

Perbandingan Metode Ekstraksi terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia Calabura L.*)

Ery Nourika Alfiraza*, Lailiana Garna Nurhidayati, Arifina Fahamsya, Arum Wahyuningtias

Program Studi Farmasi S-1, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Bhamada Slawi, Tegal, Indonesia

Email: ^{1,*}erynourika@gmail.com, ²lailianagarna@gmail.com, ³arifina.fahamsya@gmail.com, ⁴arumwahyuningtias02@gmail.com

Email Penulis Korespondensi: erynourika@gmail.com

(* : coresponding author)

Abstrak—Senyawa yang terdapat pada daun kersen (*Muntingia calabura L.*) berupa senyawa flavonoid, triterpene, tannin, polifenol, dan saponin. Flavonoid merupakan senyawa antioksidan, karena terbukti mampu mereduksi radikal bebas. Untuk mengekstrak flavonoid dari daun tanaman, diperlukan optimasi metode ekstraksi yang tepat, karena penggunaan metode ekstraksi dapat memengaruhi kandungan senyawa flavonoid yang terkandung pada ekstrak. Tujuan dari penelitian ini adalah mencari perbandingan antara pengaruh pemakaian tiga teknik ekstraksi berlainan meliputi maserasi, refluks, serta sonikasi, terhadap kadar flavonoid total ekstrak etanol daun kersen. Pelarut etanol (1:10) dipilih sebagai pelarut untuk mengekstraksi daun kersen menggunakan tiga metode yakni maserasi, refluks dan sonikasi. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dikur kadar flavonoid total dengan memanfaatkan spektrofotometri UV-VIS pada panjang gelombang 431 nm, memakai pembanding larutan standar kuarsetin. Hasil dari penelitian ini adalah kandungan flavonoid total dari ekstrak etanol daun kersen yang diekstraksi menggunakan teknik maserasi, refluks dan sonikasi berturut-turut adalah $73,98 \pm 0,06$ mgQE/g; $60,55 \pm 0,05$ mgQE/g; dan $92,53 \pm 0,12$ mgQE/g. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa metode ekstraksi memengaruhi kandungan flavonoid total pada ekstrak etanol daun kersen.

Kata Kunci: Daun Kersen, Flavonoid, Ekstraksi, Maserasi, Refluks, Sonikasi

Abstract—Flavonoid compounds, triterpenes, tannins, polyphenols, and saponins can be found in cherry leaves (*Muntingia calabura L.*). Flavonoids are proven to be able to reduce free radicals, and thus can act as an antioxidant. The use of extraction methods can affect the content of flavonoid compounds contained in the extract. Thus, to extract flavonoids from plant leaves, it is necessary to optimize the right extraction method. Objective of this study was to compare the effect of using three different extraction methods, namely maceration, reflux, and sonication, on the total flavonoid content of cherry leaf ethanol extract. Cherry leaves were extracted with ethanol (1:10), using three different extraction methods, namely maceration, reflux, and sonication. The viscous extract obtained was then measured for total flavonoid content using UV-VIS spectrophotometry at 431 nm, using a standard solution of quercetin as a comparison. Total flavonoid content of ethanol extract of cherry leaf extracted by maceration, reflux, and sonication method respectively were 73.98 ± 0.06 mgQE/g; 60.55 ± 0.05 mgQE/g; and 92.53 ± 0.12 mgQE/g. Conclusion of this study was The extraction process influences the overall flavonoid concentration of cherry leaf ethanol extract.

Keywords: Muntingia Calabura Leaves, Flavonoid, Extraction, Maceration, Reflux, Sonication

1. PENDAHULUAN

Muntingia calabura L. atau yang biasa disebut kersen, sering digunakan oleh penduduk setempat sebagai tanaman obat guna mengobati beberapa penyakit, antara lain asam urat, sakit kuning, dan batuk. Bagian tanaman kersen yang belum banyak dimanfaatkan adalah daunnya, yang mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yakni flavonoid, tanin, triterpen, saponin, dan polifenol (Khusnawati, 2014). Penelitian yang dilaksanakan (Zahroh & Musriana, 2016) menyebutkan, peran daun kersen salah satunya menjadi antioksidan untuk memacu hormon insulin yang bertanggung jawab dalam memetabolisme gula. Karena kemampuannya untuk mengikat radikal bebas, fenol dan flavonoid juga memiliki aksi antioksidan. Telah dibuktikan bahwa flavonoid memiliki sifat anti-inflamasi dan dapat menghentikan efek stres oksidatif pada penyakit kardiovaskular dan neurologis.

Jumlah senyawa aktif pada tanaman obat biasanya rendah (Zhang et al., 2018). Kandungan senyawa aktif seperti flavonoid pada ekstrak dipengaruhi oleh metode ekstraksi (R. D. Utami et al., 2015). Sehingga, demi mendapatkan ekstrak yang memiliki aktivitas biologi paling tinggi pada pematuration obat herbal diperlukan optimasi metode ekstraksi (Desmiaty et al., 2019). Beberapa penelitian sudah dilaksanakan guna mengamati apakah metode ekstraksi memengaruhi rendemen maupun kandungan flavonoid dalam ekstrak. Daftar penelitian terdahulu dapat dilihat pada tabel 1. (Wijaya et al., 2018) membandingkan rendemen ekstrak daun rambai laut (*Sonneratia caseolaris L.* Engl) menggunakan berbagai teknik ekstraksi. Hasilnya, rendemen ekstrak menunjukkan hasil yang berbeda pada empat metode ekstraksi. (Candra et al., 2021) melakukan perbandingan antara teknik ekstraksi pada kadar senyawa flavonoid dan fenolik total dari ekstraksi etanol buncis (*Phaseolus vulgaris L.*), dengan kesimpulan ekstraksi dengan metode sokhletasi menghasilkan ekstrak yang flavonoid dan alkaloid di dalamnya lebih tinggi daripada metode ekstraksi lain. Hasil tersebut selaras dengan penelitian (Fadlilaturrahmah et al., 2020) dengan hasilnya memperoleh kadar flavonoid paling tinggi dalam teknik sokhletasi ($12,37 \pm 0,03\%$ b/b) dibandingkan metode maserasi maupun perkolasi, dalam ekstraksi daun kareho (*C. longifolia*).

Namun, hasil yang berbeda dilaporkan pada penelitian oleh (Damar et al., 2014) yang menyimpulkan kandungan flavonoid dalam ekstraksi etanol daun kayu kapur (*Melanolepsis multiglandulosa Reinch f*) lebih tinggi dalam ekstrak yang diekstraksi menggunakan maserasi dibandingkan dengan sokhletasi. Daun beluntas (*Pluchea indica L.*) diekstraksi oleh (Safitri et al., 2018) menggunakan empat teknik ekstraksi berlainan yang meliputi perkolasi, maserasi, sokletasi, dan refluks. Dari keempat metode tersebut, kadar flavonoid tertinggi terdapat pada ekstrak yang diperoleh dengan metode perkolasi yakni sebesar 66,75 mg/g ekstrak. Sementara itu, studi perbandingan dua teknik ekstraksi terhadap kadar fenolik

dan flavonoid yang terdapat pada daun tanaman sukun (*Artocarpus altilis fosberg*) dilakukan oleh Y. P. Utami, Taebe, and Fatmawati (2016). Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa kandungan fenolik dan flavonoid ekstrak yang diekstraksi menggunakan metode refluks lebih tinggi daripada ekstrak yang diekstraksi menggunakan metode maserasi. Merujuk pada kondisi tersebut, tiga teknik ekstraksi yang berbeda yakni maserasi, refluks, dan sonikasi digunakan dalam penelitian ini untuk meneliti mana yang menghasilkan ekstrak etanol daun kersen dengan konsentrasi total flavonoid paling tinggi.

Tabel 1. Daftar penelitian pendahulu

Peneliti	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Variabel Penelitian	Hasil Penelitian
(Wijaya et al., 2018)	Perbandingan Metode Ekstraksi terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambai Laut (<i>Sonneratia caseolaris L. Engl</i>)	Eksperimental	Metode ekstraksi: maserasi, infundasi, refluks dan sokhletasi	Metode ekstraksi berpengaruh terhadap masing- masing rendemen.
(Candra et al., 2021)	Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Kandungan Fenolik Total dan Flavonoid Total pada Ekstrak Etanol Buncis (<i>Phaseolus vulgaris L.</i>)	Eksperimental	Metode ekstraksi: maserasi, soxhletasi, reflux, dan sonikasi	Ekstraksi soxhlet menghasilkan kandungan fenolik (8,02 mg GAE/g) dan flavonoid (0,71 mg QE/g) yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode lain
(Fadlilaturrahmah et al., 2020)	Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kadar Flavonoid Daun Kareho (<i>Callicarpa Longifolia Lam</i>)	Eksperimental	Metode ekstraksi: maserasi, soxhlet dan perkolasi	Total kandungan flavonoid tertinggi diperoleh dari metode soxhlet (12,37 ± 0,03% b/b)
(Damar et al., 2014)	Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Kayu Kapur (<i>Melanolepsis multiglandulosa Reinch f</i>)	Eksperimental	Metode ekstraksi: maserasi dan sokletasi	Kandungan flavonoid tertinggi terdapat pada sampel segar ekstraksi maserasi dengan total 11,97 mg/kg
(Safitri et al., 2018)	Perbandingan Kadar Flavonoid dan Fenolik Total Ekstrak Metanol Daun Beluntas (<i>Pluchea indica L.</i>) pada Berbagai Metode Ekstraksi	Eksperimental	Metode ekstraksi: perkolasi, maserasi, soxhlet dan refluks	Hasil penelitian menunjukkan kadar flavonoid total EMDB dengan metode perkolasi, maserasi, soxhlet dan refluks berturut-turut sebesar 66,75; 51, 80 ; 47,72 dan 38,39 mg/gram ekstrak
(Y. P. Utami et al., 2016)	Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan Daun Sukun (<i>Artocarpus Altilis (Parkinson) Fosberg</i>)	Eksperimental	Metode ekstraksi: maserasi dan refluks bertingkat dengan pelarut yang berbeda kepolaran	Penetapan kadar flavonoid total terbesar dimiliki ekstrak etanol dengan metode refluks sebesar 5,05 mg kuersetin ekuivalen/g ekstrak

2. METODE PENELITIAN

2.1 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi, Prodi Farmasi S-1, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Bhamada Slawi selama bulan Juli-Agustus 2022. Langkah awal sebelum melakukan penelitian yaitu melakukan determinasi terlebih dahulu. Determinasi tanaman dilakukan bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas suatu tanaman, apakah tanaman tersebut benar-benar tanaman yang diinginkan untuk penelitian. Hal ini dilakukan untuk

menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan yang akan diteliti. Tanaman yang digunakan untuk penelitian ini dideterminasi di Laboratorium Bahan Alam Farmasi, Prodi Farmasi S-1, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Bhamada Slawi. Berdasarkan hasil determinasi, dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah spesies *Muntingia calabura L.*

2.2 Bahan dan Alat

Daun kersen (*Muntingia calabura L.*) yang menjadi bahan penelitian ini diambil dari Desa Kalisapu, Kecamatan Slawi, Kabupaten Tegal, Provinsi Jawa Tengah. Bahan lain yang digunakan adalah akuades, kertas saring whatmann, etanol, metanol, baku kuarsetin, aluminium (III) klorida, natrium asetat, aluminium foil, dan kertas wrap.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu), blender (Philips), timbangan analitik (Ohaus), ayakan 50 mesh, oven (Getra), *moisture analyzer balance* (DSH-SO-I), sonikator (Aelab), rotary evaporator (Biobase), homogenizer, bejana maserasi, desikator, krus, mikropipet (Dragon Lab), Waterbath (H-WBE-8L), seperangkat alat gelas (Pyrex).

2.3 Penyiapan Simplisia

Sejumlah 2 kg daun kersen segar dibersihkan, ditiriskan, kemudian dipanggang dalam durasi 20 jam dengan suhu 40°C. Untuk membuat simplisia yang halus, simplisia yang telah mengering dilakukan penimbangan, diserbuk, serta ditapis dengan ayakan 60 mesh (Koten & Handiwibowo, 2018). Untuk mengekstraksi serbuk simplisia daun kersen, digunakan tiga teknik ekstraksi yang berbeda yaitu maserasi, refluks, dan sonikasi dengan berat masing-masing hingga 100 g, dengan pelarut menggunakan etanol 96% dengan perbandingan 1:10.

2.4 Ekstraksi

2.4.1. Maserasi

Pada wadah kaca, etanol 96% dicampurkan dengan serbuk simplisia daun kersen selama 24 jam di suhu ruangan. Selama enam jam pertama maserasi, sampel diaduk satu kali setiap satu jam (Candra et al., 2021).

2.4.2. Refluks

Labu alas bulat diisi dengan serbuk simplisia daun kersen, kemudian diimbuhkan etanol sebanyak 96%. Campuran tersebut dilakukan pemanasan selama 3 jam di suhu 60°C (Wijaya et al., 2018).

2.4.3. Sonikasi

Wadah kaca yang berisi serbuk simplisia daun kersen dan etanol 96% ditempatkan dalam sonikator. Pada suhu 30°C, sonikasi dilakukan pada frekuensi 20 kHz. Proses ekstraksi berlangsung selama 60 menit dan dilakukan pengadukan setiap 15 menit. Prosedur tersebut diulang dua kali sebelum ditapis. Setelah itu, digunakan *rotary evaporator* dengan temperatur 60°C guna membuat ekstrak cair yang dihasilkan oleh masing-masing teknik ekstraksi menjadi menguap. Seluruh ekstrak yang dihasilkan diuji parameter spesifik, meliputi uji oragnoleptis, dan parameter nonspesifik meliputi kadar air dan kadar abu total.

2.5. Skrining Fitokimia

2.5.1 Alkaloid

Ekstrak etanol daun kersen 0,5 g ditambahkan 0,5 mL HCl 2%. Lapisan asam yang tak berwarna diuji dengan menambahkan reagen dragendroff 3-4 tetes. Apabila terbentuk endapan berwarna kuning-merah menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid (Ulfa, 2016)

2.5.2 Flavonoid

Ekstrak etanol daun kersen sebanyak 0,5 g diambil dan ditambahkan 2 mL metanol 50% panas, ditambahkan 10 tetes HCl pekat dan logam Mg secukupnya. Adanya flavonoid terbentuknya warna merah sampai merah padam menunjukkan flavonol, merah padam sampai merah keunguan menunjukkan senyawa flavonon (Ulfa, 2016).

2.5.3 Triterpenoid/Steroid

Ekstrak etanol daun kersen sebanyak 0,5 g dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,5 mL kloroform, 1 mL asetat anhidrat dan 0,5 mL H₂SO₄ pekat. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Steroid memberikan warna biru atau hijau terdapat cincin, sedangkan triterpenoid memberikan warna merah atau ungu (Agustina et al., 2017).

2.5.4 Fenol

Ekstrak etanol daun kersen ditimbang sebanyak 0,5 g ditambah 4-5 tetes FeCl₃ 1%. Adanya fenol ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman (Agustina et al., 2017).

2.5.5 Tanin

Ekstrak etanol daun kersen sebanyak 0,5 g direaksikan dengan larutan FeCl_3 10% 4-5 tetes, jika terjadi warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin (Robinson, 1991).

2.6. Analisis Kuantitatif Flavonoid

2.6.1. Pembuatan Larutan Kuersetin

Langkah awal dilakukan dengan menimbang 20 mg kuersetin serta melarutkannya pada 10 mL etanol p.a yang menjadi larutan stok 2000 $\mu\text{g/mL}$, kemudian diencerkan dengan etanol hingga diperoleh larutan baku 100 $\mu\text{g/mL}$. Selanjutnya, larutan tersebut diencerkan kembali menjadi larutan baku kuersetin 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 $\mu\text{g/mL}$.

2.6.2. Penetapan Panjang Gelombang (λ) maksimum kuersetin

Konsentrasi kuersetin 50 $\mu\text{g/mL}$ sebanyak 0,5 mL, dilakukan reaksi terhadap aluminium (III) klorida 10% sejumlah 0,1 mL, natrium asetat 1 M sejumlah 0,1 mL, serta akuades sejumlah 2,8 mL. Setelah dilakukan inkubasi di suhu kamar dalam durasi 30 menit, absorbansi dihitung pada rentang 400 hingga 800 nm.

2.6.3. Pengukuran Serapan Blangko

Larutan blanko dibuat dengan mengambil 0,5 mL etanol, lalu diimbuhkan natrium asetat 1 M sejumlah 0,1 mL, 2,8 mL akuades, dan 10% aluminium (III) klorida sejumlah 0,1 mL. Absorbansi kemudian diukur dalam panjang gelombang maksimum sesuai dilakukan inkubasi di temperatur ruangan dengan durasi 30 menit.

2.6.4. Pengukuran Serapan Larutan Baku

Sebanyak 0,1 mL 10% aluminium (III) klorida, air suling sejumlah 2,8 mL, dan natrium asetat 1 M sejumlah 0,1 mL diimbuhkan pada setiap 0,5 mL larutan baku kuersetin. Absorbansi larutan baku dihitung pada panjang gelombang paling tinggi dengan spektroskopi UV-Vis, sesudah 30 menit dilakukan inkubasi. Setiap larutan baku diuji sebanyak tiga kali. Seluruh proses dilaksanakan di ruangan gelap. Selanjutnya, dibuat kurva kalibrasi absorbansi versus konsentrasi untuk menghasilkan persamaan regresi linier.

2.6.5. Pengukuran Kadar Flavonoid Total

Pengukuran ini dilakukan dengan menimbang sebanyak masing-masing 20 mg sampel ekstrak kemudian melarutkannya ke dalam 5 mL etanol p.a hingga didapatkan konsentrasi 4.000 $\mu\text{g/mL}$. Sejumlah 1,25 mL larutan diambil kemudian diencerkan ad 5 mL, sehingga konsentrasinya menjadi 1.000 $\mu\text{g/mL}$. Larutan 1.000 $\mu\text{g/mL}$ sebanyak 0,5 mL dituangkan ke tabung reaksi kemudian diimbuhkan 2,8 mL aquadest, natrium asetat 1 M sejumlah 0,1 mL, serta aluminium (III) klorida 10% sejumlah 0,1 mL. Inkubasi larutan dilakukan dalam durasi 30 menit dan absorbansinya dikalkulasikan pada panjang gelombang paling tinggi memakai spektrofotometer UV-Vis. Pengujian diterapkan sejumlah 3 kali (triplo). Persamaan untuk menghitung jumlah kadar flavonoid yaitu:

$$TFC = \frac{C \cdot V \cdot fp}{g} \quad (1)$$

Keterangan:

TFC = Total Flavonoid Content

C = konsentrasi flavonoid (nilai x)

V = volume ekstrak yang digunakan (mL)

Fp = faktor pengenceran

2.7. Analisis Data

Data hasil pengukuran kadar flavonoid dari teknik ekstraksi dengan maserasi, sonikasi, serta refluks dianalisis dengan menggunakan *One Way ANOVA* menggunakan software SPSS 25.0, kemudian diteruskan dengan uji *Kruskall Wallis* guna menguji perbedaan bermakna tiga sampel yang tidak berhubungan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Ekstraksi

Pada teknik maserasi, rendemen ekstrak kental yang diperoleh pada metode ekstraksi ini adalah 4 g, dengan persen rendemen sebesar 4%. Pada metode refluks menghasilkan 10 g ekstrak kental, dengan persentase rendemen senilai 10%. Sementara itu, hasil dari metode ekstraksi sonikasi adalah 7 g ekstrak kental, dengan rendemen sebesar 7%. Dari ketiga metode yang digunakan, metode ekstraksi maserasi menghasilkan rendemen dengan persentase di atas metode ekstraksi refluks maupun sonikasi (Tabel 1). Standarisasi ekstrak yang dilakukan pada penelitian ini meliputi parameter spesifik dan non spesifik. Hasil pengujian parameter spesifik daun Kersen dengan tiga metode ekstraksi dapat dilihat pada tabel 2, sedangkan uji parameter nonspesifik dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 2. Rendemen ekstrak pada tiga metode ekstraksi

Metode ekstraksi	Berat serbuk (g)	Berat ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
Maserasi	100	4	4
Refluks	100	10	10
Sonikasi	100	7	7

Efisiensi pada ekstraksi dipengaruhi oleh beberapa unsur berupa sifat dari pelarut yang digunakan, rasio pelarut dengan padatan, ukuran partikel bahan yang diekstrak, suhu ekstraksi, serta durasi waktu ekstraksi. Peningkatan efisiensi ekstraksi terjadi seiring dengan peningkatan waktu ekstraksi pada jangka waktu tertentu. Namun, ekstraksi tidak dapat terpengaruh oleh peningkatan waktu sesuai tercapainya keseimbangan zat terlarut di luar serta di dalam bahan padat (Zhang et al., 2018). Dalam hal ini, ekstraksi dengan metode maserasi memungkinkan diperoleh rendemen lebih tinggi karena dilakukan paling lama, yakni 24 jam.

Kejadian plasmolisis timbul pada tahapan maserasi, yakni pecahnya dinding sel disebabkan oleh tekanan yang berbeda di luar serta di dalam sel. Hal ini menyebabkan berbagai senyawa yang berada pada sitoplasma menjadi larut ke pelarut, sehingga tahap ekstraksi senyawa berjalan maksimal. Pada proses maserasi, proses ini dapat dikendalikan karena lama perendaman dapat diatur (Ningsih et al., 2016).

Tabel 3. Hasil Pengujian Parameter Spesifik Ekstrak Etanol Daun Kersen

Metode Ekstraksi	Organoleptik Ekstrak
Maserasi	Bentuk : Ekstrak kental Warna : Coklat Kehitaman Bau : Khas ekstrak Rasa : Pahit
Refluks	Bentuk : Ekstrak kental Warna : Coklat Kehitaman Bau : Khas ekstrak Rasa : Pahit
Sonikasi	Bentuk : Ekstrak kental Warna : Coklat Kehitaman Bau : Khas ekstrak Rasa : Pahit

Tabel 4. Hasil Uji Parameter Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Kersen

Metode Ekstraksi	Kadar Air	Kadar Abu Total
Maserasi	2,20%	2%
Refluks	9,00%	1%
Sonikasi	6,18%	2%

3.2. Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia bertujuan untuk mengidentifikasi atau memberi gambaran mengenai golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak secara kualitatif. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna (Kristianti et al., 2008) Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etanol daun kersen dapat dilihat pada tabel 4. Ketiga ekstrak menunjukkan hasil positif mengandung flavonoid, terpenoid/steroid, fenolik, dan tanin. Namun, tidak ada satupun ekstrak yang menunjukkan hasil positif menunjukkan alkaloid.

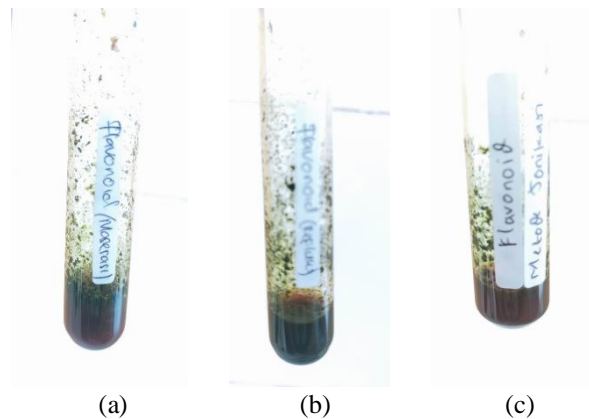
Hasil identifikasi senyawa flavonoid menunjukkan hasil positif pada semua sampel ekstrak etanol daun kersen seperti ditunjukkan pada Gambar 1. Terbentuknya warna jingga sampai merah pada pengujian yang mengimbuhkan HCl pekat serta serbuk Mg memperlihatkan adanya senyawa flavon, sedangkan adanya flavanol diperlihatkan dengan warna yang berubah ke merah hingga merah padam, dan perubahan warna menjadi merah padam hingga merah keunguan memperlihatkan adanya senyawa flavanon (Sami et al., 2017). Merujuk pada pemaparan (Robinson, 1991), timbulnya warna merah berarti mengindikasikan bahwa terdapat flavonoid efek reduksi magnesium serta asam klorida pekat. Tabel 5 menunjukkan seluruh hasil uji skrining fitokimia pada ekstrak etanol daun kersen, meliputi uji alkaloid, flavonoid, terpenoid/steroid, fenolik, dan tanin.

Tabel 5. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kersen

Sampel Ekstrak	Alkaloid	Flavonoid	Terpenoid/ Steroid	Fenolik	Tanin
Maserasi	-	+	+	+	+
Refluks	-	+	+	+	+
Sonikasi	-	+	+	+	+

Keterangan:

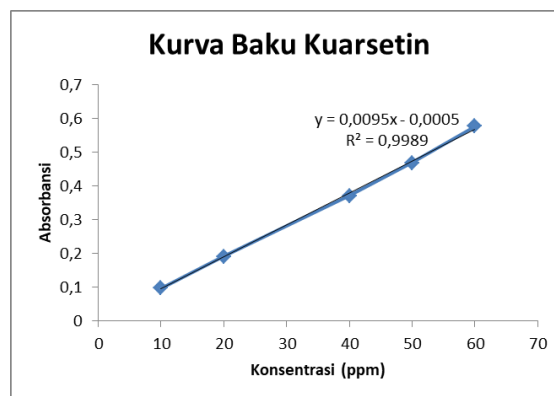
(+) = mengandung senyawa yang diuji
 (-) = tidak mengandung senyawa yang diuji



Gambar 1. Hasil uji flavonoid pada ekstrak hasil: (a) ekstraksi maserasi (b) ekstraksi refluks (c) ekstraksi sonikasi

3.3. Analisis Kuantitatif Flavonoid

Dari hasil penentuan panjang gelombang Kuarsetin, diperoleh hasil panjang gelombang sebesar 431,0 nm yang kemudian diterapkan guna mengukur baku kuarsetin dan sampel ekstrak. Mencermati data kurva baku yang tertera di Gambar 2, didapatkan persamaan regresi linear $y = 0,0095x - 0,0005$ beserta nilai koefisien korelasi R^2 senilai 0,9989. Melalui hasil ini, kesimpulan yang dapat ditarik yakni antara konsentrasi dan absorbansi memiliki korelasi positif. Peningkatan konsentrasi ini berbanding lurus dengan turut meningkatnya absorbansi.



Gambar 2. Kurva Baku Kuarsetin

Selanjutnya, dilakukan pengukuran absorbansi sampel. Hasil pengukuran absorbansi sampel disubstitusi ke dalam persamaan regresi linear serta dilakukan penghitungan jumlah kandungan flavonoid pada ketiga teknik ekstraksi. Hasil perhitungan jumlah kadar flavonoid untuk metode ekstraksi refluks, maserasi, dan sonikasi secara berurutan bisa dicermati dalam tabel 1, 2, dan 3. Dari hasil tersebut, didapatkan kadar flavonoid total dari ekstrak etanol daun kersen yang diekstraksi menggunakan teknik maserasi yakni sejumlah $73,60 \pm 0,06$ mgQE/g, diekstraksi menggunakan teknik refluks adalah sejumlah $59,88 \pm 0,06$ mgQE/g, dan diekstraksi menggunakan teknik sonikasi sejumlah $92,54 \pm 0,12$ mgQE/g. Jika diurutkan dari jumlah yang tertinggi, metode sonikasi menempati posisi paling tinggi, barulah disusul oleh metode maserasi dan refluks.

Tabel 6. Perhitungan kadar flavonoid total untuk metode ekstraksi maserasi

Pengukuran	A sampel	x ($\mu\text{g/mL}$)	x (mg/mL)	TF (mgQE/g)	rata-rata (mgQE/g)	SD	TF \pm SD (mgQE/g)
1	0,699	73,63	0,07	73,63			
2	0,699	73,63	0,07	73,63	73,60	0,06	$73,60 \pm 0,06$
3	0,698	73,53	0,07	73,53			

Tabel 7. Perhitungan kadar flavonoid total untuk metode ekstraksi refluks

Pengukuran	A sampel	x (µg/mL)	x (mg/mL)	TF (mgQE/g)	rata-rata (mgQE/g)	SD	TF ± SD (mgQE/g)
1	0,569	59,95	0,06	59,95			
2	0,568	59,84	0,06	59,84	59,88	0,06	59,88 ± 0,06
3	0,568	59,84	0,06	59,84			

Tabel 8. Perhitungan kadar flavonoid total untuk metode ekstraksi sonikasi

Pengukuran	A sampel	x (µg/mL)	x (mg/mL)	TF (mgQE/g)	rata-rata (mgQE/g)	SD	TF ± SD (mgQE/g)
1	0,880	92,68	0,09	92,68			
2	0,878	92,47	0,09	92,47	92,54	0,12	92,54 ± 0,12
3	0,878	92,47	0,09	92,47			

Keterangan:

R : Replikasi

A : Absorbansi

TF : Total flavonoid

SD : standar deviasi

3.4. Analisis Data

Data hasil kandungan flavonoid dianalisis dengan menggunakan SPSS 25.0. Sesuai pengujian normalitas, menghasilkan data yang tidak terdistribusi normal. Kemudian dilakukan uji homogenitas, diperoleh hasil bahwa data hasil konsentrasi tidak homogen. Berikutnya dilakukan uji ANOVA, karena data yang dibandingkan lebih dari dua. Dari hasil ANOVA, nilai signifikansi didapatkan sebanyak 0,000 yang berarti ini lebih rendah daripada <0,05, sehingga H₀ ditolak.

Uji selanjutnya berupa pengujian *Kruskall-Wallis*, tujuan uji ini adalah menguji perbedaan bermakna tiga sampel yang tidak berhubungan. Syarat uji *Kruskall Wallis* data interval harus terdistribusi tidak normal (Purnomo, 2017). Pengujian ini menghasilkan data yang menyatakan setiap metode tidak identik, artinya terdapat perbedaan antar metode. Perbedaan antar metode bisa dicermati dalam tabel 9.

Tabel 9. Perbedaan metode ekstraksi bahan alam (Zhang et al., 2018)

Metode	Pelarut	Suhu	Tekanan	Waktu	Volume pelarut	Polaritas dari ekstrak
Maserasi	Air, larutan dalam air, non larutan dalam air	Suhu kamar	Atmosferik	Lama	Besar	Tergantung polaritas pelarut
Refluks	larutan dalam air, non larutan dalam air	Dengan pemanasan	Atmosferik	Sedang	Sedang	Tergantung polaritas pelarut
Sonikasi	Air, larutan dalam air, non larutan dalam air	Suhu kamar atau dengan pemanasan	Atmosferik	Singkat	Sedang	Tergantung polaritas pelarut

Metode ekstraksi sonikasi menggunakan gelombang ultrasonik dalam prosesnya. Ultrasonik dalam pelarut menghasilkan rongga yang mempercepat pelarutan dan difusi dari solut sekaligus memindahkan panas. Hal ini membuat proses ekstraksi menjadi lebih efisien. Keunggulan lain dari metode sonikasi ialah tidak banyak memakai pelarut, kebutuhan energi cenderung lebih kecil, dan menurunkan suhu dan waktu ekstraksi, sehingga proses ini dianggap lebih hijau/ramah lingkungan. Teknik tersebut bisa diterapkan terhadap berbagai senyawa termolabil serta senyawa-senyawa yang tidak stabil (Zhang et al., 2018).

Menurut studi oleh (Settharaksa et al., 2012), dilaporkan bahwa dalam tahap ekstraksi, suhu serta lama durasi pemanasan bisa memengaruhi jumlah senyawa yang didapatkan. Secara umum, kelarutan bahan aktif yang diekstraksi meningkat seiring dengan meningkatnya suhu. Namun, suhu ekstraksi pun harus dipertimbangkan, sebab bahan dalam tahap pemrosesan bisa rusak apabila suhunya terlampaui tinggi (Margaretta & Handayani, 2011). Pada penelitian ini, metode refluks diketahui menggunakan suhu tertinggi dibandingkan dengan maserasi dan sonikasi. Senyawa dengan stabilitas tinggi terhadap pemanasan hingga suhu tertentu ialah fenol dan flavonoid.

Waktu ekstraksi juga sangat memengaruhi kandungan senyawa karena nilai perpindahan massa. Ketepatan pada durasi ekstraksi dapat memberikan hasil maksimal. Proses ekstraksi terlampaui panjang dapat mengakibatkan hidrolisis ekstrak dan sebaliknya, apabila terlampaui sebentar durasi tersebut justru tidak akan mengekstrak seluruh bahan aktif dari bahan (Budiyanto, 2008). Sepanjang tahap ekstraksi, semakin lama durasi kontak antara zat terlarut dan pelarut menjadi turut membesar pula total komponen kimia yang terekstraksi (Irvan. et al., 2015).

4. KESIMPULAN

Penelitian ini menghasilkan kesimpulan dari berbagai data yang telah diperoleh, yakni metode ekstraksi memengaruhi kandungan flavonoid total pada ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.). Hasil dari penelitian ini adalah kandungan flavonoid total dari ekstrak etanol daun kersen yang diekstraksi menggunakan teknik maserasi, refluks dan sonikasi berturut-turut adalah $73,98 \pm 0,06$ mgQE/g; $60,55 \pm 0,05$ mgQE/g; dan $92,53 \pm 0,12$ mgQE/g. Berdasarkan uji *Kruskall Wallis*, diperoleh hasil bahwa terdapat perbedaan nilai antar metode ekstraksi. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa metode ekstraksi memengaruhi kandungan flavonoid total pada ekstrak etanol daun kersen.

Ucapan Terima Kasih

Pendanaan dalam penelitian ini ditanggung oleh Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) Universitas Bhamada Slawi melalui skema pembiayaan Penelitian Dosen Pemula Tahun 2021/2022.

REFERENCES

- Agustina, W., Nurhamidah, & Handayani, D. (2017). Beberapa Fraksi Dari Kulit Batang Jarak (*Ricinus communis* L.). *Alotrop*, 1(2), 117–122.
- Budiyanto, A. D. Y. (2008). Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi terhadap Karakter Pektin dari Ampas Jeruk Siam (*Citrus nobilis* L. *J. Pascapanen*, 5(2), 37–44.
- 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. <https://doi.org/10.29303/jpm.v16i3.2308>
- Damar, A. C., Max, R., John, R., & Wewengkang, D. S. (2014). Kandungan Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Kayu Kapur (*Melanolepis Multiglandulosa* Reinch F). *Pharmacon*, 3(4), 11–21.
- Desmiaty, Y., Elya, B., Saputri, F. C., Dewi, I. I., & Hanafi, M. (2019). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kandungan Senyawa Polifenol dan Aktivitas Antioksidan pada *Rubus fraxinifolius*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 17(2), 227. <https://doi.org/10.35814/jifi.v17i2.755>
- Fadlilaturrahmah, F., Wathan, N., Firdaus, A. R., & Arishandi, S. (2020). The Effect of Extraction Method on Antioxidant Activity and Flavonoid Levels of Kareho Leaves (*Callicarpa longifolia* Lam). *Pharma Xplore*, 5(1), 23–33.
- Irvan., M., Sasmitra, P. B., & J. (2015). Ekstraksi 1,8 Cineole dari Minyak Daun Eucalyptus Urophylla dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 4(3), 52–57.
- Khusnawati, N. (2014). *Metode Pengerangan Oven pada Pengolahan Daun Kersen (Muntingia calabura L) dan Hubungannya terhadap Kandungan Zat Gizi*. Universitas Negeri Yogyakarta.
- Kristianti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M., & Kurniadi, B. (2008). *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Jurusan Kimia Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas.
- Margaretta, S., & Handayani, N. I. dan H. H. (2011). Ekstraksi Senyawa Phenolics Pandanus *Amaryllifolius* Roxb. sebagai Antioksidan Alami. *Widya Teknik*, 10(1), 21–30.
- Ningsih, D. R., Zufahair, & Kartika, D. (2016). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri. *Molekul*, 11(1), 101–111.
- Robinson, T. (1991). *The Organic Constituents of Higher Plants: Their Chemistry and Interrelationships* (6th ed.). Cordus Press.
- Safitri, I., Nuria, M. C., & Puspitasari, A. D. (2018). Perbandingan Kadar Flavonoid dan Fenolik Total Ekstrak Metanol Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) pada Berbagai Metode Ekstraksi. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 3(1). <https://doi.org/10.31942/inteka.v3i1.2123>
- Sami, F. J., Nur, S., Kursia, S., Gani, S. A., & Sidupa, T. R. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Dari Beberapa Ekstrak Kulit Batang Jambang (*Syzygium cumini*). *Menggunakan Metode Peredaman Radikal*, 2(4), 2–1–.
- Settharaksa, S., Jongjareonrak, A., Hmadhlu, P., Chansuwan, W., & Siripongvutikorn, S. (2012). Flavonoid, Phenolic Contents and Antioxidant Properties of Thai Hot Curry Paste Extract and Its Ingredients as Affected of pH, Solvent Types, and High Temperature. *International Food Research Journal*, 19(4), 1581–1587.
- Utami, R. D., Yuliawati, K. M., & Syafnir, L. (2015). Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan Daun Sukun (*Prosiding Penelitian SpeSIA Unisba 2015*, 280–286.
- Utami, Y. P., Taebe, B., & Fatmawati. (2016). Standardisasi Parameter Spesifik dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Murbei (*Morus alba* L.) Asal Kabupaten Soppeng Provinsi Sulawesi Selatan. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 1(2), 48–52.
- Wijaya, H., Novitasari, & Jubaidah, S. (2018). Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambui Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 4(1), 79–83.
- Zahroh, R., & Musriana. (2016). Pemberian Rebusan Daun Kersen Menurunkan Kadar Glukosa Darah Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2. *Journals of Ners Community*, 07(November), 102–108.
- Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine (United Kingdom)*, 13(1), 1–26. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>