

**KADAR KALKON TOTAL DI DALAM EKSTRAK ETANOL
BATANG ASHITABA (*Angelica keiskei* Koidzumi)**

Anisa Pebiansyah^{1,2*}, Riezki Amalia¹, Diah Lia Aulifa³, Jutti Levita¹

¹Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi,
Universitas Padjadjaran, Jatinangor 45363

²Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada,
Tasikmalaya 46115

³Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, Bandung 40266
West Java, Indonesia

*E-mail : anisapebiansyah@gmail.com

Diterima : 21 Juni 2019

Direvisi : 4 September 2019

Disetujui : 30 November 2019

ABSTRAK

Ashitaba (*Angelica keiskei*) merupakan salah satu tanaman obat yang terbukti memiliki aktivitas antioksidan setara dengan vitamin E. Aktivitas antioksidan umumnya ditunjukkan oleh metabolit sekunder tanaman, terutama flavonoid. Di dalam batang ashitaba terkandung senyawa kalkon yaitu xantoangelol (XAG) dan 4-hidroksiderisin (4-HD), yang tergolong ke dalam flavonoid dengan cincin C terbuka. Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan kadar kalkon total (dihitung sebagai XAG) di dalam ekstrak etanol batang ashitaba. Tanaman ashitaba diperoleh dari Gunung Rinjani, Lombok, dan dideterminasi di Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung. Penetapan kadar kalkon total dilakukan menggunakan metode spektrofotometri standar adisi. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol batang ashitaba mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, polifenol dan tanin, sedangkan kalkon total yang terkandung di dalam ekstrak etanol kering batang ashitaba dihitung sebagai XAG adalah 0,836 % b/b.

Kata kunci : Ashitaba, Antioksidan, Xantoangelol, 4-Hidroksiderisin, Kalkon total

**TOTAL CHALCONE CONTENT IN THE ETHANOL EXTRACT OF
ASHITABA STEMS (*Angelica keiskei* Koidzumi)**

ABSTRACT

Ashitaba (*Angelica keiskei*) is a medicinal plant that has been proven to possess antioxidant activity equal to that of vitamin E. This antioxidant activity usually belongs to the plant's secondary metabolites, e.g. flavonoids. The ashitaba stem contains chalcone compounds, e.g. xantoangelol (XAG) and 4-hydroxiderricin (4-HD), which are categorized as open C-ring flavonoids. The purpose of this study was to determine total chalcone content (calculated as XAG) in ethanol extract of ashitaba stem. Ashitaba plant was obtained from Mount Rinjani, Lombok, and was identified at School of Biology Sciences and Technology, ITB. The total chalcone was determined by using standard addition spectrophotometric method. Result showed that the ethanol extract of

ashitaba stem contain flavonoids, alkaloids polyphenol, and tannins, whereas the dried extract of ashitaba stem contained 0.836% w/w of total chalcone calculated as XAG.

Keywords: Ashitaba, Antioxidant, Xantangelol, 4-Hydroxiderricin, Total chalcone

PENDAHULUAN

Salah satu tanaman obat yang menarik untuk diteliti adalah *Angelica keiskei* Koidzumi (ashitaba) dari keluarga *Apiaceae*, yang merupakan genus besar yang terdiri dari lebih dari 60 spesies (Caesar & Cech, 2016). Ashitaba telah terbukti memiliki aktivitas anti-diabetes, anti-obesitas, anti-oksidan, anti-inflamasi, anti-trombotik, antihipertensi, dan anti-mikroba (Kim *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2012; Luo *et al.*, 2012).

Di dalam getah batang ashitaba terkandung senyawa kalkon xantangelol (XAG) dan 4-hidroksiderisin (4-HD) (Zhang *et al.*, 2018). Kalkon, yang merupakan flavonoid rantai terbuka, adalah prekursor flavonoid dan isoflavonoid yang mempunyai aktivitas antioksidan (Sales *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2018). Struktur inti turunan kalkon dikenal sebagai 1,3-difenil-2-propen-1-on (Ohnogi *et al.*, 2012). Flavonoid rantai terbuka ini memiliki dua cincin aromatik yang saling terhubung oleh tiga karbon (Karkhaneh *et al.*, 2016; Singh *et al.*, 2016). Kalkon yang terkandung pada ashitaba mempunyai aktivitas sebagai antioksidan dengan cara menghambat enzim xantin oksidase (XOD). XOD merupakan katalisator terbentuknya radikal bebas anion superoksida dan hidrogen peroksida. Radikal bebas yang terbentuk memberikan kontribusi terjadinya stress oksidatif sehingga menyebabkan terjadinya inflamasi. Dengan demikian kalkon dapat mencegah terjadinya stress oksidatif (Aoki *et al.*, 2010; Luo *et al.*, 2012; Wesolowska *et al.*, 2014).

Di Indonesia, tanaman ashitaba telah dibudidayakan di Gunung Rinjani, Lombok, namun menariknya, hingga saat ini studi tentang kandungan kalkon di dalam tanaman ashitaba Indonesia belum dilaporkan. Penelitian ini dilakukan untuk menetapkan kadar kalkon total (dihitung sebagai XAG) di dalam ekstrak etanol batang ashitaba.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Pada penelitian ini, alat yang digunakan diantaranya *rotary evaporator* (RV10 IKA®), Spektrofotometer UV-Vis (*Thermo Scientific Genesys 840-208100*®), kuvet (Hellma analytics®), mikropipet (Eppendorf®), vial coklat, cawan uap, maserator, mesh 60, *vacum buchner*, batang pengaduk (Pyrex®), gelas kimia (Pyrex®), tabung reaksi (Pyrex®), *waterbath*. Bahan yang digunakan diantaranya batang tanaman ashitaba yang diperoleh dari Gunung Rinjani, Lombok, XAG hasil isolasi dari Sekolah Farmasi ITB dan STFI Bandung, etanol 96% (Merck®), etanol 70% (Merck®) dan reagen untuk karakteristik fitokimia.

Determinasi Tumbuhan

Determinasi tanaman ashitaba dilakukan di Gedung Labtek XI Lantai 1, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung (SITH ITB).

Pembuatan Simplisia Batang Ashitaba

Batang ashitaba diperoleh dari perkebunan di kaki Gunung Rinjani, Lombok, Nusa Tenggara Barat. Batang Ashitaba dibersihkan dari kotoran yang

menempel dan dicuci menggunakan air yang mengalir bersih kemudian ditiriskan. Batang ashitaba kemudian di rajang kecil-kecil dan dikeringkan di rumah kaca, di bawah sinar matahari selama 2 hari. Setelah kering dibersihkan kembali dari kotoran. Setelah itu dihaluskan dengan menggunakan blender dan diayak dengan *mesh* 60 sampai diperoleh serbuk simplisia yang halus (Depkes RI, 1985).

Ekstraksi

Prosedur ekstraksi dilakukan dengan mengikuti metode Zhang *et al.* (2018) dan Suhartati & Virgianti (2015) sebagai berikut: Sebanyak 100 g serbuk batang ashitaba dimasukkan ke dalam maserator lalu direndam menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 300 mL kemudian diaduk sampai homogen pada suhu $\pm 26^{\circ}\text{C}$ dan disimpan pada tempat yang terlindungi dari cahaya matahari langsung. Untuk mempercepat terjadinya difusi dan osmosis maka sesering mungkin dilakukan pengadukan. Setelah 24 jam, filtrat dipisahkan untuk diuapkan sedangkan residu disari kembali dengan pelarut yang baru. Perlakuan dilakukan sebanyak 3 x 24 jam. Setelah itu ekstrak diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 60°C , rpm 85 selama 2 jam. Ekstrak kemudian diuapkan dengan penangas air pada suhu 60°C selama 3 hari hingga diperoleh ekstrak kental. Setelah itu ekstrak kental yang diperoleh di *freeze drying* hingga diperoleh ekstrak kering. (Zhang *et al.*, 2018; Suhartati & Virgianti, 2015)

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak etanol batang ashitaba dilakukan dengan menggunakan metode Tiwari *et al.* (2011) yaitu sebagai berikut:

Identifikasi Senyawa Alkaloid

- Uji Dragendorff:

Simplisia atau ekstrak dilarutkan dalam 10 mL pelarut. Sampel disaring, filtrat sebanyak 2 mL ditambah dengan 1 mL reagen Dragendorff. Terbentuknya endapan merah menunjukkan adanya alkaloid (Tiwari *et al.*, 2011).

- Uji Mayer

Simplisia atau ekstrak dilarutkan dalam 10 mL pelarut. Sampel disaring, filtrat sebanyak 2 mL ditambah dengan 1 mL reagen Meyer. Terbentuknya endapan kuning menunjukkan adanya alkaloid (Tiwari *et al.*, 2011).

Identifikasi Senyawa Flavonoid

- Uji Flavonoid dengan Logam Mg

Simplisia atau ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi butiran logam Mg dan larutan HCl 2N, campuran ini dipanaskan selama 5-10 menit, setelah dingin dan di saring, kedalam filtrat ditambahkan amil alkohol di kocok kuat-kuat, warna merah atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid (Tiwari *et al.*, 2011).

- Uji Flavonoid dengan Reagen Alkalin

Simplisia atau ekstrak dilarutkan dalam 10 mL pelarut, sampel disaring, 2 mL filtrat ditambah beberapa tetes larutan NaOH. Apabila terbentuk warna kuning dan memudar setelah ditambah dengan asam berarti positif mengandung flavonoid (Tiwari *et al.*, 2011).

- Uji Flavonoid dengan Timbal Asetat

Simplisia atau ekstrak dilarutkan dalam 10 mL pelarut. Sampel disaring, 2 mL filtrat dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL Pb asetat 10% dan dikocok. Apabila terjadi perubahan warna menjadi coklat kekuningan berarti positif mengandung flavonoid (Tiwari *et al.*, 2011).

Identifikasi Senyawa Polifenol

Simplisia atau ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan pereaksi FeCl₃ dalam larutan etanol, hasil positif polifenol ditunjukkan dengan adanya warna hijau, merah ungu, biru dan hitam (Tiwari *et al.*, 2011).

Identifikasi Senyawa Tanin

Simplisia atau ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan pereaksi FeCl₃ dalam larutan etanol, hasil positif polifenol ditunjukkan dengan adanya warna hijau, merah ungu, biru dan hitam. Setelah itu ditambahkan larutan gelatin 1%, hasil positif tanin ditandai dengan adanya endapan putih (Tiwari *et al.*, 2011).

Identifikasi Senyawa Saponin

Simplisia atau ekstrak ditambah sedikit air lalu dididihkan dalam penangas air selama 5 menit, setelah dingin kemudian disaring, filtrat dikocok kuat-kuat dengan arah vertikal selama 1-2 menit, senyawa saponin dapat ditunjukkan dengan adanya busa setinggi 1 cm yang stabil setelah dibiarkan selama 1 jam atau pada penambahan 1 tetes HCl 0,1N (Tiwari *et al.*, 2011).

Penetapan Kadar Kalkon

Preparasi Larutan Standar XAG

Sebanyak 2 mg XAG ditimbang dan dilarutkan dalam etanol sampai larut. Setelah itu ditambah etanol sampai 25 ml kemudian dikocok sampai homogen.

Preparasi Ekstrak Etanol Batang Ashitaba

Ekstrak kering batang ashitaba ditimbang sebanyak 30 mg dan dilarutkan dalam etanol sampai larut. Setelah itu ditambah etanol sampai 25 ml kemudian dikocok sampai homogen.

Penetapan Panjang Gelombang Serapan Maksimum XAG

Panjang gelombang XAG dan ekstrak etanol batang ashitaba ditentukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang 200 nm – 800 nm.

Preparasi Metode Standar Adisi

Ekstrak yang sudah dilarutkan dalam etanol dipipet sebanyak 2,5 ml ke dalam masing – masing labu ukur 5 ml. Setelah itu dimasukkan xantanol dengan volume 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,6 ml pada masing-masing labu ukur kemudian ditambah etanol hingga 5 ml, dikocok sampai homogen dan dibaca pada spektrofotometri UV-Vis

HASIL DAN DISKUSI

Determinasi Tumbuhan

Tumbuhan yang digunakan pada penelitian ini telah dideterminasi sebagai *Angelica keiskei* dengan uraian sebagai berikut :

Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida (Dicots)</i>
Anak kelas	: <i>Rosidae</i>
Bangsa	: <i>Apiales</i>
Famili	: <i>Apiaceae / Umbelliferae</i>
Spesies	: <i>Angelica keiskei</i> (Miq.) Koidz.

Ekstraksi

Hasil rendemen ekstrak etanol batang ashitaba menggunakan pelarut etanol 70% diperoleh sebanyak 29,15 % b/b. Berdasarkan hasil tersebut, rendemen yang diperoleh lebih besar dibandingkan dengan Kusuma *et al.* (2018) sebanyak 27,52 % b/b. Hasil *freeze drying* ekstrak etanol batang ashitaba diperoleh sebanyak 6,353 g atau 6,353 % b/b.

Penapisan Fitokimia

Berdasarkan hasil penapisan fitokimia, ekstrak etanol batang ashitaba

menunjukkan positif mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, polifenol dan tanin. Hasil ini serupa dengan Sembiring & Feri (2011) dan Kusuma *et al.* (2018) (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia Batang Ashitaba

Golongan Senyawa Metabolit Sekunder	Hasil	
	Simplisia	Ekstrak
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+	+
Polifenol	+	+
Tanin	+	+
Saponin	-	-

Keterangan :

- : tidak terdeteksi
- + : terdeteksi

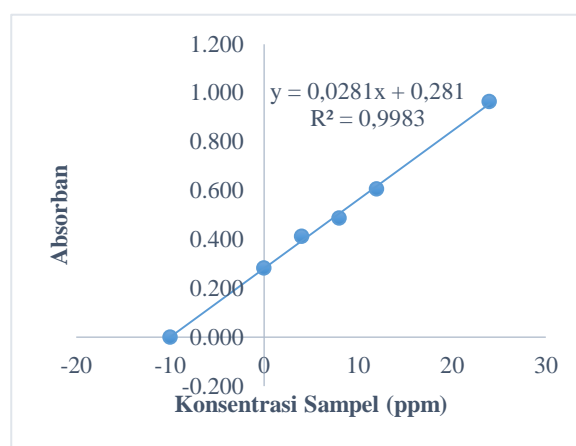
Kalkon yang terkandung pada batang ashitaba termasuk ke dalam golongan flavonoid sehingga hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa simplisia dan ekstrak etanol batang ashitaba positif terdeteksi flavonoid.

Hasil Penetapan Kadar Kalkon

Hasil spektrum yang diperoleh menunjukkan bahwa panjang gelombang maksimum XAG adalah 369,7 nm berada pada daerah ultraviolet. Kadar kalkon total dihitung sebagai XAG dengan menggunakan metode standar adisi. Metode ini digunakan karena dapat meminimalisir kesalahan pada saat pengukuran yang bisa disebabkan oleh perbedaan kondisi matriks ekstrak etanol batang ashitaba dan XAG standar.

Berdasarkan Gambar 1, dibuat hubungan antara konsentrasi dengan absorban sehingga diperoleh kurva

penambahan baku ekstrak etanol batang ashitaba dengan persamaan garis linier $y = 0,0281x + 0,0281$. Pada Gambar 1, perpotongan garis kurva dengan sumbu X dengan nilai negatif adalah x-intercept yang merupakan konsentrasi sampel yang terbaca pada spektrofotometer sebelum dikalikan faktor pengenceran.



Gambar 1. Kurva Penambahan Baku Ekstrak Etanol Batang Ashitaba

Kadar kalkon total yang dihitung sebagai XAG dihitung dari persamaan garis $y = 0,0281x + 0,0281$ dimana nilai $y = 0$. Dari hasil perhitungan tersebut kemudian diperoleh kadar kalkon total yang dihitung sebagai XAG sebesar 0,836 % b/b terhadap ekstrak kering batang ashitaba.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol batang ashitaba mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, polifenol dan tanin, sedangkan kalkon total yang terkandung di dalam ekstrak etanol kering batang ashitaba dihitung sebagai XAG adalah 0,836 % b/b.

REFERENSI

- Aoki, N., Ohta, S. & Ashitabaol, A. 2010. A new antioxidative sesquiterpenoid from seeds of *Angelica keiskei*. *Tetrahedron Lett.* 51: 3449-3450.
- Caesar, L.K. & Cech, N. 2016. A review of the medicinal uses and pharmacology of ashitaba. *Planta Medica.* 82(14):1236-1245.
- Depkes RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Karkhaneh, P., Yaghmaei, K., Parivar, M., Sadeghizadeh, A. & Ebrahim-Habibi. 2016. Effect of transchalcone on atheroma plaque formation, liver fibrosis and adiponectin gene expression in cholesterol-fed NMRI mice, *Pharmacol. Rep.* 68(4) : 720-727.
- Kim, D.W., Curtis-Long, M.J., Yuk, H.J., Wang, Y., Song, Y.H., Jeong, S.H. & Park, K.H. 2014. Quantitative analysis of phenolic metabolites from different parts of *Angelica keiskei* by HPLC-ESI MS/MS and their xanthine oxidase inhibition. *Food Chem.* 153: 20-27.
- Kim, E., Choi, J. & Yeo, I. 2012. The effects of *Angelica keiskei* Koidz on the expression of antioxidant enzymes related to lipid profiles in rats fed a high fat diet. *Nutr. Res. Pract.* 6(1): 9-15.
- Kusuma, S.A.F., Yopi, I. & Mutiara, A.D. 2018. The ethanolic extract of ashitaba stem (*Angelica keiskei* [Miq.] Koidz) as future antituberculosis. *J. Adv. Pharm. Technol. Res.* 37-41.
- Luo, L., Wang, R., Wang, X., Ma, Z. & Li, N. 2012. Compounds from *Angelica keiskei* with NQO1 induction, DPPH Å scavenging and a -glucosidase inhibitory activities. *Food Chem.* 131(3): 992 -998.
- Ohnogi, H., Kudo, Y., Tahara, K., Sugiyama, K., Enoki, T., Hayami, S., Sagawa, H., Tanimura, Y., Aoi, W., Naito, Y., Kato, I & Yoshikawa, T. 2012. Six new chalcones from *Angelica keiskei* inducing adiponectin production in 3T3-L1 adipocytes. *Biosci Biotechnol. Biochem.* 76: 961–966
- Sales, E.K, Gisou, M. & Reza, A. 2017. Chalcones as putative hepatoprotective agents: Preclinical evidence and molecular mechanisms. *Pharmacol. Res.* 129:177-187.
- Sembiring, B & Manoi, F. 2011. Identifikasi mutu tanaman ashitaba. *Bul. Littro.* 22(2): 177-185
- Singh, S., Sidhu, M. & Khan, K. 2016. Free radical scavenging property of β-aescin and trans-chalcone: in vitro study, *Eur. J. Pharm. Med. Res.* 3(2): 309-312.
- Suhartati, R. & Virgianti, D. 2015. Daya hambat ekstrak etanol 70% daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari luka diabetes melitus. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada.* 14(1): 162-171.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G. & Kaur, H. 2011. Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale Pharmaceutica Scientia.* 1(1): 98-106.
- Wesolowska, O., Gasiorowska, J., Petrus, J., Czarnik-Matusiewicz, B. & Michalak, K. 2014. Interaction of prenylated chalcones and flavanones from common hop with phosphatidylcholine model membranes. *Biochem. Biophys.*

Acta. 1838: 173-184
Zhang, C., Liu, D & Gao, H. 2018.
Kinetics, physicochemical
properties, and antioxidant
activities of *Angelica keiskei*

processed under four drying
conditions. *American Assoc.
Cancer Res.* 98(4):349–357.