

PENENTUAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN MANGROVE (*Rhizophora mucronata*)

DETERMINATION OF TOTAL FLAVONOID CONTENT OF EXTRACT AND FRACTION OF MANGROVE LEAF (*Rhizophora mucronata*)

Rahula Vijja Sammanta, Handa Muliasari, Neneng Rachmalia Izzatul Mukhlisah

ABSTRACT

Mangrove *Rhizophora mucronata* is a plant that belongs *Rhizophoraceae* family which has antibacterial, antifungal, and antioxidant activities. These various properties are due to the content of secondary metabolites contained in it, one of which is flavonoids. The aim of this study was to determine the total amount of flavonoid containment in the ethanol extract and the fraction of mangrove leaves of *R. mucronata* by using the UV-Vis spectrophotometry method. *R. mucronata* mangrove leaf simplicia was extracted by sonication method using 96% ethanol, then fractionated with water, n-hexane, and ethyl acetate. The yield of simplicia, 96% ethanol extract, water fraction, ethyl acetate fraction, and n-hexane fraction were 42.33%; 43.147%; 40.49%; 9.74%; and 32.49%. Identification secondary metabolites was done by test tube and Thin Layer Chromatography (TLC). According to the test-tube results, the 96% ethanol extract, ethyl acetate fraction, and n-hexane fraction of *R. mucronata* mangrove leaves contained secondary metabolites of flavonoids. On the TLC test, it showed a class of flavonoid compounds with blue spots. Total flavonoid content in 96% ethanol extract, water fraction, ethyl acetate fraction, and n-hexane fraction was measured using UV-Vis spectrophotometry, respectively 12,980 mg EK/g; 14,160 mg EK/g; 23,880 mg EK/g; and 25,350 mg EK/g. The total flavonoid content of mangrove leaf extract and fractions of *R. mucronata* was determined using the One Way ANOVA test. The total flavonoid content of the n-hexane fraction and ethyl acetate fraction was found to be significantly higher than in the 96% ethanol extract and water fraction.

Keywords: *Rhizophora mucronata* leaves, total flavonoids, UV-Vis spectrophotometry, thin layer chromatography

ABSTRAK

Mangrove *Rhizophora mucronata* merupakan tumbuhan dari famili *Rhizophoraceae* yang memiliki aktivitas antibakteri, antijamur, dan antioksidan. Berbagai khasiat tersebut disebabkan oleh kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalamnya, salah satunya adalah flavonoid. Tujuan dari penelitian ini untuk menentukan kadar flavonoid total pada ekstrak dan fraksi-fraksi daun mangrove *R. mucronata* dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Siplisia daun mangrove *R. mucronata* diekstraksi dengan metode sonikasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%, kemudian difraksinasi dengan air, n-heksan, etil asetat. Hasil rendemen simplisia, ekstrak etanol 96%, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n heksan secara berturut turut sebesar 42,33%; 43,147%; 40,49%; 9,74%; dan 32,49%. Identifikasi metabolit sekunder dilakukan dengan uji tabung dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Hasil uji tabung menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96%, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan daun mangrove *R. mucronata* mengandung metabolit sekunder flavonoid. Pada uji KLT golongan senyawa flavonoid diindikasikan dengan bercak berwarna biru. Kadar flavonoid total pada ekstrak etanol 96%, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksan diukur menggunakan

spektrofotometri UV-Vis secara berturut turut sebesar 12,980 mg EK/g; 14,160 mg EK/g; 23,880 mg EK/g; dan 25,350 mg EK/g. Data kadar flavonoid total pada ekstrak dan fraksi-fraksi daun mangrove *R.mucronata* dianalisis dengan uji One Way ANOVA dan didapatkan bahwa pada kandungan total flavonoid pada fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol 96% dan fraksi air.

Kata Kunci: Daun *Rhizopora mucronata*, flavonoid total, spektrofotometri UV-Vis, kromatografi lapis tipis

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan dengan kawasan pesisir pantai yang sangat luas. Kawasan pantai di Indonesia ditumbuhi oleh berbagai jenis tumbuhan terutama tumbuhan mangrove yang menjadikan Indonesia sebagai negara dengan luas hutan mangrove terluas di dunia (Egra *et al.*, 2019 ; Giri *et al.*, 2011). Luas hutan mangrove di Indonesia menurut Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan tahun 2021 yaitu 3.364.076 ha dengan 202 jenis tumbuhan mangrove (Peta Mangrove Nasional, 2021).

Salah satu wilayah pesisir yang memiliki kawasan hutan mangrove yang cukup luas yaitu di wilayah Teluk Sepi di Kecamatan Sekotong, Kabupaten Lombok Barat. Teluk Sepi memiliki ekosistem mangrove dengan luas hutan mangrove sekitar 128,74 ha dengan 9 spesies tumbuhan mangrove. *Rhizopora apiculata* dan *Rhizopora mucronata* merupakan spesies paling dominan ditemukan di lokasi tersebut (Andini & Rahayu, 2019)

Secara empiris tumbuhan mangrove dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional seperti obat luka, muntah, rematik dan nyeri otot, luka dalam dan TBC (Tuberkulosis) (Kadir *et al.*, 2019). Mangrove spesies *Rhizopora mucronata* diketahui memiliki berbagai fungsi dalam pengobatan tradisional yaitu, pengobatan kaki gajah, hematoma, hepatitis, dan penurunan panas. Bagian daun digunakan sebagai obat diare dan gangguan lambung (Batool & Ilyas, 2014). Aktivitas farmakologis dari ekstrak daun *R. mucronata* diantaranya sebagai antibakteri, antijamur, dan antioksidan.

Aktivitas farmakologis pada tumbuhan *R. mucronata* disebabkan oleh senyawa-senyawa flavonoid dan fenolik (Kusumowati, 2012; Manik *et al.*, 2014). Hasil penelitian dari Gurudeeban *et al.*, (2014) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun *R. mucronata* mengandung senyawa golongan flavonoid, seperti rutin, kaempferol, luteolin, dan isorhamnetin. Hasil penelitian dari Gurudeeban *et al.*,

(2014) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun *R. mucronata* mengandung senyawa golongan flavonoid, seperti rutin, kaempferol, luteolin, dan isorhamnetin. Kandungan total fenolik ekstrak metanol dan ekstrak etanol daun *R. mucronata* secara berturut-turut sebesar 264 mg GAE/g dan ekstrak etanol sebesar 259 mg GAE/g, sedangkan pada ekstrak kloroform sebesar 240 mg GAE/g (Thirunavukkarasu *et al.*, 2017). Penelitian terkait kadar senyawa flavonoid pada ekstrak etanol maupun fraksi-fraksi daun *R. mucronata* belum dilaporkan.

Berdasarkan uraian di atas maka akan dilakukan penentuan kadar flavonoid total ekstrak etanol dan fraksi-fraksinya pada daun mangrove *R. mucronata* yang terdapat di wilayah Teluk Sepi, Desa Buwun Mas, Sekotong Barat, Lombok Barat dengan metode kolorimetri dan menggunakan instrument spektrofotometri UV-Visibel.

METODE PENELITIAN

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, pisau, gunting, blender, kertas saring, toples kaca, toples plastik, timbangan analitik (Kern), *Waterbath* (Labnet), kuvet quartz (Merck), *rotary*

evaporator (Heidolph RV 10 Basic V), hotplate (Labnet), *TLC chamber* (Camag), pipet tetes, mikropipet 100 dan 1000 μ L, *blue*, *yellow* dan *white* tip, sonikator (Elmasonic), *sieve shaker*, ayakan mesh 40, dan spektrofotometer UV-Visible (Analytik Jena Specord 200), lampu UV 254 dan 366 nm (Camag).

Bahan-bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangrove *R. mucronata*, etanol 96% teknis (Merck), etanol p.a (Merck), standar kuersetin p.a (Merck), HCl pekat p.a (Merck), serbuk magnesium (Mg) teknis (Merck), methanol p.a, kloroform p.a, silika gel GF₂₅₄ (Merck), etil asetat teknis (Merck), natrium asetat teknis (Merck), akuades, dan n-heksan teknis (Merck).

PROSEDUR PENELITIAN

1. Pengambilan sampel dan determinasi

Sampel daun mangrove *R. mucronata* yang masih segar diperoleh di wilayah Teluk Sepi, Desa Buwun Mas, Sekotong Barat, Lombok Barat. Waktu pengambilan sampel dilakukan pada pukul 10.00. Bagian daun yang diambil adalah bagian daun muda yang tidak rusak. Sampel dideterminasi di Laboratorium Silviculture Fakultas Pertanian Universitas Mataram.

2. Pembuatan simplisia

Sampel daun disortasi basah, kemudian dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir sebanyak 3 kali pengulangan. Selanjutnya ditiriskan kemudian dijemur dengan cara diangin-anginkan. Setelah kering, sampel daun mangrove disortasi kering kemudian diserbukkan dengan blender dan diayak dengan mesh 40 (Mahran *et al.*, 2019).

3. Pembuatan ekstrak

Sejumlah 200 gram serbuk daun mangrove *R. mucronata* diekstraksi dengan metode sonikasi. Perbandingan serbuk simplisia dan pelarut yang digunakan adalah 1:5 (b/v). Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 100 gram lalu dipindahkan ke dalam labu erlenmeyer 1 L, kemudian ditambahkan etanol 96% (teknis) sebanyak 500 mL. Labu erlenmeyer yang berisi campuran simplisia dan pelarut ditutup dengan aluminium foil dan disonikasi dalam sonikator dengan suhu 35° C selama 30 menit dengan 2 kali penggantian pelarut dengan volume yang sama. Hasil campuran disaring dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40° C. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang untuk mengetahui persen rendemennya.

4. Fraksinasi ekstrak kental

Ekstrak kental etanol daun *R. mucronata* difraksinasi menggunakan corong pisah.

Ekstrak kental dilarutkan pada cawan porselen dengan aquadest hangat (1:5), kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan n-heksan dengan jumlah sama dengan aquadest. Campuran digojog hingga homogen dan didiamkan sampai memisah. Fraksi n-heksan dikumpulkan, fraksi yang tidak larut n-heksan difraksinasi dengan etil asetat (1:1), sehingga diperoleh fraksi etil asetat. Residu yang diperoleh merupakan fraksi air. Proses fraksinasi ekstrak etanol daun mangrove *R. mucronata* dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali dan hasil fraksi diuapkan dengan *rotary evaporator*.

5. Skrining fitokimia flavonoid

a. Uji Flavonoid dengan Pereaksi Wilstater

Sebanyak 5 mg ekstrak etanol daun *R. mucronata* dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dengan 2 ml etanol 96% kemudian ditambahkan beberapa tetes HCl pekat dan ditambahkan sedikit serbuk Mg. Perubahan warna menjadi merah-oranye menunjukkan sampel positif mengandung flavonoid.

b. Uji Flavonoid dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisis flavonoid secara kualitatif dilakukan dengan metode KLT menggunakan reagen semprot AlCl₃ 10%. Fase diam yang digunakan adalah plat KLT silika gel GF254, sedangkan untuk eluen

yang digunakan sebagai fase gerak senyawa flavonoid adalah pelarut metanol dan kloroform (3:7). Pemilihan dua pelarut yang memiliki kepolaran yang berbeda ini bertujuan untuk memisahkan senyawa yang bersifat polar dan non polar

6. Penetapan kadar flavonoid total

Penetapan kadar flavonoid dari ekstrak etanol daun *R. mucronata* dilakukan dengan metode kolorimetri dengan menggunakan instrumen spektrofotometri UV-Vis dengan urutan pengerjaan sebagai berikut.

1. Pembuatan larutan natrium asetat 1 M

Pembuatan larutan natrium asetat 1 M dengan menimbang 820,3 mg serbuk natrium asetat. Serbuk yang telah ditimbang kemudian dilarutkan dengan aquades pada labu ukur 10 mL hingga tanda batas. Larutan kemudian digojog hingga homogen.

2. Pembuatan larutan $AlCl_3$ 10%

Pembuatan larutan $AlCl_3$ 10% dilakukan dengan menimbang serbuk $AlCl_3$ sebanyak 1 gram dan dilarutkan dengan aquades pada

labu ukur 10 mL hingga tanda batas. Larutan kemudian digojog hingga homogen.

3. Pembuatan larutan pembanding kuersetin

a. Pembuatan Larutan Kerja Kuersetin 1000 μ g/mL

Larutan baku induk kuersetin 1000 μ g/mL dibuat dengan menimbang sebanyak 10 mg standar kuersetin dengan etanol 96% menggunakan labu ukur 10 mL hingga tanda batas. Larutan kemudian digojog hingga homogen.

b. Pembuatan Larutan Kerja Kuersetin 100 μ g/mL

Larutan baku kerja kuersetin 100 μ g/mL dibuat dengan cara memipet larutan baku induk 1000 μ g/mL sebanyak 1 mL, kemudian diencerkan dengan etanol 96% pada labu ukur 10 mL hingga tanda batas. Larutan kemudian digojog hingga homogen.

4. Pembuatan larutan blanko

Sebanyak 0,5 mL etanol 96% ditambahkan dengan 0,10 mL $AlCl_3$ 10%,. Larutan etanol 96% dan $AlCl_3$ 10% tersebut kemudian ditambahkan 0,10 mL natrium asetat 1 M dan 2,80 mL akuadest.

Setiap pengukuran serapan dibandingkan terhadap blanko.

5. Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin

Sebanyak 0,5 mL larutan baku kerja kuersetin 100 $\mu\text{g/mL}$ ditambahkan dengan 0,10 mL AlCl_3 10%. Larutan baku kerja kuersetin tersebut kemudian ditambahkan 0,10 mL natrium asetat 1 M dan 2,80 mL akuadest. Larutan kemudian diinkubasi selama *operating time* pada suhu ruangan, kemudian diukur absorbansinya pada rentang panjang gelombang 400-500 nm (Ipandi *et al.*, 2016). Panjang gelombang yang menunjukkan nilai absorbansi tertinggi merupakan panjang gelombang maksimum, hasil panjang gelombang maksimum digunakan untuk mengukur serapan dari sampel (Sari & Ayuchecaria, 2017).

6. Penentuan *operating time*

Sebanyak 0,5 mL larutan baku kerja kuersetin 100 $\mu\text{g/mL}$ ditambahkan dengan 0,10 mL AlCl_3 10%. Larutan baku kerja kuersetin tersebut kemudian ditambahkan 0,10 mL natrium asetat 1 M dan 2,80 mL akuadest. Larutan tersebut diukur

absorbansinya dengan interval 1 menit selama 60 menit. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh sebelumnya sampai diperoleh absorbansi yang stabil.

7. Pembuatan kurva kalibrasi kuersetin

Pembuatan larutan seri dengan berbagai konsentrasi dilakukan dari larutan kerja kuersetin. Larutan baku 100 $\mu\text{g/mL}$ dibuat sebanyak 10 mL dengan varian konsentrasi 20, 30, 40, 50, 60, 70 100 $\mu\text{g/mL}$. Sebanyak 0,5 mL masing-masing larutan seri ditambahkan dengan 0,10 mL AlCl_3 10%. Masing-masing larutan seri ditambahkan 0,10 mL natrium asetat 1 M dan 2,80 mL akuades. Masing-masing larutan kemudian diinkubasi selama *operating time* pada suhu ruangan dan diukur absorbansinya pada gelombang maksimum. Kurva standar diperoleh dari hubungan antara absorbansi dan konsentrasi kuersetin $\mu\text{g/mL}$, pengukuran kurva kalibrasi kuersetin dapat digunakan sebagai pembanding untuk menentukan kadar flavonoid total pada sampel (Aminah *et al.*, 2017). Pengujian dilakukan

sebanyak 3 kali pengulangan (*triplo*).

8. Pengukuran absorbansi sampel

Larutan uji sampel dibuat dengan melarutkan 10 mg sampel dengan etanol 96% dalam labu ukur 10 mL. Sebanyak 0,5 mL larutan sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 0,10 mL AlCl_3 10%. Larutan sampel dengan AlCl_3 ditambahkan 0,10 mL natrium asetat 1 M dan 2,80 mL akuadest. Larutan sampel kemudian diinkubasi selama *operating time* pada suhu ruangan dan absorbansinya diukur pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sampel kemudian diuji sebanyak 3 kali (*triplo*).

7. Analisis data

a. Penetapan kadar flavonoid total

Penetapan kadar total flavonoid pada fraksi daun mangrove *R. mucronata* diperoleh menggunakan persamaan regresi linier $y=ax+b$ yang didapatkan dari kurva baku antara absorbansi dan konsentrasi kuersetin. Nilai x diperoleh dengan cara

mensubstitusikan nilai absorbansi fraksi daun mangrove *R. mucronata* ke dalam y pada persamaan regresi linier yang diperoleh, dengan demikian akan diperoleh nilai x sebagai konsentrasi flavonoid. Perhitungan kadar flavonoid total dihitung dengan menggunakan rumus (Chen *et al.*, 2016) seperti pada berikut.

$$\text{TFC} = \frac{c.V}{m}$$

Total Flavonoid Content

Keterangan :

TFC : *Total Flavonoid Content* (mg QE/g ekstrak)

C : Konsentrasi flavonoid (x)

V : Volume ekstrak (mL)

m : Massa ekstrak (g)

b. Analisis perbedaan kadar flavonoid menggunakan SPSS

Data hasil perhitungan kadar flavonoid total dari kelompok ekstrak etanol, fraksi etil asetat ekstrak etanol 96%, fraksi n-heksan ekstrak etanol 96%, dan fraksi air ekstrak etanol 96% dianalisis menggunakan perangkat lunak *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versi

24. Uji statistik terhadap perbedaan flavonoid total antara ekstrak dan fraksi-fraksi daun mangrove dilakukan dengan uji *one way ANOVA*. Sebelum dilakukan uji *one way ANOVA* dilakukan uji normalitas dan homogenitas, kemudian dilanjutkan uji *one way ANOVA*. Setelah itu, dilanjutkan dengan uji beda nyata menggunakan uji *Tukey*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pengambilan sampel dan determinasi tanaman

Tumbuhan Mangrove *R. mucronata* dikoleksi di wilayah Teluk Sepi, Desa Buwun Mas, Sekotong Barat, Lombok Barat. Adapun bagian daun yang diambil adalah bagian daun yang masih muda dan tidak rusak atau pada bagian pucuknya, karena pada bagian daun yang masih muda dan pada bagian pucuknya memiliki persentase rendemen tertinggi dan memiliki aktivitas farmakologis yang tertinggi dibandingkan dengan daun tua (Faoziyah & Kurniawan, 2017; Suciati & Sumino, 2012). Determinasi tanaman dilakukan Laboratorium Silvikultur Fakultas Pertanian

Universitas Mataram. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tumbuhan pada penelitian ini adalah mangrove *Rhizophora mucronata*. Tujuan dilakukannya determinasi tanaman adalah untuk menghindari kesalahan dalam pengambilan bahan dalam suatu penelitian (Nuria & Faizatul, 2009).

2. Pembuatan simplisia daun mangrove *R. mucronata*

Daun mangrove yang dikoleksi dan disortasi basah untuk memisahkan kotoran atau bahan asing yang tidak diinginkan dari tumbuhan. Sebanyak 7,8 kg daun mangrove hasil sortasi basah kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan mengurangi mikroba yang menempel pada daun mangrove, namun tidak menghilangkan zat yang bermanfaat pada sampel tersebut (Kusumaningrum *et al.*, 2015; Susilawati, 2013). Daun mangrove yang telah dicuci kemudian dikeringkan dengan kombinasi metode sinar matahari tidak langsung yaitu di luar ruangan dan ditutup dengan menggunakan kain hitam dan dikering anginkan yaitu dilakukan di dalam ruangan.

Kombinasi kedua metode ini dipilih karena dengan metode sinar matahari tidak langsung dan metode kering angin menghasilkan kadar flavonoid tertinggi dibandingkan dengan metode lain (Robbiyan *et al.*, 2021). Berat simplisia yang diperoleh sebesar 3,302 kg sehingga persentase rendemen simplisia yang diperoleh sebesar 42,33 % b/b. Persentase rendemen yang dihasilkan pada penelitian ini jauh lebih tinggi dibandingkan dengan persentase rendemen simplisia daun mangrove *R. mucronata* pada penelitian yang dilakukan oleh (Kurnianingsih *et al.*, 2021) yaitu sebesar 26% yang melakukan pengeringan simplisia dengan menggunakan metode kering oven. Perbedaan persentase rendemen ini karena perbedaan metode pengeringan yang digunakan, sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Robbiyan *et al.*, (2021) yang menunjukkan bahwa pada metode kering angin dan sinar matahari tidak langsung menghasilkan persentase rendemen yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode kering oven.

Simplisia daun mangrove kemudian dihaluskan menjadi

serbuk menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan mesh 40. Penggunaan mesh 40 bertujuan untuk menyeragamkan ukuran simplisia dan memiliki derajat kehalusan yang sedang agar memudahkan penarikan senyawa saat proses ekstraksi dan memudahkan saat proses penyaringan (Pujiastuti & El'Zeba, 2021). Serbuk simplisia yang telah halus disimpan di wadah tertutup, tidak beracun dan inert (tidak bereaksi dengan simplisia. Simplisia biasanya dapat disimpan pada suhu kamar (15°-30° C) (R. Wahyuni & Rivai, 2014).

3. Ekstraksi daun mangrove

Pembuatan ekstrak daun mangrove *R. mucronata* dilakukan dengan metode sonikasi dengan 2 kali pengulangan menggunakan pelarut etanol 96%. Metode sonikasi dipilih karena gelombang ultrasonik dalam pelarut akan merusak sel dan menghasilkan rongga pada sampel, sehingga dapat mempercepat pergerakan dan difusi pelarut ke dalam sampel yang akan meningkatkan efisiensi dari ekstraksi (Zhang *et al.*, 2018 ; Mukharini., 2014). Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh

Candra *et al.*, (2021) menunjukkan bahwa rendemen yang dihasilkan oleh ekstraksi dengan metode sonikasi menghasilkan persentase rendemen yang paling tinggi dibandingkan dengan metode ekstraksi dengan maserasi, refluks, dan soxhletasi. Penelitian lain terkait kadar flavonoid total pada daun *Elaeagni* dengan menggunakan ekstraksi sonikasi menghasilkan kadar flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraksi soxhletasi (Li *et al.*, 2011).

Ekstrak cair yang diperoleh kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dengan kecepatan 50 rpm. Setelah itu, penguapan dilanjutkan dengan menggunakan penangas air pada suhu di bawah 50°C karena komponen flavonoid tidak tahan terhadap pada suhu tinggi diatas 50° C (Yuliantari, 2017). Ekstrak etanol 96% daun *R. mucronata* yang diperoleh sebanyak 43,147 gram dengan persentase rendemen sebesar 43,147%. Persentase rendemen ekstrak etanol 96% daun mangrove *R. mucronata* pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Desiani *et al.*,

(2022) yang menunjukkan persentase rendemen ekstrak etanol 70% sebesar 37,25%. Konsentrasi etanol berpengaruh pada komponen senyawa dan persentase rendemennya, semakin tinggi konsentrasi etanol maka semakin tinggi senyawa dan rendemen yang dihasilkan (D. Handayani *et al.*, 2014; Widarta & Arnata, 2017). Nilai rendemen yang baik menunjukkan nilai di atas 10%, semakin besar rendemen yang dihasilkan semakin efisien yang diterapkan dan dapat diasumsikan bahwa komponen senyawa yang dihasilkan lebih tinggi (Jacob *et al.*, 2022; Dewatisari *et al.*, 2018). Nilai rendemen yang dihasilkan dipengaruhi oleh jenis pelarut, ukuran simplisia, metode, serta lamanya waktu ekstraksi (D. Handayani *et al.*, 2014). Tujuan dilakukannya perhitungan persentase rendemen adalah untuk mengetahui hasil ekstrak yang didapat sehingga dapat dijadikan acuan untuk mengetahui jumlah simplisia yang dibutuhkan untuk membuat sejumlah ekstrak tertentu (Rusmin *et al.*, 2020).

4. Fraksinasi ekstrak etanol daun mangrove *R. mucronata*

Pembuatan fraksi daun mangrove *R. mucronata* dilakukan dengan metode partisi cair-cair dengan menggunakan 3 pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda, yaitu air, etil asetat, dan *n*-heksan. Fraksinasi dilakukan dengan melarutkan 10 gram ekstrak kental dengan aquades hangat secukupnya kemudian ditambahkan dengan aquades hingga 100 ml dan selanjutnya ditambahkan *n*-heksan

100 ml (1:1 v/v). selanjutnya dilakukan penggojokan hingga terbentuk 2 lapisan. Pada metode partisi cair-cair dilakukan proses penggojokan searah dan konstan untuk memaksimalkan penarikan senyawa (Nuraeni *et al.*, 2021). Larutan yang terbentuk kemudian diuapkan sehingga menghasilkan fraksi kental. Hasil persentase rendemen dan organoleptis fraksi-fraksi daun mangrove *R. mucronata* dapat dilihat pada **Tabel 1.**

Tabel 1. Hasil fraksinasi ekstrak etanol daun mangrove *R. mucronata*

Sampel	Berat fraksi (gram)	Persentase rendemen (%)	Organoleptis
Fraksi air	4,059	40,49	Bentuk: kental dan lengket Warna: coklat kemerahan Bau: khas
Fraksi etil asetat	0,975	9,74	Bentuk: lengket, kering, dan berkerak Warna: coklat kemerahan Bau: khas
Fraksi <i>n</i> -heksan	3,249	32,49	Bentuk: lengket dan berpasir Warna: hijau kehitaman hijau kehitaman Bau: khas

Persentase fraksi yang tertinggi yaitu fraksi air sebesar 40,49%, kemudian diikuti oleh fraksi *n*-heksan sebesar 32,48%, dan yang

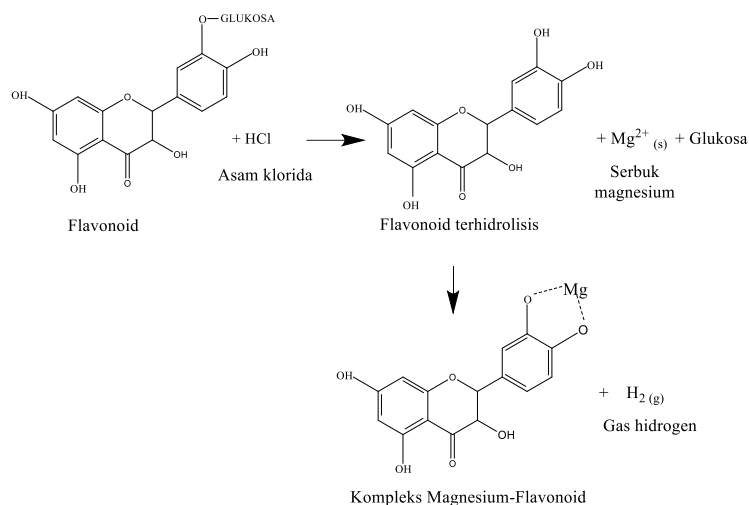
terendah adalah fraksi etil asetat sebesar 9,74%. Persentase rendemen yang didapatkan pada masing-masing fraksi berbeda

dikarenakan adanya perbedaan kemampuan menarik senyawa dari masing-masing pelarut yang digunakan pada proses fraksinasi (Anjaswati *et al.*, 2021). Sehingga, pada fraksi air dan fraksi *n*-heksan terdapat lebih banyak senyawa yang terekstrak.

Karakteristik organoleptis yang fraksi yang diperoleh umumnya berbentuk kental dan lengket. Pada fraksi air dan fraksi etil asetat memiliki warna coklat kemerahan, sedangkan pada fraksi *n*-heksan berwarna hijau kehitaman.

5. Skrining fitokimia flavonoid

1. Uji flavonoid dengan pereaksi Wilstater



Gambar 1. Mekanisme reaksi uji flavonoid dengan metode Wilstater (Iskandar, 2020)

Uji flavonoid ekstrak dan fraksi-fraksi daun *R. mucronata* dilakukan

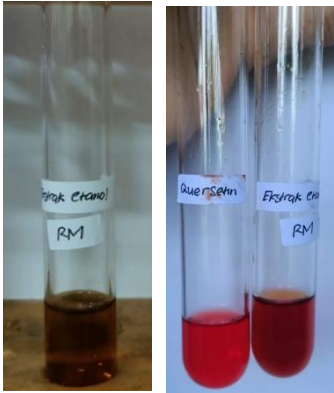
Skrining fitokimia senyawa flavonoid dilakukan dengan menggunakan metode Wilstater. Dilakukan penambahan HCl pekat dan serbuk magnesium. Penambahan HCl pekat akan menghidrolisis bagian O-glikosil pada flavonoid sehingga menyebabkan flavonoid menjadi aglikon (Ikalinus *et al.*, 2015). Reaksi yang terjadi antara Mg dengan HCl akan membentuk ion Mg²⁺ yang akan berikatan dengan flavonoid sehingga terbentuk kompleks dan menghasilkan perubahan warna menjadi kuning, jingga, ataupun merah (Nugrahani, 2016). Reaksi uji Wilstater dapat dilihat pada **Gambar 1**.







dengan menggunakan pereaksi yang sama yaitu serbuk magnesium dan HCl.

Hasil uji tabung yang diperoleh menunjukkan bahwa pada semua sampel uji yaitu ekstrak etanol 96%, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi *n*-heksan positif mengandung flavonoid. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol, fraksi, air, fraksi etil asetat, dan fraksi *n*-heksan daun *R. mucronata* positif mengandung flavonoid (Kaseng et al., 2016; Sain et al., 2020; Karthi et al., 2020). Hasil identifikasi flavonoid ditunjukkan dengan warna yang berbeda-beda, pada ekstrak etanol 96% indikasi kandungan

flavonoid ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi jingga kemerahan yang diindikasikan mengandung flavonoid golongan flavon, pada fraksi etil asetat dan fraksi air ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi jingga yang juga diindikasikan mengandung flavonoid golongan flavon, dan pada fraksi *n*-heksan menunjukkan perubahan warna menjadi merah tua yang mengindikasikan mengandung flavonoid golongan flavanol atau flavanon (Mariana & Andayani, 2013). Hasil uji tabung flavonoid dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Flavonoid pada Ekstrak dan Fraksi-fraksi.

Sampel	Dokumentasi		Hasil	Interpretasi hasil
	Sebelum	Sesudah		
Ekstrak etanol 96% daun <i>R. mucronata</i>			Perubahan warna menjadi kemerahan (+)	Diindikasikan positif mengandung flavonoid golongan flavon (Mariana & Andayani, 2013).

Sampel	Dokumentasi		Hasil	Interpretasi hasil
	Sebelum	Sesudah		
Fraksi air daun <i>R. mucronata</i>			Perubahan warna menjadi jingga (+)	Diindikasikan positif mengandung flavonoid golongan flavon (Mariana & Andayani, 2013).
Fraksi etil asetat daun <i>R. mucronata</i>			Perubahan warna menjadi jingga (+)	Diindikasikan positif mengandung flavonoid golongan flavon (Mariana & Andayani, 2013).
Fraksi N-heksan daun <i>R. mucronata</i>			Perubahan warna menjadi kemerahan (+)	Diindikasikan positif mengandung flavonoid golongan flavanol atau flavanon (Mariana & Andayani, 2013).

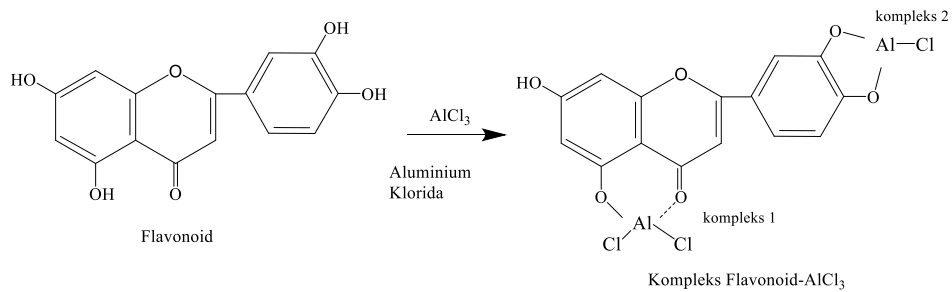
1. Uji Flavonoid dengan Kromatografi Lapis Tipis

Senyawa flavonoid dideteksi menggunakan pereaksi AlCl_3 10% sebagai penampak noda. AlCl_3 bereaksi dengan flavonoid

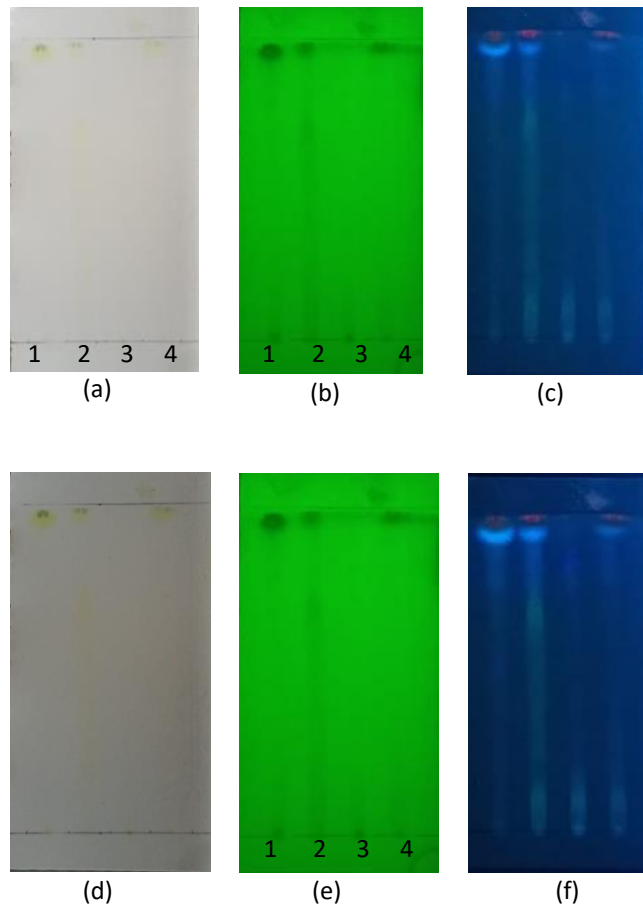
menghasilkan kompleks yang berfluorosensi dan akan bereaksi dengan gugus keton pada C4 dan gugus OH pada C3 atau C5 pada senyawa flavon atau flavonol membentuk kompleks

warna (**kompleks 1**) (Candra *et al.*, 2021). AlCl_3 juga membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus ortohidroksil pada cincin A atau B dari senyawa flavonoid (**kompleks 2**) (Haeria, 2016). Kompleks senyawa yang terbentuk berfluoresensi di bawah lampu UV 366 nm karena adanya interaksi antara kromofor yang berikatan dengan ausokrom pada noda,

fluoresensi yang terbentuk merupakan hasil emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron tereksitasi dari tingkat dasar ke tingkat yang lebih tinggi dan kemudian kembali ke keadaan energi dasar dengan melepaskan energi dalam bentuk cahaya fluoresensi (Karima *et al.*, 2019). Reaksi pembentukan kompleks Flavonoid- AlCl_3 dapat dilihat pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Reaksi pembentukan kompleks Flavonoid- AlCl_3 (Haeria, 2016).



Gambar 3. Profil KLT dari fraksi *n*-heksan (1), fraksi etil asetat (2), fraksi air (3), dan ekstrak etanol 96% (4) pada uji flavonoid dengan fase gerak kloroform:metanol (7:3) dengan pengamatan pada sinar tampak sebelum disemprot AlCl_3 10% (a), sinar UV 254 nm sebelum disemprot AlCl_3 10% (b), sinar UV 366 nm sebelum disemprot AlCl_3 10% (c), sinar tampak setelah disemprot AlCl_3 10% (d), sinar UV 254 nm setelah disemprot AlCl_3 10% (e) dan sinar UV 366 nm setelah disemprot AlCl_3 10% (f).

Tabel 3. Nilai R_f dan warna bercak di bawah lampu UV 366 nm pada ekstrak dan fraksi-fraksi daun mangrove *R. mucronata*

sampel	Warna bercak	Nilai R_f
Ekstrak etanol 96%	biru	0,935
Fraksi air	-	-
Fraksi etil asetat	biru	0,935
Fraksi <i>n</i> -heksan	biru	0,935

Berdasarkan hasil KLT, pada ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi *n*-heksan tidak terlihat bercak di bawah sinar tampak dan lampu UV 254 nm. Namun pada ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksan terlihat bercak berwarna biru pada lampu UV 366 nm. Setelah dilakukan penyemprotan dengan penampak noda dan dilakukan pengamatan kembali pada sinar UV 366 ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksan

menghasilkan bercak berfluososensi biru yang semakin jelas dan diduga merupakan senyawa flavonoid. Hal ini sesuai dengan literatur yang mengatakan bahwa flavonoid menghasilkan warna kuning kehijauan hingga biru setelah disemprot dengan $AlCl_3$ (Sopiah *et al.*, 2019).

Berdasarkan **Tabel 3** dapat dilihat nilai Rf pada masing-masing sampel. Nilai Rf dapat digunakan sebagai bukti dalam mengidentifikasi suatu senyawa pada KLT. Nilai Rf yang diperoleh menunjukkan perbedaan sifat senyawa dan dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa, senyawa yang memiliki nilai Rf lebih besar diduga memiliki kepolaran yang lebih rendah begitu pula sebaliknya. Hal tersebut disebabkan oleh fase diam yang bersifat polar. Senyawa yang bersifat polar akan tertahan kuat pada fase diam dan menghasilkan nilai Rf yang rendah, hal ini terjadi pada fraksi air dari daun mangrove *R. mucronata* yang tertahan pada batas bawah fase diam sehingga tidak terlihat noda warna pada plat setelah dielusi (Forestryana dan Arnida, 2020).

6. Kandungan Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi Daun Mangrove *R. mucronata*

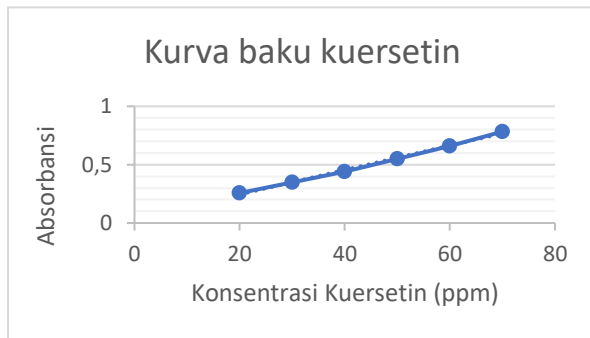
Hasil penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin yang

didapatkan yaitu 433 nm. Hasil yang diperoleh tidak jauh berbeda dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Hadi, (2022) yaitu 435 nm. Penetapan panjang gelombang bertujuan untuk mengoptimalkan pengukuran absorbansi kompleks kuersetin dengan $AlCl_3$ dan memberikan absorbansi paling besar untuk pengukuran kadar (Gandjar dan Rohman., 2019).

Penentuan *operating time* bertujuan untuk memperoleh waktu pengukuran dengan nilai absorbansi yang stabil, absorbansi yang stabil diperoleh apabila senyawa flavonoid telah habis bereaksi dengan pereaksi $AlCl_3$ (Suharyanto & Prima, 2020). Pembacaan dilakukan setiap menit selama 60 menit. Nilai absorbansi yang stabil pada penelitian ini ditunjukkan pada menit ke 27 dengan absorbansi 0,5508. Hasil yang diperoleh sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Candra *et al.*, (2021); Ipandi *et al.*, (2016); Suharyanto & Prima, (2020) yang menyatakan bahwa *operating time* dari kuersetin berada pada rentang 20-30 menit.

Berdasarkan gambar **Gambar 4** persamaan regresi linier yang diperoleh adalah $y=0,0105x+0,0356$ dengan nilai $r^2=0,9969$ ($r=0,9984$).

Nilai r yang mendekati 1 menunjukkan adanya hubungan positif linier antara konsentrasi kuersetin dengan absorbansinya (Gandjar dan Rohman, 2019). Setelah dilakukan penentuan kurva baku kemudian dilakukan pengukuran kadar flavonoid total pada sampel.



Gambar 4. Kurva baku kuersetin

Hasil penentuan kadar flavonoid total ekstrak dan fraksi-fraksi daun *R. mucronata* dapat dilihat pada **Tabel 4**

Nilai Kadar Flavonoid Total (KFT) pada fraksi-fraksi daun *R. mucronata* lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol 96% daun *R. mucronata*. Nilai KFT *R. mucronata* tertinggi yaitu pada fraksi *n*-heksan ekstrak etanol 96%, diikuti fraksi etil asetat ekstrak etanol 96%, fraksi air ekstrak etanol 96%, dan ekstrak etanol 96% secara berturut-turut sebesar $25,350 \pm 1,641$ mg EK/g, $23,880 \pm 1,099$ mg EK/g, $14,160 \pm 0,990$ mg EK/g, dan $12,980 \pm 0,233$ mg EK/g. Nilai KFT fraksi *n*-heksan tidak berbeda signifikan dengan nilai KFT fraksi etil asetat, namun berbeda signifikan dengan fraksi air dan ekstrak etanol 96% ($p < 0,05$).

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Replikasi	Absorbansi	Kadar Flavonoid Total (mg EK/g)	$\bar{x} \pm SD$ kadar flavonoid total (mg EK/g)
Ekstrak etanol 96%	2000	1	0,3027	12,715	$12,980 \pm 0,233^a$
		2	0,3116	13,170	
		3	0,3093	13,030	
Fraksi air	2000	1	0,3124	13,180	$14,160 \pm 0,990^a$
		2	0,3540	15,160	
		3	0,3329	14,140	
Fraksi Etil asetat	1000	1	0,2995	25,130	$23,880 \pm 1,099^b$
		2	0,2777	23,060	
		3	0,2819	23,450	
Fraksi <i>n</i> -heksan	1000	1	0,2838	23,630	$25,350 \pm 1,641^b$
		2	0,3181	26,900	
		3	0,3036	25,520	

Keterangan: Nilai yang didampingi huruf yang berbeda menyatakan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian dari Moteriyaya *et al.*, (2015) bahwa nilai KFT dari fraksi etil asetat lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi air. Pada penelitian lain mengenai perbandingan kadar flavonoid total pada ekstrak daun *R. mucronata* menggunakan berbagai pelarut menunjukkan bahwa pada ekstrak etil asetat daun *R. mucronata* memiliki nilai KFT lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak metanol dan ekstrak air (Sadeer *et al.*, 2019). Flavonoid yang terlarut pada pelarut etil asetat diperkirakan merupakan flavonoid golongan flavon atau flavanon (Markham, 1988).

Nilai KFT yang diperoleh pada fraksi *n*-heksan pada penelitian ini tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian Malik *et al.*, (2017) yang menunjukkan nilai KFT ekstrak *n*-heksan pada beberapa mangrove berkisar antara 25,67 mg EK/g-30 mg EK/g. Pada penelitian yang dilakukan oleh Malik *et al.*, (2017) ini mengenai perbandingan nilai KFT pada beberapa genus mangrove diantaranya adalah *Bruguiera sexangula*, *Bruguiera cylindrica*, *Rhizophora apiculata*, *Avicennia alba*, dan *Lumnitzera racemosa* dengan menggunakan pelarut yang berbeda-beda. Pada penelitian tersebut menunjukkan ekstrak *n*-heksan beberapa spesies mangrove menghasilkan nilai KFT yang tidak berbeda signifikan dengan nilai

terendah pada daun *B. sexangula* sebesar 25,67 mg EK/g.

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa nilai KFT ekstrak etanol 96% dan fraksi air tidak memiliki perbedaan yang signifikan, hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Mangrio *et al.*, (2016) bahwa pada ekstrak etanol dan ekstrak air daun *R. mucronata* memiliki nilai KFT yang tidak jauh berbeda. Nilai KFT pada ekstrak etanol 96% dan fraksi air pada daun *R. mucronata* menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol dan ekstrak air daun *R. apiculata* pada penelitian Ramadhani *et al.*, (2022) dengan waktu ekstraksi 15 menit pada suhu 40° C dengan nilai KFT secara berturut-turut sebesar 6,736 mg EK/g dan 1,306 mg EK/g. Hal ini dapat terjadi karena pada penelitian ini dilakukan ekstraksi dengan suhu 35° C dan waktu ekstraksi selama 30 menit yang merupakan waktu optimum dari ekstraksi (Zhang *et al.*, 2018;Margaretta *et al.*, 2011).

Flavonoid terdiri dari flavonoid aglikon dan glikosidanya serta memiliki sifat fisik, kimia, dan fisiologi yang berbeda satu sama lainnya (Kumar & Pandey, 2013). Pada penelitian ini ekstrak etanol 96% dan fraksi-fraksi daun *R. mucronata* diduga memiliki golongan flavonoid aglikon lebih tinggi dibandingkan flavonoid glikosidanya.

Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Gurudeeban *et al.*, (2014) yang menyatakan bahwa pada daun *R. mucronata* mengandung senyawa flavonoid golongan luteolin, kaemferol, dan rutin secara berturut-turut sebesar 79,2%; 12,2%; dan 8,6%. Flavonoid golongan luteolin dan kaemferol merupakan flavonoid aglikon, sedangkan rutin merupakan flavonoid glikosida (Xie *et al.*, 2022; Murota & Terao, 2003; S. D. Putri, 2020). Hasil ini juga didukung hasil identifikasi kualitatif dengan kromatografi lapis tipis pada **Gambar 4.7** yang menunjukkan pada fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat menghasilkan intensitas warna yang biru terang dan jelas.

KESIMPULAN

1. Ekstrak etanol 96% dan fraksi-fraksi daun *Rhizophora mucronata* mengandung senyawa flavonoid berdasarkan uji tabung dan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT).
2. Nilai KFT *R. mucronata* tertinggi yaitu pada fraksi *n*-heksan ekstrak etanol 96%, diikuti fraksi etil asetat ekstrak etanol 96%, fraksi air ekstrak etanol 96%, dan ekstrak etanol 96% secara berturut-turut sebesar $25,350 \pm 1,641$ mg EK/g; $23,880 \pm 1,099$ mg EK/g; $14,160 \pm 0,990$ mg EK/g; dan $12,980 \pm 0,233$ mg EK/g. Nilai KFT fraksi *n*-

heksan tidak berbeda signifikan dengan nilai KFT fraksi etil asetat, namun berbeda signifikan dengan fraksi air dan ekstrak etanol 96% ($p < 0,05$).

DAFTAR PUSTAKA

- Aminah, A., Tomayahu, N., & Abidin, Z. (2017). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2), 226–230. <https://doi.org/10.33096/jffi.v4i2.265>
- Andini, A. S., & Rahayu, S. M. (2019). Kesesuaian Vegetasi dalam Mitigasi Bencana Tsunami di Teluk Sepi, Lombok Barat. *MEDIA BINA ILMIAH*, 14(3), 2095. <https://doi.org/10.33758/mbi.v14i3.310>
- 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 (Journal of Pharmacy)*, 2(337), 5.
- Batool, N., & Ilyas, N. (2014). Asiatic Mangrove (*Rhizophora mucronata*) An overview. *European Academic Research*, 2(3), 3351.
- 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.). *Jurnal Pijar Mipa*, 16(3), 397–405. <https://doi.org/10.29303/jpm.v16i3.2308>
- Chen, A., Xiang, W., Liu, D., Liu, C., & Yang, L. (2016). Determination of Total Flavonoids and Its Antioxidant Ability in *Houttuynia cordata*. *Journal of*

Materials Science and Chemical Engineering, 04(02), 131–136.
<https://doi.org/10.4236/msce.2016.42014>

Desiani, E., Mardiana, T. Y., Madusari, B. D., & Hidayat, F. N. (2022). Uji Aktivitas Analgesik Ekstrak Daun Mangrove (*Rhizophora mucronata*) pada Mencit yang diinduksi Asam Asetat dengan Metode Writhing Reflex. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 2(2), 307–317.

Dewatisari, W. F., Rumiyan, L., & Rakhmawati, I. (2018). Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun *Sansevieria sp.* *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 17(3), 197.
<https://doi.org/10.25181/jppt.v17i3.336>

Egra, S., Mardhiana, ., Rofin, M., Adiwena, M., Jannah, N., Kuspradini, H., & Mitsunaga, T. (2019). Aktivitas Antimikroba Ekstrak Bakau (*Rhizophora mucronata*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Ralstonia Solanacearum* Penyebab Penyakit Layu. *Agrovigor: Jurnal Agroekoteknologi*, 12(1), 26.
<https://doi.org/10.21107/agrovigor.v12i1.5143>

Faoziyah, A. R., & Kurniawan, W. (2017). Pemanfaatan Ekstrak Daun Mangrove (*Rhizophora mucronata sp.*) dengan Variasi Pelarut Sebagai Bahan Aktif Sediaan Farmasi Terapi Anti Kanker. *Journal of Health*, 4(2), 68.
<https://doi.org/10.30590/vol4-no2-p68-74>

Forestryana, Dyera dan Arnida. (2020). Phytochemical screenings and thin layer chromatography analysis of ethanol extract jeruju leaf (*Hydrolea spinosa L.*). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), 113-124

Gandjar, I.G., dan Rohman, A. (2013). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar

Giri, C., E. Ochieng., L. L. Tieszen., Z. Zhu., A. Singh., T. Loveland., J. Masek., dan N. Duke. (2011). Status and Distribution Of Mangrove Forests Of The World Using Earth Observation Satellite Data. *Global Ecology And Biogeography*, (*Global Ecol. Biogeogr.*), 20, 154-159.

Gurudeeban, S., Kaliamurthi, S., Sheik, H. S., & Thiruganasambandam, R. (2014). Molecular docking, isolation and biological evaluation of *Rhizophora mucronata* flavonoids as anti-nociceptive agents. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 4(4), 555–560.
<https://doi.org/10.1016/j.bionut.2014.08.002>

Haeria, H., & Andi, T. U. (2016). Penentuan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi L.*). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Science* (1), 57-61.

Handayani, D., Mun'im, A., & Ranti, A. S. (2014). Optimasi Ekstraksi Ampas Teh Hijau (*Camellia sinensis*) Menggunakan Metode Microwave Assisted Extraction Untuk Menghasilkan Ekstrak Teh Hijau. *Trad. Med. J*, 19(1), 7.

Ikalinus, R., Widyastuti, S. K., & Setiasih, N. L. E. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 9.

- Ipandi, I., Triyasmono, L., & Prayitno, B. (2016). *Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kajajahi (Leucosyke capitellata Wedd.)*. 3, 8.
- Jacob, J. M., Oematan, A. B., & Maakh, Y. F. (2022). Uji Karakteristik Sediaan Salep Ekstrak Etanol Buah Makasar (*Brucea Javanica* [L.] Merr) sebagai Kandidat Salep Untuk Luka Incisi dan Luka Diabetes. *JURNAL KAJIAN VETERINER*, 10(1), 38–50. <https://doi.org/10.35508/jkv.v10i1.6614>
- Kadir, M. A., Wibowo, E. S., Abubakar, S., & Akbar, N. (2019). Manfaat Mangrove Bagi Peruntukan Sediaan Farmasitika di Desa Mamuya Kecamatan Galela Timur Kabupaten Halmahera Timur (Tinjauan Etnofarmakologis). *Jurnal Enggano*, 4(1), 12–25. <https://doi.org/10.31186/jenggano.4.1.12-25>
- Karima, N., Pratiwi, L., & Apridamayanti, P. (2019). Identifikasi Senyawa Kuersetin Ekstrak Etil Asetat Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 4(1), 1–5.
- Karthi, S., Uthirarajan, K., Manohar, V., Venkatesan, M., Chinnaperumal, K., Vasantha-Srinivasan, P., & Krutmuang, P. (2020). Larvicidal Enzyme Inhibition and Repellent Activity of Red Mangrove *Rhizophora mucronata* (Lam.) Leaf Extracts and Their Biomolecules against Three Medically Challenging Arthropod Vectors. *Molecules*, 25(17), 3844. <https://doi.org/10.3390/molecules25173844>
- Kaseng, E. S., Muhlshah, N., & Irawan, S. (2016). Uji Daya Hambat Terhadap Pertumbuhan Bakteri Uji *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli* Ekstrak Etanol Daun Mangrove *Rhizophora Mucronata* dan Efek Antidiabetiknya pada Mencit Yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Bionature*, 17(1), 1–6.
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, 2013(1), 1–16. <https://doi.org/10.1155/2013/162750>
- Kurnianingsih, D., Setiyabudi, L., & Tajudin, T. (2021). Uji Efektivitas Sediaan Krim Kombinasi Ekstrak Daun Bakau Hitam (*Rhizophora Mucronata*) dan Jeruk Purut (*Citrus Hystrix*) terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Ilmiah JOPHUS: Journal Of Pharmacy UMUS*, 2(01), 28–35. <https://doi.org/10.46772/jophus.v2i01.271>
- Kusumaningrum, H. P., Kusdiyantini, E., & Pujiyanto, S. (2015). Kualitas Simplisia Tanaman Biofarmaka *Curcuma domestica* Setelah Proses Pemanasan Pada Suhu Dan Waktu Bervariasi. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 17(1), 27. <https://doi.org/10.14710/bioma.17.1.27-33>
- Kusumowati, I. T. D. (2012). Korelasi Kandungan Fenolik dan Aktivitas Antiradikal Ekstrak Etanol Daun Empat Tanaman Obat Indonesia (*Piper betle*, *Sauropus androgynus*, *Averrhoa bilimbi*, dan *Guazuma ulmifolia*). *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 13(1), 1–5. <https://doi.org/10.23917/pharmacon.v13i1.19>
- Li, C., Ge, Y., Wan, D., Hu, J., Ying, C., & Wang, L. (2011). Optimization of Extraction Condition and Quantification of Total Flavonoids in *Elaeagni Folium*. *Pharmacognosy Journal*, 3(26), 8–12. <https://doi.org/10.5530/pj.2011.26.2>

- Mahran, I. T., Suhartini, S., & Sucipto, S. (2019). Optimasi Ekstraksi Ultrasonik Daun Kecubung Sebagai Agen Anti Bakteri Jerawat *Propionibacterium Acnes* (Kajian: Raio Pelarut Terhadap Bahan dan Lama Waktu Sonikasi).
- Malik, N. H., Zin, Z. M., Abd, S. B., Ibrahim, K., & Zainol, M. K. (2017). Antioxidative Activities and Flavonoids Contents in Selected Mangrove Species in Setiu Wetland Extracted Using Different Solvents. *Journal of Sustainability Science and Management*, 1(3), 24–34.
- Mangrio, A. M., Rafiq, M., Naqvi, S. H. A., Junejo, S. A., Mangrio, S. M., & Rind, N. A. (2016). Evaluation of Phytochemical Constituents and Antibacterial Potential of *Avicennia Marina* and *Rhizophora Mucronata* from Indus Delta Of Pakistan. *Pak. J. Biotechno*, 13(4), 259–265.
- Manik, D. F., Hertiani, T., & Anshory, H. (2014). Analisis Korelasi Antara Kadar Flavonoid dengan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi-fraksi Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Khazanah*, 6(2), 1–11. <https://doi.org/10.20885/khazanah.vol6.iss2.art1>
- Mariana, L., & Andayani, Y. (2013). Analisis Senyawa Flavonoid Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Daun Keluwih. *Chem Prog*, 6(2), 52–53.
- Moteriya, P., Dalsaniya, A., & Chanda, S. (2015). Antioxidant and antimicrobial activity of a mangrove plant *Avicennia marina* (Forsk.). *Journal of Coastal Life Medicine*, 3(9), 173–171.
- Mukharini. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2), 362
- Murota, K., & Terao, J. (2003). Antioxidative flavonoid quercetin: Implication of its intestinal absorption and metabolism. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 417(1), 12–17.
- Nuraeni, A. D., Lukmayani, Y., & Kodir, R. A. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri *Propionibacterium acnes* Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Karuk (*Piper sarmetosum Roxb. Ex. Hunter*) serta Analisis KLT Bioautografi. *Jurnal Riset Farmasi*, 1(1), 9–15. <https://doi.org/10.29313/jrf.v1i1.26>
- Nuria, M. C., & Faizatun, A. (2009). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. 2(5), 29.
- Pujiastuti, E., & El'Zeba, D. (2021). Perbandingan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 70% Dan 96% Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*) Dengan Spektrofotometri. 5(1), 37.
- Putri, S. D. (2020). Quersetin Pada Benalu Teh Sebagai Terapi Hipertensi. *Medula*, 10(2), 307–311.
- Ramadhani, N., Samudra, A. G., Syahidah, W., Utami, C. D., & Rahmawati, S. (2022). Kadar Flavonoid Total Daun *Rhizopora Apiculata* Blume dengan Variasi Pelarut. *LUMBUNG FARMASI; Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 3(2), 7.
- Robbiyan, R., Pandapotan, M. M., & Apriani, R. (2021). Penentuan Kadar Flavonoid Totak dari Ekstrak Kulit Salak (*Salacca zalacca. Reinw*) Berdasarkan Perbedaan Pengeringan Simplisia. *Lantanida Journal*, 9(1), 8. <https://doi.org/10.22373/lj.v9i1.8498>

- Rusmin, Pine, A. T. D., & Uneputti, M. M. (2020). Standardisasi Mutu Fisik Ekstrak Etanol Daun Pare Hijau (*Momordica carantia* L.). *Jurnal Kesehatan Yamasi Makassar*, 4(1), 4.
- Sadeer, N. B., Rocchetti, G., Senizza, B., Montesano, D., Zengin, G., Uysal, A., Jeewon, R., Lucini, L., & Mahomoodally, M. F. (2019). Untargeted Metabolomic Profiling, Multivariate Analysis and Biological Evaluation of the True Mangrove (*Rhizophora mucronata* Lam.). *Antioxidants*, 8(10), 489. <https://doi.org/10.3390/antiox8100489>
- Sain, U., Sukma, D. N., & Simatupang, B. S. (2020). Potensi (*Rhizopora mucronata*) Sebagai Antidiabetes. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(1), 135–142.
- Sari, A. K., & Ayuhecaria, N. (2017). Penetapan Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Ekstrak Beras Hitam (*Oryza sativa* L) dari Kalimantan Selatan. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 2(2), 327–335.
- Sopiah, B., Muliastari, H., & Yuanita, E. (2019). Skrining Fitokimia dan Potensi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 17(1), 27–33.
- Suciati, Anisa., Wardiyanto., dan Sumino. (2012). Efektifitas Ekstrak Daun *Rhizophora Mucronata* dalam Menghambat Pertumbuhan *Aeromonas salmonicida* dan *Vibrio harveyi*. *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*, 1(1), 4-7.
- 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), 115.
- Susilawati, N. (2013). Pembuatan dan Karakterisasi Serta Penentuan Kadar Flavonoid dari Ekstrak Kering Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.). 5(1), 11.
- Thirunavukkarasu, P., Asha, S., Ramanathan, T., Kannan, D., & Sudhakar, N. (2017). Phytochemical Analysis of Mangrove Derived Crude Plant Extract-*Rhizophora Mucronata*. *Journal of Global Trends in Pharmaceutical Sciences*, 8(3), 3813–3820.
- Wahyuni, R., & Rivai, H. (2014). Pengaruh Cara Pengeringan dengan Oven, Kering Angin, dan Cahaya Matahari Langsung Terhadap Mutu *Simplisia Herba Sambiloto*. 6(2), 128.
- Widarta, I. W. R., & Arnata, I. W. (2017). Ekstraksi Komponen Bioaktif Daun Alpukat dengan Bantuan Ultrasonik pada Berbagai Jenis dan Konsentrasi Pelarut. *Agritech*, 37(2), 148. <https://doi.org/10.22146/agritech.10397>
- Xie, L., Deng, Z., Zhang, J., Dong, H., Wang, W., Xing, B., & Liu, X. (2022). Comparison of Flavonoid O-Glycoside, C-Glycoside and Their Aglycones on Antioxidant Capacity and Metabolism during In Vitro Digestion and In Vivo. *Foods*, 11(6), 882. <https://doi.org/10.3390/foods11060882>
- Yuliantari, N. W. A. (2017). Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Menggunakan Ultrasonik. *Scientific Journal of Food Technology*, 4(35), 39.

Zhang, Q.-W., Lin, L.-G., & Ye, W.-C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine*, 13(1), 20. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>