

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK DAN FRAKSI ETIL
ASETAT BUAH RUKAM (*Flacourtia rukam*) DENGAN METODE
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

Risa Fadmi Mulyanti*, Rizqa Fersyana Deccati, Neneng Rachmalia Izzatul Mukhlisah

Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Mataram,
Mataram, Indonesia

*Email korespondensi: risafadmimulyanti@gmail.com

ABSTRAK

Studi etnobiologi menunjukkan bahwa buah rukam (*Flacourtia rukam*) telah dimanfaatkan secara tradisional oleh masyarakat sebagai obat diare, disentri dan antioksidan. Buah rukam (*Flacourtia rukam*) termasuk ke dalam famili Flacourtiaceae yang memiliki aktivitas antitumor, anti-virus, antioksidan dan anti-inflamasi. Berbagai aktivitas biologi tersebut dikarenakan kandungan metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya, salah satunya adalah flavonoid. Kandungan flavonoid total pada ekstrak dan fraksi etil asetat buah rukam belum pernah dilaporkan. Tujuan dari penelitian ini untuk menentukan kadar flavonoid total pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat buah rukam dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Penelitian ini dilakukan dengan mengekstraksi simplisia buah rukam dengan metode sonikasi menggunakan pelarut etanol 96% (1:5). Ekstrak yang diperoleh kemudian difraksinasi dengan air dan etil asetat. Hasil rendemen simplisia, ekstrak etanol 96% dan fraksi etil asetat secara berturut-turut sebesar 21,53%; 37,15%; 32,5%. Identifikasi metabolit sekunder dilakukan dengan uji tabung dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Hasil uji tabung menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% dan fraksi etil asetat buah rukam mengandung metabolit sekunder flavonoid. Pada identifikasi menggunakan KLT golongan flavonoid diindikasikan dengan bercak berwarna biru dan merah. Nilai rata-rata kadar flavonoid total buah rukam tertinggi yaitu pada fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% sebesar $11,07 \pm 0,21$ dan ekstrak etanol 96% sebesar $4,41 \pm 0,72$ mg QE/g. Nilai kadar flavonoid total ekstrak etanol 96% berbeda signifikan dengan nilai kadar flavonoid total fraksi etil asetat ($p < 0,05$).

Kata Kunci: Buah rukam (*Flacourtia rukam*), flavonoid total, kromatografi lapis tipis, spektrofotometri UV-Vis.

ABSTRACT

Ethnobiological study showed that rukam fruit (*Flacourtia rukam*) has been used traditionally by the community as a medicine for diarrhea, dysentery and antioxidant. Rukam fruit (*Flacourtia rukam*) belonging to the Flacourtiaceae family which has antitumor, anti-viral, antioxidant and anti-inflammatory activities. These various biological activities are due to its secondary metabolites, it flavonoids. The total flavonoid content in the extract and ethyl acetate fraction of rukam fruit had never been reported. The purpose of this study was to determine the total flavonoid content in the ethanol extract and ethyl acetate fraction of rukam fruit using the UV-Vis spectrophotometry method. This research was conducted by extracting the medicinal plant simplicia by sonication method using 96% ethanol (1:5). The extract obtained was then fractionated with water and ethyl acetate. The yield of simplicia, 96% ethanol extract and ethyl acetate fraction respectively was 37.15%; 32.5%. Identification of secondary metabolites was done by test tube and thin layer chromatography (TLC). The test tube results showed that the 96% ethanol extract and ethyl acetate fraction of rukam fruit leaves contained secondary metabolites of flavonoid. On the TLC identification, it

showed a class of flavonoid compounds with blue and red spots. The average value of the total flavonoid content of rukam fruit was the highest in the ethyl acetate fraction of 96% ethanol extract of 11.07 ± 0.21 and 96% ethanol extract of 4.41 ± 0.72 mg QE/g. The total flavonoid content value of the 96% ethanol extract was significantly different from the total flavonoid content value of the ethyl acetate fraction ($p < 0.05$).

Keywords: Rukam fruit (*Flacourtia rukam*), total flavonoid content, thin layer chromatography, UV-Vis spectrophotometry.

PENDAHULUAN

Buah rukam (*Flacourtia rukam*) merupakan tanaman yang termasuk kedalam famili Flacourtiaceae. Secara umum famili ini banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai tanaman penghasil buah, selai, jus, sirup, jeli, saus, manisan, dan sebagai obat tradisional (Sasi *et al.*, 2018). Buah rukam berasal dari Bangladesh, Cina, Himalaya Timur, Hainan, Myanmar, dan Nepal (Sasi *et al.*, 2018). Kemudian tanaman rukam dari asalnya, disebarkan ke beberapa daerah di Indonesia seperti Kalimantan Timur (Karmilasanti & Supartini, 2011), Bali (Martini *et al.*, 2015), Sumatera Barat (Putri, 2017), dan Lombok khususnya di Desa Aik Bukak dan Teratak (Kecamatan Batukliang Utara) (Sari & Kuswanto, 2019).

Secara empiris buah rukam (*Flacourtia rukam*) yang belum matang digunakan sebagai obat antidiare, disentri dan antioksidan (Fadiyah *et al.*, 2020). Antioksidan dapat melawan radikal bebas yang terdapat dalam tubuh, yang didapat dari hasil metabolisme tubuh, polusi udara, cemaran makanan, sinar matahari, dan sebagainya (Werdhasari, 2014). Berdasarkan hasil studi literatur, ekstrak buah rukam (*Flacourtia rukam*) mengandung senyawa flavonoid, fenol, tannin, terpenoid dan saponin (Dutta & Borah, 2017). Ekstrak buah rukam (*Flacourtia rukam*) memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat dengan pelarut etanol di peroleh IC_{50} sebesar $47,7022 \mu\text{g/mL}$ sedangkan pelarut aseton diperoleh IC_{50} sebesar $33,1702 \mu\text{g/mL}$ yang diuji menggunakan metode DPPH (Fadiyah *et al.*, 2020). Berdasarkan penelitian oleh Muharni *et al.*, (2019) ekstrak etil asetat kulit batang (*Flacourtia rukam*) di peroleh IC_{50} sebesar $183,92 \mu\text{g/mL}$ yang tergolong antioksidan lemah. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Mahanisa (2020) pada daun rukam (*Flacourtia rukam*) dengan fraksi etil asetat dilaporkan terdapat senyawa metabolik sekunder yaitu flavonoid apigenin. Dilaporkan bahwa fraksi etil asetat daun rukam (*Flacourtia rukam*) mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi IC_{50} $277,45 \mu\text{g/mL}$ dibandingkan fraksi metanol dengan IC_{50} $390,74 \mu\text{g/mL}$ dan fraksi *n*-heksana dengan IC_{50} $510,02 \mu\text{g/mL}$. Apigenin mempunyai potensi sebagai senyawa antikanker, antiinflamasi dan antioksidan (Wibawa *et al.*, 2020). Aktivitas antioksidan

berkorelasi langsung dengan kandungan flavonoid pada tanaman, karena mengandung gugus hidroksil yang terikat pada karbon cincin aromatik sehingga dapat menangkap radikal bebas (Hartanti *et al.*, 2021). Ekstrak etanol buah rukam memiliki aktivitas antitumor, antiinflamasi, antivirus, dan antioksidan (Ragasa *et al.*, 2015). Berbagai aktivitas biologis tersebut disebabkan oleh aktivitas metabolit sekunder yaitu flavonoid (Panche *et al.*, 2016). Hal tersebut menjadi alasan pentingnya dilakukan penetapan kadar flavonoid total pada sampel.

Hasil dari rendemen ekstrak menunjukkan bahwa kepolaran senyawa aktif dalam buah rukam mempunyai kepolaran yang hampir sama dengan kepolaran pelarut etanol (Fadiyah *et al.*, 2020). Semakin mirip kepolaran pelarut dengan kepolaran zat yang terkandung dalam bahan yang diekstraksi maka akan semakin banyak komponen zat yang dapat diekstraksi sehingga dapat terjadi peningkatan rendemen yang diperoleh (Prayoga *et al.*, 2019). Pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% karena menurut Amini *et al.*, (2019) bahwa penggunaan etanol 96% mempunyai polaritas yang tinggi sehingga dapat mengekstrak bahan lebih banyak dibandingkan dengan etanol konsentrasi rendah. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Solikah *et al.*, (2023) yang membandingkan kadar flavonoid total ekstrak etanol 50%, 70%, 80% dan 96% pada pegagan (*Centella asiatica*) bahwa kadar flavonoid total yang dihasilkan tertinggi pada pelarut etanol 96%. Menurut Hakim & Saputri (2020) menyatakan bahwa polaritas dari etanol dapat melarutkan senyawa flavonoid dan fenolik dari tumbuhan. Pelarut etanol memiliki dua sisi yang terdiri dari gugus-OH yang bersifat polar dan gugus CH_2CH_3 yang bersifat non polar sehingga dapat mengekstrak senyawa aktif baik dari golongan polar maupun non polar (Aziz, 2014).

Pada penelitian ini dilakukan fraksinasi ekstrak dengan metode partisi cair-cair (PCC) dengan pelarut etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut yang dapat melarutkan berbagai senyawa, termasuk flavonoid (Mustarichie *et al.*, 2017). Berdasarkan penelitian oleh Ndanusa *et al.*, (2020) pada tanaman lemidi (*Stenochlaena palustris*) diperoleh kandungan flavonoid total yang paling besar pada pelarut etil asetat dibandingkan dengan pelarut etanol dan *n*-heksana. Penelitian lain yang dilakukan oleh (Rahmati *et al.*, 2020) pada daun salira (*Lantana camara* L.) melaporkan bahwa hasil kadar flavonoid total yang paling besar yaitu pada fraksi etil asetat dibandingkan dengan ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksana. Besarnya kandungan tersebut menunjukkan bahwa senyawa flavonoid yang berhasil diperoleh cenderung memiliki sifat semi polar. Fraksinasi dapat ditujukan untuk mendapatkan fraksi bagian tertentu dari suatu ekstrak, dimana bagian

itulah yang merupakan fraksi aktif, dan perlu dipisahkan dari fraksi lainnya yang kurang aktif. Tujuannya yakni dalam rangka untuk mendapatkan ekstrak yang lebih murni, sehingga perlu dihilangkan senyawa-senyawa lain yang mengotori atau mengganggu (Satria *et al.*, 2022). Analisis kuantitatif flavonoid total menggunakan spektrofotometri UV-Visibel dengan metode kolorimetri. Berdasarkan permasalahan tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan pengujian penetapan kadar flavonoid total dari ekstrak dan fraksi etil asetat buah rukam dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

METODE PENELITIAN

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah rukam (*Flacourtia rukam*), aquades, butanol, etanol 96% teknis (Merck), etanol p.a, etil asetat (Merck), HCl pekat p.a (Merck), Kloroform, n-heksana (Merck), natrium asetat (Merck), serbuk magnesium (Mg) (Merck), silika gel GF₂₅₄ (Merck), dan standar kuersetin p.a (Merck).

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, ayakan mesh 60, blender, botol timbang, corong, hotplate ([®]Labnet), kertas saring, kain mori, kuvet quartz ([®]Merck), mikropipet 100 dan 1000 μ L, blue dan yellow tip, pipet tetes, pisau, rotary evaporator (Heidolph RV 10 Basic V), rak tabung reaksi, spektrofotometer UV-Visible (Analytik Jena Specord 200), lampu UV 254 dan 366 nm (Camag), *sieve shaker*, sonikator (Elmasonic), timbangan analitik (Kern) dan TLC chamber (Camag).

PROSEDUR PENELITIAN

1. Pengambilan sampel dan determinasi

Sampel buah rukam (*Flacourtia rukam*) yang masih segar diperoleh di Desa Mantang, Kecamatan Batukliang, Kabupaten Lombok Tengah pada bulan September dengan Teknik pengumpulan *purposive sampling*. Sampel buah rukam dideterminasi di Laboratorium Biologi Lanjutan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Sebanyak 1,5 kg sampel buah rukam diambil untuk dilakukan pembuatan simplisia.

2. Pembuatan simplisia

Sampel buah rukam yang sudah terkumpul. Kemudian dilakukan sortasi basah, dicuci dengan air yang mengalir sebanyak 3 kali, ditiriskan dan dirajang. Kemudian sampel dikeringkan menggunakan kering angin. Setelah kering, dilakukan sortasi kering kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk. Kemudian sampel tersebut diayak dengan menggunakan ayakan *mesh* 35 untuk mendapatkan

bubuk halus buah rukam. Selanjutnya dikemas dan disimpan kedalam wadah kedap udara diberi silica gel.

3. Ekstraksi buah rukam

Serbuk kering buah rukam diambil sebanyak 100 g kemudian diekstrak dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Perbandingan serbuk simplisia dan pelarut yang digunakan yaitu 1:5. Sonikasi dilakukan dengan mencampurkan simplisia buah rukam dengan etanol 96% ke dalam wadah kaca. Kemudian wadah kaca ditutup dan disonikasi dalam sonikator dengan suhu 35°C selama 30 menit dengan 3 kali penggantian pelarut. Hasil ekstraksi kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C dengan kecepatan 50 rpm. Proses pengentalan dilanjutkan dengan menggunakan waterbath 40°C (Januarti *et al.*, 2017). Kemudian ekstrak kental yang diperoleh ditimbang untuk mengetahui persen rendemennya (Dewatisari *et al.*, 2017).

4. Fraksinasi ekstrak etanol 96%

Sebanyak 10 g ekstrak etanol ditimbang, dilarutkan dengan pelarut aquades 50 mL didalam gelas beaker. Kemudian dimasukkan kedalam corong pisah, ditambahkan 50 mL etil asetat. Setelah etil asetat dicampurkan kedalam larutan ekstrak, larutan tersebut dikocok. Kemudian didiamkan hingga terjadi pemisahan antara air dan etil asetat. Setelah itu, dipisahkan lapisan atas (faraksi etil asetat) ditampung dan lapisan bawah (fraksi air) ditampung. Kemudian lapisan bawah dipartisi kembali sebanyak dua kali dengan etil asetat 50 mL. faraksi etil asetat dari partisi 1, 2, dan 3 dikumpulkan. Kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* dan dikentalkan dengan waterbath hingga diperoleh fraksi kental etil asetat (Vifta & Advistasari, 2018).

5. Skrining fitokimia

a. Uji tabung

Sebanyak 10 mg ekstrak etanol buah rukam dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dengan 2 ml etanol 96%. Setelah itu ditambahkan beberapa tetes HCl pekat kemudian ditambah sedikit serbuk Magnesium. Diamati perubahan warna yang terjadi setelah 10 menit. Reaksi positif jika terjadi perubahan warna menjadi kuning yang menunjukkan bahwa positif mengandung senyawa flavonoid (Ikalinus *et al.*, 2015).

b. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisis kualitatif flavonoid dilakukan dengan metode KLT menggunakan reagen semprot AlCl_3 10%. Eluen yang digunakan yaitu kloroform : etil asetat : butanol (2 : 7 : 1) (Sopiah *et al.*, 2019), sedangkan untuk fase diam yang digunakan adalah plat KLT silika gel F_{254} (Ahmad *et al.*, 2015). Pertama-tama plat KLT silika gel GF_{254} diaktivasi dengan oven pada suhu 115°C selama 30 menit. Kemudian plat KLT diberi garis atas dan garis bawah. Setelah itu, lempeng KLT dimasukkan kedalam chamber yang telah jenuh, lalu dielus sampai tanda batas. Sebanyak 10 mg ekstrak dan fraksi dilarutkan dalam 2 ml etanol 96% kemudian ditotolkan pada fase diam dari tepi bawah lempeng KLT (Yuda *et al.*, 2017). Setelah itu lempeng KLT dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Hasil elusi diamati dengan lampu UV 254 nm dan 366 nm. Plat KLT selanjutnya disemprot dengan reagen AlCl_3 10% diamati pada sinar UV 366 nm (Islamiyati & Saputri, 2018).

6. Penetapan kadar flavonoid total

Penetapan kadar flavonoid total dari ekstrak etanol buah rukam dilakukan dengan metode kolorimetri berdasarkan metode (Candra *et al.*, 2021) yang dimodifikasi. Metode kolorimetri dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

a. Pembuatan larutan natrium asetat 1 M

Pembuatan larutan natrium asetat 1 M dengan cara, serbuk natrium asetat ditimbang sebanyak 820,3 mg. Kemudian serbuk natrium asetat yang sudah ditimbang, dilarutkan dengan aquades pada labu ukur 10 mL hingga tanda batas. Setelah itu larutan dikocok sampai homogen.

b. Pembuatan larutan AlCl_3 10%

Pembuatan larutan AlCl_3 10%, dengan cara serbuk AlCl_3 10% ditimbang sebanyak 1 gram. Kemudian serbuk AlCl_3 10% yang sudah ditimbang, dilarutkan dengan aquades pada labu ukur 10 mL sampai tanda batas. Setelah itu larutan dikocok sampai homogen.

c. Pembuatan larutan pembanding kuersetin

• Pembuatan Larutan Induk 1000 $\mu\text{g/mL}$

Larutan baku induk kuersetin 1000 $\mu\text{g/mL}$ yang dibuat dengan cara ditimbang standar kuersetin sebanyak 10 mg dengan etanol p.a menggunakan labu ukur 10 mL hingga tanda batas. Setelah itu larutan dikocok sampai homogen.

- Larutan kuersetin 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Larutan intermediet 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ yang dibuat dengan cara memipet larutan baku induk 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ sebanyak 1 mL. kemudian diencerkan dengan etanol p.a pada labu ukur 10 mL sampai tanda batas. Setelah itu larutan dikocok sampai homogen.

- Pembuatan Larutan Seri dengan Konsentrasi 20, 30, 40, 50, 60, dan 70 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Pembuatan larutan seri dengan berbagai konsentrasi dibuat dari larutan kuersetin 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ yang dibuat sebanyak 10 mL dengan berbagai varian konsentrasi yaitu 20, 30, 40, 50, 60, 70 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Sebanyak 0,5 mL dari masing-masing larutan seri ditambahkan dengan 0,10 mL natrium asetat 1 M dan 2,80 mL aquades. Selanjutnya, larutan diinkubasi selama *operating time* pada suhu kamar. Setelah itu, semua larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum, dan dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi kuersetin ($\mu\text{g}/\text{mL}$) dengan absorbansi. Kemudian dilakukan pengulangan uji sebanyak 3 kali.

- d. Pembuatan larutan blanko

Pembuatan larutan blanko dibuat dengan cara sebanyak 0,5 mL etanol 96% ditambahkan dengan 0,10 mL AlCl_3 10%. Kemudian ditambahkan 0,10 mL natrium asetat 1 M dan 2,80 mL aquades kelarutan etanol 96% dan AlCl_3 10%. Setelah itu, setiap pengukuranserapan dibandingkan terhadap blanko.

- e. Penentuan Panjang gelombang maksimum kuersetin

Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin dibuat dengan cara membuat larutan standar kuersetin 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, dipipet sebanyak 0,5 mL. Kemudian larutan direaksikan dengan 0,10 mL AlCl_3 10%. Ditambahkan 0,10 mL larutan natrium asetat 1 M dan 2,80 mL aquades. Setelah itu, larutan diinkubasi selama *operating time* pada suhu kamar dan diukur serapannya pada rentang panjang gelombang yaitu 400–500 nm.

- f. Penentuan *operating time*

Penentuan *operating time* dibuat dengan menggunakan larutan standar kuersetin 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, dipipet sebanyak 0,5 mL. Kemudian larutan direaksikan dengan 0,10 mL AlCl_3 10%. Setelah itu, ditambahkan 0,10 mL larutan natrium asetat 1 M dan 2,80 mL aquades. Campuran larutan tersebut diukur absorbansinya dengan interval waktu 1 jam dalam selang waktu 1 menit. Pengukuran dilakukan

pada panjang gelombang maksimum teoritis yaitu 428 nm (Puspitasari & Prayoga, 2016).

g. Pengukuran absorbansi sampel ekstrak etanol dan fraksi etil asetat

Pengukuran absorbansi sampel dibuat dengan cara, dibuat larutan uji ekstrak etanol dan fraksi etil asetat dengan melarutkan 100 mg sampel ekstrak etanol dan 30 mg fraksi etil asetat dengan etanol p.a dalam labu ukur 10 mL. Kemudian larutan uji dipipet sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan 0,10 mL AlCl_3 10%, 0,10 mL natrium asetat 1 M dan 2,80 mL aquades. Setelah itu, larutan diinkubasi selama *operating time* pada suhu kamar dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Dilakukan pengulangan uji sebanyak 3 kali.

7. Analisis data

Penetapan kadar flavonoid total diperoleh berdasarkan persamaan regresi linear $y = bx+a$ yang didapatkan dari kurva baku antara absorbansi dan konsentrasi kuersetin. Konsentrasi flavonoid didapatkan dengan (x) mensubstitusikan nilai absorbansi ekstrak dan fraksi buah rukam ke dalam y pada persamaan regresi linear yang diperoleh, sehingga nilai x dapat dihitung.

Data hasil perhitungan kadar flavonoid total dari kelompok ekstrak etanol dan fraksi etil asetat, dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS). Uji statistik terhadap perbedaan flavonoid total antara ekstrak etanol dan fraksi etil asetat buah rukam dilakukan dengan uji t (*independent samples test*). Sebelum dilakukan uji t-test dilakukan uji normalitas (*test of homogeneity of variances*) dan homogenitas (Shapiro-wilk), kemudian dilanjutkan uji t (*independent samples test*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Penumpulan dan determinasi tanaman

Pengambilan sampel yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari desa mantang, Kecamatan Batukliang, Kabupaten Lombok Tengah, Provinsi Nusa Tenggara Barat, dengan lokasi titik koordinat S 8°6302664" E 116°309975" yang dipilih sesuai dengan kriteria buah yang ditetapkan sebelumnya. Kemudian sampel dilakukan determinasi tanaman yang bertujuan untuk mengetahui dan memastikan kebenaran identitas dengan jelas dari tanaman yang diteliti serta menghindari

kesalahan dalam pengumpulan bahan utama penelitian (Diniatik, 2015). Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mataram. Hasil determinasi tanaman dengan surat keterangan identifikasi nomor 45/UN18.7/LBL/2023 membuktikan bahwa sampel yang digunakan merupakan tanaman buah rukam dengan nama ilmiah *Flacourtia rukam*

b. Simplisia buah rukam

Sampel buah rukam basah didapatkan sebanyak 1,5 kg, setelah dikeringkan selama 6 hari menjadi 0,323 kg (323 g). Sehingga presentase rendemen simplisia yang diperoleh sebesar 21,53%. Selanjutnya serbuk simplisia diukur kadar airnya menggunakan *moisture balance*. Hasil rata-rata kadar air serbuk simplisia sebesar 8,55% yang termasuk kadar air yang baik. Syarat kadar air yang baik untuk simplisia yaitu tidak lebih dari 10% (Departemen Kesehatan RI, 2017).

c. Ekstraksi buah rukam

Pembuatan ekstrak buah rukam dilakukan menggunakan metode sonikasi, yang diekstraksi sebanyak 100 gram serbuk simplisia dengan perbandingan pelarut (1:5). Kondisi optimal pada ekstraksi sonikasi yaitu pada suhu 35⁰C dengan waktu ekstraksi selama 30 menit, dan perbandingan simplisia dengan pelarut sebesar 1:5 (Januarti *et al.*, 2017). Ekstraksi cair yang sudah didapatkan kemudian diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* pada suhu 40⁰C dengan kecepatan 50 rpm. Suhu 40⁰C digunakan agar senyawa metabolit tidak rusak karena pemanasan yang tinggi (Sari *et al.*, 2017). Hasil akhir dari proses ini adalah ekstrak etanol kental buah rukam dengan bobot 37 gram, dengan persentase rendemen sebesar 37,15%. Rendemen dikatakan baik jika nilainya melebihi 10%, maka rendemen ekstrak etanol buah rukam yang didapatkan pada penelitian ini dinyatakan baik. Hal ini dikarenakan hasil rendemen >10% (Esati *et al.*, 2022).

Persentase rendemen pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Fadiyah *et al.*, (2019), yang melakukan ekstraksi buah rukam dengan pelarut etanol dengan perbandingan simplisia:pelarut (1:10) yang menggunakan metode maserasi, dilaporkan bahwa rendemen ekstrak sebesar 28,6% dan pelarut aseton sebesar 19,1%. Persentase rendemen ekstrak yang diperoleh dipengaruhi oleh metode ekstraksi, perbandingan simplisia dengan pelarut dan pelarut yang digunakan (Kusuma & Aprileili, 2022). Selanjutnya ekstrak etanol buah rukam diukur kadar airnya. Hasil yang diperoleh sebesar 0,96% yang termasuk

ke dalam kadar air yang baik. Kadar air dalam sediaan obat tradisional termasuk ekstrak tidak boleh melebihi batas 10 % (Departemen Kesehatan RI, 2008).

d. Fraksinasi ekstrak etanol buah rukam

Pembuatan fraksi buah rukam dilakukan dengan metode partisi cair-cair dengan menggunakan pelarut etil asetat. Campuran pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah air yang bersifat polar dan etil asetat yang bersifat semi polar. Fraksi etil asetat yang diperoleh sebesar 3,25 gram dengan persentase rendemen fraksi etil asetat yang diperoleh pada penelitian ini sebesar 32,5%.

e. Skrining fitokimia flavonoid

- Uji tabung

Uji flavonoid dilakukan dengan menggunakan metode wilstater. Dilakukan penambahan HCl pekat dan serbuk magnesium. Tujuan penambahan HCl dan logam Mg yaitu untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium berwarna merah (Ritna *et al.*, 2016).

Tabel 1. Hasil uji tabung

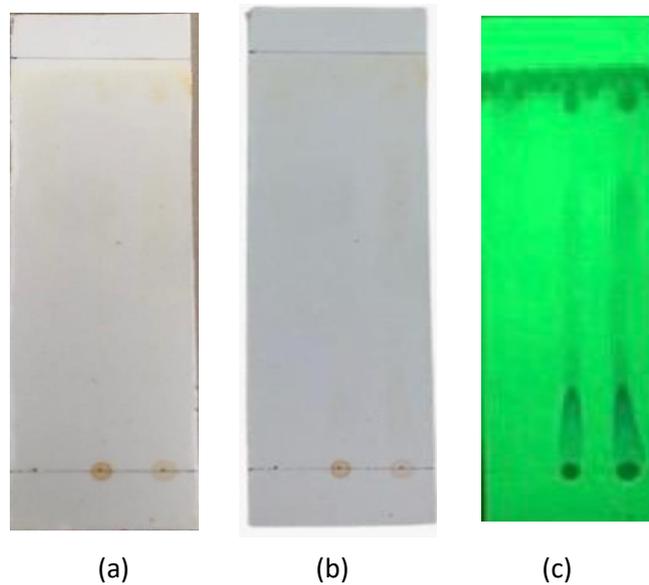
Sampel	Reagen	Dokumentasi		Interpretasi hasil
		Sebelum	Sesudah penambahan reagen	
Fraksi etil asetat buah rukam	HCl pekat + Serbuk Magnesium			(+): Merah muda
Ekstrak etanol	HCl pekat + Serbuk Magnesium			(+): Merah muda

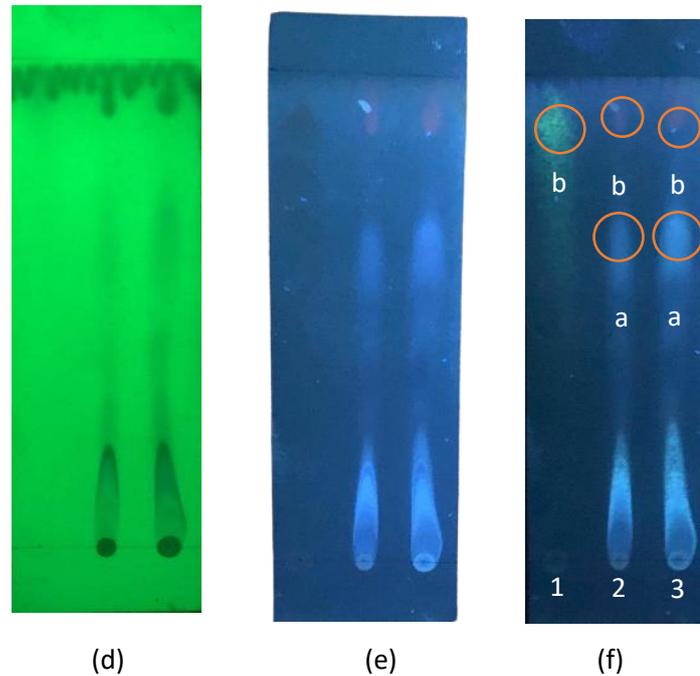
Keterangan: (+) = Teridentifikasi

Uji flavonoid fraksi etil asetat menunjukkan bahwa sampel positif mengandung flavonoid. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Nur *et al.*, (2019), bahwa terbentuknya warna merah menunjukkan adanya flavonoid golongan flavonol dan flavanon. Penelitian lain yang dilakukan oleh Simaremare, (2014), melaporkan bahwa sampel mengandung flavonoid bila larutan akan mengalami perubahan warna dari warna awal hijau muda menjadi warna merah.

- Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis (KLT) terhadap sampel uji yaitu fraksi etil asetat dari ekstrak etanol buah rukam dilakukan untuk mempertegas hasil yang didapatkan dari uji tabung. Hasil elusi standar kuersetin, ekstrak etanol, dan fraksi etil asetat dapat dilihat pada **Gambar 1**.



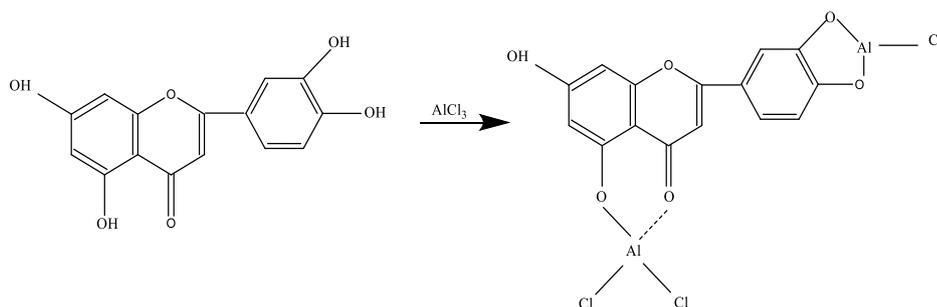


Gambar 1. Hasil uji flavonoid. Profil KLT dari standar kuersetin (1), ekstrak etanol (2) dan fraksi etil asetat (3), pada uji senyawa flavonoid dengan fase gerak kloroform: etil asetat: butanol (2:7:1 v/v) dengan pengamatan pada sinar tampak sebelum disemprot AlCl_3 10% (a), sinar tampak setelah disemprot AlCl_3 10% (b), sinar UV 254 nm sebelum disemprot AlCl_3 10% (c), sinar UV 254 nm setelah disemprot AlCl_3 10% (d), sinar UV 366 nm sebelum disemprot AlCl_3 10% (e), sinar UV 366 nm setelah disemprot AlCl_3 10% (f).

Identifikasi KLT dilakukan dengan menggunakan fase diam plat silika gel GF_{254} dan fase gerak yang digunakan yaitu kloroform : etil asetat : butanol (2:7:1 v/v) yang telah dioptimasi sebelumnya. Optimasi fase gerak dilakukan sebanyak 8 kali menggunakan eluen *n*-heksana : etil asetat (8:2 v/v), etil asetat : *n*-heksana (2:8 v/v), metanol : kloroform (8:2 v/v), kloroform : etil asetat : butanol (5:4:1 v/v), kloroform : etil asetat : butanol (5:3,5:0,5 v/v), kloroform : etil asetat : butanol (3:5,5:0,5 v/v), kloroform : etil asetat : butanol (2:6,5:0,5 v/v), dan kloroform : etil asetat : butanol (2:7:1 v/v). Hasil optimasi eluen didapatkan pemisahan paling baik dengan eluen kloroform : etil asetat : butanol (2:7:1 v/v). Sebelum penotolan

sampel dilakukan aktivasi plat KLT dengan dioven terlebih dahulu selama 30 menit pada suhu 115⁰C untuk menghilangkan kandungan air pada plat (Mahdalena *et al.*, 2022). Penjenuhan *chamber* bertujuan untuk menyeimbangkan tekanan uap fase gerak yang digunakan agar pemisahan berlangsung lancar (Dewi *et al.*, 2018). Kemudian cara untuk mengetahui bahwa *chamber* sudah jenuh yaitu kertas saring dipotong memanjang kemudian dimasukkan ke dalam *chamber* hingga menjulur keluar lalu *chamber* ditutup. *Chamber* dikatakan jenuh bila cairan pengelusi telah mencapai ujung dari kertas saring (Usman & Muin, 2023). Plat KLT yang sudah diaktivasi diberi garis batas atas dan batas bawah masing-masing 1 cm untuk mempermudah penotolan dan mengetahui jarak pelarut yang ditempuh, sehingga mempermudah dalam perhitungan nilai Rf (Mahdalena *et al.*, 2022).

Pada identifikasi KLT yang diamati dibawah sinar UV 366 nm dapat dilihat bahwa pada ekstrak dan fraksi etil asetat dari ekstrak buah rukam yaitu memiliki 2 bercak yang berpendar yakni berwarna biru dan merah setelah disemprot menggunakan AlCl₃ 10% yang menandakan mengandung senyawa flavonoid (Sopiah *et al.*, 2019). Penelitian lain yang dilakukan oleh Hadi *et al.*, (2023), melaporkan bahwa bercak yang berwarna merah muda atau merah jambu setelah dilakukan penyemprotan AlCl₃ merupakan senyawa flavonoid. Kuersetin digunakan sebagai standar karena merupakan salah satu flavonoid dari golongan flavonol yang mempunyai gugus keton pada C-4 dan memiliki gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang berdekatan dengan flavon dan flavonol sehingga dapat membentuk kompleks yang stabil berwarna kuning dengan AlCl₃ (Guntarti *et al.*, 2017). Pada standar kuersetin bercak berpendar berwarna kuning setelah disemprot menggunakan AlCl₃ 10%. Hal ini terjadi karena adanya pembentukan yang kompleks dengan AlCl₃ (Ni'ma & Lindawati, 2022). Reaksi pembentukan kompleks Flavonoid dengan AlCl₃ dapat dilihat pada **Gambar 2**.



Gambar 2 Reaksi pembentukan kompleks flavonoid dengan AlCl_3 (Ni'ma & Lindawati, 2022)

Menurut Hanani, (2015) bahwa flavonoid pada sinar UV 366 nm, terlihat fluoresensi warna kuning, biru atau hijau. Sehingga pada penelitian ini terbukti bahwa sampel mengandung senyawa flavonoid. Noda pemisahan yang terbentuk pada fase gerak yang digunakan menunjukkan tailing, dimana kuersetin akan terikat pada fase diam dikarenakan kuersetin dan fase diam GF_{254} sama-sama memiliki sifat polar. Menurut Sherma dan Fried, (2003) menyatakan bahwa parameter penyebab tailing yaitu kelebihan volume sampel saat diaplikasikan pada pelat KLT, keaktifan pelat KLT, posisi plat KLT kurang tepat, jarak pengembang, dan kejenuhan chamber. Bukan hanya perlakuan pada plat, seperti pengaktifan, dapat mengubah nilai Rf, melainkan juga adsorben, seperti misalnya silika gel dengan kualitas yang bervariasi dari setiap perusahaan. Karakteristik utama dari adsorben yang perlu untuk dibandingkan adalah ukuran partikel, volume pori, diameter pori dan bagian permukaannya (Rosamah, 2019). Hasil nilai Rf masing-masing bercak dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Nilai Rf yang dihasilkan pada bercak 1 pada ekstrak etanol 96% dan fraksi etil asetat memenuhi rentang Rf yang baik, dimana nilai Rf yang baik berkisar antara 0,2–0,8 (Sopiah *et al.*, 2019). Hasil yang didapat pada identifikasi KLT menghasilkan nilai Rf sebesar 0,65 pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat, serta nilai Rf kuersetin sebesar 0,92 sebagai pembanding. Hal ini menandakan bahwa ekstrak etanol dan fraksi etil asetat meskipun ada pergeseran nilai Rf masih mengandung senyawa flavonoid.

Tabel 1 Nilai Rf hasil elusi dengan fase gerak kloroform : etil asetat : butanol (2:7:1)

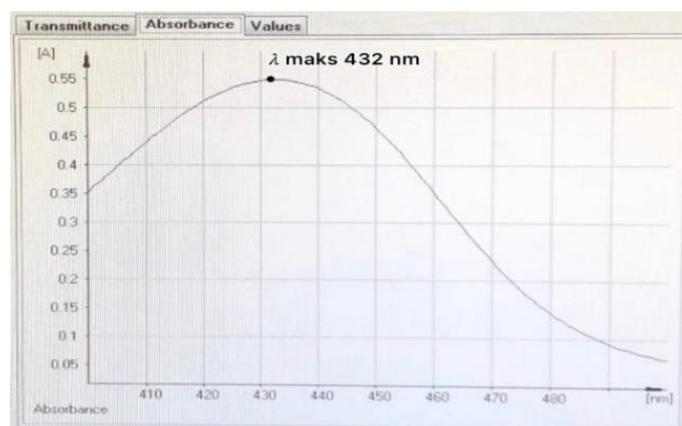
Sampel	Nilai Rf	Sesudah dielusi	Sesudah disemprot AlCl_3 10%		
			Visual	UV 254 nm	UV 366 nm
Standar kuersetin	0,92 Bercak (a)	Kuning	Kuning	Kuning	Kuning
Ekstrak etanol	0,65 Bercak (a) dan 0,93 Bercak (b)	Kuning	Kuning	Biru dan merah	Biru dan merah
Fraksi etil asetat	0,65 Bercak	Kuning	Kuning	Biru dan	Biru dan

(a) dan 0,92 bercak (b)	merah	merah
----------------------------	-------	-------

f. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak dan fraksi etil asetat buah rukam

Penetapan kadar flavonoid buah rukam dilakukan dengan metode kolorimetri yang memiliki prinsip pembentukan kompleks antara gugus keton (atom C-4) dan gugus hidroksi (atom C-3 atau C-5) yang bertetangga dari flavon dan flavonol dengan pereaksi $AlCl_3$ (Chang *et al.*, 2002). Hasil perhitungan kadar flavonoid total ekstrak buah rukam dalam tumbuhan dinyatakan dalam QE (*Quercetin equivalent*) yaitu jumlah kesetaraan milligram kuersetin dalam 1 gram ekstrak. Penetapan kadar flavonoid total dilakukan dengan menentukan beberapa parameter seperti panjang gelombang maksimum, *operating time*, pembuatan kurva baku, pengukuran absorbansi sampel dan pengukuran kadar flavonoid total dalam sampel.

Panjang gelombang maksimum yang didapatkan pada penelitian ini sebesar 432 nm (**Gambar 3.**). Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum tersebut sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Winata *et al.*, (2023), Widyasari *et al.*, (2020), Hidayati *et al.*, (2022), Kartikasari *et al.*, (2018), dan Siswarni *et al.*, (2017). *Operating time* yang didapat pada penelitian ini yaitu selama 36 menit. Hasil yang diperoleh sesuai dengan penelitian Saputri & Sa'ad, (2023) dan Maskura *et al.*, (2023) yang mendapatkan hasil *Operating time* selama 36 menit.

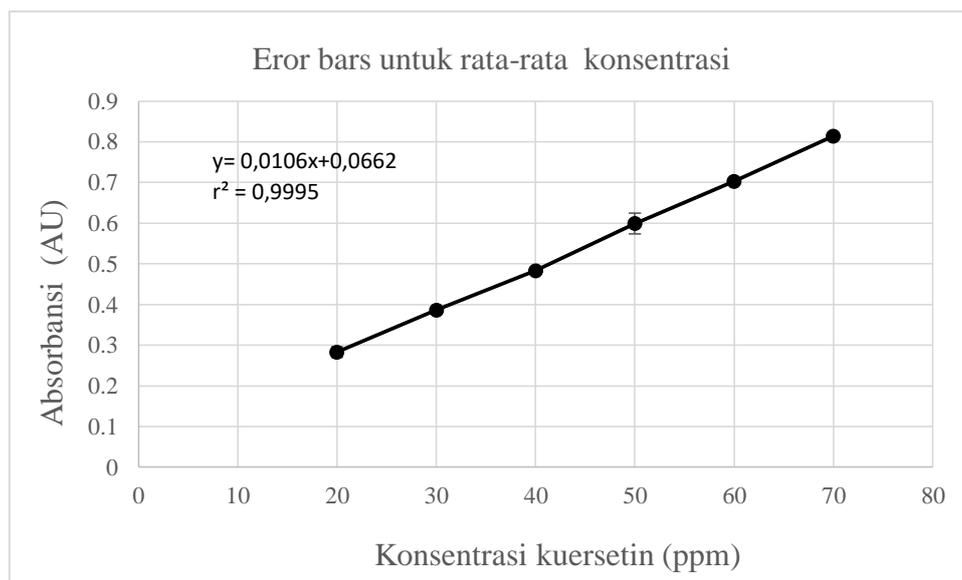


Gambar 3. Panjang gelombang maksimum kuersetin

Berdasarkan **Tabel 3.** dan **Gambar 4.** diperoleh nilai r yang mendekati 1, yang menunjukkan bahwa kurva kalibrasi linier terdapat hubungan yang kuat antara konsentrasi larutan kuersetin dengan nilai absorbansi (Wulandari *et al.*, 2022).

Tabel 2. Hasil pengukuran absorbansi kurva baku kuersetin

Rep	Absorbansi						Persamaan Regresi
	20 $\mu\text{g/mL}$	30 $\mu\text{g/mL}$	40 $\mu\text{g/mL}$	50 $\mu\text{g/mL}$	60 $\mu\text{g/mL}$	70 $\mu\text{g/mL}$	
1	0,2774	0,3674	0,4839	0,5939	0,7149	0,8293	$y = 0,0112x + 0,0415$ $r = 0,9991$
2	0,2982	0,4146	0,5112	0,6320	0,7151	0,8169	$y = 0,0103x + 0,0998$ $r = 0,9989$
3	0,2734	0,3766	0,4556	0,5727	0,6808	0,7968	$y = 0,0104x + 0,0571$ $r = 0,9984$



Gambar 4. Kurva baku kuersetin

Setelah didapatkan kurva baku kemudian dilakukan pengukuran serapan sampel dan pengukuran kadar flavonoid total dalam sampel. Penetapan kadar flavonoid total sampel dilakukan dengan menginkubasi sampel pada waktu *operating time* dan pengukuran absorbansi sampel pada panjang gelombang maksimum. Pengukuran

kadar flavonoid total dilakukan dengan tiga kali replikasi. Nilai absorbansi sampel (y) yang diperoleh selanjutnya dimasukkan ke persamaan regresi linier kurva baku kuersetin. Konsentrasi flavonoid dalam sampel (nilai x) selanjutnya digunakan untuk menghitung kadar flavonoid total. Perhitungan kadar flavonoid total dilakukan dengan menggunakan rumus perhitungan flavonoid total. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada **Tabel 5**.

Tabel 5. Hasil penetapan kadar flavonoid total (kuersetin) ekstrak etanol dan fraksi etil asetat

Sampel	Rep	Berat ekstrak (gram)	Absorbansi	Kadar Flavonoid Total (mg QE/g)	Rerata Kadar Flavonoid Total (mg QE/g)	SD (mg QE/g ekstrak)
Ekstrak etanol	1	0,10	0,4681	3,80	4,41	0,72
	2		0,5349	4,22		
	3		0,5994	5,21		
Fraksi etil asetat	1	0,03	0,4057	10,83	11,07	0,21
	2		0,4452	11,16		
	3		0,4084	11,23		

Berdasarkan **Tabel 5**, dapat dilihat rata-rata kadar flavonoid total dari ekstrak etanol dan fraksi etil asetat buah rukam berturut-turut sebesar $4,41 \pm 0,72$ mg QE/g; $11,07 \pm 0,21$ mg QE/g. Kadar flavonoid total pada fraksi etil asetat lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol. Etil asetat bersifat semipolar, sehingga dapat menarik flavonoid polar dan non polar. Hal ini disebabkan adanya beberapa senyawa flavonoid bebas seperti flavon, flavanon dan flavonol pada buah rukam lebih mudah larut dalam pelarut semi polar (Markham, 1998). Pada proses fraksinasi dengan pelarut etil asetat akan mengurangi jumlah senyawa lain seperti alkaloid dan menarik lebih banyak flavonoid (Devi *et al.*, 2022). Menurut Harborne, (1998) menyatakan bahwa flavonoid yang terlarut pada etil asetat merupakan flavonol dalam bentuk aglikon, o-glikosida, dan aglikon polihidroksi. Flavonoid yang dapat bereaksi dengan $AlCl_3$ merupakan flavonoid terhidrolisis semi polar (Manik *et al.*, 2014). Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Maqfirah *et al.*, (2021), bahwa kadar

flavonoid total tertinggi pada daun kakao (*Theobroma cacao L.*) terdapat dalam fraksi etil asetat, dengan nilai sebesar $45,274 \pm 0,0629$ mg QE/g, diikuti oleh ekstrak etanol dengan nilai sekitar $39,142 \pm 0,0540$ mg QE/g, dan fraksi *n*-heksana dengan nilai sekitar $21,481 \pm 0,7048$ mg QE/g. Hal serupa juga ditemukan dalam penelitian yang dilakukan oleh Wulandari *et al.*, (2022) bahwa kadar flavonoid total tertinggi pada daun kapuk randu (*Ceiba pentandra (L.) Gaertn*) juga ditemukan pada fraksi etil asetat, yaitu sebesar 51,833 mg QE/g atau 5,1833%, kemudian pada ekstrak etanol sebesar 31,663 mg QE/g atau 3,1667%, dan pada fraksi *n*-heksana sebesar 5,167 mg QE/g atau 0,5167%.

Berdasarkan kadar flavonoid total yang didapatkan pada penelitian ini berbeda dengan sebelumnya yang dilakukan oleh Barcelo, (2015). Penelitian ini menentukan kadar flavonoid total ekstrak metanol buah rukam (*Flacourtia rukam*) sebesar 11,19 mg QE/100g, sedangkan pada penelitian ini dengan berat ekstrak etanol 0,10 gram sebesar 4,41 mg QE/g dan berat fraksi etil asetat 0,03 gram 11,07 mg QE/g. Perbedaan kadar flavonoid total pada kedua penelitian tersebut dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain yakni perbedaan pelarut, metode ekstraksi, dan lokasi tumbuhnya sampel. Penelitian yang dilakukan oleh Barcelo, (2015) mengekstraksi buah rukam (*Flacourtia rukam*) dengan pelarut metanol 80%, sedangkan pada penelitian ini buah rukam (*Flacourtia rukam*) diekstraksi dengan pelarut etanol 96%. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Amini *et al.*, (2019) terkait pengaruh perbedaan pelarut ekstraksi etanol kulit buah alpukat (*Persea americana Mill.*) melaporkan bahwa penggunaan etanol 96% mempunyai polaritas yang tinggi sehingga dapat mengekstrak bahan lebih banyak dibandingkan dengan etanol konsentrasi rendah. Hal ini sejalan juga dengan penelitian yang dilakukan oleh Pujiastuti & El'Zeba, (2021) terkait perbandingan kadar flavonoid total ekstrak etanol 96% dan 70% kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) yaitu nilai kadar flavonoid total berturut-turut sebesar $88,695 \pm 0,0922$ mg QE/g ekstrak ($8,87 \pm 0,01$ %) dan $108,184 \pm 0,0224$ mg QE/g ekstrak ($10,82 \pm 0,02$ %). Faktor lainnya yang dapat menyebabkan perbedaan kadar flavonoid total pada penelitian ini dengan penelitian sebelumnya yaitu lokasi tumbuh sampel. Buah rukam pada penelitian ini diperoleh dari Desa Mantang, Kabupaten Lombok Tengah, Provinsi Nusa Tenggara Barat, Indonesia, sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Barcelo, (2015) buah rukam (*Flacourtia rukam*) dikumpulkan di daerah Barangay, Filipina. Perbedaan lokasi tumbuh mempengaruhi produksi metabolit sekunder pada tumbuhan. Faktor

yang mempengaruhi produksi metabolit sekunder yang termasuk faktor lingkungan adalah suhu lingkungan, suhu lingkungan yang tinggi dipengaruhi juga oleh CO₂ yang terdapat di lingkungan. Pada suhu lingkungan yang tinggi akan menekan tumbuhan untuk memproduksi metabolit sekunder untuk melawan radikal bebas yang ada di lingkungan. Suhu yang lebih panas akan menghasilkan kadar flavonoid yang lebih tinggi (Utomo *et al.*, 2020).

Uji statistik yang dilakukan terhadap kadar flavonoid total buah rukam adalah uji beda, homogenitas, dan normalitas menggunakan *Software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS). Hasil uji normalitas diperoleh data yang normal dan uji homogenitas (*shapiro-wilk*) diperoleh data yang homogen karena nilai signifikan <0,05. Selanjutnya data kadar flavonoid total yang normal dan homogen, kemudian dilakukan uji beda dengan uji t (*independent samples test*) diketahui nilai signifikan adalah 0,000 pada ekstrak etanol dan 0,002 pada fraksi etil asetat. Nilai signifikan tersebut lebih kecil daripada 0,05. Sehingga dapat disimpulkan bahwa data kadar flavonoid total berbeda bermakna antara ekstrak etanol dan fraksi etil asetat. Adapun keterbatasan pada penelitian ini adalah metode kolorimetri yang digunakan yaitu reaksi aluminium klorida hanya spesifik untuk menentukan flavonoid golongan flavon dan flavonol (Chang *et al.*, 2002). Kemudian metode kolorimetri yang menggunakan reaksi DNP (*2,4-dinitrophenylhydrazine*) hanya spesifik untuk golongan flavanon (Wulandari *et al.*, 2017).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Fraksi etil asetat buah rukam (*Flacourtia rukam*) mengandung senyawa flavonoid berdasarkan uji tabung dengan warna merah muda dan uji Kromatografi Lapis Tipis dengan bercak berwarna merah dan biru
2. Kadar flavonoid total pada fraksi etil asetat lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol 96% yaitu berturut-turut sebesar $11,07 \pm 0,21$; $4,41 \pm 0,72$ mg QE/g, dengan nilai signifikan adalah 0,002 pada fraksi etil asetat dan 0,000 pada ekstrak etanol lebih kecil daripada 0,05. Sehingga hasil kadar flavonoid total berbeda bermakna antara fraksi etil asetat dan ekstrak etanol.

DAFTAR PUSTAKA

- Azis, T., Febrizky, S., Mario, A.D. (2014). *Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Persen Yield alkaloid dari Daun Salam India (Murraya koenighi)*. Palembang: Universitas Sriwijaya.
- Barcelo, R. (2015). Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Edible Wild Fruits in Benguet, Cordillera Administrative Region, Philippines. *Electronic Journal of Biology*, 11(3), 80–89.
- 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>
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation Of Total Flavonoid Content In Propolis By Two Complementary Colometric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178–182. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi Kedua*. Jakarta: Ditjen POM RI.
- Dewatisari, W. F., Rumiyan, L., & Rakhmawati, I. (2017). Rendemen Dan Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Daun (*Sansevieria* sp). *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 17(3), 197–202. <https://doi.org/10.25181/jppt.v17i3.336>
- Diniatik. (2015). Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* (BI.) Hook f. & Th.) Dengan Metode Spektrofotometri. Kartika. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 3(1), 1–5. <https://doi.org/10.36760/jp.v3i1.269>
- Dutta, B., & Borah, N. (2017). Studies On Nutraceutical Properties Of Flacourtia Jangomas Fruits in Assam , India. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 5(1), 50–53.

- Esati, N. K., Jawa La, E. O., & Lestari, G. A. D. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Rosemary (*Rosemarinus officinalis* L.) Dengan Metode DPPH Dan FRAP Serta Pengaplikasiannya Sebagai Zat Aktif Dalam Losion. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 4(4), 363–369. <https://doi.org/10.25026/jsk.v4i4.1129>
- Fadiyah, I., Lestari, I., & Mahardika, R. G. (2020). Kapasitas Antioksidan Ekstrak Buah Rukam (*Flacourtia rukam*) Menggunakan Metode Microwave Assisted Extraction (MAE). *Indo. J. Chem. Res.*, 7(2), 107–113. <https://doi.org/10.30598/ijcr.2020.7>
- Fadiyah, I., Lestari, I., Victory, S., & Mahardika, R. G. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Rukam (*Flacourtia rukam*) Menggunakan Metode Maserasi. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian Dan Pengabdian Pada Masyarakat*, 1(1), 65–68.
- Variation on the Total Flavonoid Level of Ethanol Extract of Mangosteen (*Garcinia mangostana*) Peels. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Indonesia*, 8(2), 136–143. <https://doi.org/10.20885/jkki.vol8.iss2.art9>
- Hadi, S., Subekti, A., & Khairunnisa, A. (2023). Uji Antioksidan Dan Penetapan Flavonoid Tuber Pakis Kinca (*Nephrolepis cordifolia* (L) C. Presl). *Indonesian Journal of Chemical Analysis*, 6(1), 1–9. <https://doi.org/10.20885/ijca.vol6.iss1.art1>
- Hakim, A. R., & Saputri, R. (2020). Narrative Review: Optimasi Etanol sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid dan Fenolik. *Jurnal Surya Medika*, 6(1), 177–180. <https://doi.org/10.33084/jsm.v6i1.1641>
- Hanani, E., 2015. *Analisis Fitokimia*. Jakarta: EGC.
- Hartanti, A. I., Dewa, I., Mayun Permana, G., Kadek, G. A., & Puspawati, D. (2021). Itepa: Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan, Pengaruh Konsentrasi Etanol Pada Metode Ultrasonikasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Gonda (*Sphenoclea zeylanica*) Effect Of Ethanol Concentration In Ultrasonication Method On Antioxidant Activity Of Go. *Itepa (Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan)*, 10(2), 163–171.
- Hidayati, S., Oktavianti, F., Susanti, D. A., & Aini, Q. (2022). Aktivitas Antiinflamasi In Vitro Dan In Vivo Ekstrak Etanol Daun Mangga Arumanis (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 4(5), 488–494. <https://doi.org/10.25026/jsk.v4i5.1195>
- Hikmawanti, N. P. E., Fatmawati, S., Arifin, Z., & . V. (2021). Pengaruh Variasi Metode Ekstraksi Terhadap Perolehan Senyawa Antioksidan Pada Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr). *Jurnal Farmasi Udayana*, 10(1), 1–12. <https://doi.org/10.24843/jfu.2021.v10.i01.p01>
- Ikalinus, R., Widyastuti, S. K., Luh, N., Setiasih, E., Program, M., Dokter, P., Penyakit, L., Veteriner, D., Veteriner, L. H., Hewan, F. K., & Udayana, U. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71–79.
- Islamiyati, R., & Saputri, I. N. (2018). Uji Perbedaan Aktivitas Antioksidan Dengan Variasi Konsentrasi Pelarut Etanol 70% Dan 96% Pada Ekstrak Etanol Daun

- Salam Menggunakan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 2(2), 134–187.
- Januarti, B. I., Santoso, A., & Razak, A. S. (2017). Ekstraksi Senyawa Flavonoid Daun Jati (*Tectona grandis* L.) Dengan Metode Ultrasonik (Kajian Rasio Bahan:Pelarut Dan Lama Ekstraksi). *Media Farmasi Indonesia*, 12(2), 1259–1266.
- Karmilasanti, & Supartini. (2011). Keanekaragaman Jenis Tumbuhan Obat Dan Pemanfaatannya Di Kawasan Tane' Olen Desa Setulang Malinau, Kalimantan Timur. *Jurnal Penelitian Dipterokarpa*, 5(1), 23–38. <https://doi.org/10.20886/jped.2011.5.1.23-38>
- Kartikasari, D., Ropiqa, M., & Oktavianti, N. D. (2018). Pengaruh Perbandingan Konsentrasi Pelarut Terhadap Kadar Flavonoid Total Pada Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 1(2), 218–226.
- Mahanisa, A. S. (2020). SKRIPSI. Flavonoid Apigenin dari Ekstrak Daun Tumbuhan Rukam (*Flacourtia rukam*) Serta Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri. Kimia, MIPA, Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan, Indonesia.
- Mahdalena, Hakim, R. A., & Darsono, dan P. V. (2022). Penetapan Kadar Flavonoid Total Fraksi N-Butanol Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis Terhadap Ekstrak Daun Sukun. *Sains Medisina*, 1(1), 1–8.
- 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.
- Maqfirah, Z., Nasution, M. A., Nasution, M. P., & Nasution, H. munandar. (2021). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol, Fraksi Etil Asetat Dan N-Heksan Pada Daun Kakao (*Theobroma cacao* L.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Journal Of Pharmaceutical And Sciences*, 5(1), 1534–1543. <https://www.journal-jps.com>
- Martini, N. L., Dwiyani, R., & Pradnyawathi, N. L. M. (2015). Identifikasi Dan Karakterisasi Sumber Daya Genetik Buah-buahan di Kabupaten Buleleng. Agrotrop: *Journal on Agriculture Science*, 5(2), 179–186. <https://doi.org/10.24843/ajoas.2018.v08.i02.p04>
- Maskura, N., Hakim, A. R., & Rizali, M. (2023). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth) Berdasarkan Perbedaan Konsentrasi Etanol. *Jurnal Farmasi Syifa*, 1(1), 13–16.
- Mustarichie, R., Runadi, D., & Ramdhani, D. (2017). The antioxidant activity and phytochemical screening of ethanol extract, fractions of water, ethyl acetate, and n-hexane from mistletoe tea (*Scurrula atropurpurea* BL. dans). *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(2), 343–347. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2016.v10i2.15724>
- Ni'ma, A., & Lindawati, N. Y. (2022). Analisis Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Adas (*Foeniculum vulgare*) Secara Spektrofotometri Visibel. *Jurnal*

- Prayoga, D. G. E., Nocianitri, K. A., & Puspawati, N. N. (2019). Antioksidan Ekstrak Kasar Daun Pepe (*Gymnema reticulatum* Br.) Pada Berbagai Jenis Pelarut. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 8(2), 111–121.
- Putri, N. E. (2017). Eksplorasi Dan Karakterisasi Buah-buah Lokal Sumatera Barat Yang Terancam Punah. *Jurnal Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*, 3(1), 117–126. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m030120>
- Ragasa, C. Y., Madeleine, J., Reyes, A., Tabin, T. J., S, M. C., Chiong, I. D., Brkljača, R., & Urban, S. (2016). *Chemical Constituents of Flacourtia rukam Zoll. & Moritzi Fruit*. January 2017.
- Rahmati, R. A., Lestari, T., & Ruswanto. (2020). Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Saliara (*Lantana camara* L.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Repository*, 1(1), 112–119. <http://karyailmiah.unisba.ac.id>
- Ritna, A., Anam, S., & Khumaidi, A. (2016). Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Fraksi Etil Asetat Benalu Batu (*Begonia* sp.) Asal Kabupaten Morowali Utara. *Galenika Journal of Pharmacy*, 2(2), 83–89.
- Rosamah, Enih. (2019). *Kromatografi Lapis Tipis: Metode Sederhana dalam Analisis Kimia Tumbuhan Berkayu*. Samarinda : Mulawarman University Press.
- Salamah, N., & Widiasari, E. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2'-Difenil-1-Pikrilhidrazil. *Pharmacy*, 5(1), 25–34.
- Sari, D. P., & Kuswanto, K. (2019). Studi Karakterisasi dan Keragaman Sifat Kualitatif Tanaman Rukam (*Flacourtia rukam* Zoll. & Mor.). *Journal of Agricultural Science*, 4(2), 167–176. <https://doi.org/10.21776/ub.jpt.2019.004.2.9>
- Sari, R., Muhani, M., & Fajriaty, I. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria microcarpa* Baill.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Proteus mirabilis* Antibacterial Activity of Ethanolic Leaves Extract of Agarwood (*Aquilaria microcarpa* Baill.) Against Staphy. *Pharm Sci Res*, 4(3), 143–154.
- Sasi, S., Anjum, N., & Tripathi, Y. C. (2018). Ethnomedicinal, Phytochemical and Pharmacological Aspects of *Flacourtia Jangomas*: a Review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 10(3), 9. <https://doi.org/10.22159/ijpps.2018v10i3.23998>
- Satria, R., Hakim, A. R., & Darsono, P. V. (2022). Penetapan Kadar Flavonoid Total Dari Fraksi n-Heksana Ekstrak Daun Gelinggang dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Journal of Engineering, Technology, and Applied Science*, 4(1), 33–46. <https://doi.org/10.36079/lamintang.jetas-0401.353>
- Sekarsari, S., Widarta, I. W.R., dan Jambe, A. A. G. N. A. (2019). Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi dengan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). 8(3), 267.

- Simaremare, E. S. (2014). Skrining Fitokimia Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Pharmacy*, 11(1), 98–107.
- 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.
- Usman, Y., & Muin, R. (2023). Uji Kualitatif Dan Perhitungan Nilai Rf Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Daun Gulma Siam. *Journal of Pharmaceutical Science and Herbal Technology*, 1(1), 10–15.
- Utomo, S. D., Elok, E. B. K., & Mahardika, A. (2020). Pengaruh Lokasi Tumbuh Terhadap Kadar Flavonoid, Fenolik, Klorofil, Karotenoid Dan Aktivitas Antioksidan Pada Tumbuhan Pecut Kuda (*Stachytarpheta Jamaicensis*). *Bioma*, 22(2), 143–149.
- Vifta, R. L., & Advistasari, Y. D. (2018). Skrining Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B.). *Prosiding Seminar Nasional Unimus*, 1, 8–14.
- Werdhasari, A. (2014). Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biomedik Medisiana Indonesia*, 3(2), 59–68.
- Wibawa, T. H. A., Widyasari, E. M., Iswahyudi, Suherman, A., Sriyani, M. E., Kurniawan, A., & Ramdhani, D. (2020). Preparasi Senyawa Anti Kanker Apigenin Bertanda Radioiodium-131 Untuk Studi Bioaktivitas. *Jurnal Sains Dan Teknologi Nuklir Indonesia Indonesian*. *Journal of Nuclear Science and Technology*, 21(1), 49–60.
- Widyasari, E. M., Sriyani, M. E., Daruwati, I., Halimah, I., & Nuraeni, W. (2019). Karakteristik Fisiko-Kimia Senyawa Bertanda ^{99m}Tc-Kuersetin. *Jurnal Sains Dan Teknologi Nuklir Indonesia*, 20(1), 9–10. <https://doi.org/10.17146/jstni.2019.1.1.4108>
- Winata, H. S., Faisal, H., Andry, M., Aulia, N., Nasution, M. A., & Tambunan, I. J. (2023). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Buah Asam Kandis (*Garcinia xanthochymus*) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis Dan LCMS. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 6(3), 935–950.
- Wulandari, H., Rohama, R., & Darsono, P. V. (2022). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Kapuk Randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn) berdasarkan Tingkatan Fraksi. *Journal Pharmaceutical Care and Sciences*, 3(1), 45–60. <https://doi.org/10.33859/jpcs.v3i1.210>
- Wulandari, S., Mulkiya, K., & Syafnir, L. (2017). Pengujian Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Delima (*Punica granatum* L.) serta Penetapan Kadar Flavonoid Total. *Pharmacy*, 3(2), 500–506.
- Yuda, P. E. S. K., Cahyaningsih, E., & Winariyanthi, N. L. P. Y. (2017). Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L. Extract). *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 3(2), 61–70.

