

ABSTRAK

Bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm) merupakan tanaman dari family Zingiberaceae yang diketahui mengandung senyawa flavonoid dengan aktivitas antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid total dari fraksi etil asetat ekstrak etanol bunga kecombrang menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Ekstraksi dilakukan secara maserasi menggunakan etanol 96%, kemudian dilakukan fraksinasi cair-cair dengan pelarut etil asetat. Identifikasi flavonoid dilakukan secara kualitatif menggunakan pereaksi NaOH, H₂SO₄ pekat, dan FeCl₃. Analisis kuantitatif dilakukan dengan metode kompleksasi AlCl₃ menggunakan kuersetin sebagai standar. Hasil menunjukkan bahwa fraksi etil asetat bunga kecombrang mengandung flavonoid total sebesar 45,548 mg QE/g. Berdasarkan hasil tersebut, bunga kecombrang memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami yang dapat dikembangkan lebih lanjut dalam bidang farmasi.

Kata kunci: Bunga kecombrang, flavonoid, fraksi etil asetat, spektrofotometri UV-Vis, kuersetin.

ABSTRACT

Kecombrang flower (Etlingera elatior (Jack) R.M.Sm) is a plant from the Zingiberaceae family known to contain flavonoid compounds with antioxidant activity. This study aims to determine the total flavonoid content of the ethyl acetate fraction of ethanol extract from kecombrang flowers using the UV-Vis spectrophotometric method. Extraction was carried out by maceration using 96% ethanol, followed by liquid-liquid fractionation with ethyl acetate solvent. Flavonoid identification was conducted qualitatively using NaOH, concentrated H₂SO₄, and FeCl₃ reagents. Quantitative analysis was performed by the AlCl₃ complexation method using quercetin as a standard. The results showed that the ethyl acetate fraction of kecombrang flower extract contained total flavonoid content of 45.548 mg QE/g. These findings indicate that kecombrang flowers have the potential as a natural antioxidant source for further development in the pharmaceutical field.

Keywords: *Etlingera elatior, flavonoid, ethyl acetate fraction, UV-Vis spectrophotometry, quercetin.*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Di wilayah Indonesia banyak tanaman liar mempunyai potensi yang cukup baik dan banyak manfaat. Salah satunya yaitu tanaman bunga kecombrang yang dikenal dengan nama latin (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm.) merupakan salah satu family *Zingiberaceae*. Tanaman ini memiliki potensi dan banyak kegunaan di Indonesia. Saat ini, tanaman bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm.) sekarang hanya digunakan sebagai penambah rasa sedap dalam masakan. Komponen utama senyawa bioaktif bunga kecombrang adalah flavonoid (Astuti, 2011). Senyawa bioaktif bunga kecombrang mempunyai aktivitas farmakologis, termasuk antioksidan untuk pengobatan penyakit degeneratif seperti kanker, dan gangguan sistem imun (Maimulyani dan Prihadi, 2015). Kandungan kimia dalam bunga kecombrang golongan fenol jenis kuersetin, rutin, dan kamferol, menunjukkan bahwa kecombrang mempunyai potensi untuk dikembangkan menjadi produk pangan fungsional, nutraceutical, maupun farmaceutical (Chan dkk., 2007).

Bunga kecombrang diketahui memiliki kandungan kimia yang terdiri dari alkaloid, flavonoid, polivenol, steroid, saponin, dan minyak atsiri (Tresna dkk., 2019). Kandungan senyawa kimia flavonoid memiliki fungsi aktivitas sebagai antioksidan, sehingga semakin tinggi kandungan flavonoid dalam suatu tanaman,

maka semakin tinggi pula khasiat antioksidannya (Dasi dan Leliqia, 2023). Metode maserasi dapat digunakan untuk mengekstrak flavonoid yang terkandung pada bunga kecombrang karena dengan menggunakan metode maserasi dapat dilakukan tanpa pemanasan sehingga tidak merusak senyawa flavonoid (Cuppet dkk., 1954).

Bunga kecombrang yang segar karena sifatnya mudah rusak, harus dikeringkan untuk menjadi bubuk simplisia melalui pengeringan. Pengeringan adalah salah satu proses pasca panen yang paling penting dalam pembuatan simplisia. Proses ini dapat berpengaruh dalam menentukan kualitas simplisia dari segi warna dan senyawa aktif yang terkandung didalam simplisia (Katno, 2008). Pengeringan yang tepat akan menghasilkan mutu simplisia yang tahan dan tidak mudah terjadi perubahan kandungan bahan aktifnya (Fahmi dkk., 2019).

Senyawa flavonoid aglikon seperti isoflavon, flavanon, flavon, dan flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih larut dalam pelarut yang semi polar seperti etil asetat (Kumalasari dkk., 2023). Etil asetat yang bersifat semi polar digunakan untuk mengekstraksi senyawa-senyawa dengan polaritas menengah seperti flavonoid, tanin, dan beberapa alkaloid. Pemilihan pelarut ini didasarkan pada kemampuannya dalam berinteraksi dengan gugus polar maupun non polar, sehingga mampu mengekstraksi komponen dari ekstrak yang memiliki sifat polar maupun non polar (Kumalasari dkk., 2023).

Berdasarkan penelitian penetapan kadar flavonoid total daun bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L) merr) (Kumalasari dkk., 2023), kadar flavonoid

total daun bawang dayak terlihat pada fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol data temuan tersebut menunjukkan keterkaitan yang jelas, yaitu sama-sama meneliti sebaran flavonoid berdasarkan tingkat kepolaran pelarut, dan mendasari pemilihan fraksi etil asetat didasarkan pada efektivitasnya dalam mengekstraksi flavonoid dari tanaman lain, seperti bunga kecombrang. Oleh karena itu, peneliti ingin melakukan penelitian untuk mengetahui kadar flavonoid yang terkandung dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm).

Penelitian ini diharapkan dapat mengetahui seberapa banyak kandungan dan kadar flavonoid yang terkandung didalam fraksi etil asetat ekstrak etanol bunga kecombrang. Kandungan flavonoid dapat dianalisis dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis, dimana Spektrofotometri UV-Vis memiliki ketelitian yang tinggi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut rumusan masalah pada penelitian ini berapa kadar flavonoid total fraksi etil asetat ekstrak etanol bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm)?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui kadar flavonoid total dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm).

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi Peneliti

Manfaatnya menambah pengetahuan dan pemahaman tentang kadar flavonoid pada ekstrak etanol bunga kecombrang serta memberikan informasi ilmiah mengenai ekstraksi flavonoid dengan metode fraksinasi menggunakan pelarut etil asetat.

2. Bagi Institusi

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan tentang obat dari bunga kecombrang sehingga dapat dibuat sediaan obat-obatan dari hasil kadar yang didapatkan.

3. Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan wawasan dibidang obat tradisional dari bahan alam sekitar yang belum diketahui banyak orang dan dapat diaplikasikan untuk pengobatan secara tradisional.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Uraian Tanaman Bunga Kecombrang

Bunga Kecombrang dengan nama latin (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm) adalah tanaman asli Indonesia yang memiliki potensi yang berfungsi sebagai antioksidan (Sukandar *et al.*, 2010). Masyarakat Indonesia biasanya menggunakan bunga kecombrang sebagai salah satu bahan masakan (Sagala *et al.*, 2016). Kecombrang adalah tanaman dengan bunganya menyerupai jantung pisang, memiliki warna merah muda, aroma harum pedas dan rasa yang agak asam (Berliandi dan Sari, 2018). Namun, selain dapat digunakan sebagai pelengkap rasa pada makanan, kecombrang juga mempunyai beberapa manfaat yang telah dibuktikan secara ilmiah pada berbagai penelitian seperti antikanker, antioksidan, ataupun pengawet untuk makanan (Farida dan Maruzy, 2016).

2.1.1 Taksonomi Tanaman Bunga Kecombrang



Gambar 1. Tanaman Bunga Kecombrang (Dokumentasi Pribadi, 2024)

Klasifikasi tanaman bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm) adalah sebagai berikut (Tjitrosoepomo, G., 2012) :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Tracheophyta</i>
Kelas	: <i>Liliopsida</i>
Ordo	: <i>Zingiberales</i>
Famili	: <i>Zingiberaceae</i>
Genus	: <i>Etlingera</i>
Spesies	: <i>Etlingera elatior</i> (Jack) R.M.sm

2.1.2 Kandungan Kimia Tanaman Bunga Kecombrang

Kandungan senyawa kimia bunga kecombrang termasuk alkaloid, flavonoid, poliferol, steroid, saponin, dan minyak atsiri (Naufalin, 2005). Bunga kecombrang memiliki komponen antioksidan yang besar untuk meredam senyawa radikal bebas sehingga mencegah terjadinya oksidasi. Kekuatan antioksidan bunga kecombrang dengan konsentrasi yaitu sebesar 92,92% dalam 0,5 g/ml ekstrak kecombrang dengan pelarut etanol (Syarif dkk., 2016).

2.1.3 Manfaat Tanaman Bunga Kecombrang

Kecombrang adalah tumbuhan yang memiliki banyak manfaat, mulai dari rimpang hingga bunganya. Secara tradisional bunga dan buah kecombrang biasanya digunakan untuk meningkatkan cita rasa pada masakan. Daunnya dapat dimasak sebagai sayur. Sementara batangnya digunakan dalam beberapa jenis masakan yang mengandung daging (Naufalin, 2005). Bunga kecombrang juga berfungsi sebagai penghilang bau badan, untuk memperbanyak air susu ibu, dan sebagai pembersih darah. (Hidayat, 2015).

2.2 Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia melalui tahap sebagai berikut (Depkes, 1985) :

1. Pengumpulan bahan baku

Kadar senyawa aktif dalam suatu senyawa simplisia berbeda-beda tergantung pada bagian tanaman yang digunakan, umur tanaman, atau bagian tanaman pada saat panen, waktu pasca panen, dan lingkungan tempat tumbuh.

Secara umum aturan tersebut sebagai berikut :

- a. Akar (*radix*) atau umbi (*rhizome*) dikumpulkan pada saat pertumbuhan telah berhenti.
- b. Kulit (*cortex*) untuk daerah tropis dikumpulkan pada saat tanaman telah dewasa dan subtropis dipanen pada musim semi.

- c. Daun dan Pucuk (*folium*) dikumpulkan pada saat fotosintesa berlangsung sangat aktif ditandai dengan melihat apakah tanaman tersebut sedang berbunga atau berbuah, tetapi buah belum masak.
- d. Bunga (*flos*) dikumpulkan pada saat bunga telah membentuk benang sari atau polen.
- e. Buah (*fructus*) dikumpulkan pada saat buah telah tua tetapi belum masak.
- f. Biji (*semen*) dikumpulkan pada waktu buah telah masak, sedapat mungkin biji belum tumbuh.

2. Sortasi basah

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan alam asing lainnya yang menempel pada sampel.

3. Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada sampel. Pencucian dilakukan dengan air bersih, misalnya dari mata air, air sumur atau air PAM. Sampel yang mengandung zat mudah larut didalam air mengalir, pencucian dilakukan agar dalam waktu yang sesingkat mungkin.

4. Perajangan

Beberapa jenis sampel atau bahan untuk dilakukan proses pembuatan simplisia perlu mengalami proses perajangan. Perajangan bahan dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, penggepakan atau penggilingan. Tanaman yang baru diambil jarang langsung dirajang tetapi dijemur dalam keadaan utuh selama satu hari. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau,

dengan alat mesin perajang khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki.

5. Pengeringan

Tujuan pengeringan ialah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan dicegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia. Kadar air untuk simplisia adalah kurang dari 5% dan kadar air untuk simplisia buah adalah kurang dari 8%.

6. Sortasi kering

Sortasi setelah pengeringan sebenarnya merupakan tahap akhir pembuatan simplisia. Tujuan sortasi untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor-pengotor lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Proses ini dilakukan sebelum dibungkus untuk kemudian disimpan.

7. Penyimpanan

Simplisia sebaiknya disimpan pada suhu kamar temperatur (15- 30°C), tetapi dapat pula dilakukan ditempat sejuk (5-15°C), bahkan pada temperatur dingin (0-5°C). Ruangan dengan ventilasi udara yang cukup ruangan yang dapat menghindarkan simplisia tersebut dari sinar matahari langsung, air hujan, serangga, binatang-binatang yang lain serta pencemaran.

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan maupun hewan. Sebelum ekstraksi dilakukan bahan-bahan biasanya dikeringkan terlebih dahulu kemudian dihaluskan hingga tingkat kehalusan tertentu (Harbone, 1984). Ekstraksi merupakan kegiatan dalam penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Ditjen POM, 2000). Hasil dari ekstraksi disebut dengan ekstrak yaitu sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlukan sedemikian sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Ditjen POM, 1995).

Ekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu : (Ditjen POM, 2000)

1) Cara dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses penyarian simplisia sederhana menggunakan pelarut dengan perendaman dan beberapa kali pengadukan atau pengocokan pada suhu kamar. Cairan penyari akan melewati dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi larutan zat aktif didalam sel dan diluar sel maka larutan terpekat didesak keluar. Proses ini dilakukan berulang kali untuk menghasilkan keseimbangan konsentrasi antara larutan didalam sel dan larutan diluar sel. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol,

methanol, atau jenis pelarut lainnya. Maserasi berarti menambah pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan begitu seterusnya. Keuntungan dari metode penyarian dengan maserasi adalah proses pengerjaan yang sederhana dan peralatan yang digunakan mudah digunakan.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Proses perkolasi terdiri dari tahapan pengembang bahan, tahap maserasi antara tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus-menerus hingga diperoleh ekstrak (perkolat).

2) Cara panas

a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperature titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

b. Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang pada umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

d. Infusa

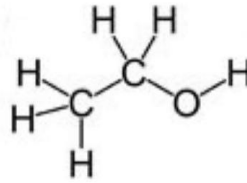
Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan mengekstraksi simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit.

e. Dekok

Dekok adalah infus dengan waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air, yakni 30 menit pada suhu 90-100°C.

2.4 Etanol

Etanol juga dikenal sebagai alkohol yaitu suatu cairan transparan, mudah terbakar, tidak berwarna, dan mudah menguap dengan rumus kimia C_2H_5OH , dapat bercampur dengan air, eter, dan kloroform, yang diperoleh melalui fermentasi karbohidrat dari ragi yang disebut juga dengan etil alkohol atau etanol. Umumnya etanol berfungsi sebagai pelarut yang baik untuk alcohol, glukosida, dan minyak atsiri. Selain berfungsi sebagai cairan penyari, etanol juga berfungsi sebagai pengawet karena menghentikan berbagai enzim, termasuk enzim peragian, dan menghentikan pertumbuhan jamur dan kebanyakan bakteri. Kadar alkohol dalam cairan hidroalkoholik menstrum bergantung pada sifat zat yang akan ditarik terkadang karena beberapa alasan, kadar alkoholnya lebih rendah dari 3% (Syamsyuni, 2007). Etanol digunakan dalam berbagai produk, seperti campuran bahan bakar, minuman, penambah rasa, industri farmasi, dan bahan kimia.



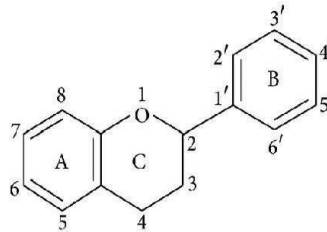
Gambar 2. Struktur kimia etanol (Depkes RI, 1987)

2.5 Flavonoid

Flavonoid merupakan sebagai senyawa metabolit sekunder yang memberikan berbagai warna pada tumbuhan. Flavonoid adalah senyawa fenol alam yang ditemukan dalam hampir semua tumbuhan mulai dari bangsa alga hingga gimnospermae (Henrich dkk, 2010). Flavonoid biasanya ditemukan dalam tumbuhan, terikat pada gula dalam bentuk tumbuhan glikosida dan aglikon flavonoid, serta dalam berbagai kombinasi glikosida yang mungkin ditemukan dalam satu tumbuhan (Harbone, 1996).

Flavonoid bertindak sebagai antibiotik dan antiinflamasi untuk melindungi struktur sel, membantu memaksimalkan manfaat vitamin c, mencegah keropos tulang, dan berfungsi sebagai antioksidan yang dapat menetralisir radikal bebas yang menyerang sel-sel tubuh kita. Radikal bebas dapat menyebabkan kanker, penyakit jantung dan penurunan dini. Uji keberadaan flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan shinoda test atau dapat juga dilakukan dengan test H_2SO_4 (Markham, 1988). Flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon dalam konfigurasi C6-C3-C6 yaitu dua cincin aromatic yang dihubungkan oleh 3 atom

karbon yang mungkin atau mungkin tidak dapat membentuk cincin ketiga. Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga dapat ditemukan pada setiap ekstrak tumbuhan (Markham, 1988).



Gambar 3. Struktur dasar flavonoid (Kumar and Pandey, 2013)

2.6 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan, dan dipancarkan sebagai fungsi dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu, dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi (Khopkar, 2008: 184).

Spektrofotometri serap adalah pengukuran serapan radiasi elektromagnet panjang gelombang tertentu yang sempit, mendekati monokromatik yang diserap zat (Depkes RI, 1979). Prinsip kerja spektrofotometri Uv-Vis adalah sumber cahaya dipancarkan melalui monokromator. Monokromator mengurai sinar yang masuk dari sumber cahaya tersebut menjadi pita-pita panjang gelombang yang diinginkan untuk mengukur zat tertentu, yang menunjukkan bahwa setiap gugus kromofor memiliki panjang gelombang maksimum berbeda. Dari monokromator cahaya dan energi

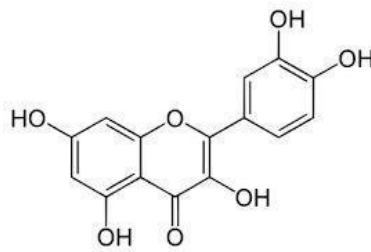
radiasi ditransmisikan dan diserap oleh suatu larutan yang akan diperiksa di dalam kuvet dari monokromator tersebut.

Metode spektrofotometri ultraviolet dan sinar tampak telah banyak diterapkan untuk menentukan senyawa-senyawa organik yang umumnya dipergunakan untuk penentuan senyawa dalam jumlah yang sangat kecil. Metode spektrofotometri merupakan analisis kimia bertujuan untuk mengetahui komposisi suatu zat atau campuran zat. Tujuan metode ini adalah untuk mendapatkan informasi kualitatif tentang keberadaan unsur atau komponen tertentu dalam contoh, serta untuk mengukur jumlah atau banyaknya unsur yang diteliti. Dengan kata lain, metode ini untuk mengetahui data kuantitatif, juga dapat digunakan untuk menentukan struktur suatu zat. Metode spektrofotometri ultra-violet dan sinar tampak berdasarkan pada hukum Lambert-Beer (Trianty, 1986). Cahaya sinar tampak merupakan cahaya yang sensitif bagi mata, jatuh pada rentang kisaran 400 nm sampai 450 nm. Kisaran ini dikenal sebagai spektrum tampak dan didalamnya terdiri dari warna ungu sampai merah. Cahaya dengan panjang gelombang yang lebih pendek dari 400 nm disebut ultraviolet (UV) (Giancoli, 1998).

2.7 Kuersetin

Kuersetin (3,4-dihidroksiflavonol) merupakan senyawa flavonoid dalam kelompok flavonol yang paling umum ditemukan pada tanaman teh, tomat, apel, kakao, anggur, dan bawang yang memiliki sifat antioksidan yang sangat potensial. Mengonsumsi kuersetin dalam jumlah yang cukup (50-200 mg per hari) maka dapat bermanfaat memberikan perlindungan karena berfungsi sebagai senjata pemusnah

radikal bebas sehingga dapat mencegah penuaan dini. Kuersetin menunjukkan aktivitasnya dalam menghambat reaksi oksidasi *low density lipoprotein (LDL)* secara invitro, dapat mencegah kerusakan oksidatif dan kematian sel dengan mekanisme menangkap radikal oksigen, memberi efek farmakologi sebagai antiinflamasi (Herawati, 2008).



Gambar 4. Struktur kuersetin (Herawati, 2008)

2.8 Fraksinasi

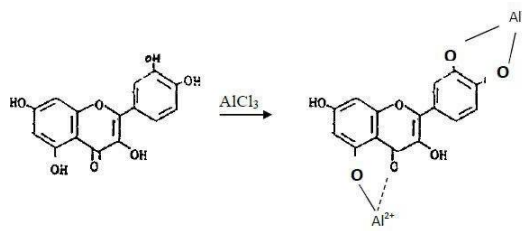
Fraksinasi merupakan suatu proses pemisahan dimana senyawa-senyawa berdasarkan tingkat kepolaran mereka. Fraksinasi dilakukan untuk mendapatkan suatu senyawa yang lebih murni dibandingkan dengan ekstrak dan fraksinasi juga memiliki kemampuan untuk meningkatkan kandungan senyawa yang diinginkan dengan menghilangkan atau memisahkan senyawa yang tidak diinginkan (Harbone, 1987). Metode fraksinasi yang digunakan bergantung pada bahan yang akan difraksinasi dan tujuan fraksinasi. Fraksinasi dapat dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair juga dikenal sebagai kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom (KK), *Size-Exclusion Chromatography (SEC)*, *Solid-Phase Extraction (SPE)*. (Sarker et al, 2006).

Prinsip fraksinasi yang digunakan *like dissolve like* yang menunjukkan bahwa suatu senyawa akan terlarut dalam pelarut dengan sifat kepolaran yang mirip dengannya. Fraksinasi menggunakan metode ekstraksi cair-cair. Ekstraksi cair-cair adalah metode pemisahan dengan menggunakan dua cairan pelarut yang tidak saling bercampur, sehingga senyawa tertentu terpisahkan menurut kesesuaian sifat dengan cairan pelarut (prinsip *solve dissolve like*).

2.9 Metode Kolorimetri

a. Alumunium Klorida (AlCl_3)

Salah satu metode kuantifikasi flavonoid yang paling umum digunakan adalah Alumunium klorida. Prinsip penetapan kadar flavonoid metode aluminium klorida adalah terjadinya pembentukan kompleks antara reaksi aluminium klorida dengan gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang terikat pada golongan flavon dan flavonol (Azizah, 2014). Pereaksi dan gugus orto-dihidroksi, karena akan terjadi pembentukan senyawa kompleks antara AlCl_3 dan kedua gugus tersebut. Perbedaannya adalah kompleks yang terjadi antara AlCl_3 , dan gugus hidroksi keto bersifat tahan terhadap asam, sedangkan kompleks antara AlCl_3 dan orto-dihidroksi tidak tahan terhadap asam (Markham, 1998).



Gambar 5. Pembentukan senyawa kompleks kuersetin dan alumunium klorida

(Azizah dkk, 2014).

b. 2,4 Dinitrofenilhidrazin

Penentuan jumlah flavonoid dengan metode 2,4-dinitrofenilhidrazin prinsipnya adalah reaksi antara 2,4-dinitrofenilhidrazin dengan senyawa yang mengandung gugus NH_2 , gugus aldehyd dan gugus keton membentuk 2,4-dinitrofenilhidrazon. Flavon, flavonol, dan isoflavon yang memiliki ikatan rangkap pada atom C2-C3 tidak dapat bereaksi dengan 2,4-dinitrofenilhidrazin, sehingga penentuan jumlah flavonoid dengan metode 2,4 dinitrofenilhidrazin hanya spesifik untuk flavanon dan flavanonol. Pada struktur flavanon dan flavanonol tidak dijumpai adanya ikatan rangkap pada posisi 2 dan 3. Perbedaannya terletak pada adanya gugusan alkohol di posisi 3 pada flavanonol (3-hidroksi flavanon). Standar atau pembanding yang digunakan pada metode 2,4 dinitrofenilhidrazin adalah naringenin yang merupakan flavonoid golongan flavanon (Harborne, 1987).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat Penelitian

Adapun alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah. Timbangan analitik, aluminium foil, beaker glass, bejana maserasi, blender, cawan penguap, kuvet, gelas ukur, labu ukur, sendok *stainless*, kain flannel, tabung reaksi, erlenmeyer, pisau *stainless steel*, pipet tetes, mikropipet, batang pengaduk, *rotary vacuum evaporator*, cawan porselen, *waterbath*, corong pisah, kuvet, spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu UV-1280).

3.2 Bahan Penelitian

Adapun bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah. Aquadest, simplisia bunga kecombrang, etanol 96%, etil asetat, asam sulfat (H_2SO_4) pekat, NaOH 10%, FeCl_3 , serbuk kuersetin, methanol pro analis, aluminium klorida (AlCl_3) 10%, asam asetat 5%.

3.3 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman bunga kecombrang dilakukan di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Laboratorium Biologi Universitas Tanjungpura Pontianak.

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian tentang penetapan kadar flavonoid total fraksi etil asetat ekstrak etanol bunga kecombrang dan uji skrining fitokimia dilakukan di kampus Akademi Farmasi Yarsi Pontianak, Jl. Panglima A'im No. 2, Provinsi Kalimantan Barat. Waktu penelitian dimulai dari bulan Februari 2025 sampai Mei 2025.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pengambilan Bunga Kecombrang

Bunga kecombrang diambil dari Daerah Sanggau, Desa Lintang, Kecamatan Kapuas, Kabupaten Sanggau, Provinsi Kalimantan Barat.

3.5.2 Pengolahan Simplisia Bunga Kecombrang

Bunga kecombrang yang sudah dikumpulkan sebanyak 2,4 kg selanjutnya disortasi basah untuk menghilangkan kotoran atau benda asing yang masih menempel pada bunga, kemudian dicuci menggunakan air bersih dan mengalir, lalu dirajang untuk mempercepat proses pengeringan. Proses pengeringan dilakukan menggunakan sinar matahari langsung dan ditutup dengan kain hitam hingga kering. Tanda simplisia yang sudah kering apabila dipegang akan bergemerisik, lalu dilakukan sortasi kering untuk memisahkan benda asing dan pengotor lain yang masih tertinggal pada simplisia. Setelah disortasi kering simplisia dijadikan serbuk dengan cara diblender dan diayak. Simplisia yang diperoleh disimpan dalam wadah tertutup dan dijauhkan dari paparan sinar matahari (Leonardy *et al.*, 2019).

$$\% \text{ Susut Pengeringan} = \frac{\text{Berat sampel basah} - \text{Berat sampel kering}}{\text{Berat sampel basah}} \times 100\%$$

3.5.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang

Ditimbang sebanyak 268 gram serbuk simplisia bunga kecombrang. Proses ekstraksi dilakukan dengan merendam simplisia kemudian dilarutkan dengan etanol 96% sebanyak 3 liter. Proses ekstraksi dilakukan dalam 3 x 24 jam dan dilakukan proses pengadukan setiap 3-4 kali dalam sehari, serta penggantian pelarut harus dilakukan setiap 24 jam. Hasil maserasi disaring menggunakan kain flannel, dan filtrat yang didapat kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan dipekatkan dengan menggunakan penangas air sampai mendapatkan ekstrak kental (Fristiohady *et al.*, 2020).

3.5.4 Fraksinasi Sampel Dengan Pelarut Etil Asetat

Ekstrak etanol bunga kecombrang yang diperoleh, ditimbang sebanyak 10 gram lalu dipartisi dengan pelarut etil asetat dengan cara partisi cair-cair. Ekstrak etanol bunga kecombrang sebanyak 10 gram dilarutkan dengan air sebanyak 100 mL kemudian dihomogenkan dengan sonikator. Selanjutnya dimasukkan ke dalam corong pisah dan dipartisi dengan etil asetat sebanyak 100 mL kemudian dikocok selama 5 menit sambil sesekali dibuka, lalu didiamkan selama 45 menit hingga membentuk 2 lapisan secara maksimal yaitu lapisan etil asetat (fraksi etil asetat) dan lapisan air (residu). Selanjutnya kedua lapisan tersebut dipisahkan. Untuk fraksi etil asetat dipekatkan dengan *waterbath* pada suhu 60°C hingga diperoleh fraksi etil asetat kental (Tanaya dkk., 2017).

3.6 Uji Kualitatif Flavonoid Fraksi Etil Asetat Bunga Kecombrang

1. Test NaOH

Sebanyak 2 ml fraksi etil asetat dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2-4 tetes larutan NaOH 10%, perubahan warna diamati hingga menjadi warna kuning.

2. Test H₂SO₄ pekat

Sebanyak 2 ml fraksi etil asetat dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 4 tetes asam sulfat (H₂SO₄) pekat. Dan mengamati perubahan warna yang terjadi hingga menjadi warna merah.

3. Test FeCl₃

Sebanyak 2 ml fraksi etil asetat dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-4 tetes FeCl₃. Dan mengamati perubahan warna yang terjadi hingga terbentuk warna hijau atau hijau biru menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

3.7 Uji Kuantitatif Flavonoid Fraksi Etil Asetat Bunga Kecombrang

3.7.1 Pembuatan Larutan Kuersetin Induk (1000 ppm)

Ditimbang 25 mg serbuk kuersetin dan dilarutkan dalam methanol p.a serta dicukupkan pada labu ukur 25 mL hingga dihasilkan konsentrasi larutan baku kuersetin 1000 ppm (Rizki dkk., 2016).

3.7.2 Penentuan Panjang Gelombang (λ maks) Kuersetin

Diambil 1 mL kuersetin 1000 ppm dan dicukupkan dengan methanol p.a pada labu ukur 10 mL hingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Lalu sebanyak 1 mL larutan tersebut direaksikan dengan 2 mL AlCl₃ 10% dan 2 mL asam asetat 5%. Kemudian

diinkubasi selama 30 menit dan diukur pada panjang gelombang maksimum 400 - 450 nm (Aminah dkk., 2017). Hasil *running* menunjukkan panjang gelombang maksimum standar baku kuersetin berada pada panjang gelombang 416 nm.

3.7.3 Pembuatan Kurva Kalibrasi Kuersetin

Larutan kuersetin dengan seri konsentrasi dibuat berturut-turut 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Dari masing-masing seri konsentrasi larutan standar kuersetin dipipet 0,2 mL (2 ppm), 0,4 mL (4 ppm), 0,6 mL (6 ppm), 0,8 mL (8 ppm) dan 1 mL (10 ppm) pada larutan kuersetin 100 ppm. Kemudian masing-masing seri konsentrasi tersebut dicukupkan pada labu ukur 10 mL hingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Kemudian 1 mL masing-masing campuran seri kuersetin tersebut ditambahkan dengan 2 mL AlCl_3 10% dan 2 mL asam asetat 5%. Kemudian diinkubasi selama 30 menit dan diukur absorbansi pada panjang gelombang 416 nm.

3.7.4 Penetapan Kadar Flavonoid Total Fraksi Etil Asetat Bunga Kecombrang

Fraksi etil asetat bunga kecombrang ditimbang sebanyak 25 mg dihomogenkan dalam methanol p.a hingga 25 mL dalam labu ukur untuk memperoleh konsentrasi 1000 ppm. Sebanyak 1 ml larutan tersebut diambil dan ditambahkan methanol p.a dalam labu ukur 10 ml untuk memperoleh 100 ppm. Lalu sebanyak 1 mL larutan tersebut direaksikan dengan 2 mL AlCl_3 10% dan 2 mL asam asetat 5%. Kemudian diinkubasi selama 30 menit dan diukur absorbansi pada panjang gelombang 416 nm. Sampel larutan tersebut dilakukan pengukuran absorbansi sebanyak tiga kali replikasi (Aris dkk., 2022).

3.8 Analisis Hasil

Analisis data dihitung berdasarkan kurva kalibrasi hasil pembacaan dari alat spektrofotometri UV-Vis dan persamaan regresi linear dengan menggunakan hukum *Lambert-Beer* seperti berikut (Das *et al.*, 2014).

$$y = bx + a$$

Keterangan :

y = absorbansi

x = konsentrasi (C) mg/L

b = slope (kemiringan)

a = Intersep

Kemudian dihitung kadar flavonoid dengan rumus :

$$\% \text{ Kadar Flavonoid} = \frac{C \times V \times F_p}{BS} \times 100\%$$

Keterangan :

C = Konsentrasi sampel (mg/L)

V = Volume larutan sampel (L)

Fp = Faktor pengenceran

BS = Berat sampel (mg)

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat bunga kecombrang mengandung senyawa flavonoid total dengan kadar sebesar 45,548 mg QE/g atau 45,548%

5.1 Saran

Berdasarkan kadar flavonoid yang didapatkan pada penelitian fraksi etil asetat bunga kecombrang ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yaitu :

1. Memformulasikan dalam bentuk sediaan farmasi.
2. Pengujian aktivitas antioksidan dan isolasi senyawa flavonoid.
3. Pengujian aktivitas secara farmakologi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A. R., Juwita, J., & Ratulangi, S. A. D. (2015). Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.SM). *Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(1), 1–10.
- Bachtiar, R. A., Handayani, S., & Roskiana Ahmad, A. (2023). Penetapan Kadar Flavonoid Total Buah Dengan (*Dillenia serrata*) Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Makassar Natural Product Journal*, 1(2), 2023–2086.
- Eka Kumalasari, Arini Septia, Dwi Rizki Febrianti, & Noor Aisyah. (2023). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Dan Fraksi Etanol, Fraksi Kloroform, Fraksi N-Heksan, Fraksi Air, Fraksi Etil Asetat Dari Daun Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 9(2), 173–180.
- Etlingera, K. (2024). *Pengaruh Metode Ekstraksi Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE) terhadap Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun*. 6.
- Fardi, A. R. A., & Raharjo, S. J. (2022). Pengaruh Metode Pengeringan Kering Angingan Oven Terhadap Karakteristik Simplisia Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior*). *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 9(2), 379.
- Hibatullah AY, Yuliana T. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Polar Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior*) serta Potensi Aplikasinya Pada Produk Daging dan Ikan. *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*, 7(2), 177–188.
- Isyanti, M., Andarwulan, N., & Dan Faridah, D. N. (2019). Karakteristik Fisik dan Fitokimia Buah Kecombrang (*Etlingera elatior*. Jack) R.M. Sm). *Warta IHP*, 36(2), 96–105.
- Indiarto R, Herwanto JA, Filianty F, Lembong E, Subroto E, Muhammad DRA. (2024). Total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity and characteristics of a chocolate beverage incorporated with encapsulated clove bud extract. *CyTA - Journal of Food*, 22(1), 1–15.
- Latifah Priatni, H., & Mukhlis, D. S. (2024). Uji Kualitatif Dan Kuantitatif Kadar Flavonoid Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm.) Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *HERBAPHARMA : Journal of Herb Farmacological*, 6(1), 49–56.

- Made Ngurah, B. I. G. (2022). Analisis Kuantitatif Flavonoid Total Dalam Fraksi Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera cordifolia*). *Jurnal Beta Kimia*, 2(1), 33
- Novitriani, K. (2017). Ekstrak Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior*) Sebagai Indikator Alternatif Pada Media Gula-Gula. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan Dan Farmasi*, 17(1), 81.
- Oktaria, D., & Marpaung, M. P. (2023). Penetapan Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Akar Nipah (*Nypa fruticans Wurmb*) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Lantanida Journal*, 11(1), 36.
- Sandrasari, D. A., Andarwulan, N., Faridah, D. N., & Dewi, F. N. A. (2023). Identifikasi Komponen Aktif Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roscoe var. *Rubrum*) sebagai Sumber Antioksidan dengan Pendekatan Metabolomik Berbasis HPLC. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 19(1), 32.
- Triyana, S. D., Budi Riyanta, A., & Santoso, J. (2020). Pengaruh Perbedaan Waktu Meserasi Terhadap Kandungan Flavonoid Pada Ekstrak Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior*). *Ejournal.Poltektegal.*, 7(1).