

JURNAL SKRIPSI

**PENENTUAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK DAN
FRAKSI - FRAKSI DAUN MANGROVE (*Sonneratia alba*)**



Oleh

FANIA RAHMAN

K1A018028

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MATARAM
MATARAM
2023**

PENENTUAN KADAR FLAVONOID TOTAL ESKTRAK DAN FRAKSI-FRAKSI DAUN MANGROVE (*Sonneratia alba*)

Fania Rahman, Handa Muliastari, Rizqa Fersiyana Deccati

Sonneratia alba is a mangrove species that is used in traditional medicine. *Sonneratia alba* leaves have various pharmacological effects such as cardiovascular protection, antidiabetic, antioxidant, antibacterial, anticholesterol, anti-inflammatory and antifungal because they contain metabolite compounds, one of which is the flavonoid group. This research aimed to determine the total flavonoid content in extracts and fractions of *Sonneratia alba* leaves obtained in Buwun Mas, Sekotong, and West Lombok. The stages carried out in this research include collecting materials, plant determination, making simplicia, making extracts using the sonication method using 96% ethanol solvent and liquid-liquid fractionation using n-hexane, ethyl acetate and water solvents. Qualitative analysis of flavonoids includes tube tests and TLC tests, as well as quantitative analysis using the colorimetric method using UV-Vis spectrophotometry. Qualitative analysis using extract tube tests and positive fractions for the presence of flavonoids. The TLC test was positive for flavonoids in the 96% ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction and negative water fraction. The total flavonoid content of the 96% ethanol extract, water fraction, ethyl acetate fraction, and n-hexane fraction were respectively 22.7 ± 1.4 mgQE/g fraction, 16.8 ± 0.9 mgQE/g fraction 42.6 ± 1.4 mgQE/g fraction, and 75.3 ± 3.8 mgQE/g fraction. The results of the *One Way ANOVA* statistical analysis of total flavonoid levels showed significant differences ($p < 0.05$) while the 96% ethanol extract and the water fraction were not significantly different ($p > 0.05$).

Kata kunci: *Sonneratia alba* leaves, extract, total flavonoid levels, UV-Vis spectrophotometry.

Pendahuluan

Indonesia memiliki kawasan pesisir yang begitu luas dan berada di urutan keempat dunia dengan garis pantai terpanjang. Wilayah pesisir ini terdiri dari berbagai ekosistem, salah satunya adalah ekosistem hutan mangrove (Siburian & Johan, 2016). Menurut Kementerian Kelautan dan Perikanan, luas kawasan hutan mangrove pada tahun 2021 berdasarkan peta Mangrove Nasional sekitar 3.364.076 Ha. Salah satu wilayah yang memiliki hutan mangrove adalah pesisir kecamatan Sekotong, Lombok Barat, Nusa Tenggara Barat (NTB) yang terdiri dari desa Pelangan, Kedaro, Taman Baru, Sekotong Barat, Sekotong Tengah, Sekotong Timur, Buwun Mas, Batu Putih, Gili Gede Indah dan Cendi Manik. Kondisi topografi wilayah Sekotong yang berbukit-bukit dan muara sungai yang merupakan habitat potensial mangrove (Japa & Didik, 2017). Lokasi hutan mangrove khususnya di Buwun Mas, Sekotong, Lombok Barat mempunyai berbagai spesies mangrove salah satunya *Sonneratia alba* (Andini & Selamat, 2019).

Sonneratia alba atau lebih dikenal dengan perepat di Desa Pesisir Kuala Bubon Aceh Barat merupakan salah satu spesies mangrove yang berpotensi sebagai obat (Hardoko *et al.*, 2019). Bagian tanaman yang banyak dimanfaatkan sebagai obat adalah daun. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Abubakar *et al.* (2019) daun digunakan sebagai obat mangir

(jamur lidah) dan pelancar buang air besar pada bayi oleh masyarakat Desa Mamuya, Galela Timur, Halmahera Timur, Provinsi Maluku Utara. Masyarakat di daerah Desa Tanah Kuning Kabupaten Bulungan Kalimantan Utara memanfaatkan daun *Sonneratia alba* sebagai obat cacar (Putri *et al.*, 2016). Daun *S. alba* juga mempunyai berbagai efek farmakologi seperti proteksi kardiovaskular, antidiabetes, antioksidan, antibakteri, antikolestrol, antiinflamasi, dan antijamur (Binuni *et al.*, 2020; Musa *et al.*, 2019; Asad *et al.*, 2017; Thu *et al.*, 2011). Ekstrak air rebusan dari daun *Sonneratia alba* terbukti memiliki aktivitas antibakteri (Senduk *et al.*, 2019).

Berbagai khasiat *Sonneratia alba* disebabkan oleh kandungan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, fenol, tanin, saponin, flavonoid, steroid dan glikosida (Muhaimin *et al.*, 2022; Surya & Hari, 2017). Senyawa yang banyak menimbulkan efek farmakologi salah satunya yaitu senyawa flavonoid (Puspitasari *et al.*, 2022). Efek farmakologi tersebut dipengaruhi oleh kadar flavonoid total. Kadar flavonoid total ekstrak daun *Sonneratia alba* di daerah Maharashtra, India tergolong tinggi dengan nilai 178,2 (mgQE)/g (Gawali *et al.*, 2017). Selain itu, ekstrak daun *Sonneratia alba* di Mongondow Selatan, Sulawesi Utara memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dengan nilai IC_{50} $88,706 \pm 4,782$ $\mu\text{g/ml}$ dan nilai fenolik total sebesar $5,847 \pm 0,315$ mgGAE/g (Budi *et al.*, 2019). Kadar flavonoid total tanaman di setiap daerah berbeda-beda yang dipengaruhi oleh lingkungan seperti kadar flavonoid total pada bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) lebih tinggi di dataran rendah (Hawari *et al.*, 2022). Kadar flavonoid total pada bagian daun *Sonneratia alba* terutama di wilayah Buwun Mas, Sekotong, Lombok Barat, NTB belum pernah dilaporkan.

Pada penelitian ini akan dilakukan penentuan kadar flavonoid total ekstrak dan fraksi-fraksi daun *Sonneratia alba*. Fraksinasi dapat memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya sehingga metabolit yang diperoleh lebih spesifik dan senyawa pengotor seperti klorofil, lemak dan resin lebih sedikit sehingga memberikan hasil lebih baik dibandingkan ekstrak (Sutomo *et al.*, 2021; Vifta & Yustisia, 2018). Berdasarkan penelitian yang dilakukan terhadap genus yang sama yaitu daun kedabu (*Sonneratia ovata* Backer) kadar flavonoid total tergolong lebih tinggi pada fraksi dibandingkan ekstrak. Kadar flavonoid total ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi *n*-butanol secara berurutan yaitu 76 (mgQE)/g, 160 (mgQE)/g, 180 (mgQE)/g dan 172 (mgQE)/g (Furi *et al.*, 2020).

Penentuan kadar flavonoid dapat dilakukan dengan metode kolorimetri dan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Pereaksi yang digunakan yaitu pereaksi $AlCl_3$ yang dapat membentuk kompleks, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah *visible* (tampak) yang ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning (Ahmad *et al.*, 2015).

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid total yang terdapat pada daun *Sonneratia alba* di wilayah Buwun Mas, Sekotong, Lombok Barat dengan metode kolorimetri menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis.

Metode Penelitian

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan yaitu daun *S. alba*, asam asetat 5% (Merck), kuersetin (Sigma-aldrich), *n*-heksana (Merck), *n*-butanol (Merck), kloroform (Merck) p.a, asam asetat (Merck) p.a, akuades (Merck), etanol 96% (Merck), serbuk magnesium (Merck), etil asetat (Merck), asam klorida (Merck) pekat, aluminium klorida 10% (Nitra Kimia), lempeng KLT Silika Gel F₂₅₄ (Merck). Alat-alat yang digunakan yaitu alat-alat gelas (Iwaki), Sinar UV254 dan 366 nm (CAMAG®), Spektrofotometri UV-Vis (Specord200), sonikator (Elmasonic), *evaporator rotary vacuum* (Heidolph), neraca analitik (Ohaus), blender (Miyako), TLC chamber (CAMAG®).

Prosedur Penelitian

Pengambilan Sampel

Daun mangrove *S. alba* dikumpulkan sebanyak 8 kg di daerah Buwun Mas, Sekotong, Kabupaten Lombok Barat. Kriteria daun yang diambil yaitu daun mangrove *S. alba* dengan warna hijau muda dan hijau tua (Winarti *et al.*, 2019).

Pembuatan Simplisia Daun Mangrove *S. alba*

Daun mangrove *S. alba* dikumpulkan kemudian dipisahkan dari ranting pohonnya, disortasi basah untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel. Sampel yang sudah disortasi basah ditimbang dan dirajang, selanjutnya dilakukan proses pengeringan, dengan terlebih dahulu sampel ditutupi kain hitam. Hal ini dilakukan untuk menghindari kerusakan senyawa metabolit sekunder suatu bahan kemudian diangin-anginkan. Simplisia yang sudah kering disortasi kering agar menghilangkan kotoran, dihaluskan, diayak dengan mesh 40 untuk

mendapatkan butiran yang seragam dan ditimbang berat serbuk kering keseluruhan simplisia daun *S. alba*.

Ekstraksi Daun Mangrove *S. alba*

Sebanyak 200 g serbuk simplisia disonikasi selama 30 menit dengan suhu 35°C menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan (1:5) (Ramadhani *et al.*, 2022). Larutan hasil sonikasi yang diperoleh kemudian disaring dengan kertas saring dengan tujuan untuk memisahkan ekstrak 96% dengan residunya. Proses ekstraksi dengan sonikasi dilakukan sebanyak tiga kali (Risthanti *et al.*, 2019). Ekstrak daun mangrove *S. alba* dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai pelarut tidak menetes. Ekstrak yang telah diuapkan kemudian dikentalkan menggunakan *waterbath* dengan suhu 40°C.

Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan air. Fraksinasi dilakukan dengan cara 20 g ekstrak kental ditimbang kemudian dilarutkan dalam 100 mL akuades hangat, setelah itu dimasukkan ke dalam corong pisah 500 mL ditambah dengan 100 mL *n*-heksana. Campuran larutan dikocok hingga terekstraksi sempurna, didiamkan beberapa saat sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan *n*-heksana dipisahkan, sedangkan lapisan airnya difraksinasi kembali dengan 50 mL *n*-heksana. Fraksinasi dilanjutkan menggunakan etil asetat dengan proses yang sama. Fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air diuapkan dengan *waterbath* pada suhu 40°C sampai diperoleh fraksi yang kering (Hepni, 2019). Ketiga fraksi yang diperoleh, selanjutnya dilakukan skrining fitomikia.

Skrining Fitokimia Senyawa Flavonoid

a. Analisis Kualitatif dengan Uji Tabung

Ekstrak dan fraksi daun *S. alba* sebanyak 250 mg dilarutkan dalam 5 mL akuades hangat kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. 0,5 HCl pekat ditambahkan dan 50 mg magnesium. Hasil positif ditunjukkan dengan berubahnya warna larutan menjadi merah tua (magenta), jingga atau kuning (Hasibuan & Vicky, 2021).

b. Analisis kualitatif dengan KLT

Analisis kualitatif dengan KLT dilakukan dengan menggunakan eluen yang digunakan yaitu kloroform:etil asetat:*n*-butanol (5:3:0,25). Reagen pereaksi yang digunakan adalah AlCl₃ 10% dan diamati dengan sinar tampak dan UV_{254 nm} dan UV₃₆₆

nm.

Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi Daun Mangrove *S. alba*

1. Penentuan *Operating Time*

Larutan kuersetin 40 µg/mL diambil 1 mL ditambahkan 1 mL AlCl₃ 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Campuran larutan diukur absorbansinya dengan interval waktu 2 menit selama 60 menit pada panjang gelombang 416 nm sampai diperoleh absorbansi yang stabil (Bakti *et al.*, 2017).

2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Larutan standar kuersetin 40 µg/mL diambil 1 mL, ditambahkan dengan 1 mL AlCl₃ 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Campuran larutan diinkubasi selama *operating time* pada suhu ruang. Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan cara mengukur absorbansi pada rentang serapan panjang gelombang 350-500 nm (Erwiyani *et al.*, 2021).

3. Penentuan Kurva Baku Kuersetin

Larutan seri baku dibuat konsentrasi 100 µg/mL. Seri baku dibuat sebesar 30, 50, 60, 70 dan 90 µg/mL. Sebanyak 1 mL larutan seri baku dari masing-masing konsentrasi dimasukkan dalam labu ukur 10 mL, direaksikan dengan 1 mL AlCl₃ 10% dan 8 mL asam asetat 5% diinkubasi selama waktu *operating time* pada suhu ruang. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum. Replikasi dilakukan sebanyak tiga kali.

4. Penentuan Kadar Flavonoid Total Pada Ekstrak Dan Fraksi Daun Mangrove *S. alba*

Ekstrak dan fraksi ditimbang 10 mg kemudian dilarutkan dengan etanol 96% sampai 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1000 µg/mL. Larutan sampel 1000 µg/mL diambil sebanyak 1 mL, ditambahkan 1 mL AlCl₃ 10% dan 8 mL asam asetat 5% diinkubasi selama *operating time* pada suhu ruang (Susiloningrum, 2020). Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Replikasi dilakukan sebanyak tiga kali (Chang *et al.*, 2002). Kadar flavonoid total dihitung menggunakan persamaan berikut (Rebaya *et al.*, 2015):

$$\text{TFC} = \frac{C \times V}{m}$$

Keterangan:

C = konsentrasi kuersetin (mg/L)

V = volume sampel (L)

m = massa sampel (g)

Analisis Data

Kadar flavonoid total dari masing-masing ekstrak dan fraksi dianalisis secara statistik menggunakan program SPSS versi 24 dengan terlebih dahulu ditentukan normalitas dan homogenitasnya. Jika data terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$) dilakukan uji *One Way ANOVA* untuk menentukan adanya perbedaan pada data dengan uji tukey HSD yang bertujuan untuk menentukan data yang memiliki perbedaan secara signifikan.

Hasil dan Pembahasan

Proses pembuatan simplisia meliputi pengumpulan sampel, sortasi basah, perajangan, pengeringan, sortasi kering, dan penyimpanan. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air pada simplisia dan menghambat reaksi enzimatik sehingga simplisia tidak mudah rusak dan dapat digunakan dalam jangka waktu yang lama (Depkes RI, 1985). Metode pengeringan dilakukan dengan diangin-anginkan selama 14 hari. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Widiyanti *et al.*, (2023) dengan metode pengeringan diangin-anginkan selama 14 hari. Simplisia yang sudah kering disortasi kering untuk memisahkan pengotor atau bagian yang tidak diinginkan yang masih tertinggal pada simplisia kering (Melinda, 2014). Simplisia kemudian disimpan pada wadah plastik dan ditambahkan dengan pengawet seperti *silica gel*. Tujuan ditambahkan pengawet yaitu untuk menyerap air pada simplisia kering (Meriatna *et al.*, 2015). Sehingga simplisia tidak mudah ditumbuhi jamur dan organisme lainnya. berat daun mengrove *S. alba* segar yaitu 8 kg dan berat simplisia kering yang diperoleh sebesar 2,636 kg. Nilai persen rendemen simplisia kering dihitung dengan membandingkan berat simplisia kering dan berat simplisia segar. Nilai persen rendemen simplisia kering yang diperoleh yakni 30,65% b/b.

Serbuk simplisia diekstraksi sebanyak 200 g menggunakan pelarut etanol 96% (1:5) b/v dengan metode sonikasi pada suhu 35°C selama 30 menit. Pelarut etanol 96% dipilih karena lebih mudah berpenetrasi ke dalam dinding sel sampel daripada pelarut etanol dengan konsentrasi lebih rendah, sehingga menghasilkan ekstrak etanol 96% yang pekat (Wendersteyt *et al.*, 2021). Ekstrak yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sehingga mempercepat proses penguapan pelarut pada ekstrak. Dipekatkan kembali dengan *waterbath* pada suhu 40°C untuk memperoleh ekstrak kental. Ekstrak etanol 96% dikatakan kental apabila berat ekstrak konstan setelah 3 kali penimbangan. Nilai persen

rendemen ekstrak etanol 96% daun mangrove *S. alba* yang diperoleh sebesar 12,12%b/b. Nilai persen rendemen tersebut tergolong tinggi karena nilainya tidak kurang dari 10% (Farmakope Herbal Indonesia, 2017). Hasil nilai persen rendemen tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan hasil nilai persen rendemen yang diperoleh oleh Moito *et al.*, (2023) menemukan bahwa nilai persen rendemen ekstrak etanol 96% daun mangrove *S. alba* menggunakan pelarut metanol dengan metode maserasi menghasilkan nilai persen rendemen sebesar 6,6%b/b. Penelitian yang dilakukan oleh Gazali *et al.*, (2020) dengan pelarut metanol dengan metode maserasi diperoleh persen rendemen yaitu 6,7%.

Ekstrak etanol 96% daun mangrove *S. alba* kemudian difraksinasi sebanyak 20 g menggunakan pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda yaitu *n*-heksana (nonpolar), etil asetat (semi polar), dan air (polar). Menurut Sutomo *et al.*, (2021) tujuan dari fraksinasi yaitu untuk memisahkan senyawa metabolit sekunder berdasarkan kepolarannya. Berat masing-masing fraksi berbeda-beda begitu juga dengan warna sebelum dan setelah dipekatkan. Berat fraksi kental tertinggi dan terendah adalah fraksi air dan fraksi *n*-heksana. Data berat dan nilai persen rendemen fraksi-fraksi daun mangrove *S. alba* disajikan dalam **1**.

Tabel 1 Berat dan Nilai Persen Rendemen Fraksi-fraksi daun mangrove *S. alba*

Sampel	Berat (g)	% Rendemen (b/b)
Fraksi <i>n</i> -heksana	1,650	8,25
Fraksi etil asetat	5,180	25,90
Fraksi air	9,334	46,67

Nilai persen rendemen lebih tinggi fraksi air dari pada fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksana. Perbedaan jumlah rendemen disebabkan oleh perbedaan kandungan dan komposisi kimia senyawa yang terlarut. Berdasarkan prinsip *like dissolves like*, senyawa bersifat polar cenderung larut dalam pelarut polar dan sebaliknya. Senyawa non polar akan larut dalam pelarut polar (Lalopua, 2020). Menurut Anjaswati *et al.*, (2021) nilai persen rendemen fraksi air lebih tinggi dibandingkan dengan nilai persen rendemen fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksana.

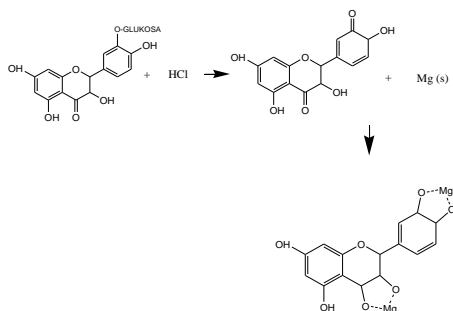
Skrining fitokimia dilakukan sebagai uji pendahuluan. Hasil skrining fitokimia senyawa flavonoid pada ekstrak etanol 96% dan fraksi-fraksi daun mangrove *S. alba* dengan metode uji tabung dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Senyawa Flavonoid pada Ekstrak dan Fraksi-fraksi Daun Mangrove *S. alba* dengan Uji Tabung

Sampel	Hasil
Kuersetin	+
Ekstrak etanol 96%	+
Fraksi n-heksana	-
Fraksi etil asetat	+
Fraksi air	+

Keterangan: Teridentifikasi (+) dan Tidak teridentifikasi (-)

Berdasarkan **Tabel 2** hasil skrining fitokimia senyawa flavonoid pada ekstrak etanol 96%, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air daun mangrove *S. alba* teridentifikasi adanya senyawa flavonoid yang ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning, merah, atau jingga. Akuades digunakan sebagai kontrol negatif dan kuersetin digunakan sebagai kontrol positif. Hasil yang diperoleh sesuai penelitian yang dilakukan oleh Suryaningrum & Sasmito (2021) bahwa ekstrak daun mangrove *S. alba* teridentifikasi adanya senyawa flavonoid. Penelitian yang dilakukan oleh Sumartini *et al.*, (2022) yaitu fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat teridentifikasi adanya senyawa flavonoid. Analisis kualitatif senyawa flavonoid dilakukan dengan menggunakan metode *wilstater*. Metode *wilstater* dilakukan dengan mereaksikan serbuk magnesium (Mg) dan asam klorida (HCl) pekat pada sampel (La *et al.*, 2021). Penambahan serbuk Mg dan HCl pekat berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur senyawa flavonoid sehingga terbentuk warna merah, kuning atau jingga yang membentuk garam flavilium (Iling *et al.*, 2017). Adapun Reaksi senyawa flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl pekat dapat dilihat pada **Gambar 2**.



Gambar 2 Reaksi Senyawa Flavonoid dengan Serbuk Mg dan HCl Pekat (Nugrahani *et al.*, 2016). Analisis kualitatif senyawa flavonoid selanjutnya menggunakan KLT untuk mempertegas hasil uji tabung. Eluen yang digunakan untuk identifikasi senyawa flavonoid yaitu kloroform:etil asetat:*n*-butanol dengan perbandingan 5:3:0,25 v/v/v. pemilihan eluen mangacu pada penelitian yang dilakukan oleh Sopia *et al.*, (2019) dengan modifikasi. Campuran eluen tersebut memiliki kepolaran yang cenderung semi polar. Eluen yang baik adalah eluen yang mampu memisahkan senyawa dalam jumlah banyak yang ditandai dengan adanya noda pada plat KLT. Hasil pemisahan senyawa dan Data Kualitatif Bercak Noda dan Nilai R_f Pemisahan dengan KLT pada **Tabel 3**.

Tabel 3 Data Kualitatif Bercak Noda dan Nilai R_f Pemisahan dengan KLT

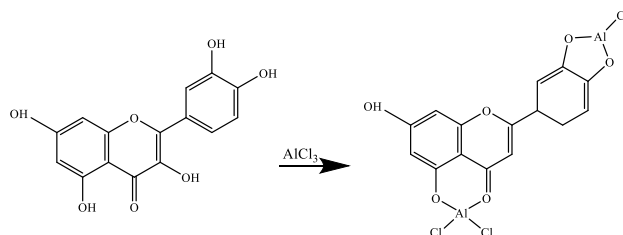
Sampel	Karakteristik bercak noda setelah disemprot $AlCl_3$ 10% di bawah sinar UV ₃₆₆ nm	Nilai R_f
Kuersetin	berfluoresensi hijau kekuningan	0,44
Ekstrak etanol 96%	berfluoresensi biru muda	0,87
Fraksi <i>n</i> -heksana	berfluoresensi biru muda	0,87
Fraksi etil asetat	berfluoresensi biru muda	0,87
Fraksi air	-	-

Keterangan: tidak teridentifikasi (-)

Hasil bercak noda berfluoresensi biru muda tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Sopia *et al.*, (2019) yang mengindikasikan adanya senyawa flavonoid. Nilai R_f yang diperoleh dari ekstrak, fraksi *n*-heksana, dan fraksi etil asetat yaitu 0,87 cm. Nilai R_f yang

dihasilkan memenuhi standar nilai R_f flavonoid yaitu 0,31-0,98 (Harbone, 1996). Senyawa dengan nilai R_f yang sama atau hampir sama menunjukkan senyawa tersebut memiliki karakteristik yang sama (Kusnadi & Egie, 2017). Penelitian ini menghasilkan bercak noda dan nilai R_f berbeda dengan larutan standar kuersetin menunjukkan bahwa ekstrak, fraksi *n*-heksana, dan fraksi etil asetat tidak termasuk flavonoid golongan kuersetin.

Kadar flavonoid total dinyatakan pada mg QE/g ekstrak atau fraksi \pm standar deviasi. Penentuan kadar flavonoid total dilakukan dengan menentukan *operating time*, panjang gelombang maksimum, kurva baku larutan standar kuersetin, dan pengukuran absorbansi sampel untuk mengetahui kadar flavonoid total. *Operating time* ditentukan dengan tujuan untuk memperoleh waktu pengukuran pada saat reaksi yang ditandai dari nilai absorbansi yang stabil, sehingga diperoleh waktu yang dibutuhkan kuersetin untuk bereaksi sempurna dengan pereaksi ($AlCl_3$) sehingga terbentuk senyawa kompleks kuersetin yang stabil (Susilowati & Dian, 2016). Reaksi kompleks senyawa flavonoid dengan pereaksi ($AlCl_3$) dapat dilihat pada **Gambar 4**.



Gambar 4 Reaksi Pembentukan Kompleks Antara Flavonoid dan Aluminium Klorida ($AlCl_3$) (Estikawati & Novena, 2019)

Penentuan *operating time* dilakukan dengan konsentrasi kuersetin 40 μ g/mL. Absorbansi larutan diukur setiap selang waktu 2 menit selama 60 menit. Nilai absorbansi stabil pada menit ke-28 sampai 32 sehingga diperoleh hasil *operating time* pada menit ke-28 dengan nilai absorbansi 0,2252. Hasil *operating time* tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ni'ma & Novena (2022) dan Agustina (2022) diperoleh pada menit ke-28. Penentuan panjang gelombang maksimum dari larutan standar kuersetin dengan konsentrasi kuersetin 40 μ g/mL adalah 416 nm. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Bakti *et al.*, (2017) yaitu 416 nm.

Penentuan kurva baku larutan standar kuersetin bertujuan untuk mengetahui hubungan antara larutan dengan nilai absorbansinya sehingga konsentrasi dapat diketahui. Seri konsentrasi yang digunakan yaitu 30, 50, 60,70, dan 90 μ g/mL. Nilai absorbansi pada **Tabel 4**. menunjukkan

bahwa konsentrasi berbanding lurus dengan absorbansi. Nilai koefisien korelasi (r) yang diperoleh mendekati 1 menunjukkan regresi tersebut linier (Safitri *et al.*, 2018).

Tabel 4. Hasil Pengukuran Absorbansi Kuersetin

Replikasi I		Replikasi II		Replikasi III	
C ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi	C ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi	C ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
30	0,2465	30	0,2596	30	0,2345
50	0,3528	50	0,4110	50	0,3842
60	0,4332	60	0,4829	60	0,4666
70	0,4996	70	0,5499	70	0,5366
90	0,6487	90	0,6747	90	0,6395
$y = 0,0068x + 0,0301$ $r^2 = 0,9941$		$y = 0,0069x + 0,0604$ $r^2 = 0,9975$		$y = 0,0068x + 0,0421$ $r^2 = 0,99$	

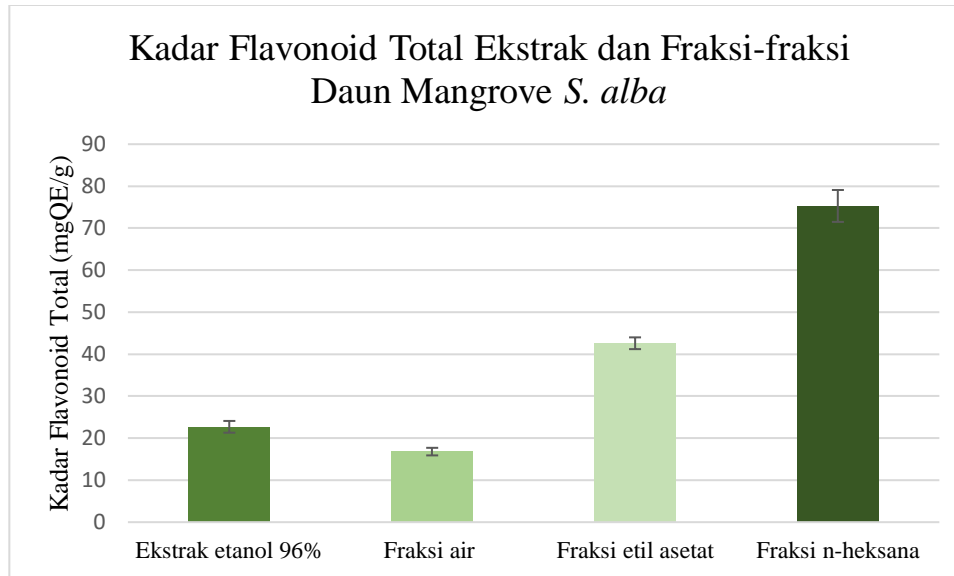
Keterangan: konsentrasi (C)

Kadar flavonoid total pada **Tabel 5.** ekstrak etanol 96%, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi *n*-heksana daun mangrove *S. alba* secara berturut-turut sebesar $22,7 \pm 1,4$ mgQE/g fraksi, $16,8 \pm 0,9$ mgQE/g fraksi $42,6 \pm 1,4$ mgQE/g fraksi, dan $75,3 \pm 3,8$ mgQE/g fraksi. Kadar flavonoid total tertinggi diperoleh pada fraksi *n*-heksana. Hal ini disebabkan oleh jenis flavonoid dalam daun mangrove *S. alba* yang diperoleh adalah flavonoid aglikon. Bentuk aglikon dari flavonoid diketahui mudah terlarut dalam pelarut non polar (Awouafact *et al.*, 2017).

Tabel 5. Hasil Kadar Flavonoid Total ekstrak dan Fraksi-fraksi Daun Mangrove *S. alba*

Sampel	Replikasi	Absorbansi	Kadar Flavonoid Total (mgQE/g)	$\bar{X} \pm \text{SD}$ (mgQE/g)	%CV
Ekstrak etanol 96%	1	0,3647	24,6	$22,7 \pm 1,4^a$	6,2
	2	0,3527	21,2		
	3	0,3447	22,3		
Fraksi air	1	0,2470	15,9	$16,8 \pm 0,9^a$	5,4
	2	0,2873	16,5		
	3	0,2448	18,1		
Fraksi etil asetat	1	0,3252	43,4	$42,6 \pm 1,4^b$	3,3
	2	0,3622	43,7		
	3	0,3184	40,6		
Fraksi <i>n</i> -heksana	1	0,5442	75,6	$75,3 \pm 3,8^c$	5,0
	2	0,5468	70,5		
	3	0,5852	79,9		

Keterangan: \bar{X} = Rata-rata, SD= Standar Deviasi, dan %CV= koefisien variasi
 Pada nilai $\bar{X} \pm \text{SD}$, angka yang diikuti huruf (a, b, dan c) yang berbeda menunjukkan menunjukkan data berbeda signifikan ($p < 0,05$) dan huruf yang sama tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$)



Gambar 5. Grafik Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-fraksi Daun Mangrove *S. alba*

Hasil signifikan uji normalitas kadar flavonoid total pada ekstrak etanol 96%, fraksi air, fraksi etil asetat, dan secara berturut-turut sebesar 0,616; 0,510; 0,168; dan 0,906 ($p > 0,05$). Pada uji homogenitas diperoleh hasil $p = 0,235$ ($p > 0,05$). Hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan kadar flavonoid total pada ekstrak dan fraksi-fraksi daun mangrove *S. alba* normal dan homogen karena nilai signifikan ($p > 0,05$). Uji statistik dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA* dan uji tukey HSD dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil uji tukey HSD diperoleh kadar flavonoid total $p = 0,000$ sehingga kadar flavonoid pada setiap sampel berbeda signifikan ($p < 0,05$) namun, kadar flavonoid total ekstrak etanol 96% dan fraksi air tidak berbeda signifikan $p = 0,109$ ($p > 0,05$).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

- Kadar flavonoid total ekstrak etanol 96%, fraksi air, fraksi etil asetat, dan fraksi *n*-heksana daun mangrove *S. alba* secara berturut-turut sebesar $22,7 \pm 1,4$ mgQE/g fraksi, $16,8 \pm 0,9$ mgQE/g fraksi $42,6 \pm 1,4$ mgQE/g fraksi, dan $75,3 \pm 3,8$ mgQE/g fraksi.
- Kadar flavonoid total terendah yaitu fraksi air dan tertinggi adalah fraksi *n*-heksana. Hasil analisis statistik menyatakan bahwa kadar flavonoid total ekstrak etanol 96% dan fraksi-fraksi berbeda signifikan ($p < 0,05$), namun kadar flavonoid total ekstrak etanol 96% dan fraksi air tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$).

Daftar Pustaka

- Abubakar, S., Masykhur A. K., Eko S. W., & Akbar N. (2019). Manfaat Mangrove Bagi Peruntukan Sediaan Farmasetika di Desa Mamuya Kecamatan Galela Timur Kabupaten Halmahera Timur (Tinjauan Etnofarmakologi). *Jurnal Eangano*, 4(1), 12-25.
- Agustina, F. (2022). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Bunga Gemitir (*Tagetes erecta* L.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis dan KCKT. *Skripsi*. Universitas Mataram. Mataram.
- Ahmad, A. R., Juwita, Siti A. D. R., & Abdul M. (2015). Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etlintera elatior* (Jack) R.M.SM). *Pharm Sci Res*, 2(1), 1-10.
- Aminah, A., Nurhayati T., & Zainal A. (2017). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitomarmaka Indonesia*, 4(2), 226-230.
- Andini, A. S., & Selamat R. (2019). Kesesuaian Vegetasi Dalam Mitigasi Bencana Tsunami Teluk Sepi, Lombok Barat. *Open Journal System*, 14(3), 2095-2104.
- Anjaswati, D., Diah P., & Ardy Prian N. (2021). Perbandingan Rendemen Ekstrak, Fraksi *n*-Heksana, Etil Asetat, dan Air Daun Bit (*Beta vulgaris* L.) menggunakan Fraksinasi Bertingkat. *Stikes*, 1(1), 1-6.
- Asad, S., Kanij N. D., Didaruzzaman S., & Mst. Luthfun N. (2017). Analgesic, Anti-Inflammatory and CNS Depressant Activities of Methanolic Extract of *Sonneratia alba* Leaves in mice. *Natural Products Chemistry and Research*, 5(5), 4-7.
- Asmorowati, H. & Novena Y. L. (2019). Penetapan Kadar Flavonoid Total Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 15(2), 51-63.
- Awouafack, M. D, Tane P, & Morita H. (2017). *Flavonoids - from Biosynthesis to Human Health*. London: IntechOpen.
- Bakti, A. A., Liling T., & Muhammad I. R. (2017). Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Uji Antioksidan Ekstrak Daun Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.) dengan Metode DPPH. *Jurnal Pharmascience*, 4(1). 102-108.
- Binuni, R., Wilmar M., Hariyadi & Yappy S. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove *Sonneratia alba* dari Kecamatan Tagulandang, Sulawesi Utara Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Biofarmasetikal Tropis*, 3(1), 79-85.
- Budi, S. B., Sulistiyati T. D., & Hardoko. (2019). Phytochemicals and identification of antioxidant compounds from ethanol extract of *Sonneratia alba* leaves and bark. *Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences*, 95(11), 190-196.
- Chang, C. Y. M., & Wen H. C. J. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods, *J. Food Drug Anal.*
- Depkes RI. (1985). *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Depkes RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia, Edisi II*. Jakarta: Ditjen POM RI.
- Erwiyani, A. R., Dina S. R. G., & Dian O. (2021). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu* L.) Menggunakan Metode AlCl₃. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 4(1), 1-7.

- Estikawati, I., & Novena Y. L. (2019). Penetapan Kadar Flavonoid Total Buah Oyong (*Luffa Acutangula* (L.) Roxb.) dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*, 5(2), 96-105.
- Furi, M., Nursinta A. B., & Ihsan I. (2020). Penentuan Total Fenolik, Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Kedabu (*Sonneratia ovate* Backer). *Jurnal Farmasi Indonesia*, 12(1), 48-59.
- Gandjar, G. H. & Rohman A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gawali, P., Jadhav B. L., & Larkins R. (2017). Comparative Studies on Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Ethanolic Extracts of True Mangrove and Mangrove Associate Located in Bhatye Beach Areas of Maharashtra, India. *Internasional Research Journal of Pharmacy*, 8(12), 124-130.
- Gazali, M., Nurjannah, Nabila U., Muhammad N., & Zuriat. (2020). Skrining Fitokimia Daun Perepat (*Sonneratia alba* J.E. Smith) sebagai Antioksidan Asal Pesisir Kuala Bubon Aceh Barat. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(2), 402-411.
- Harbone, J. B. (1987). *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Institusi Teknologi Bandung.
- Harbone, J. (1996). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Cetakan Kedua*. Bandung: ITB.
- Hardoko, Nur H. P., & Bambang B. S. (2019). Aktivitas Antioksidan dan Karakteristik Cuka Buah Mangrove (*Sonneratia alba*). *Journal of Fisheries and Marine Research*, 3(3), 322-330.
- Hawari, Pujiasmanto & Triharyanto. (2022). Morfologi dan Kandungan Flavonoid Total Bunga Telang di Berbagai Ketinggian Tempat Tumbuh Berbeda. *Jurnal Kultivasi*, 21(1), 88-96.
- Hendryani, R., Musthofa L., & La C. H. (2015). Ekstraksi Antioksidan Daun Sirih Merah Kering (*Piper croctatum*) dengan Metode Pra-Perlakuan *Ultrasonic Assisted Extraction* (Kajian Perbandingan Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*, 3(2), 33-38.
- Hepni. (2019). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Daun Kumak (*Lactuca indica* L.). *Jurnal Dunia Farmasi*, 4(1), 17-22.
- Herald, T. J., Priyadarshini G., & Michael T. (2012). High-throughput Micro Plate Assays for Screening Flavonoid Content and DPPH-scavenging Activity in Sorghum Bran and Flour. *JSci Food Agric*, 92(1), 2326-2331.
- Iling, I., Wulan S., & Erfiana. (2017). Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengen. *Jurnal Dinamika*, 8(1), 66-84.
- Indarto. (2015). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Fenolik dari Kulit Akar Tumbuhan *Artocarpus dadah* Miq. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Fisika Al-Biruni*, 4(2), 205-217.
- Iskandar, D. (2020). Aplikasi Uji Skrining Fitokimia Terhadap Daun Uncaria Tomentosa Sebagai Bahan Utama Dalam Pembuatan Teh. *Jurnal Teknologi Technoscientia*, 12(2), 153-158.
- Kementerian Kesehatan RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Kusnadi & Egie T. D. (2017). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) dengan Metode Refluks. *Pancasakti Science Education Journal*, 2(1), 56-67.

- La, E. O. J., Repining T. S., & Ni M. R. Y. (2021). Identifikasi Kandungan Metabolit Sekunder dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak *n*-Heksana Kulit Jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr.). *Jurnal Surya Medika*, 6(2), 185-200.
- Lalopua, V. M. N. (2020). Rendemen Ekstrak Kasar dan Fraksi Pelarut Alga Merah (*Kappaphycus alvarezii* Doty). *Majalah BIAM*, 16(1), 1-5.
- Melinda. (2014). Aktivitas Antibakteri Daun Pacar (*Lawsonia inermis* L). *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Meriatna, Leni M., Munawar K., & Zulmiardi. (2015). Pengaruh Temperatur Pengeringan dan Konsentrasi Asam Sitrat pada Pembuatan Silika Gel dari Sekam Padi. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 4(1), 78-88.
- Moito, R. A. A., Husain R., & Asri S. N. (2023). Analisis Kadar Saponin dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove *Sonneratia alba* dari Perairan Desa Monano Kabupaten Gorontalo Utara. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 11(2), 92-96.
- Muhaimin, M., Dwi W. R & Madyawati. (2022). Isolasi Senyawa Turunan Kuinon dari Ekstrak Aseton Daun Perepat (*Sonneratia alba*) dan Uji terhadap *Staphylococcus aureus*. *Journal of the Indonesia Society of Integrated Chemistry*, 14(1), 44-56.
- Musa, W., Bialangi N., Situmeang B., & Silaban S. (2019). Triterpenoid Compound from Metanol Extract of Mangrove Leaves (*Sonneratia alba*) and Anti-cholesterol Activity Test. *J. Pendidik. Kim*, 11(1), 18-23.
- Ni'ma, A., & Novena Y. L. (2022). Analisis Kadar Total Flavonoid ekstrak, Daun Adas (*Foeniculum vulgare*) secara Spektrofotometri Visibel. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*, 8(1), 1-11.
- Nugrahani, R., Yayuk A., & Aliefman H. (2016). Skrining Fitokimia dari ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 2(1), 96-103.
- Puspitasari, Y. E., Hardoko, & Titik D. S. (2022). Identifikasi Senyawa Fitokimia dari Daun Mangrove *Sonneratia alba* dan Analisis *in Silico* Sebagai Antidiabetes. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 27(2), 241-248.
- Putri, R. R., Hasanah R., & Kusimaningrum I. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri dan Uji Fitokimia Ekstrak Daun Mangrove *Sonneratia alba*. *Jurnal Sains dan Teknologi Akuakultur*, 2(1), 43-50.
- Putri, U. K. D., Hajrah, & Adam M. R. (2021). Uji Aktivitas Antikoagulan Ekstrak Daun Ciplukan (*Physalis Angulata* L) Secara *Invitro*. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 1(1), 332-338. <https://prosiding.farmasi.unmul.ac.id>
- Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 3(2), 291-297.
- Rebaya, A. et al. (2015). Total Phenolic, Total Flavonoid, Tannin Content and Antioxidant Capacity of Halimium Halimifolium (Cistaceae). *Journal of Applies Pharmaceutical Science*, 5(1), 052-057.
- Risthanti, R. R., Sumiyanti R., Wulandari D. D., & Anawati T. J. (2019). Penetapan Kadar Kurmuminoid dalam Ekstrak Campuran *Curcuma domestica* Val. dan *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Sebagai Bahan Jamu Sainifik Secara KLT-Densitometri. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 5(1), 37-43.

- Safitri, I., Maulita C. N., & Anita D. P. (2018). Perbandingan Kadar Flavonoid dan Fenolik Total Ekstrak Metanol Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) pada Berbagai Metode Ekstraksi. *Inovasi Tekni Kimia*, 3(1), 31-36.
- Senduk, T. W., Gisella A. L., Melliana. S. K., & Lita A. D. Y. M. (2019). Aktivitas Antibakteri Air Rebusan Daun Mangrove *Sonneratia alba*. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*, 7(3), 68-71.
- Sopiah, B., Handa M., & Emmy Y. (2019). Skrining Fitokimia dan Potensi Antioksidan Ekstrak Daun Kastuba (*Eurphobia pulcherrima* Willd.). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 17(1), 27-33.
- Sumartini, Ratriana P. W., & Hutabarat R. F. (2022). The Effect of Mangrove types and Leave Maturity on the Mangrove. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 967, 1(1), 1-12.
- Suryaningrum, F. D., & Sasmito B. S. (2021). The Effect of Mangrove Leaf Extract Dosage *Sonneratia alba* on Hela Cell Viability. *Journal of SCRTE*, 5(1), 30-40.
- Susiloningrum, D., & Dania I. (2020). Penapisan Fitokimia dan Analisis Kadar Flavonoid Total Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Valetton & Zijp.) dengan Perbedaan Polaritas Pelarut. *Jurnal keperawatan dan Kesehatan Masyarakat*, 9(2), 126-136.
- Susilowati & Dian S. (2016). Penentuan Golongan Seyawa dan Total Flavonoid Ekstrak Sarang Semut (*Myrmecodia pendens* Merr & Perry) Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Journal of Pharmacy*, 5(1), 19-24.
- Sutomo, Mariatul K., Nurmaidah, & Arnida. (2021). Identifikasi Potensi Senyawa Antioksidan dari Fraksi Etil Asetat Daun Mundar (*Gracinia forbesii* King.) Asal Kalimantan Selatan. *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah*, 6(3), 1-6.
- Thu, N. T. H. *et al.* (2011). Chemical Constituen from Leaves of *Sonneratia alba*. *Science and Technology Development*, 14(1), 11-17.
- Vifta, R. L., & Yustisia D. A. (2018). Skrining Fitokimia Karakteristik dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Paritijo (*Medinilla speciosa* B.). *Prosiding Seminar Unimus*, 1(1), 8-14.
- Wendersteyt, N. V., Defny S. W., & Surya S. A. (2021). Uji Aktivitas dari Ekstrak dan Fraksi *Ascidian Herdmania momus* dari Perairan Pulau Bangka Likupang Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* dan *Candida albicans*. *Pharmacon*, 10(1), 706-712.