikatan rangkap terkonjugasi (Alen et al., 2017). Nilai Rf pada KLT menunjukkan sampel ekstrak etanol daun *E. oxypetalum* memiliki nilai Rf yang sama dengan pembanding katekin dan spot noda setelah disemprot dengan FeCl₃ menunjukkan warna hijau kecoklatan (Bruneton, 1999).

Reagen Folin-ciocalteu digunakan dalam penentuan kadar fenolik total ekstrak etanol daun wijaya kusuma yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis. Senyawa fenolik yang terkandung dalam sampel akan bereaksi saat ditambahkan reagen Folin-ciocalteu sehingga

larutan membentuk kompleks berwarna biru dengan tingkat kepekatan warna sesuai kadar fenolik yang terkandung didalam sampel, kemudian diukur absorbansinya. Pada penelitian ini digunakan larutan asam galat sebagai standar karena sifatnya yang cukup stabil dan sederhana. Keberadaan senyawa fenolik terlihat saat larutan asam galat direaksikan dengan reagen Folin-ciocalteu menghasilkan larutan berwarna kuning. Kemudian larutan campuran diberi larutan Na_2CO_3 untuk menciptakan suasana basa. Reaksi yang terjadi, gugus hidroksil dalam struktur fenolik bereaksi saat ditambahkan reagen Folin-ciocalteu sehingga terbentuk kompleks molybdenum-tungsten berwarna biru yang diukur dengan spektrofotometer. Tingkat kepekatan warna biru yang terbentuk tergantung dari banyaknya jumlah senyawa fenolik dalam sampel. Apabila kadar fenolik tinggi maka warna semakin pekat karena makin berlimpah ion fenolat yang mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-tungsten) menghasilkan kompleks molybdenum-tungsten (Tahir et al., 2017). Kurva kalibrasi asam galat menghasilkan persamaan regresi linier $y = 0,0003x + 0,2179$ dengan nilai $r = 0,9983$ (**Gambar 1**).

Sifat kepolaran pada pelarut yang digunakan saat ekstraksi akan mempengaruhi banyaknya senyawa fenolik yang tertarik. Senyawa fenolik lebih mudah larut dalam pelarut polar sehingga memungkinkan konsentrasi fenolik didalam ekstrak lebih banyak (Mohsen & Ammar, 2009). Kadar fenolik ekstrak daun wijaya kusuma dihitung menggunakan persamaan regresi linier. Penentuan kadar fenolik total ekstrak etanol daun *E. oxypetalum* diperoleh sebesar $369,7 \pm 57,675$ mg GAE/g ekstrak. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Devi et al., (2018) pada ekstrak metanol daun wijaya kusuma dalam penentuan kadar fenolik total menggunakan kurva standar katekol didapatkan kadar fenolik sebesar $19,09 \pm 0,08$ $\mu\text{g}/0,6$ ml.

Tanin merupakan kelompok heterogen senyawa polifenol yang sifatnya larut dalam air dimana senyawa ini memiliki bobot molekul yang tinggi dan mempunyai 20 gugus hidroksil (De Jesus et al., 2012). Penentuan kadar tannin terkondensasi pada ekstrak etanol daun wijaya kusuma dengan uji vanillin-HCl. Pereaksi vanillin-HCl spesifik terhadap katekin. Prinsip kerja pereaksi ini yakni vanillin terprotonasi didalam larutan HCl yang bersifat asam dan menghasilkan karbokation yang kemudian bereaksi dengan flavonoid. Selanjutnya senyawa antara yang didapatkan menunjukkan reaksi dehidrasi sehingga terbentuk larutan berwarna ungu atau merah (Salunkhe et al., 1990). Kurva kalibrasi katekin menghasilkan persamaan regresi $y = 0,0015x + 0,1978$ dengan nilai $r = 0,999$ (**Gambar 2**). Nilai r yang mendekati 1 menunjukkan persamaan regresi tersebut adalah linier. Hasil penentuan kadar tannin total yang diperoleh sebesar $31,56 \pm 1,285$ %b/b EK. Penentuan kadar tannin dengan metode yang berbeda oleh Devi et al., (2018) didapatkan kadar senyawa tannin total ekstrak metanol daun wijaya kusuma sebesar $31,32 \pm 18\%$. Walaupun kedua ekstrak berbeda pelarut, namun persentase kadar tannin total dalam daun *E. oxypetalum* tidak jauh berbeda.

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penentuan kadar fenolik total dan tannin total terhadap ekstrak etanol daun *E. oxypetalum* menggunakan metode spektrofotometri menghasilkan kadar fenolik $369,7 \pm 57,675$ mg GAE/g ekstrak dan kadar tannin $31,56 \pm 1,285\%$ b/b EK.

UCAPAN TERIMAKASIH

Tim penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengembangan Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka yang telah memberikan Dana Hibah Penelitian

Internal Skema Penelitian Dasar Keilmuan Batch 1 Tahun 2020 sehingga penelitian ini berjalan dengan baik.

REFERENSI

- Alen, Y., Agresa, F. L., & Yuliandra, Y., (2017). Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Rebung Schizostachyum brachycladum Kurz (Kurz) pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 3(2), 146–152.
- Artini, N. P. R., & Aryasa, I. W. T., (2019). Efektivitas Bunga Wijaya Kusuma (*Epiphyllum oxypetalum*) Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Tikus Wistar. *The Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory Teknologi* 2(2), 37–46.
- Ashok, P. K., & Upadhyaya, K., (2012). Tannins are Astringent. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(3), 45–50.
- Atmojo E. S., (2015). Pengenalan Etnobotani Pemanfaatan Tanaman Sebagai Obat Kepada Masyarakat Desa Cabak Jiken Kabupaten Blora. *Jurnal Ilmiah WUNY XV Nomor 1 FKIP-Universitas PGRI Yogyakarta*.
- Blainski, A., Lopes, G., & de Mello J., (2013). Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from Limonium Brasiliense L. *Molecules*.10, 10;18(6), 6852–6865.
- Bruneton, J., (1999). *Pharmacognosy Phytochemistry Medicinal Plants*, 2nd Ed. Lavoisier Publishing.
- Dandekar, Fegade, B., & Bhaskar, V., (2015). GC-MS Analysis of Phytoconstituents in Alcohol Extract of *Epiphyllum oxypetalum* leaves. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 4(1), 149–154.
- De Jesus NZ, Falcao, D. S., IF, G., TJ, D. A. L., GR, D. M. L., & Barbosa-Filho., (2012). Tannins, peptic ulcers and related mechanisms. *Int J Mol Sci*, 13 : 3203.
- Depkes RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Devi, K. R. S., Narayana, S. L., Menghani, P., & Georgekutty, J., (2018). Microscopic, pharmacognostic and phytochemical screening of *Epiphyllum oxypetalum* (dc) haw leaves. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(6), 972–980.
- Dhurhania, C. E., & Novianto, A., (2018). Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan Dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*). *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 5(2).
- Dwita, L. P., Hasanah, F., Srirustami, R., Repi, Purnomo, R., & Harsodjo, S., (2019). Wound healing properties of *Epiphyllum oxypetalum* (DC.) Haw. leaf extract in streptozotocin-induced diabetic mice by topical application. *Wound Medicine*, 26(1).

-
- Fajrina, A., Jubahar, J., & Sabirin, S., (2017). Penetapan Kadar Tanin pada The Celup yang Beredar di Pasaran secara Spektrofotometri Ultraviolet Sinar Tampak. *Urnal Sains Dan Teknologi Farmasi* , 19(1).
- Hanani, E., (2015). *Analisis Fitokimia*. EGC, Jakarta.
- Harborne, J., (1987). *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Terjemahan Padmawinata K dan Soediro*. Penerbit ITB, Bandung.
- Hu, C.-J., Gao, Y., Liu, Y., Zheng, X.-Q., Ye, J.-H., Liang, Y.-R., & Lu, J.-Laing., (2015). Studies on the mechanism of efficient extraction of tea components by aqueous ethanol. . *Food Chemistry*, 194, 312-318., 194, 312–318.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Kementerian Kesehatan RI, Jakarta.
- Macek, K. (1972). *Pharmaceutical Application of Thin-Layer and Paper Kromatography*. Elscier Publishing Company.
- Makatamba, V., Fatimawali, & Rundengan, G. (2020). Analisis Senyawa Tanin dan Aktivitas Antibakteri Fraksi Buah Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal MIPA*, 9(2), 75–80.
- Marnoto, Tjukup., Haryono, G., Gustinah, D., & Putra, FA. (2012). Ekstraksi Tannin Sebagai Bahan Pewarna Alami Dari Tanaman Putrimalu (*Mimosa pudica*) menggunakan Pelarut Organik. *Reaktor Chemical Engineering Journal.*, 14(1), 39–45.
- Mohsen, S., & Ammar, A. (2009). Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tasselextracts. *Food Chem.* , 112(3), 595–598.
- Naviglio, D., Scarano, P., Ciaravolo, M., & Gallo, M. (2019). Rapid Solid-Liquid Dynamic Extraction (RSLDE): A Powerful and Greener Alternative to the Latest Solid-Liquid Extraction. *Techniques Foods*, 8, 1–22.
- Nur, S. (2020). Identifikasi Dan Penentuan Kadar Katekin Dari Seduhan Dan Ekstrak Etanol Produk Teh Hijau (*Camelia sinensi* L) Komersial Secara Spektrofotometri Uv-Visible. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, 24(1), 1–4.
- Nurmayulis, U., & Hermita, N. (2015). Potensi Tumbuhan Obat Dalam Upaya Pemanfaatan Lahan Pekarangan Oleh Masyarakat Desa Cimenteng Kawasan Taman Nasional Ujung Kulon. *Jurnal Agrologia*, 4(1), 1–7.
- Pineiro, Z., Palma, M., & Barroso, C. (2004). Determination of catechins by means of extraction with pressurized liquids. *J. Chromatogr. A* , 1026, 19–23.
- Salunkhe, D., Chavan, J., & Kadam, S. (1990). *Dietary Tannins Consequences and Remedies*. CRS Press.

-
- Sari, A., & Ayuchecaria, N. (2017). Penetapan Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Ekstrak Beras Hitam (*Oryza sativa* L.) dari Kalimantan Selatan. *Jurnal Ilmu Ibnu Sina*, 2(2), 327–335.
- Stahl, E. (2013). *Thin-Layer Chromatography: A Laboratory Handbook*. Springer.
- Supendra, R., & Khandelwal, P. (2012). Assessment of Nutritive Values, Phytochemical Constituents and Biotherapeutic Potentials of *Epiphyllum oxypetalum*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(5).
- Tahir, M., Muflihunna, A., & Syafrianti. (2017). Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Nilam (*Pogostemon cablin* Benth) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia (JFFI)*, 4(1).
- Utami, Y., Umar, A., Syahrini, R., & Kadullah, I. (2017). Standarisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 2(1), 32–39.
- Vuong, Q., Golding, J., Nguyen, M., & Roach, P. (2010). Extraction and Isolation of catechins from tea. *J. Sep. Sci.*, 33, 3415–3428.