



SEMINAR HASIL TUGAS AKHIR II

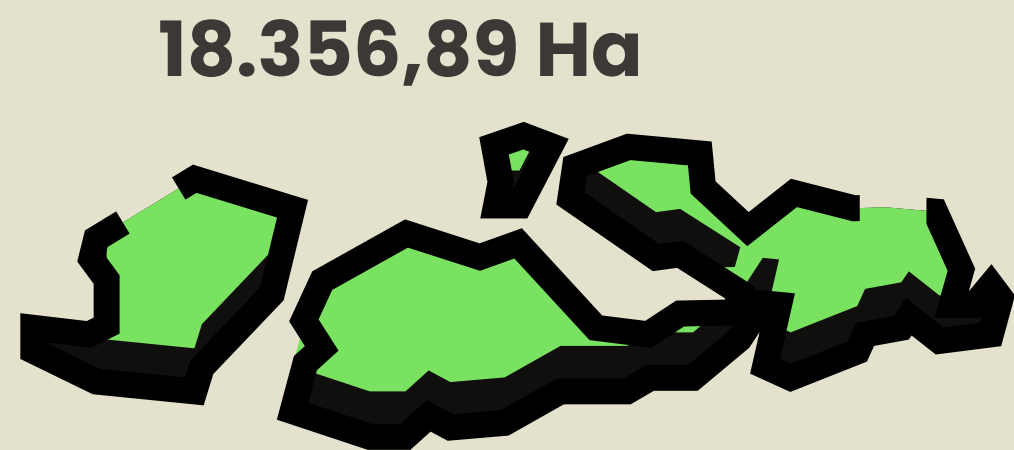
Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Daun Mangrove (*Avicennia marina*)

ZULFIANA FITRIANINGRUM ANNAS

K1A019071

Program Studi Farmasi
Fakultas Kedokteran
Universitas Mataram
2023

Latar Belakang



Avicennia marina

Kadar Flavonoid Total

Daun *A. marina* digunakan secara empiris sebagai obat luka bakar, penyakit dalam, dan anti fertilitas (Rupidara *et al.*, 2020).

Kadar flavonoid total berkorelasi terhadap aktivitas farmakologi (Aryal *et al.*, 2019)

3.364.080 Ha

Ekstrak daun *A. marina* memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan (Dewi *et al.*, 2018; Fitri & Usman, 2021)

Flavonoid



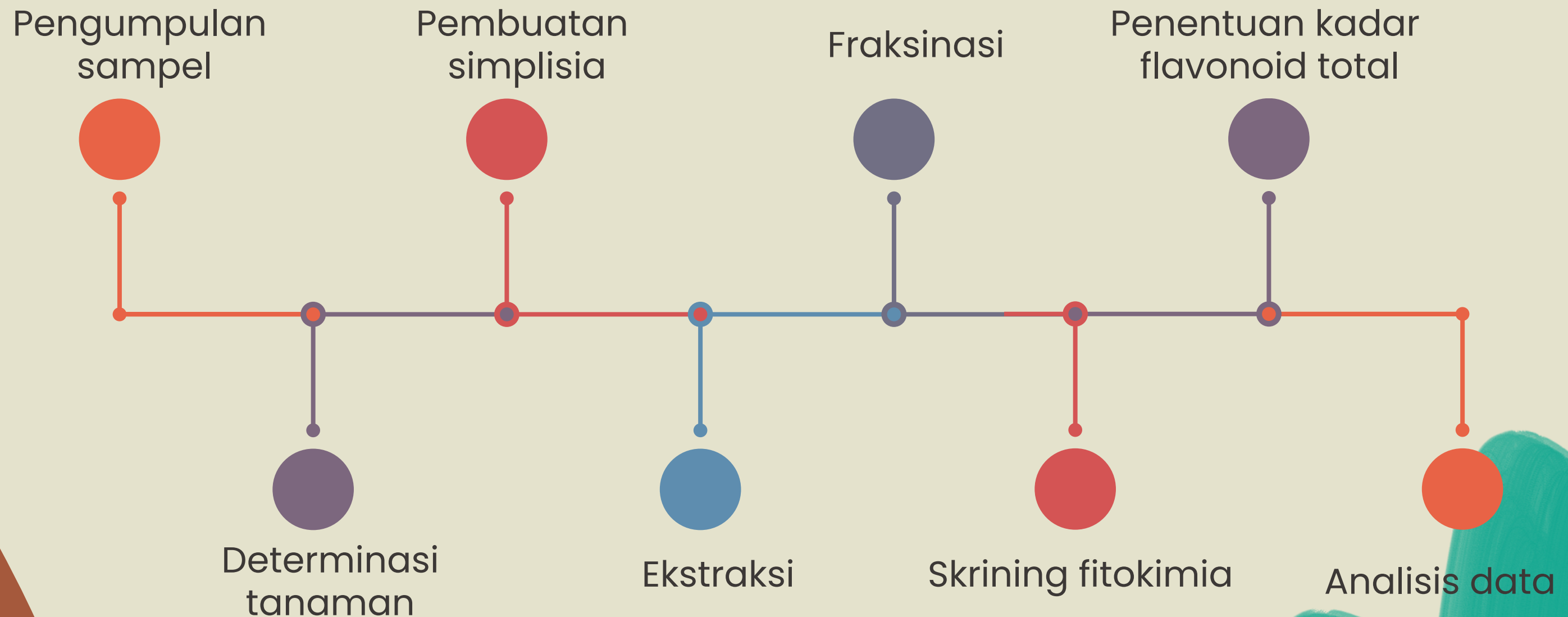
Tujuan

1. Mengetahui profil metabolit sekunder dari ekstrak dan fraksi air, etil asetat, dan *n*-heksana daun mangrove *A. marina* dengan menggunakan metode KLT
2. Mengetahui kadar flavonoid total pada ekstrak dan fraksi air, etil asetat, dan *n*-heksana daun mangrove *A. marina* dengan metode spektrofotometri UV-Vis

Manfaat Penelitian

Memberikan informasi terkait kadar flavonoid total pada ekstrak dan fraksi daun mangrove karena kadar flavonoid total memiliki korelasi terhadap aktivitas suatu tanaman sehingga menjadi awal dari penemuan obat baru di bidang ilmu pengetahuan

Alur Penelitian



Pengumpulan Sampel



Sampel penelitian adalah daun mangrove dengan kriteria inklusi dan kriteria eksklusi :

- ✓ daun yang berwarna hijau dan daun tua yang masih utuh
- ✗ daun berwarna coklat dan daun yang telah rusak sebelum pengambilan

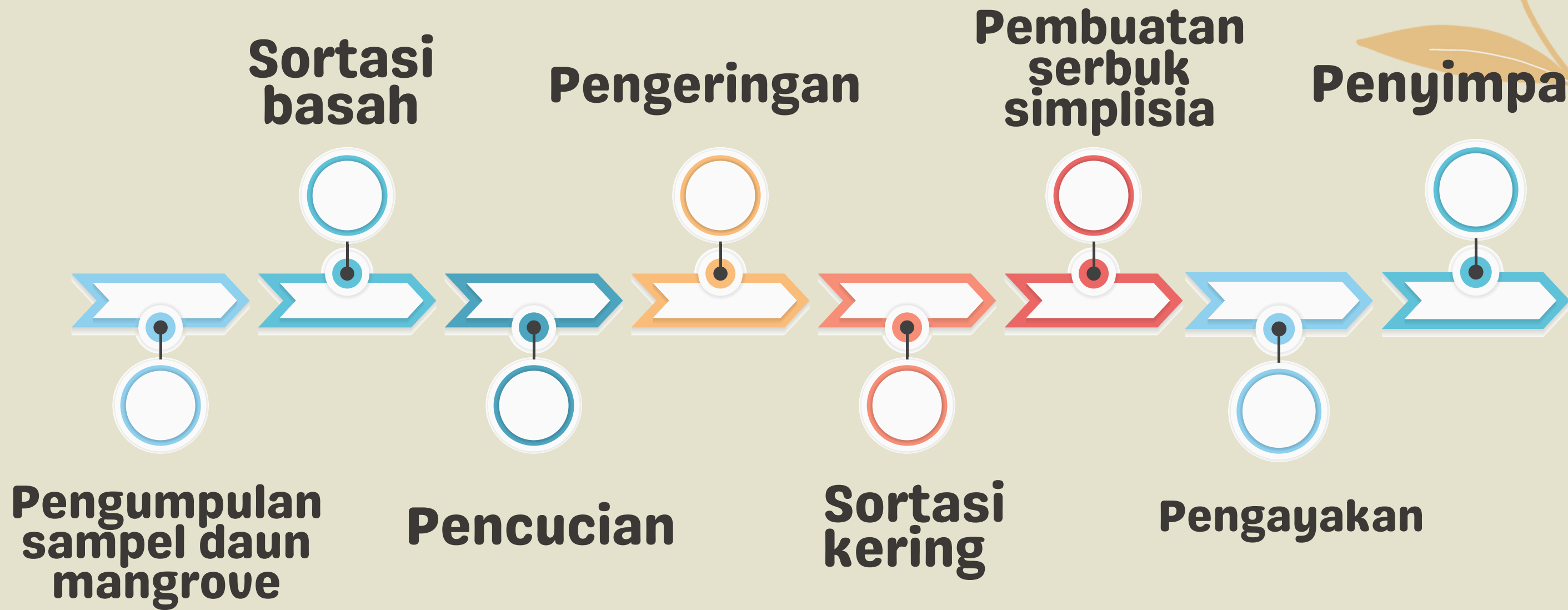
Lokasi pengambilan sampel



Jl. Raya Sepi, Buwun Mas, Kecamatan Sekotong, Kabupaten Lombok Barat, Nusa Tenggara Barat

📍 -8.8520158, 116.0659432

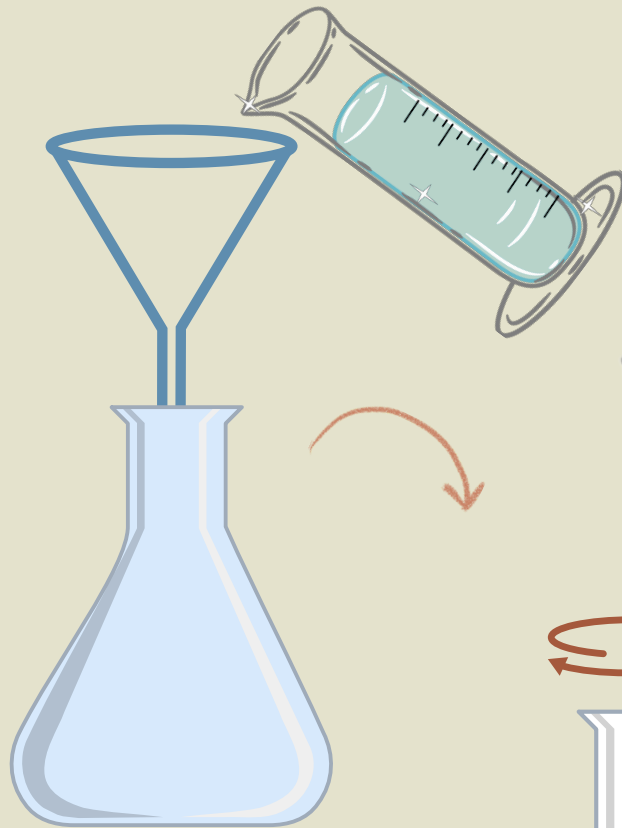
Pembuatan Simplisia



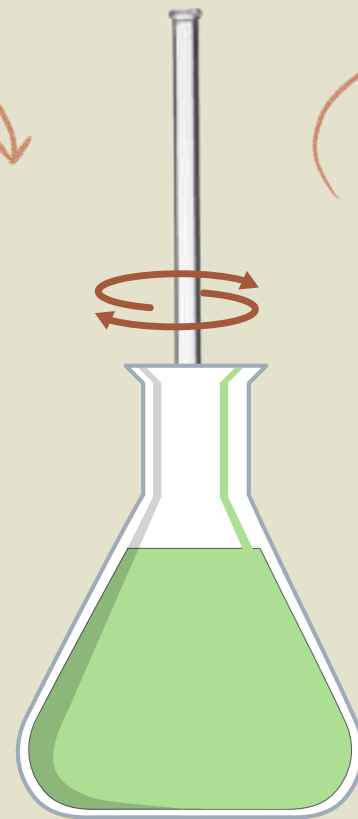
Pembuatan ekstrak



500 mL
etanol 96%



100 gram
simplisia



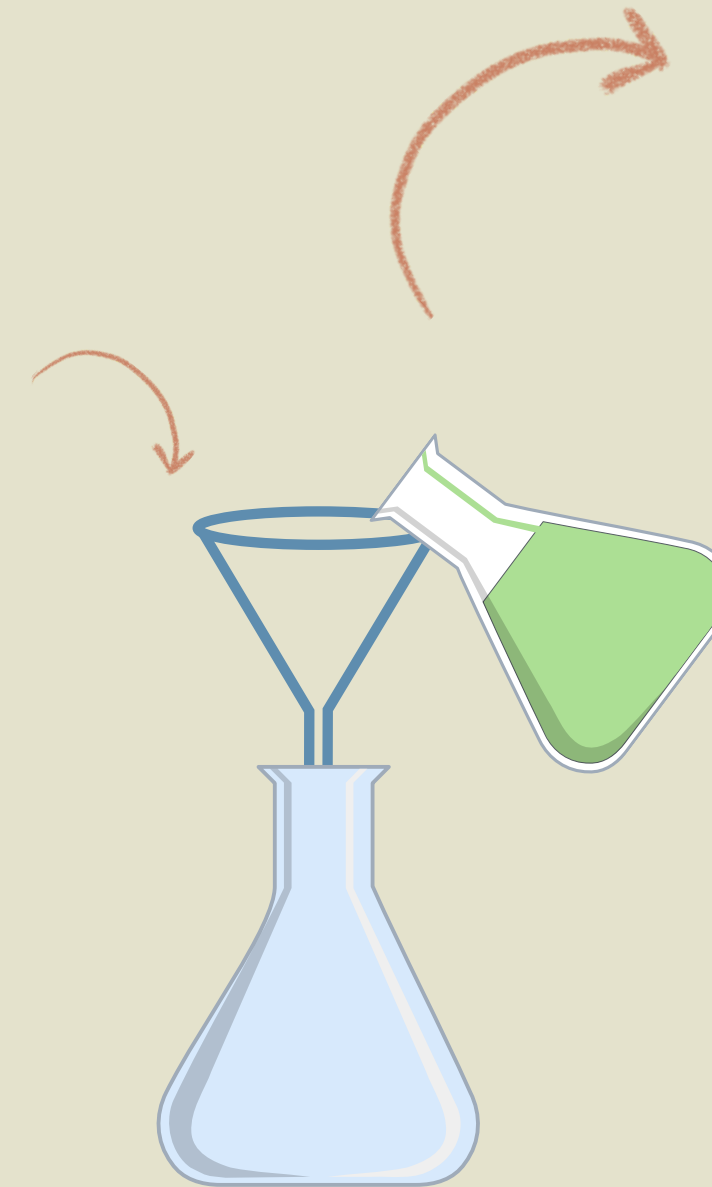
Pengadukan simplisia
dengan etanol



Ekstraksi dengan sonikasi

🕒 30 menit

🌡️ 35°C



Penyaringan hasil sonikasi

Proses sonikasi diulangi 2 kali
dengan pelarut baru

↓
Pemekatan dengan
Rotary evaporator

↓
Pengentalan
dengan waterbath

↓
Perhitungan
rendemen

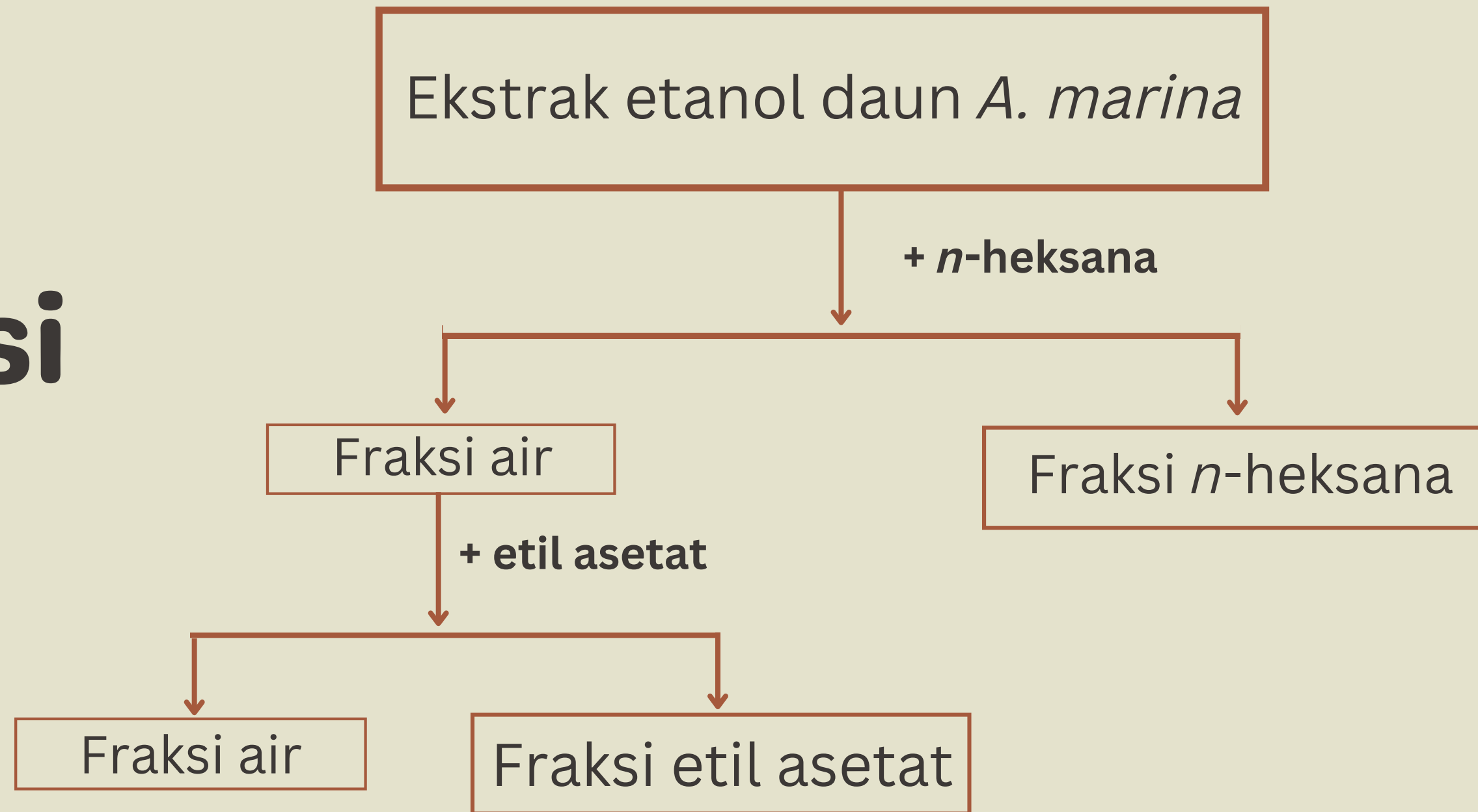


Fraksinasi

Volume pelarut

Fraksinasi : 100 mL

Refraksinasi : 50 mL



Skrining Fitokimia



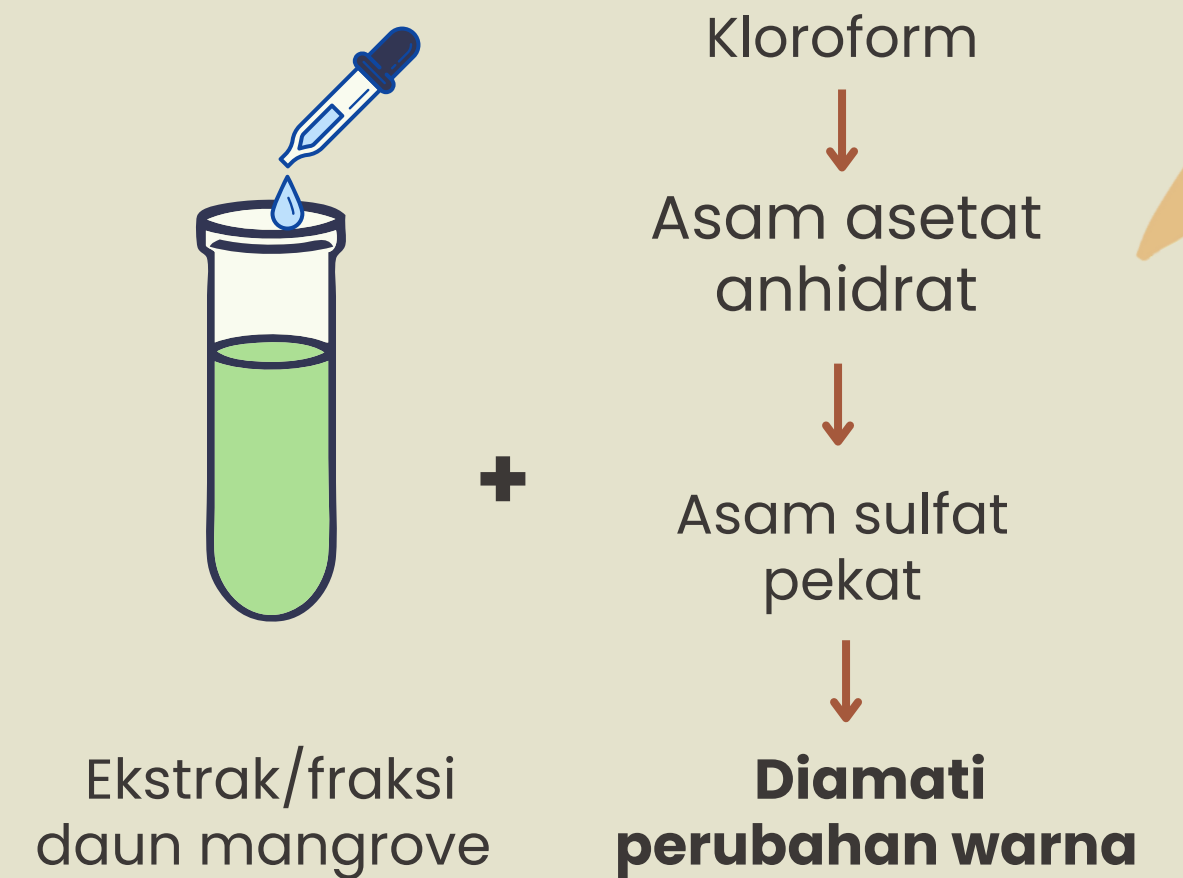
Flavonoid



Fenolik



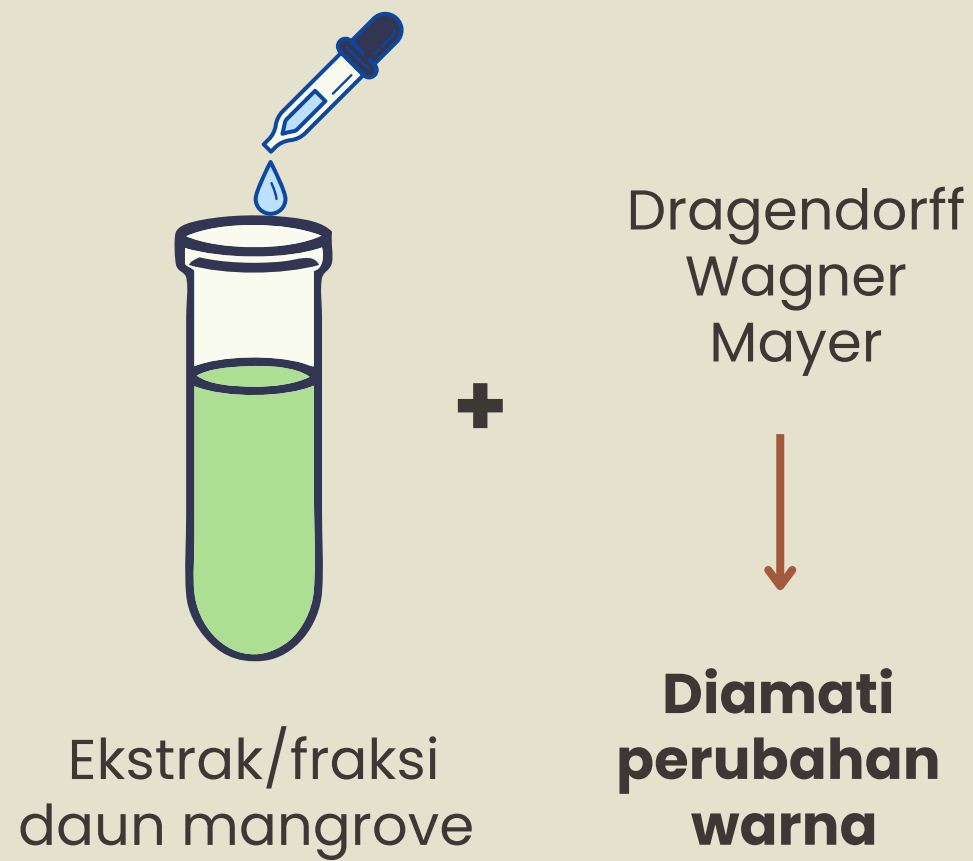
Steroid



Skrining Fitokimia



Alkaloid



Triterpenoid



Saponin



Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

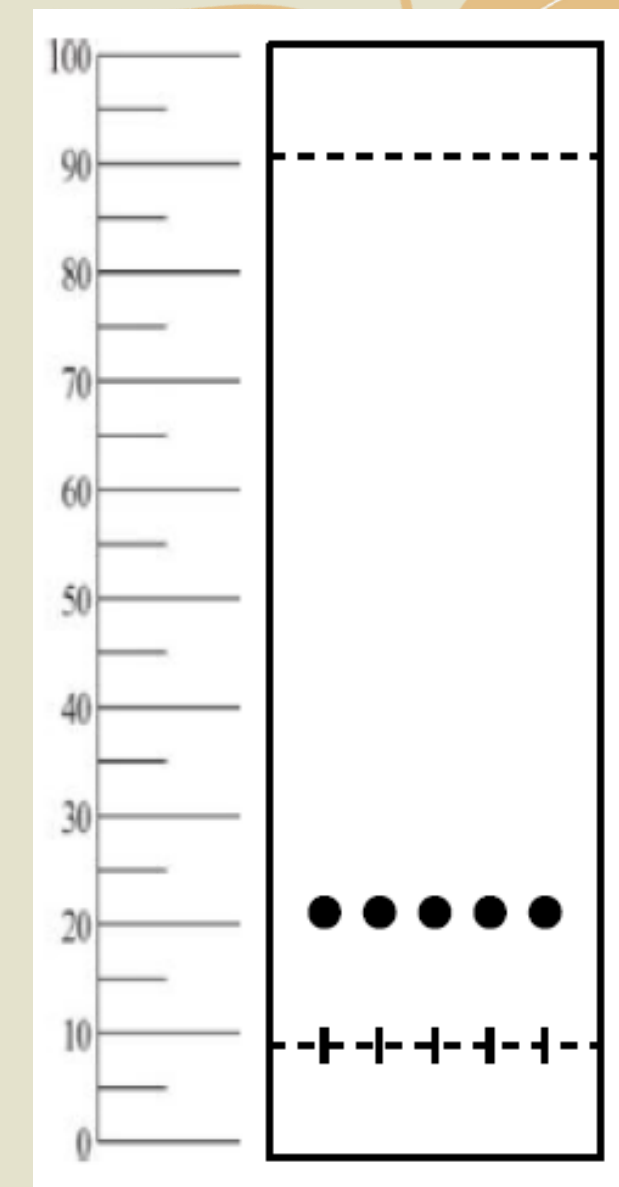


Fase diam : Silika gel 60 F 254

Fase gerak : metanol : kloroform (1:9)

- Plat KLT dipotong dengan ukuran 10x5 cm
- Digaris batas atas dan bawah
- Dimasukkan fase gerak ke dalam chamber
- Ditotolkan sampel dan standar pada plat KLT
- Dielusi plat KLT
- Diamati pada sinar UV 254 dan 366 nm
- Disemprot dengan $AlCl_3$
- Diamati pada sinar UV 366 nm

↓
Hasil

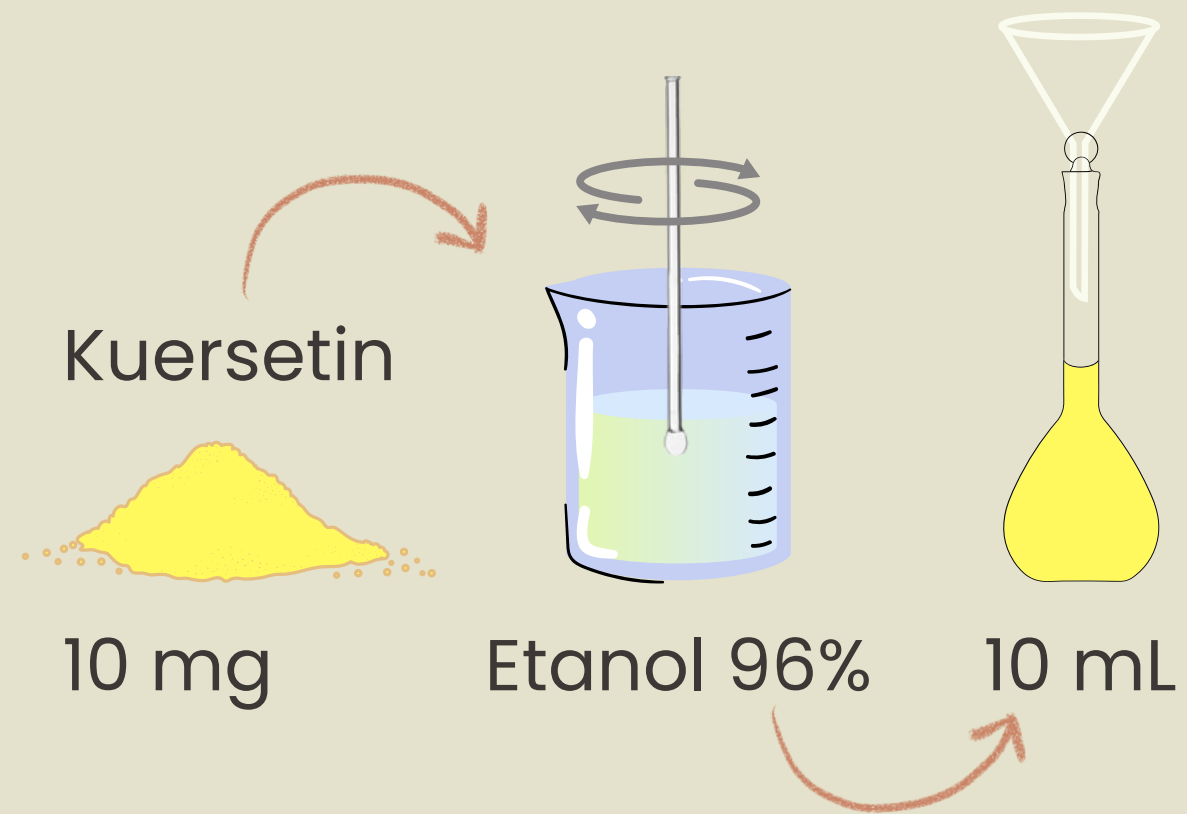


Ilustrasi jarak penotolan sampel pada lempeng KLT

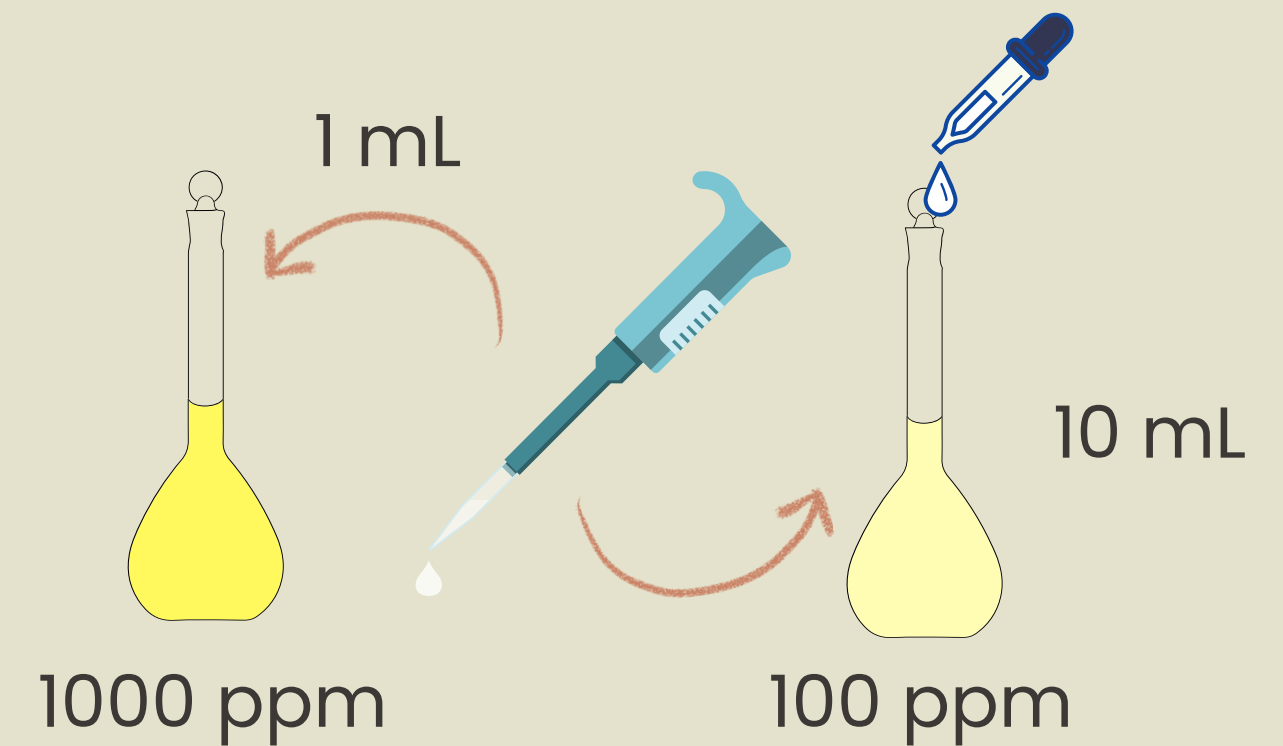
Penentuan Kadar Flavonoid Total



Pembuatan Larutan Baku Induk Kuersetin 1000 ppm



Pembuatan Larutan Baku Kuersetin 100 ppm



Penentuan Kadar Flavonoid Total



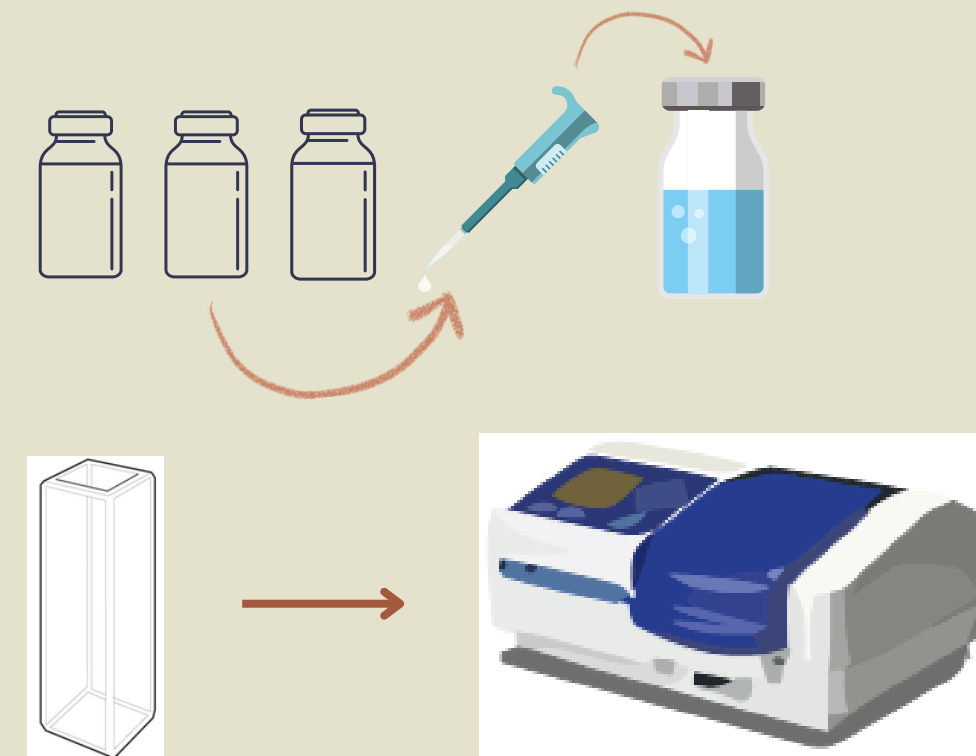
Pembuatan Larutan Blanko



Dimasukkan 0,5 mL etanol 96% ke dalam vial, ditambahkan :

- 0,10 mL AlCl_3 10%
- 0,10 mL natrium asetat 1 M
- 2,80 mL akuades

Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum



0,5 mL larutan standar kuersetin 50 ppm, ditambahkan :

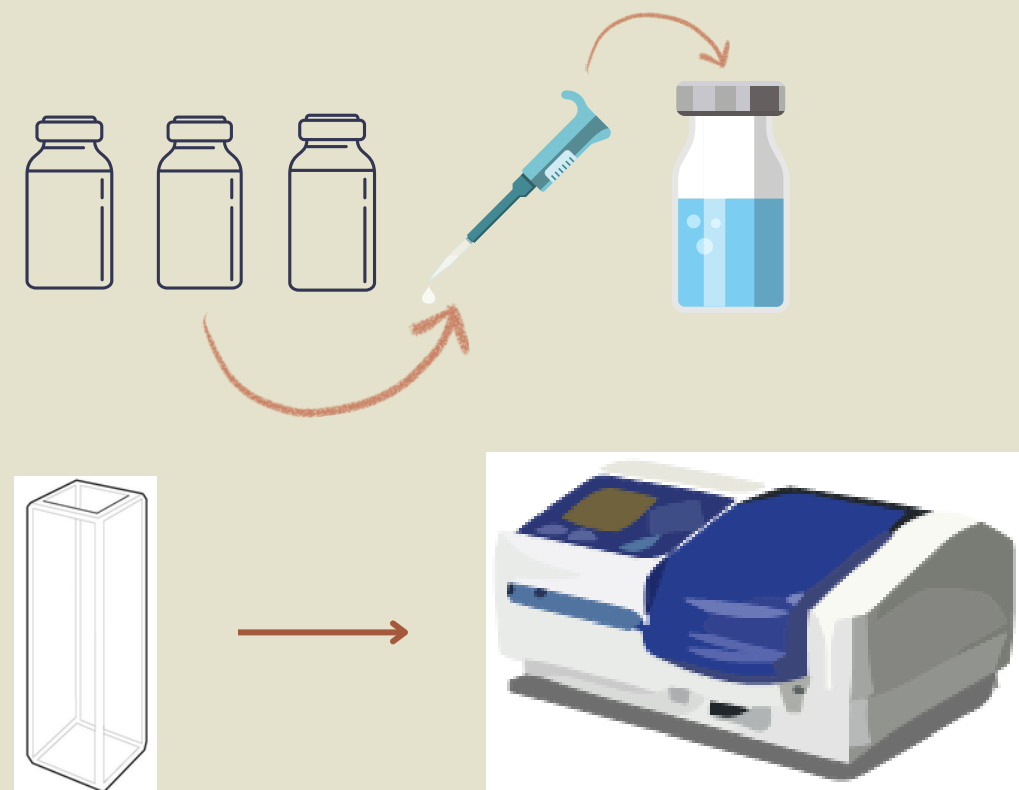
- 0,10 mL AlCl_3 10%
- 0,10 mL natrium asetat 1 M
- 2,80 mL akuades

Diukur absorbansi pada 400–500 nm

Penentuan Kadar Flavonoid Total



Penentuan *Operating Time* (OT)

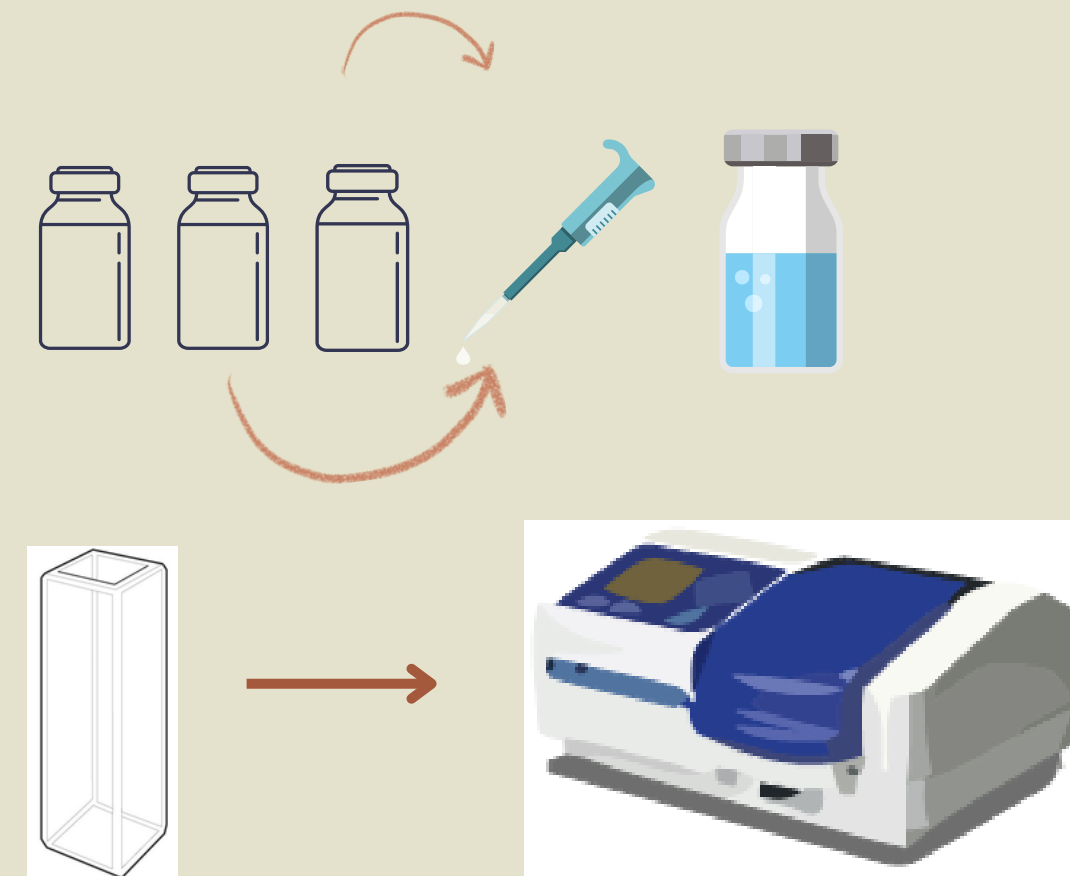


0,5 mL larutan standar kuersetin 50 ppm, ditambahkan :

- 0,10 mL AlCl₃ 10%
- 0,10 mL natrium asetat 1 M
- 2,80 mL akuades

Diukur absorbansinya setiap 1 menit hingga didapatkan absorbansi yang stabil pada λ maks

Pembuatan Kurva Kalibrasi



• Dibuat variasi konsentrasi larutan standar kuersetin 20–70 ppm
0,5 mL larutan standar kuersetin dari masing-masing konsentrasi, ditambahkan :

- 0,10 mL AlCl₃ 10%
- 0,10 mL natrium asetat 1 M
- 2,80 mL akuades

Diinkubasi selama 30 menit

Diukur absorbansi pada λ 432 nm

Penentuan Kadar Flavonoid Total



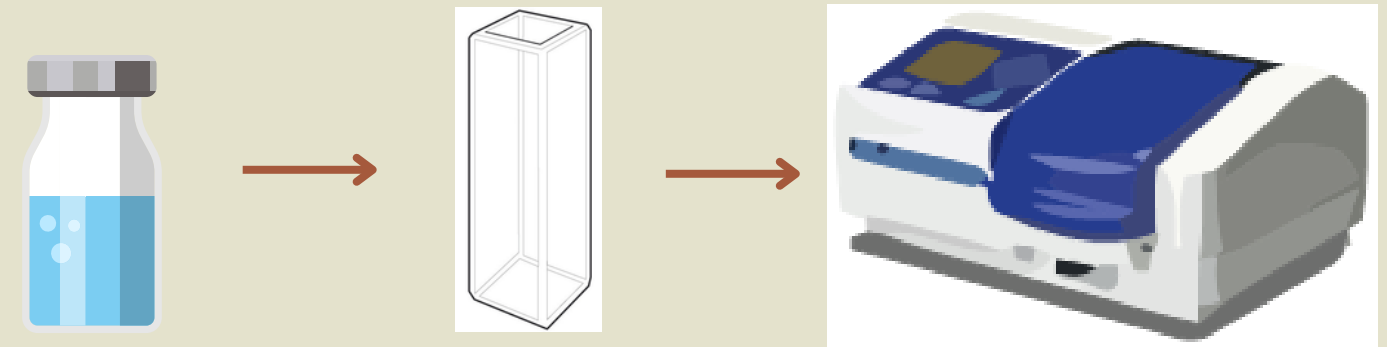
Pembuatan Larutan Sampel



Larutan sampel ekstrak/fraksi konsentrasi tertentu, ditambahkan :

- 0,10 mL AlCl_3 10%
- 0,10 mL natrium asetat 1 M
- 2,80 mL akuades

Pengukuran absorbansi ekstrak/fraksi daun mangrove



- Larutan diinkubasi selama 30 menit
- Diukur absorbansi pada λ 432 nm

Analisis Data



Kadar flavonoid total dihitung dengan :

- membuat kurva baku kuersetin antara konsentrasi dan absorbansi.
- diperoleh persamaan regresi linier $y = bx + a$
- diperoleh konsentrasi flavonoid
- dihitung kadar flavonoid total dengan rumus

$$H = \frac{CV}{M}$$

Keterangan :

y : Absorbansi sampel

x : Konsentrasi sampel (ppm)

H : Flavonoid total (mg EK/g ekstrak)

C : Konsentrasi flavonoid dalam ekstrak (nilai x) (mg/mL)

V : Volume ekstrak (mL)

M : Berat sampel (g)

Data hasil perhitungan kadar flavonoid total dari kelompok ekstrak etanol, fraksi etil asetat, fraksi *n*-heksana, dan fraksi air dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS). Uji statistik terhadap perbedaan kadar flavonoid total antara ekstrak dan fraksi-fraksi daun mangrove dilakukan dengan uji ANOVA dan dilanjutkan dengan uji tukey.

Hasil dan Pembahasan

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan dengan menggunakan bagian daun, bunga, buah, dan batang.



 KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS MATARAM
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN KEHUTANAN
LABORATORIUM SILVIKULTUR
Jl. Pendidikan No.37 Mataram, Telp./Fax (0370) 7505654 | Email : kehutanan.unram@gmail.com

HASIL IDENTIFIKASI JENIS HERBARIUM

Nama Pengirim : Zulfiana Fitrianingrum Annas
Instansi : Prodi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram
Jumlah Spesimen : 1

HASIL DETERMINASI SPESIMEN

No.	Nama Ilmiah
1.	<i>Avicennia marina</i> var. <i>rumphiana</i> (Hallier f.) Bakh.

Penerima,
Ketua Laboratorium Silvikultur,

Dr. Endah Wahyuningsih, S.Hut, MP
NIP. 19721208 200604 2 001

Hasil determinasi spesimen yang dilakukan di 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 diekstraksi dengan pelarut etanol 96% menggunakan metode sonikasi.



Jumlah ekstrak kental yang diperoleh sebesar 16,591 gram dan rendemen ekstrak yang dihasilkan sebesar 9,33%.



% rendemen :

etil asetat : 2,95%
air : 47,52%
n-heksana : 25,26%

Berat fraksi :

etil asetat : 0,295 gram
air : 4,752 gram
n-heksana : 2,526 gram

Skrining Fitokimia : Uji Tabung

Hasil skrining fitokimia ekstrak dan fraksi-fraksi daun mangrove menggunakan uji tabung



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

Skrining Fitokimia : Kromatografi Lapis Tipis

Hasil kromatografi lapis tipis (KLT) senyawa flavonoid pada ekstrak dan fraksi-fraksi daun mangrove



Fase diam : Silika gel 60 GF254
Fase gerak : Metanol-kloroform (1:9 v/v)

Keterangan :

- (a) ekstrak etanol 96%
- (b) standar kuersetin
- (c) fraksi n-heksana
- (d) fraksi etil asetat
- (e) fraksi air

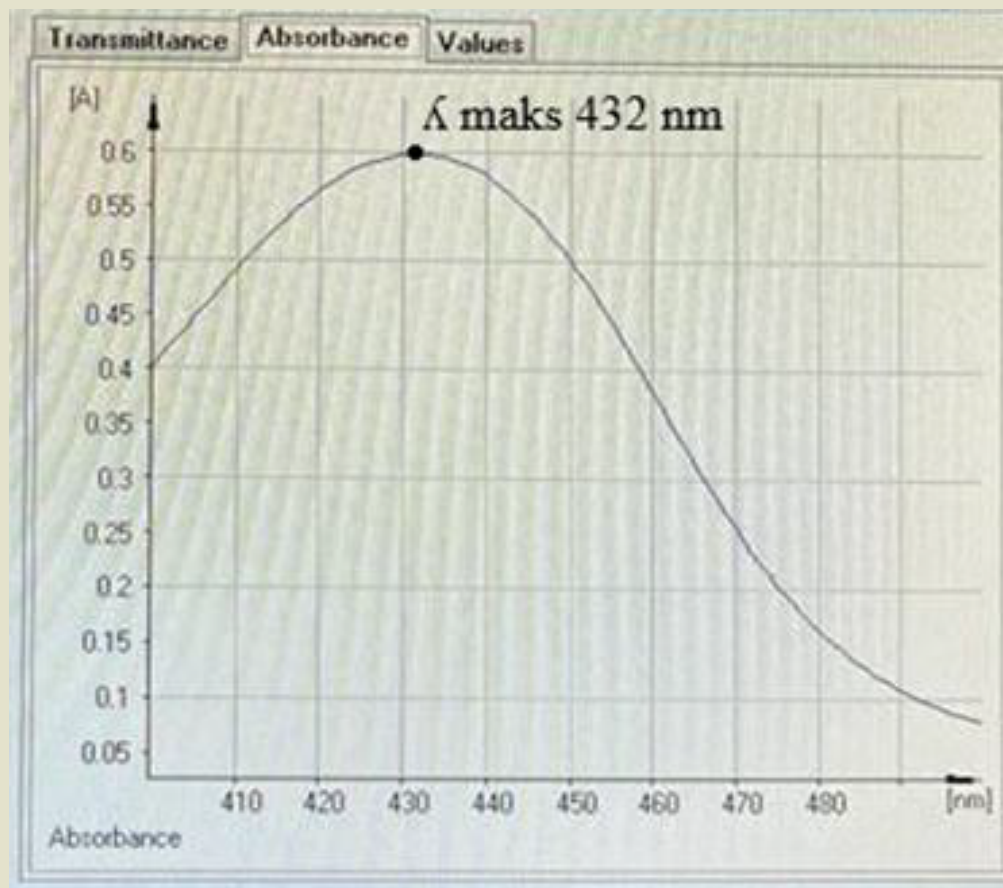
Profil KLT ekstrak dan fraksi-fraksi daun mangrove di bawah sinar UV 366 nm setelah disemprot $AlCl_3$ 10%

Sampel	Warna spot	Nilai Rf	Interpretasi
Ekstrak etanol 96%	kuning	0,88	Flavonoid
Standar	kuning kehijauan	0,92	Kuersetin
Fraksi <i>n</i> -heksana	kuning	0,88	Flavonoid
Fraksi etil asetat	kuning	0,88	Flavonoid
Fraksi air	-	0,15	Flavonoid

Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Daun Mangrove *A. Marina*



Panjang gelombang maksimum



Operating time

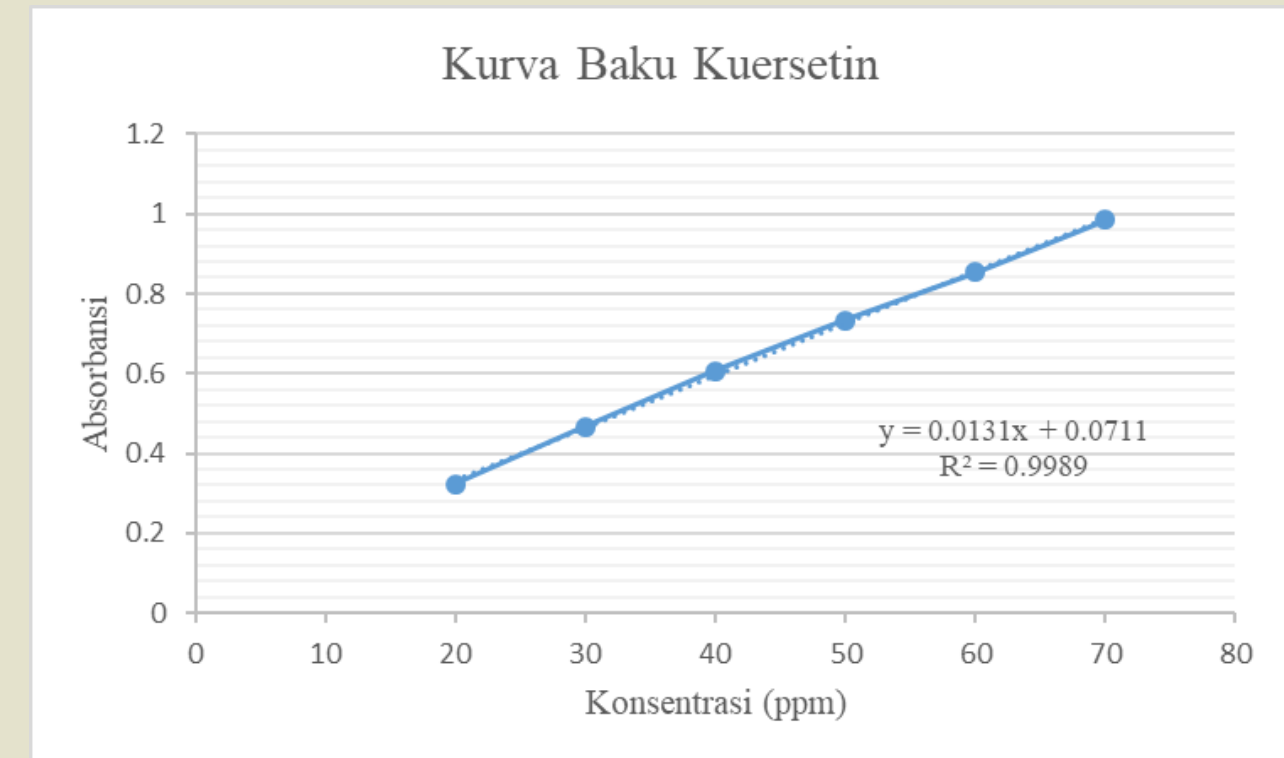
Serial measurement

Measurement settings

Designation: SPECORD 200 PLUS -
Display: Absorbance
Correction: Reference
Lamp change at: 320 nm
Meas. mode: Wavelengths
Wavelength [nm]: 432
Integration time [s]: 0.1

		432.0 nm
21	T20	0.5886
22	T21	0.5882
23	T22	0.5885
24	T23	0.5886
25	T24	0.5888
26	T25	0.5888
27	T26	0.5891
28	T27	0.5890
29	T28	0.5891
30	T29	0.5892
31	T30	0.5894
32	T31	0.5894
33	T32	0.5894
34	T33	0.5896
35	T34	0.5894

Kurva baku standar kuersetin



$R = 0,99945$ → Koefisien korelasi

Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Daun Mangrove *A. Marina*



Sampel	Replikasi	Massa sampel (mg)	Volume pelarut (mL)	Absorbansi	TFC (mg EK/g)	\bar{x} TFC \pm SD (mg EK/g)
Ekstrak etanol 96%	1	10	5	0,5816	19,4847	19,37 \pm 0,45*
	2			0,5887	19,7557	
	3			0,5656	18,8741	
Fraksi air	1	10	1,5	0,3121	2,7595	3,07 \pm 0,37*
	2			0,3322	2,9897	
	3			0,3756	3,4866	
Fraksi etil asetat	1	10	2	0,8092	11,2687	11,30 \pm 0,26*
	2			0,7955	11,0595	
	3			0,8303	11,5908	
Fraksi <i>n</i> -heksana	1	10	10	0,4802	62,4580	56,62 \pm 5,09*
	2			0,4183	53,0076	
	3			0,4275	54,4122	

* Hasil TFC berbeda bermakna secara statistik berdasarkan uji one way ANOVA

Kesimpulan



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.



Terima Kasih