

PENENTUAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK DAN FRAKSI-FRAKSI DAUN MANGROVE (*Avicennia marina*)

Zulfiana Fitrianingrum Annas, Rizqa Fersiyana Deccati, Lina Permatasari, Neneng Rachmalia
Izzatul Mukhlisah

ABSTRAK

Tanaman mangrove (*Avicennia marina*) adalah berasal dari famili Avicenniaceae. Daunnya memiliki aktivitas antioksidan, antivirus, dan antibakteri yang disebabkan oleh kandungan metabolit sekunder pada daun mangrove berupa senyawa flavonoid. Penelitian terkait kandungan flavonoid total pada ekstrak etanol 96% dan fraksi air, etil asetat, dan *n*-heksana daun *A. marina* belum pernah dilakukan. Tujuan dilakukannya penelitian ini untuk menentukan kadar flavonoid total pada ekstrak dan fraksi daun mangrove *A. marina* dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode sonikasi, kemudian dilakukan fraksinasi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air. Ekstrak dan fraksi-fraksi yang diperoleh diidentifikasi metabolit sekundernya dengan uji tabung dan kromatografi lapis tipis kemudian ditentukan kadar flavonoid totalnya dengan metode kolorimetri. Ekstrak dan fraksi-fraksi daun mangrove mengandung metabolit sekunder flavonoid, fenolik, saponin, steroid, triterpenoid, dan alkaloid. Hasil kromatografi lapis tipis menegaskan hasil uji tabung bahwa ekstrak dan fraksi-fraksi daun mangrove mengandung senyawa flavonoid. Kadar flavonoid total pada ekstrak etanol 96%, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi *n*-heksana daun mangrove *A. marina* berturut-turut sebesar 19,37; 3,07; 11,30; dan 56,62 mg ekuivalen kuersetin/gram sampel.

Kata kunci : Daun mangrove (*Avicennia marina*), kadar flavonoid total, spektrofotometri UV-Vis.

PENDAHULUAN

Pesisir adalah wilayah peralihan antara daratan dan lautan yang menyimpan banyak potensi sumber daya, salah satunya adalah mangrove (Dahuri *et al.*, 2001; Kinasih & Purnaweni, 2019). Mangrove merupakan tanaman berkayu yang mampu beradaptasi di lahan basah pada daerah pesisir tropis dan subtropis intertidal sehingga menjadikan mangrove sebagai ekosistem laut terpenting kedua setelah terumbu karang (Ghosh *et al.*, 2002; Al-Mur, 2021). Total luas hutan mangrove di Indonesia pada tahun 2021 sebesar 3.364.080 Ha (Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan, 2021). Nusa Tenggara Barat merupakan salah satu provinsi yang memiliki hutan mangrove dengan luas 18.356,89 Ha. Persebaran hutan mangrove di NTB salah satunya ada di Teluk Lembar, Kabupaten Lombok Barat di Desa Sekotong Barat (Rahman *et al.*, 2019; Saraswati & Saraswati, 2019). Jenis mangrove yang ada di Teluk Lembar tumbuh pada substrat campuran lumpur berpasir dan terdiri dari *Avicennia sp.*, *Rhizophora sp.*, dan *Sonneratia sp.* (Saraswati & Saraswati, 2019). Persentase pertumbuhan *Avicennia sp.* di Teluk Sereweh, Kabupaten Lombok Timur sebesar 39,81% (Rahman *et al.*, 2019). Kawasan hutan mangrove di

Lombok Barat juga terdapat di Teluk Sekotong, dimana kehadiran *Avicennia sp.* menandakan bahwa tipe habitatnya berupa substrat pasir berlumpur atau lumpur berpasir padat yang merupakan media utama pertumbuhan mangrove (Japa *et al.*, 2019).

Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder yang ditemukan pada spesies *A. marina* dan berperan penting terhadap aktivitas biologis. Salah satu isolat yang berhasil diisolasi pada daun *A. marina* adalah kuersetin yang termasuk dalam kelompok flavonol (Andrea, 2015; Thatoi *et al.*, 2016). Adapun isolat yang didapatkan dari akar udara *A. marina* diantaranya *stigmasterol-3-O-β-D glucopyranoside*, *ursolic acid*, dan *α-amyrin* (Mahera *et al.*, 2013). Flavonoid memiliki efek positif terhadap kesehatan manusia dan saat ini diminati dalam terapi penyakit dan kemopreventif (Panche *et al.*, 2016). Aktivitas biologis dari flavonoid diantaranya aktivitas antioksidan, hepatoprotektif, antibakteri, antiinflamasi, antikanker, dan antivirus (Heim *et al.*, 2002; Mishra *et al.*, 2013; Pan *et al.*, 2010; Tapas *et al.*, 2008; Zandi *et al.*, 2011). Di daerah Mesir, nilai flavonoid total dari ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol 80% daun *A. marina* berturut-turut sebesar 23 mg rutin/g dan 10,022 mg rutin/g ekstrak (Yassien *et al.*, 2021; Ibrahim *et al.*, 2022).

Metode yang dapat digunakan dalam penentuan flavonoid total yakni metode kolorimetri $AlCl_3$ (Chang *et al.*, 2002). Pengukuran absorbansi dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis (Kiranmai *et al.*, 2011). $AlCl_3$ digunakan sebagai pereaksi karena terjadi pembentukan kompleks asam yang stabil antara aluminium klorida dengan gugus keto C-4 dan gugus hidroksil C-3 atau C-5 dari flavon dan flavonol (Ulubelen *et al.*, 2005). Kadar flavonoid total memiliki korelasi dengan aktivitas farmakologi (Bhandari & Rajbhandari, 2014; Aryal *et al.*, 2019). Belum adanya penelitian terkait kadar flavonoid total dari ekstrak dan fraksi-fraksi daun mangrove *A. marina* menjadi landasan untuk dilakukannya penelitian ini.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan rancangan penelitian *one shoot case study*. Pada penelitian ini digunakan daun mangrove *A. marina* yang telah dideterminasi sebagai sampel penelitian. Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari hingga April 2023 dan berlokasi di Laboratorium Penelitian Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram.

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman mangrove menggunakan batang, daun, dan bunga dilakukan di Laboratorium Silvikultur, Jurusan Kehutanan, Fakultas Pertanian, Universitas Mataram.

Ekstraksi Daun Mangrove

Ekstraksi sampel dilakukan menggunakan metode sonikasi. Sebanyak 100 gram serbuk simplisia daun mangrove dilarutkan dalam 500 mL etanol 96% dengan perbandingan serbuk simplisia dan pelarut yang digunakan adalah 1 : 5. Serbuk yang telah dilarutkan kemudian dimasukkan ke dalam sonikator dengan suhu 35°C selama 30 menit. Ekstraksi diulangi sebanyak 2 kali dengan penggantian pelarut baru. Setelah itu hasil ekstraksi disaring dan filtratnya diuapkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 40–50°C. Ekstrak yang didapatkan kemudian diuapkan menggunakan *waterbath* hingga didapatkan ekstrak kental.

Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan metode partisi cair-cair menggunakan pelarut yang memiliki kepolaran berbeda yakni air, *n*-heksana, dan etil asetat. Sebanyak 10 gram ekstrak kental dilarutkan dengan 10 mL etanol dalam gelas beker, kemudian ditambahkan air sebanyak 90 mL, larutan difraksinasi dengan menambahkan 100 mL *n*-heksana dan digojog menggunakan corong pisah hingga terbentuk dua lapisan. Fraksinasi diulangi sebanyak 2 kali dengan penambahan *n*-heksana masing-masing sebanyak 50 mL. Fraksi air difraksinasi kembali dengan etil asetat. Etil asetat ditambahkan sebanyak 100 mL ke dalam corong pisah yang berisi fraksi air dan dikocok hingga terbentuk dua lapisan dimana lapisan atas adalah etil asetat dan lapisan bawah adalah air. Kedua lapisan dipisahkan dan dilakukan penggulungan sebanyak 2 kali dengan menambahkan etil asetat. Setelah diperoleh fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air kemudian pelarutnya diuapkan dengan *rotary evaporator* dan dipekatkan menggunakan *waterbath* hingga diperoleh fraksi kental dan dihitung rendemen yang diperoleh dari masing-masing fraksi (Nabilla & Indrayudha, 2019; Purwanti & Susanti, 2022).

Skrining Fitokimia

a. Uji Flavonoid

Metode yang digunakan untuk uji flavonoid adalah metode *wilstater*, ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun mangrove dimasukkan sebanyak 1 mL ke tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 tetes HCl pekat. Bubuk Mg ditambahkan sebanyak 0,2 mg,.

b. Uji Fenolik

Pereaksi FeCl_3 digunakan dalam menentukan keberadaan senyawa fenolik, ekstrak dan fraksi-fraksi daun mangrove dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 ml dan ditambahkan larutan FeCl_3 5% sebanyak 2 tetes.

c. Uji Alkaloid

Metode mayer, dragendorff, dan wagner digunakan untuk menentukan keberadaan senyawa alkaloid. Dimasukkan 1 ml ekstrak dan fraksi-fraksi daun mangrove ke dalam tabung reaksi setelahnya ditambahkan 1 ml reagen meyer, hasil positif ditandai dengan endapan berwarna kuning pucat. Pada tabung reaksi yang lain ditambahkan 1 ml ekstrak yang telah dipanaskan dengan H_2SO_4 2% setelah itu ditambahkan beberapa tetes reagen dragendorff, keberadaan endapan jingga-merah menandakan adanya alkaloid. Ekstrak dan fraksi-fraksi daun mangrove dilarutkan dengan HCl dan diambil filtratnya. Dimasukkan filtrat ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan reagen wagner, hasil positif ditandai dengan endapan coklat atau kemerahan (Sharma *et al.*, 2020; Tiwari *et al.*, 2011).

d. Uji Saponin

Ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun mangrove dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan air panas dan dikocok dengan kuat. Apabila timbul busa, tambahkan beberapa tetes larutan HCl.

e. Uji Steroid/triterpenoid

Ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun mangrove yang telah dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 mL dilarutkan dengan kloroform ditambahkan beberapa tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes H_2SO_4 pekat.

Identifikasi Flavonoid dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak etanol, fraksi-fraksi daun mangrove, dan baku pembanding kuersetin dilarutkan sebanyak 5 mg dalam 0,5 mL etanol 96% kemudian ditotolkan pada lempeng KLT dengan jarak 1,5 cm dari tepi bawah lempeng. Eluen dibuat sebanyak 10 mL dengan mencampurkan kloroform dan metanol pada gelas kimia kemudian memasukkan eluen ke dalam chamber yang telah ditambahkan kertas saring dan dibiarkan hingga jenuh yakni ketika kertas saring telah terbasahi hingga atas. Lempeng KLT yang telah ditotolkan sampel dan baku pembanding dimasukkan ke dalam chamber yang telah jenuh dengan fase gerak dan dielusi hingga tanda batas. Lempeng yang telah terelusi kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Bercak kromatogram yang dihasilkan diamati dengan penampak noda sinar ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm kemudian disemprot dengan reagen semprot $AlCl_3$, lalu diamati perubahan warna pada sinar UV 366 nm (Asmorowati & Lindawati, 2019; Priyanto *et al.*, 2014).

Uji Kuantitatif Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi Daun Mangrove (*A. marina*)

Kadar flavonoid total dengan baku kuersetin dari ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun mangrove dilakukan dengan metode kolorimetri dengan modifikasi berdasarkan metode Candra *et al.* (2021).

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Larutan standar kuersetin sebanyak 0,5 ml dipipet dan dimasukkan ke tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,10 mL $AlCl_3$ 10%. Sebanyak 0,10 mL larutan natrium asetat 1 M dan 2,80 mL akuades ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Larutan diukur absorbansinya pada rentang panjang gelombang 400-500 nm. Panjang gelombang yang memiliki serapan maksimum dan daya serap yang relatif konstan merupakan panjang gelombang maksimum (Asmorowati & Lindawati, 2019).

b. Penentuan *Operating Time*

Larutan standar kuersetin 50 $\mu\text{g/mL}$ sebanyak 0,5 ml dipipet dan dimasukkan ke tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,10 ml $AlCl_3$ 10%. Sebanyak 0,10 mL larutan natrium asetat 1 M dan 2,80 ml akuades ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Campuran larutan tersebut diukur absorbansinya setiap 1 menit pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh sebelumnya hingga diperoleh nilai absorbansi yang stabil (Rahayu *et al.*, 2021; Sukmawati *et al.*, 2018). Nilai absorbansi yang stabil menunjukkan waktu *operating time* karena flavonoid telah bereaksi sempurna dengan pereaksi $AlCl_3$ (Suharyanto & Prima, 2020).

c. Pembuatan Kurva Baku Kuersetin

Larutan seri dengan beberapa konsentrasi dibuat dari larutan induk baku kuersetin dengan konsentrasi 20, 30, 40, 50, 60, dan 70 µg/mL dibuat masing-masing sebanyak 10 mL. Kemudian masing-masing larutan seri ditambahkan 0,10 mL AlCl₃ 10%, 0,10 mL natrium asetat 1 M, dan 2,80 mL aquades. Semua larutan diinkubasi selama *operating time* pada suhu kamar kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Kurva kalibrasi diplot hubungan antara konsentrasi dan absorbansi. Pengujian dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali (triplo).

d. Pengukuran Absorbansi Ekstrak dan Fraksi Daun Mangrove

Larutan uji dibuat dengan melarutkan 10 mg ekstrak/fraksi dengan etanol 96% menggunakan labu ukur 10 mL. Dipipet larutan uji sebanyak 0,5 mL dan dimasukkan ke tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 0,10 mL AlCl₃ 10%, 0,10 mL natrium asetat 1 M, dan 2,80 mL aquades. Larutan uji diinkubasi selama *operating time* pada suhu kamar, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dan pengulangan dilakukan sebanyak 3 kali (triplo).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan dengan menggunakan bagian daun, bunga, buah, dan batang. Morfologi *A. marina* yang teridentifikasi sesuai dengan penelitian oleh Noor *et al.* (2012) yakni daunnya yang berbentuk bulat memanjang dengan ujungnya yang meruncing hingga membulat, permukaan bawah daunnya berwarna putih hingga abu muda, bunga bergerombol seperti trisula yang muncul di ujung tandan, buahnya berwarna hijau agak keabuan dengan tekstur seperti berambut halus serta ujungnya agak tajam seperti paruh dan berukuran sekitar 1,5 x 2,5 cm. Hasil determinasi spesimen yang dilakukan oleh Laboratorium Silvikultur, Jurusan Kehutanan, Fakultas Pertanian, Universitas Mataram menyatakan bahwa sampel yang teridentifikasi adalah *Avicennia marina var. rumphiana (Hallier f.) Bakh.*

Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Mangrove

Sebanyak 200 gram simplisia yang telah diayak kemudian diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan pelarut 1:5. Kondisi optimal pada ekstraksi sonikasi yaitu pada suhu 35°C, waktu ekstraksi 30 menit, dan perbandingan simplisia dengan pelarut sebesar 1:5 (Ordóñez-Santos *et al.*, 2015; Januarti *et al.*, 2017). Jumlah ekstrak kental yang diperoleh sebesar 16,591 gram dan rendemen ekstrak yang dihasilkan sebesar 9,33%. Persentase rendemen ekstrak pada penelitian ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian oleh Wulandari *et al.*, (2022)

yang melakukan ekstraksi dengan metode maserasi dan pelarut metanol menghasilkan rendemen sebesar 6%.

Daun mangrove yang telah melalui proses ekstraksi selanjutnya difraksinasi dengan metode partisi cair-cair menggunakan 3 pelarut yang berbeda yakni *n*-heksana, etil asetat, dan air. Pembentukan dua lapisan/fase yang berbeda pada proses fraksinasi disebabkan karena perbedaan berat jenis dari ketiga pelarut, nilai berat jenis *n*-heksana, etil asetat, dan air berturut-turut sebesar 0,6714; 0,89444; 0,99704 g/cm³ (Pires *et al.*, 2007; Aliaj *et al.*, 2016). Persentase rendemen etil asetat, air, dan *n*-heksana berturut-turut didapatkan sebesar 2,95%, 47,52%, dan 25,26%. Perbedaan persentase rendemen yang diperoleh bergantung pada kemampuan pelarut untuk menarik senyawa dan sifat kelarutan komponen bioaktif yang terkandung dalam suatu ekstrak (Dewatisari, 2020; Anjaswati *et al.*, 2021).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia berdasarkan reaksi perubahan warna dilakukan untuk mengidentifikasi metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu bahan alam agar mengetahui gambaran awal terkait golongan senyawa pada tanaman yang diteliti (Kristianti *et al.*, 2008). Hasil skrining fitokimia metabolit sekunder dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1 Hasil skrining fitokimia ekstrak dan fraksi-fraksi

Metabolit sekunder	Ekstrak etanol	Fraksi air	Fraksi etil asetat	Fraksi <i>n</i> -heksana
Flavonoid	+	+	+	+
Fenolik	+	+	+	+
Saponin	+	+	-	+
Alkaloid	+	-	-	-
Steroid/triterpenoid	+	+	+	+

Hasil identifikasi senyawa flavonoid pada ekstrak etanol 96% menghasilkan warna hijau kebiruan artinya positif mengandung senyawa flavonoid (Pant *et al.*, 2017). Hasil positif identifikasi senyawa flavonoid pada fraksi etil asetat dan fraksi air ditandai dengan pembentukan senyawa

kompleks berwarna jingga. Fraksi *n*-heksana menghasilkan warna kuning menunjukkan hasil positif flavonoid golongan kalkon, auron, dan flavon (Yuniati *et al.*, 2020). Keberadaan senyawa fenolik dalam suatu ekstrak ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau kehitaman atau jika dibandingkan dengan ekstrak murni akan tampak lebih hitam karena fenol memiliki kemampuan membentuk senyawa kelat dengan logam dan mudah teroksidasi sehingga membentuk polimer yang menimbulkan warna gelap (Ikalinus *et al.*, 2015; Sari *et al.*, 2020). Terbentuknya warna jingga, hijau, dan coklat juga menandakan hasil positif fenolik (Ailing *et al.*, 2020).

Metabolit sekunder saponin dapat diidentifikasi keberadaannya dengan pembentukan busa pada permukaan air karena bersifat ampifilik dan dapat menurunkan tegangan permukaan (Nurzaman *et al.*, 2018; Arnida *et al.*, 2021). Identifikasi senyawa alkaloid pada ekstrak dan fraksi-fraksi diamati melalui pembentukan endapan pada pereaksi mayer, dragendorff, dan wagner. Pembentukan endapan kuning atau putih yang merupakan kompleks kalium-alkaloid menandakan hasil positif untuk pereaksi mayer, pada pereaksi wagner terbentuknya endapan kecoklatan menunjukkan hasil positif uji alkaloid, sedangkan pada pereaksi dragendorff hasil positif diidentifikasi dengan pembentukan endapan coklat atau kuning (Parbuntari *et al.*, 2018; Kancherla *et al.*, 2019). Senyawa steroid/triterpenoid apabila direaksikan dengan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat akan menghasilkan warna hijau atau biru untuk senyawa steroid dan warna jingga, merah, ungu, atau coklat untuk senyawa triterpenoid (Mailuhu *et al.*, 2017; Habibi *et al.*, 2018; Makalalag *et al.*, 2019). Hasil skrining senyawa steroid/triterpenoid pada penelitian ini yaitu ekstrak etanol menghasilkan warna hijau artinya mengandung senyawa steroid.

Identifikasi Flavonoid dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan untuk menganalisis senyawa flavonoid pada ekstrak dan fraksi-fraksi daun mangrove. Fase diam yang digunakan pada penelitian ini adalah silika gel 60 GF254. Silika gel 60 GF254 menunjukkan silika gel yang memiliki ukuran pori 60 Å, G sebagai penanda adanya pengikat, dan F254 menunjukkan kandungan indikator fluoresensi yang memancarkan sinar di bawah lampu ultraviolet 254 nm (Cahyono & Suzery, 2018). Fase gerak yang digunakan adalah metanol : kloroform (1:9 v/v) telah dioptimasi sebelumnya. Hasil elusi ekstrak, fraksi-fraksi daun mangrove, dan standar kuersetin dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Profil KLT ekstrak dan fraksi-fraksi daun mangrove di bawah sinar UV 366 nm setelah disemprot AlCl_3 10% (a) ekstrak etanol 96% (b) standar kuersetin (c) fraksi *n*-heksana (d) fraksi etil asetat (e) fraksi air

Berdasarkan **Gambar 1** dapat dilihat bahwa ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, dan fraksi etil asetat memiliki bercak yang berpendar berwarna kuning setelah disemprot dengan AlCl_3 10% yang menandakan kandungan senyawa flavonoid. Bercak pada standar kuersetin juga terlihat berpendar kuning kehijauan, hal ini sesuai dengan penelitian Asma *et al.* (2022) dan Hadi *et al.* (2023) bahwa bercak standar kuersetin berpendar kuning setelah disemprot dengan AlCl_3 . Kompleks warna kuning ini terbentuk dari ikatan antara AlCl_3 dengan gugus keton pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 (Shraim *et al.*, 2021; Sari *et al.*, 2022).

Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Daun Mangrove

Penentuan kadar flavonoid total ekstrak dan fraksi-fraksi daun mangrove dengan menggunakan metode spektrofotometri didasarkan pada kemampuan flavonoid golongan flavon dan flavonol (kuersetin) membentuk kompleks yang stabil dengan AlCl_3 . Kadar flavonoid total dalam penelitian ini dinyatakan sebagai mg ekuivalen kuersetin per gram sampel. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh pada penelitian ini sebesar 432 nm. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum tersebut sama dengan penelitian Widyasari *et al.* (2020) dan Reninta *et al.* (2022) yang memperoleh panjang gelombang maksimum kuersetin sebesar 432 nm. *Operating time* yang didapatkan pada penelitian ini adalah 30 menit karena nilai absorbansi yang stabil dimulai pada menit ke-30. Hasil ini sesuai dengan penelitian Safitri *et al.* (2018), Suharyanto *et*

al. (2020), dan Syifa *et al.* (2022) yang mendapatkan hasil *operating time* kuersetin selama 30 menit.

Persamaan regresi linier dari kurva baku kuersetin yang diperoleh yaitu $y = 0,0119x + 0,0489$ dengan nilai R^2 sebesar 0,9989 ($R = 0,99945$). Pengukuran absorbansi sampel dan penentuan kadar flavonoid total dapat dilakukan setelah diperoleh kurva baku kuersetin (**Gambar 2**). Nilai absorbansi (y) sampel yang diperoleh selanjutnya dimasukkan ke persamaan regresi linier kurva baku kuersetin sehingga diperoleh konsentrasi flavonoid dalam ekstrak (nilai x) yang digunakan untuk menghitung kadar flavonoid total.



Gambar 2. Kurva baku kuersetin

Kadar flavonoid total dari ekstrak etanol, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi *n*-heksana daun mangrove berturut-turut sebesar 19,3715 mg EK/g; 3,0786 mg EK/g; 11,3064 mg EK/g; dan 56,6260 mg EK/g. Hasil uji statistika dengan menggunakan *software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) dengan uji *one way ANOVA* dan uji lanjutan *tukey* menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kadar flavonoid ekstrak dan fraksi-fraksi daun mangrove. Kadar flavonoid total ekstrak etanol lebih besar dibandingkan fraksi etil asetat, hal ini sesuai dengan penelitian Widiyana&Illian (2022) bahwa flavonoid lebih terlarut pada pelarut dengan polaritas yang tinggi. Flavonoid yang terlarut pada etil asetat diperkirakan flavonol dalam bentuk aglikon, o-glikosida, dan aglikon polihidroksi (Harborne, 1998; Markham, 1988). Fraksi air memiliki kadar flavonoid total yang paling rendah dikarenakan kuersetin kurang larut dalam media berair (Gonçalves *et al.*, 2015). Selain itu, flavonoid memiliki beragam tipe dan terdapat dalam bentuk bebas/aglikon dan glikosida (Santi *et al.*, 2014). Kadar flavonoid total tertinggi terdapat pada fraksi *n*-heksana, hasil penelitian ini lebih tinggi dibandingkan penelitian yang dilakukan oleh

Malik *et al.* (2017) yakni kadar flavonoid total pada ekstrak *n*-heksana daun mangrove berbagai spesies kurang dari 30 mg EK/gram. Flavonoid pada fraksi *n*-heksana diperkirakan merupakan jenis aglikon polimetoksi (Harborne, 1998). Selain itu, hasil ini didukung juga oleh hasil identifikasi kualitatif dengan kromatografi lapis tipis (**Gambar 4.10**) bahwa bercak pada fraksi *n*-heksana menghasilkan intensitas warna kuning yang terang dan jelas.

SIMPULAN DAN SARAN

A. SIMPULAN

1. Metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak etanol 96% daun mangrove *A. marina* terdiri dari flavonoid, fenolik, saponin, steroid, dan alkaloid. Fraksi etil asetat mengandung metabolit sekunder flavonoid, fenolik, dan triterpenoid. Fraksi air dan *n*-heksana mengandung flavonoid, fenolik, saponin, dan triterpenoid.
2. Kadar flavonoid total pada ekstrak etanol 96%, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi *n*-heksana daun mangrove *A. marina* berturut-turut sebesar 19,37; 3,07; 11,30; dan 56,62 mg EK/g.

B. SARAN

1. Perlu dilakukan pengukuran kadar flavonoid total ekstrak dan fraksi-fraksi daun mangrove *A. marina* menggunakan standar yang berbeda.
2. Perlu dilakukan uji lanjutan seperti uji antioksidan dan uji antibakteri untuk mengetahui aktivitas farmakologi pada ekstrak dan fraksi-fraksi daun mangrove *A. marina*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ailing, Harlia, Syahbanu, I., & Rudiyanasyah. (2020). Karakterisasi Senyawa Fenolik Pada Fraksi Etil Asetat dari Kulit Ranting Sukun (*Artocarpus communis*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 8(3), 9–15.
- Al-Mur, B. A. (2021). Biological Activities of *Avicennia marina* Roots and Leaves Regarding Their Chemical Constituents. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 1(1), 1–13. <https://doi.org/10.1007/s13369-020-05272-1>
- Aliaj, F., Bytyqi-damoni, A., & Sylva, N. (2016). Density and Refractive Index Study of The Ternary System Benzene-Ethanol-Hexane. *9th International Physics Conference of the Balkan Physical Union (BPU-9)*, 1(1), 1–6. <https://doi.org/10.1063/1.4944301>
- Andrea, G. D. (2015). Quercetin: A flavonol with multifaceted therapeutic applications? *Fitoterapia*, 1(1), 1–48. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2015.09.018>
- Anjaswati, D., Pratimasari, D., & Nirwana, A. P. (2021). Perbandingan Rendemen Ekstrak Etanol, Fraksi n- Heksana, Etil Asetat, dan Air Daun Bit (*Beta vulgaris L.*) Menggunakan Fraksinasi Bertingkat. *Jurnal Farmasi*, 2(1), 1–6.
- Arnida, Bittaqwa, E. A., Rahmatika, D., & Sutomo. (2021). Identifikasi Kandungan Senyawa Ekstrak Etanol Rimpang Purun Danau (*Lepironia articulata* (Retz.) Domin). *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah*, 6(2), 1–6.
- Asma, Rohman, A., Santosa, D., Rafi, M., Aminah, N. S., Insanu, M., & Irnawati. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Fenolik Total Ekstrak Sidaguri (*Sida rhombifolia L.*). *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*, 10(2), 634–643.
- Asmorowati, H., & Lindawati, N. Y. (2019). Determination of total flavonoid content in avocado (*Persea americana Mill.*) using spectrofotometry method. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 15(2), 51–63.
- Cahyono, B., & Suzery, M. (2018). *Bahan Alam : Aspek Teoritis dan Eksperimen*. Kompas Ilmu.
- Candra, L. M. M., Andayani, Y., & Wirasisya, D. G. (2021). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kandungan Fenolik Total dan Flavonoid Total Pada Ekstrak Etanol Buncis (*Phaseolus vulgaris L.*). *J Pijar MIPA*, 16(3), 397–405.

- Chang, C., Yang, M., Wen, H., & Chern, J. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178–182.
- Dahuri, R., Rais, J., Ginting, S., & Sitepu, M. (2001). *Pengelolaan Sumber Daya Pesisir Secara Terpadu*. Pradnya Paramita.
- Dewatisari, W. F. (2020). Perbandingan Pelarut Kloroform dan Etanol terhadap Rendemen Ekstrak Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain.) Menggunakan Metode Maserasi. *Prosiding Seminar Nasional Biologi Di Era Pandemi COVID-19*, 1(1), 127–132.
- Ghosh, A., Sarkar, N. Sen, & Dasgupta, M. (2002). Check-list of mangroves and mangrove associated species in the Indian Sundarbans. *Environmental Information System (ENVIS) Centre C.A.S. in Marine Biology Annamalai University*, 2, 1–25.
- Hadi, S., Subekti, A., & Khairunnisa, A. (2023). Uji Antioksidan dan Penetapan Flavonoid Tuber Pakis Kinca (*Nephrolepis cordifolia* (L) C. Presl). *Indonesian Journal of Chemical Analysis*, 06(01), 1–9.
- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical Methods*. Chapman&Hall.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002). *Flavonoid antioxidants : chemistry , metabolism and structure-activity relationships*. 13, 572–584.
- Ibrahim, H. A. H., Abdel-latif, H. H., & Zaghloul, E. H. (2022). Phytochemical composition of *Avicennia marina* leaf extract , its antioxidant , antimicrobial potentials and inhibitory properties on *Pseudomonas fluorescens* biofilm. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 48(1), 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2021.10.007>
- Ikalinus, R., Widyastuti, S. K., & Setiasih, N. L. E. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71–79.
- Januarti, I. B., Santoso, A., & Razak, A. S. (2017). Ekstraksi Senyawa Flavonoid Daun Jati (*Tectona grandis* L.) dengan Metode Ultrasonik (Kajian Rasio Bahan : Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Media Farmasi Indonesia*, 12(2), 1259–1266.
- Japa, L., Fitrianti, V., Rohmah, S., Wadi, H., & Abendani, R. (2019). *Kondisi Ekosistem Mangrove di Teluk Sekotong Kabupaten Lombok Barat*. Unram Press.
- Kancherla, N., Dhakshinamoothi, A., Chitra, K., & Komaram, R. B. (2019). Preliminary Analysis of Phytoconstituents and Evaluation of Anthelmintic Property of *Cayratia auriculata* (In Vitro). *Medica - a Journal of Clinical Medicine*, 14(4), 350–356.

- Kehutanan, K. L. H. dan. (2021). *Peta Mangrove Nasional Tahun 2021: Baseline Pengelolaan Rehabilitasi Mangrove Nasional*. <http://ppid.menlhk.go.id/berita/siaran-pers/6225/peta-mangrove-nasional-tahun-2021-baseline-pengelolaan-rehabilitasi-mangrove-nasional>
- Kinasih, P. I., & Purnaweni, H. (2019). Pemanfaatan Mangrove Untuk Pemberdayaan Masyarakat Pesisir. *Conference on Public Administration and Society*, 01(01), 71–78.
- Kiranmai, M., Kumar, C. M., & Ibrahim, M. (2011). Comparison of total flavanoid content of *Azadirachta indica* root bark extracts prepared by different methods of extraction. *Research Journal of Pharmaceutical , Biological and Chemical Sciences*, 2(3), 254–261.
- Kristianti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M., & Kurniadi, B. (2008). *Buku Ajar Fitokimia*. Jurusan Kimia Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Airlangga.
- Mahera, S. A., Saifullah, S. M., Ahmad, V. U., & Mohammad, F. V. (2013). Phytochemical studies on mangrove *Avicennia marina*. *Pak. J. Bot.*, 45(6), 2093–2094.
- Mailuhu, M., Runtuwene, M. R. J., & Koleangan, H. S. J. (2017). Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Batang Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC). *Chem. Prog.*, 10(1), 1–6.
- Makalalag, A. K., Sangi, M., & Kumaunang, M. (2019). Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol dari Daun Turi (*Sesbania grandiflora* Pers). *Jurnal Unsrat*, 1(1), 38–46.
- Markham, K. R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Penerbit ITB.
- Mishra, A., Sharma, A. K., Kumar, S., Saxena, A. K., & Pandey, A. K. (2013). *Bauhinia variegata* Leaf Extracts Exhibit Considerable Antibacterial, Antioxidant, and Anticancer Activities. *BioMed Research International*, 1–11.
- Nabilla, I. I., & Indrayudha, P. (2019). Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol , Fraksi Etanol , Etil-Asetat , dan Heksana Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC .) terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Pharmacoin: Jurnal Farmasi Indonesia*, 16(1), 11–17.
- Noor, Y. R., Khazali, M., & Suryadiputra, I. N. N. (2012). *Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia*. Wetlands International-Indonesia Programme.

- Nurzaman, F., Djadjadisastra, J., & Elya, B. (2018). Identifikasi Kandungan Saponin dalam Ekstrak Kamboja Merah (*Plumeria rubra* L.) dan Daya Surfaktan dalam Sediaan Kosmetik. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 8(2), 85–93.
- Ordóñez-Santos, L. E., Pinzón-zarate, L. X., & Gonzales-Salcedo, L. O. (2015). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of total carotenoids from peach palm fruit (*Bactris gasipaes*) by-products with sunflower oil using response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 1(1), 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.04.010>
- Pan, M., Lai, C., & Ho, C. (2010). *Anti-inflammatory activity of natural dietary flavonoids*. <https://doi.org/10.1039/c0fo00103a>
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 1(1), 1–15. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- Pant, D. R., Pant, N. D., Saru, D. B., Yadav, U. N., & Khanal, D. P. (2017). Phytochemical screening and study of antioxidant, antimicrobial, antidiabetic, anti-inflammatory and analgesic activities of extracts from stem wood of *Pterocarpus marsupium* Roxburgh. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 6(2), 170–176. <https://doi.org/10.5455/jice.20170403094055>
- Parbuntari, H., Prestica, Y., Gunawan, R., Nurman, M. N., & Adella, F. (2018). Preliminary Phytochemical Screening (Qualitative Analysis) of Cacao Leaves (*Theobroma Cacao* L.). *Eksakta*, 19(2), 1–8.
- Pires, R. M., Costa, H. F., Ferreira, A. G. M., & Fonseca, I. M. A. (2007). Viscosity and Density of Water + Ethyl Acetate + Ethanol Mixtures at 298.15 and 318.15 K and Atmospheric Pressure. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 52(4), 1240–1245.
- Priyanto, J. A., Pujiyanto, S., & Rukmi, I. (2014). Jurnal Sains dan Matematika Flavonoids Production Capability Test of Tea Mistletoe (*Scurrula atropurpurea* BL . Dans) Endophytic Bacteria Isolates. *Jurnal Sains Dan Matematika*, 22(4), 89–96.
- Purwanti, N. U., & Susanti, R. (2022). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Jeringau Merah (*Acorus* sp.) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 4(1), 56–61.

- Rahayu, S., Vifta, R. L., & Susilo, J. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Dari Kabupaten Lombok Utara dan Wonosobo Menggunakan Metode FRAP. *Generics : Journal of Research in Pharmacy*, 1(2), 1–9.
- Rahman, F. A., Rohyani, I. S., Suropto, Hadi, A. P., & Lestari, D. P. (2019). Komposisi Vegetasi Mangrove Berdasarkan Strata Pertumbuhan di Teluk Sereweh, Kabupaten Lombok Timur, Nusa Tenggara Barat. *Jurnal Pendidikan Biologi Dan Sains (PENBIOS)*, 4(2), 53–61.
- Reninta, R., Nawfetriyas, W., Tanjung, A., Utami, R. N., Handayani, D. P., & Pinardi, D. (2022). Effect of extraction method on the flavonoid content of potential medicinal plant *Phyllanthus niruri* L. *9th International Conference on Sustainable Agriculture and Environment*, 1(1), 1–8. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1114/1/012073>
- Santi, I. W., Radjasa, O. K., & Widowati, I. (2014). Potensi Rumput Laut *Sargassum duplicatum* sebagai Sumber Senyawa Antifouling. *Journal of Marine Research*, 3(3), 274–284.
- Saraswati, N. A., & Saraswati, R. (2019). Pemantauan Mangrove di Teluk Lembar, Lombok Barat Menggunakan Landsat Tahun 1995 hingga 2019. *Seminar Nasional Penginderaan Jauh Ke-6 Tahun 2019*, 404–408.
- Sari, S. A., Ernita, M., & Mara, M. N. (2020). Identification of Active Compounds on *Muntingia calabura* L. Leaves using Different Polarity Solvents. *Indonesian Journal of Chemical Science and Technology*, 03(1), 1–7.
- Sharma, T., Pandey, B., Shrestha, B. K., Koju, G. M., Thusa, R., & Karki, N. (2020). Phytochemical Screening of Medicinal Plants and Study of The Effect of Phytoconstituents in Seed Germination. *Tribhuvan University Journal*, 35(2), 1–11.
- Suharyanto, & Prima, D. A. N. (2020). Penetapan Kadar Flavonoid Total Pada Juice Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) Yang Berpotensi Sebagai Hepatoprotektor Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 4(2), 110–119.
- Sukmawati, Sudewi, S., & Pontoh, J. (2018). Optimasi Dan Validasi Metode Analisis Dalam Penentuan Kandungan Total Flavonoid Pada Ekstrak Daun Gedi Hijau (*Abelmoscus*

- manihot L.) Yang Diukur Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *Pharmacon: Jurnal Ilmiah Indonesia*, 7(3), 32–41.
- Tapas, A. R., Sakarkar, D. M., & Kakde, R. B. (2008). Flavonoids as Nutraceuticals : A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3), 1089–1099.
- Thatoi, H., Samantaray, D., & Das, S. K. (2016). The genus *Avicennia* , a pioneer group of dominant mangrove plant species with potential medicinal values : a review. *Frontiers in Life Science*, 9(4), 267–291.
<https://doi.org/10.1080/21553769.2016.1235619>
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and Extraction : A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 98–106.
- Ulubelen, A., Topcu, G., & Kolak, U. (2005). Labiatae Flavonoids and their Bioactivity. *Atta-Ur-Rahman (Ed.) Studies in Natural Products Chemistry*, 30(1), 233–302.
[https://doi.org/10.1016/S1572-5995\(05\)80035-3](https://doi.org/10.1016/S1572-5995(05)80035-3)
- Wulandari, J., Harmain, R. M., & Dali, F. A. (2022). Aktivitas Antioksidan pada Daun Mangrove Api-api (*Avicennia marina*). *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan*, 10(1), 7–16.
- Yassien, E. E., Hamed, M. M., Abdelmohsen, U. R., Hassan, H. M., & Gazwi, H. S. S. (2021). In vitro antioxidant , antibacterial , and antihyperlipidemic potential of ethanolic *Avicennia marina* leaves extract supported by metabolic profiling. *Environmental Science and Pollution Research*.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11356-021-12496-7>
- Yuniati, R., Zainuri, M., & Kusumaningrum, H. (2020). Qualitative Tests of Secondary Metabolite Compounds in Ethanol Extract of *Spirulina platensis* from Karimun Jawa Sea, Indonesia. *Biosaintifika*, 12(3), 343–349.
- Zandi, K., Teoh, B., Sam, S., Wong, P., Mustafa, M. R., & Abubakar, S. (2011). Antiviral activity of four types of bioflavonoid against dengue virus type-2. *Virology Journal*, 8(560), 1–11.