



## Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Kadar Total Fenolik dan Flavonoid Daun Kayu Bulan

Anni Satul Qodariyah<sup>1</sup>, Anggun Saputri<sup>2</sup>, Rizqa Salsabila Firdausia<sup>3\*</sup>, Kholif Sholehah Indra Kurniasih<sup>4</sup>

Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta, Jl. Siliwangi, Ringroad Barat, Sleman, 55293, Indonesia

<sup>1</sup> annisatul2204@gmail.com; <sup>2</sup> anggunsaputri663@gmail.com; <sup>3</sup> rizqasalsabilaf@gmail.com\*; <sup>4</sup> kholifsholehahindra@gmail.com

\* corresponding author

### ABSTRACT

Kayu bulan leaves (*Pisonia alba* Span.) is one of the ornamental plants that contains secondary metabolites in the form of phenolic and flavonoids compounds, that contains secondary metabolites in the form of phenolic and flavonoids compounds. The extraction of phenolic and flavonoid compounds was carried out by ultrasonic wave-assisted method (UAE). Phenolic and flavonoid compounds have polar and non-polar properties that can be extracted using solvents such as 70% ethanol, methanol and ethyl acetate. This study aims to determine the effect of solvent type (70% ethanol, methanol and ethyl acetate) on total phenolic and flavonoids content in kayu bulan leaves extract extracted using the UAE method. This research was conducted by analyzing qualitatively using Thin Layer Chromatography method and quantitative using UV-Vis Spectrophotometry. test results, it shows that the kayu bulan leaves extract positively contains flavonoids and phenolics. Quantitative results showed that the total phenolic content was respectively; 70 % ethanol extract ( $16.2085 \pm 0.7359$ ) mg GAE/gram, extract methanol extract ( $24.3005 \pm 0.7305$ ) mg GAE/gram and ethyl acetate extract ( $28.5957 \pm 0.7305$ ) mg GAE/gram. Meanwhile, the total flavonoid content in 70% ethanol extract was  $21.28 \pm 0.473$  mg QE/g, methanol extract was  $58.68 \pm 1.767$  mg QE/g, and ethyl acetate extract was  $118.152 \pm 2.146$  mg QE/g. It can be concluded that the highest total flavonoid and phenolic content was obtained in the ethyl acetate extract.

### ARTICLE INFO

#### Article history

Received: 21 Oktober 2024

Revised: 1 November 2024

Accepted: 15 November 2024

#### Keywords

Total phenolics and flavonoids

70% ethanol

ethyl acetate

methanol

Ultrasound assisted extraction (UAE)

*Pisonia alba* Span

### I. Pendahuluan

Indonesia terkenal dengan keberagaman dan kelimpahan sumber daya alamnya, termasuk sumber daya hayati maupun nonhayati. Segala kekayaan alam yang dihasilkan oleh makhluk hidup yang selanjutnya dimanfaatkan oleh manusia untuk keberlangsungan hidup dikenal sebagai sumber daya hayati, sementara kekayaan alam yang berasal dari benda mati dikenal sumber daya non-hayati. Salah satu kekayaan hayati berasal dari tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai pendukung keberlangsungan hidup masyarakat. Berbagai macam manfaat dari tanaman sudah diketahui oleh masyarakat sehingga telah banyak dibudidayakan diperkebunan atau dipekarangan rumah. Suatu tanaman dapat bermanfaat karena pada salah satu atau seluruh bagiannya mengandung metabolit sekunder seperti fenolik dan flavonoid [1].

Fenolik merupakan senyawa yang mempunyai aktivitas antimikroba, antikarsinogenik, antioksidan yang terbesar dalam tanaman [2] dan ditemukan di alam dalam bentuk ester atau glikosida. Senyawa fenol terdiri atas sebuah cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Senyawa



fenol ada dalam bentuk struktur yang sederhana hingga struktur kompleks yang rumit seperti tanin dan juga lignin [3].

Flavonoid adalah senyawa fenol alam yang terdapat dalam hampir semua tumbuhan. Sejumlah tanaman obat yang mengandung flavonoid telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi, dan antikanker. Flavonoid merupakan golongan senyawa polifenol yang diketahui memiliki sifat sebagai penangkap radikal bebas, penghambat enzim hidrolisis dan oksidatif, dan bekerja sebagai antiinflamasi [4]. Flavonoid dalam bentuk glikosilasi atau metilasi pada tanaman, struktur strukturnya lebih stabil, mudah didapatkan serta mudah dalam bioaktivitasnya. Flavonoid mempunyai aglikon yang bersifat kurang polar, seperti flavonon, flavon, isoflavon [5]. Salah satu tanaman yang kaya akan senyawa fenolik dan flavonoid yang masih belum banyak diteliti dan dikembangkan adalah daun kayu bulan atau juga dapat disebut dengan *Pisonia alba* span. Tanaman kayu bulan mengandung senyawa metabolit sekunder fenolik, flavonoid secara keseluruhan.

Pengambilan senyawa flavonoid dan fenolik pada daun kayu bulan dapat dilakukan melalui proses dengan beberapa metode ekstraksi. Metode UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*) atau yang biasa disebut ultrasonikasi adalah salah satu metode yang dapat digunakan. Metode ultrasonikasi merupakan suatu cara yang membantu pelarutan suatu pelarut ke dalam sel tanaman, sehingga memungkinkan untuk mendapatkan lebih banyak metabolit sekunder. Proses ultrasonikasi mengandalkan energi gelombang sebagai sumber proses penguapan yang ditandai dengan terbentuknya gelembung-gelembung kecil [6]. Metode ultrasonikasi memiliki keuntungan dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional karena metode ini menggunakan gelombang ultrasonik. Oleh karena itu, dengan adanya gelombang ultrasonik metode ultrasonikasi dipilih karena lebih efisien dan waktu penggunaannya lebih singkat [7].

Metode ultrasonikasi memiliki beberapa faktor-faktor yang dapat mempengaruhi laju dan hasil ekstraksi, salah satunya adalah jenis pelarut. Keberhasilan dalam mengekstraksi suatu senyawa tertentu menggunakan pelarut sangat ditentukan oleh sifat senyawa yang larut dalam pelarutnya, mengiktui prinsip "*like dissolve like*". Hal tersebut menunjukkan bahwa perbedaan jenis pelarut mempengaruhi hasil kadar flavonoid total. Berdasarkan referensi yang ada, belum terdapat penelitian yang melakukan uji terhadap pengaruh jenis pelarut etanol 70%, metanol, dan etil asetat sebagai pelarut ekstraksi terhadap kadar total fenolik dan flavonoid pada daun kayu bulan. Dikarenakan itu, peneliti akan melakukan penelitian untuk mendapatkan kadar fenolik dan flavonoid paling tinggi dari daun kayu bulan yang diekstraksi menggunakan metode ultrasonikasi dengan pelarut yang memiliki indeks polaritas yang berbeda.

## 2. Metode

### 2.1. Alat dan Bahan Penelitian

Alat: ayakan 40 mesh, gelas beaker (500 mL), corong, erlenmeyer, gelas takar (100 ml), grinder, *waterbath*, sonikator (*Cole Parmer Waterbath Sonicator*), timbangan analitik (Ohaus SW version 10S), oven listrik (Mettler), bejana atau chamber, penggaris, pensil, sinar tampak UV 254 dan 365 nm, cawan proselin (125 mL), kaca arloji, labu takar (5 mL, 10 mL, 50 mL, 100 mL), pipet tetes, mikropipet (Eppendorf), spektrofotometer UV-Vis (*Genesys 10S UV-VIS Spectrophotometer*), tabung reaksi.

Bahan: daun kayu bulan (*Pisonia alba* Span.) yang didapat dalam kondisi utuh, segar, dan tidak ada pengotor; etanol 70%, metanol, dan etil asetat, kertas Whatman no. 1, etil asetat, kloroform, *n*-heksan (*p.a.*), white tip, ekstrak etanol 70% daun kayu bulan, ekstrak metanol daun kayu bulan, ekstrak etil asetat daun kayu bulan, blue tip, kuersetin (*Sigma-aldrich*), aluminium klorida 10% (AlCl<sub>3</sub>), etanol p.a, asam asetat 5% (Merck), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Natrium Karbonat), pereaksi Folin- Ciocalteu (Merck), pereaksi FeCl<sub>3</sub>, Silika gel F254 dan aquadest.

### 2.2. Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan di salah satu Laboratorium Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, yaitu Laboratorium Sistematika Tumbuhan dengan nomor 0306/S.Tb./IV/2023 dan dinyatakan bahwa sampel merupakan *Pisonia alba* Span.

### 2.3. Perparasi dan Ekstraksi Sampel

Daun kayu bulan yang telah dikumpulkan dicuci pada air mengalir kemudian disortasi basah. Selanjutnya, tiriskan dan keringkan pada suhu 40°C sampai kering. Simplisia daun kayu bulan kering grinder dan disaring dengan ayakan berukuran 40 mesh. sebanyak 400 gram untuk setiap percobaan, kemudian dilarutkan dalam masing-masing pelarut (etanol 70%, metanol, dan etil asetat) dengan perbandingan 1:10 (berat/volume), sehingga setiap jenis pelarut membutuhkan 400 mL. Kemudian diekstraksi selama 45 menit menggunakan sonikator pada frekuensi 40 kHz. Selanjutnya, digunakan kertas saring untuk menyaring larutan. Filtrat yang dihasilkan selanjutnya diuapkan dengan penangas air pada suhu 45°C dan hasilnya berupa ekstrak kental daun kayu bulan dengan kadar air kurang dari 10%. Setelah didapatkan ekstrak kental, dilakukan perhitungan % rendemen.

### 2.4. Analisis Kualitatif

Analisis kualitatif dilakukan menggunakan metode KLT dengan masing-masing ekstrak etanol 70%, methanol dan etil asetat sebagai berikut :

#### 2.4.1. Fenolik

Ditimbang masing-masing ekstrak sebanyak 100 mg kemudian larutkan dalam etanol p.a hingga volume 10 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 10.000 ppm ekstrak daun kayu bulan. Sebelum digunakan diaktifkan plat KLT dengan memasukkan ke dalam *oven* selama 45 menit pada suhu 1000 C [8]. Kemudian ditotolkan pada plat menggunakan *white tip* pada jarak 1 cm dari garis bawah. Plat KLT yang digunakan terbuat dari silika gel F254 dengan ukuran 10 x 5 cm. Selanjutnya di elusi menggunakan fase gerak *n*-heksan: etil asetat: etanol dengan perbandingan (1:8:1). Setelah terelusi lempeng diangkat dan dikeringkan, diamati bercak pada lampu UV254 nm dan UV 365 nm.

#### 2.4.2. Flavonoid

Ditimbang masing-masing ekstrak sebanyak 100 mg kemudian larutkan dalam etanol p.a hingga volume 10 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 10.000 ppm ekstrak daun kayu bulan. Sebelum digunakan diaktifkan plat KLT dengan memasukkan ke dalam *oven* selama 45 menit pada suhu 1000 C [6]. Kemudian ditotolkan pada plat menggunakan *white tip* pada jarak 1 cm dari garis bawah. Plat KLT yang digunakan terbuat dari silika gel F254 dengan ukuran 10 x 5 cm. Selanjutnya di elusi menggunakan fase gerak etanol: etil asetat: kloroform dengan perbandingan (1,5:2:8,5). Setelah terelusi lempeng diangkat dan dikeringkan, diamati bercak pada lampu UV254 nm dan UV 365 nm.

### 2.5. Analisis Kuantitatif

#### 2.5.1. Pembuatan Larutan Baku Asam Galat (Baku Pembanding Fenolik)

Sebanyak 10 mg asam galat ditimbang, lalu larutkan dalam aquadest hingga mencapai volume 10 mL dalam labu takar dan menghasilkan larutan dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan stok 1000 ppm kemudian diencerkan dengan menggunakan 10 mL etanol *p.a* untuk menghasilkan seri larutan dengan konsentrasi berturut-turut 50, 75, 100, 125, dan 150 ppm, kemudian Masing-masing 250 µL dari seri larutan ini diambil dan dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 4 mL aquadest, 250 µL reagen Folin Ciocalteu dan 500 µL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 35%, lalu diaduk hingga mencapai kehomogenan dan diinkubasi selama 62 menit pada suhu ruang. Absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ 770 nm. Selanjutnya, lakukan pembuatan kurva korelasi antara kadar asam galat (ppm) dan nilai absorbansi [9].

#### 2.5.2. Pembuatan Larutan Baku Kuersetin (Baku Pembanding Flavonoid)

Ditimbang 100 mg standar kuersetin, selanjutnya dilarutkan dalam etanol *p.a* hingga mencapai batas volume pada labu takar 100 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Kemudian dilakukan pembuatan seri kadar 25, 50, 75, 100, dan 125 dengan memipet sebanyak 0,125; 0,250;0,375;0,5; dan 0,625 mL dimasukkan ke dalam labu takar 5 mL dengan etanol *p.a*. Kemudian

pipet 1 mL dari setiap konsentrasi dalam seri standar kuersetin dan ditambahkan 1 mL  $AlCl_3$  10% dan dengan 8 mL asam asetat 5%. Larutan dicampur sampai merata dan didiamkan selama 32 menit. Masing-masing konsentrasi larutan kuersetin yang diperoleh ditentukan absorbansinya pada panjang gelombang 415nm [10].

### 2.5.3. Penentuan Kadar Fenolik Total

Pengujian kadar fenolik pada semua ekstrak dilakukan dengan cara menimbang ekstrak sebanyak 100 mg dan dilarutkan dengan etanol *p.a* hingga mencapai 10 mL dan diperoleh konsentrasi 10.000 ppm. Larutan stok 10.000 ppm diambil sejumlah 5 mL untuk membuat konsentrasi 5000 ppm sampai volume 10 mL dengan etanol *p.a*. masing-masing dipipet sebanyak 250  $\mu$ L ditambahkan dengan aquadest 4 mL. Setelah itu tambahkan 250  $\mu$ L reagen Folin-Ciocalteu dan tambahkan 500  $\mu$ L  $Na_2CO_3$  35%. Selanjutnya, inkubasi sampel pada suhu ruang selama OT dan absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan 4 kali pengulangan pada panjang gelombang maksimum [11].

### 2.5.4. Penentuan Kadar Flavonoid Total

Ditimbang sebanyak 100 mg dari setiap ekstrak dan ditambahkan dengan etanol *p.a* hingga volumenya mencapai 10 mL, menghasilkan larutan konsentrasi 10.000 ppm. Kemudian dilakukan pengenceran pada ekstrak etanol 70% dengan mengambil 2,5 mL dari larutan 10.000 ppm yang dilarutkan juga dalam etanol *p.a* hingga volumenya mencapai 10 mL. Selanjutnya, pengenceran pada ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat dengan mengambil 1 mL dari larutan 10.000 ppm yang sama dilarutkannya menggunakan etanol *p.a* hingga volumenya mencapai 10 mL. Diambil 1 mL ekstrak etanol 70%, ekstrak metanol, dan ekstrak etil asetat. Selanjutnya, ditambahkan asam asetat 5% sebanyak 8 mL dan juga larutan  $AlCl_3$  10% 1 mL ke dalam masing-masing sampel. Larutan dicampur sampai merata dan didiamkan selama 32 menit. Masing-masing konsentrasi larutan kuersetin yang diperoleh ditentukan absorbansinya pada panjang gelombang 415nm.

## 2.6. Analisis statistik

Data analisis fenolik dan flavonoid ditunjukkan sebagai nilai rata-rata kadar total fenolik dan flavonoid. Data hasil pengujian dianalisa dengan menggunakan Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui distribusi normal, homogenitas juga diuji dengan menggunakan uji Levene's. Pada uji fenolik data homogen dan terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan uji One Way Anova, Untuk mengetahui sampel yang memiliki perbedaan signifikan maka dilanjutkan uji *LSD*. Sedangkan pada uji flavonoid data tidak terdistribusi normal, sehingga uji dilanjutkan dengan non parametrik test menggunakan uji Kruskal-Wallis pada taraf kepercayaan 95%. Untuk mengetahui sampel yang memiliki perbedaan signifikan maka dilanjutkan uji *Pairwise Comparison*.

## 3. Hasil dan Pembahasan

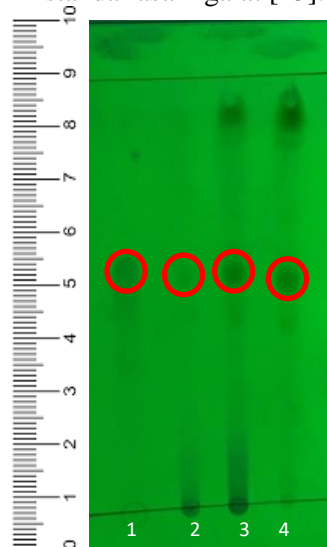
Pada awal penelitian dilakukan proses identifikasi tanaman dilakukan untuk memperoleh kebenaran identitas dengan jelas dari tanaman yang akan diteliti, sehingga dapat dipastikan bahwa sampel yang digunakan adalah daun kayu bulan (*Pisonia alba* Span.). Selanjutnya dilakukan preparasi sampel dengan cara dicuci menggunakan air yang mengalir. Selanjutnya, Daun yang sudah bersih dirajang atau dipotong menjadi ukuran yang lebih kecil kemudian dikeringkan dengan angin disuhu ruang. Setelah itu, daun kayu bulan dioven dengan suhu 40°C. Mutu simplisia yang baik akan dihasilkan oleh pengeringan yang tepat sehingga tidak akan terjadi pertumbuhan jamur, dan memungkinkan penyimpanan dalam jangka waktu yang panjang tanpa mengubah kandungan bahan aktifnya [12]. Sampel yang sudah siap kemudian diekstraksi dengan metode UAE. Metode ini didasarkan pada prinsip adanya gelombang kavitasi pada sampel yang akan diekstraksi, kemudian meningkatkan penetrasi pelarut serta merusak dinding sel. Akibatnya, senyawa aktif yang terdapat dalam sampel dapat dikeluarkan dengan mudah dan cepat, sehingga hasil ekstraksi menjadi optimal [13].

Berdasarkan hasil rendemen yang ditunjukkan pada (Tabel 1) masing-masing pelarut menghasilkan nilai rendemen yang cukup berbeda. Ekstrak dengan menggunakan pelarut ekstraksi etanol 70% dan metanol memiliki rendemen paling baik atau memenuhi syarat yaitu  $> 7,2\%$ . Namun, pelarut ekstraksi etil asetat tidak memenuhi syarat. Hal ini dipengaruhi oleh perbedaan jenis pelarut terhadap hasil jumlah ekstrak yang didapatkan. Beberapa faktor dapat memengaruhi jumlah rendemen yang diperoleh, termasuk dari konsentrasi pelarut, jenis polaritas pelarut, viskositas, ukuran partikel simplisia, dan lamanya waktu perendaman simplisia [14].

**Tabel 1.** Hasil Rendemen Ekstrak Kental Daun Kayu Bulan

Ekstrak	Berat simplisia (gr)	Berat wadah + ekstrak (gr)	Berat wadah kosong (gr)	Berat ekstrak (gr)	Rendemen (%)
Etanol 70%	40	18,4481	12,2931	6,155	15,3875
Metanol	40	17,5760	12,4112	5,1648	12,912
Etil asetat	40	14,6199	13,0512	1,5687	3,922

Analisis kualitatif menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dipilih karena kemampuannya dalam memisahkan senyawa berdasarkan perbedaan polaritas dan ukuran molekulnya. Proses analisa senyawa fenolik dengan pembandingan asam galat dilakukan dengan menggunakan fase gerak yang telah dioptimalkan yaitu, *n*-heksan: etil asetat: etanol dengan perbandingan (1:8:1). Hasil identifikasi pada (Gambar 1) dalam ekstrak daun kayu bulan terlihat adanya bercak pada plat KLT. Hasil dari nilai Rf yang ditunjukkan pada (Tabel 2) bahwa dalam sampel ekstrak terdeteksi keberadaan senyawa senyawa fenolik, yang dibuktikan dengan nilai Rf sekitar  $\pm 0,02$ , yang mendekati nilai Rf standar asam galat [15].



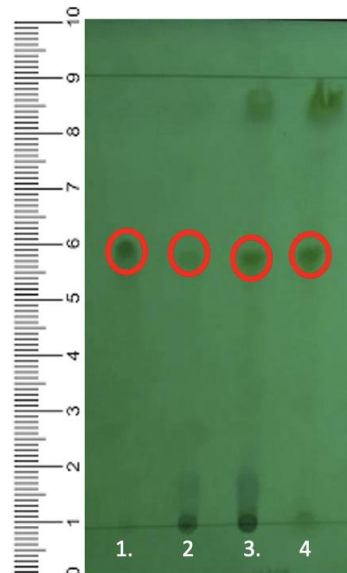
Keterangan: 1: standar asam galat; 2: ekstrak etanol 70%; 3: ekstrak metanol; 4: ekstrak etil asetat

**Gambar 1.** Hasil Uji KLT Sampel Dibandingkan dengan standar Asam Galat

**Tabel 2.** Nilai Rf Fenolik Sampel Ekstrak Etanol 70%, metanol, dan etil asetat

Sampel (Ekstrak)	Nilai Rf	
	Sampel	Standar Asam Galat
Etanol 70%	0,5625	0,575
Metanol	0,5625	
Etil asetat	0,55	

Analisis senyawa flavonoid dengan standar kuersetin yang dilakukan menggunakan fase gerak kombinasi pelarut etanol: etil asetat: kloroform (1,5: 2: 8,5). Hasil pengamatan yang dilakukan pada 3 ekstrak dapat dilihat pada (Gambar 2). Ketiga ekstrak tersebut dapat terelusi dengan baik dan menghasilkan bercak noda yang sejajar jika dilihat secara visual. Untuk memperjelas hasil dapat dilakukan penglihatan dibawah sinar UV 254 nm dan 365 nm. Selanjutnya dilakukan perhitungan Rf pada masing-masing sampel ekstrak yang memiliki bercak noda. Hasil perhitungan dapat dilihat pada (Tabel 3), hasil uji KLT dapat dikatakan positif mengandung flavonoid karena nilai Rf pada masing-masing ekstrak berada dikisaran  $\pm 0,02$  dari nilai Rf standar kuersetin [16].



Keterangan: 1: standar kuersetin; 2: ekstrak etanol 70%; 3: ekstrak metanol; 4: ekstrak etil asetat

**Gambar 2.** Hasil Uji KLT Sampel Dibandingkan dengan standar kuersetin

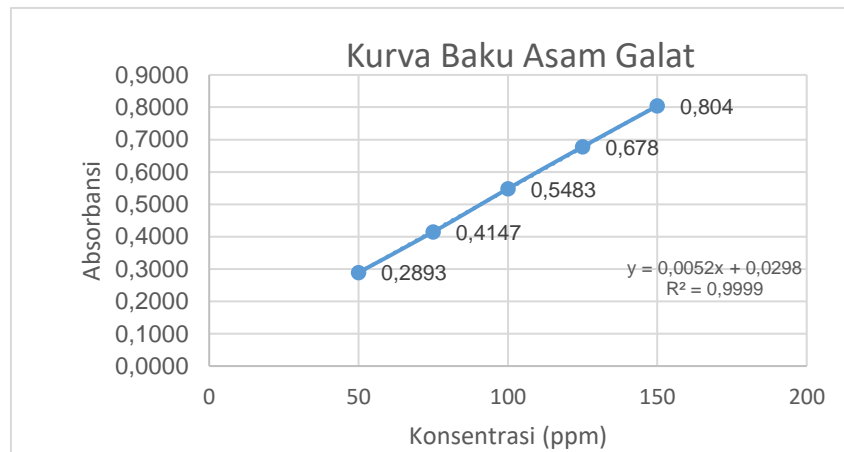
**Tabel 3.** Nilai Rf Flavonoid Sampel Ekstrak Etanol 70%, metanol, dan etil asetat

Sampel (Ekstrak)	Nilai Rf	
	Sampel	Standar Kuersetin
Etanol 70%	0,6	0,625
Metanol	0,6	
Etil asetat	0,612	

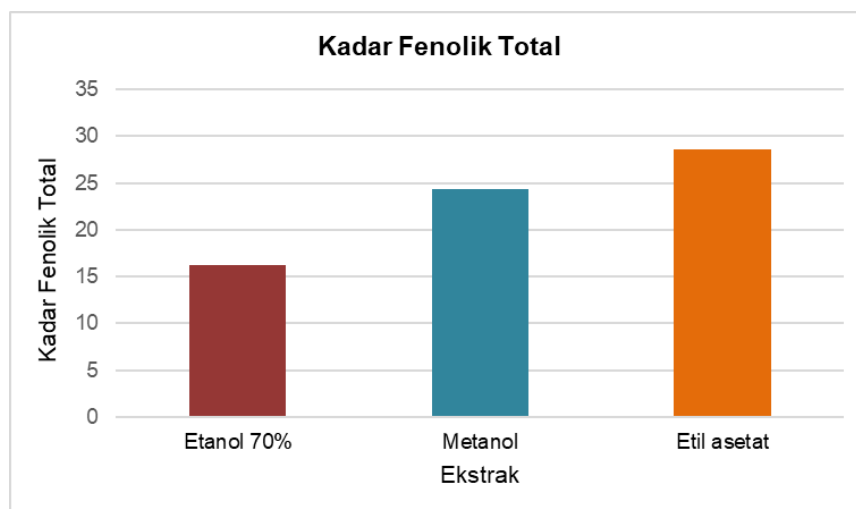
Penetapan kadar fenolik total dilakukan dengan menggunakan metode Folin Ciocalteu. Prinsip metode Folin Ciocalteu didasarkan pada reaksi yang terjadi antara reagen Folin Ciocalteu terhadap senyawa fenolat (garam alkali) atau gugus fenolik-hidroksi. Penambahan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  mengakibatkan terjadinya reduksi pada asam heteropoli (fosfomolibdatfosfotungstat) dalam suasana basa. Efek dari perubahan ini menghasilkan kondisi yang menginduksi terbentuknya kompleks berwarna biru dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu yang selanjutnya dapat diukur dengan menggunakan spektrofotometri visible pada panjang gelombang 770 nm [17]. Dalam penelitian ini, asam galat digunakan sebagai standar pembanding senyawa fenolik. Reaksi asam galat dengan reagen Folin Ciocalteu menghasilkan larutan kuning yang menunjukkan keberadaan senyawa fenolik. Penambahan natrium karbonat membentuk kompleks biru, dengan intensitas yang meningkat seiring jumlah senyawa fenolik dalam sampel. Hal ini disebabkan oleh sifat senyawa fenolik yang larut dalam air dan dapat membentuk ikatan glikosida dengan gula [18].

Hasil analisis menunjukkan kurva kalibrasi dengan persamaan  $y = 0,0052x + 0,0298$  dan koefisien korelasi  $r = 0,9999$ . Pengukuran kadar fenolik dengan 4 kali replikasi menunjukkan ekstrak etil asetat memiliki kadar tertinggi ( $28,5957 \pm 1,0379$  mg GAE/gram), diikuti oleh ekstrak metanol

( $24,3005 \pm 0,7305$  mg GAE/gram) dan etanol 70% ( $16,2085 \pm 0,7359$  mg GAE/gram). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat lebih efektif dalam melarutkan senyawa fenolik, sehingga sebagian besar senyawa fenolik dalam daun kayu bulan bersifat semipolar. Kandungan fenolik dalam ekstrak etanol 70% dan metanol lebih rendah dibandingkan ekstrak etil asetat, kemungkinan karena zat polar seperti karbohidrat ikut terekstrak. Akibatnya, kandungan fenolik dalam ekstrak etanol 70% dan metanol lebih rendah. Penemuan ini konsisten dengan penelitian Wanena et al. (2021) yang menunjukkan kadar fenolik lebih tinggi pada ekstrak etil asetat dibandingkan ekstrak etanol 70% dan metanol.



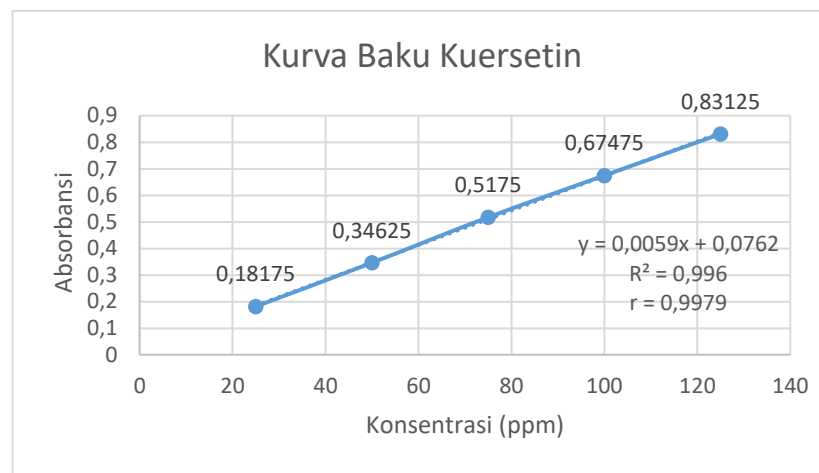
**Gambar 3.** Kurva Baku Asam Galat



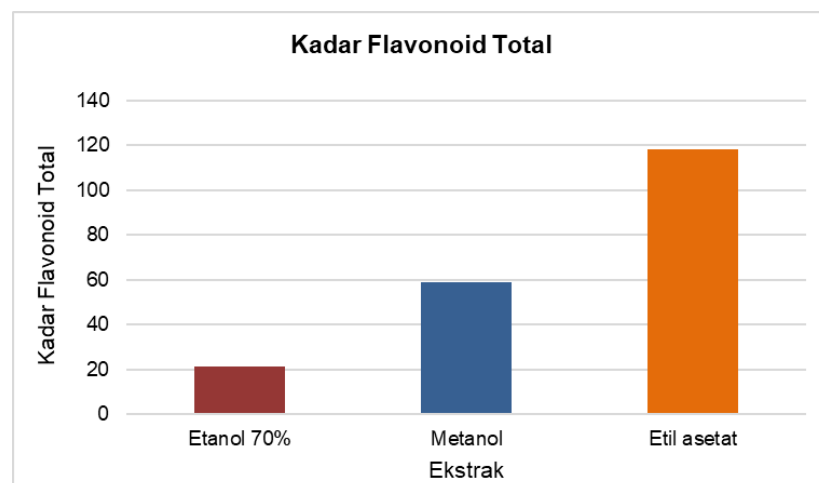
**Gambar 4.** Kadar Fenolik Total

Kadar flavonoid total pada sampel ditentukan dengan metode kolorimetri atau pembentukan warna. Pembentukan warna terjadi karena adanya  $\text{AlCl}_3$  10%. Terbentuknya kompleks  $\text{AlCl}_3$  dengan gugus keton pada C4 dan gugus OH pada C5 pada senyawa flavonol membentuk senyawa kompleks yang stabil. Kuersetin digunakan sebagai pembanding sampel. Kuersetin akan bereaksi dengan  $\text{AlCl}_3$  menghasilkan warna kuning yang menunjukkan terdapat senyawa flavonoid. Dan ditambahkan asam asetat 5% untuk mempertahankan panjang gelombang pada saat pengukuran absorbansi. Berdasarkan hasil pembuatan kurva baku larutan standar kuersetin yang dapat dilihat pada (Gambar 4) didapatkan persamaan regresi linear  $y = 0,0059x + 0,0762$  dengan nilai  $r$  yaitu 0,9979 dan dapat dikatakan linear atau baik karena hasilnya mendekati satu. Pengukuran absorbansi dilakukan (4 kali) replikasi dengan tujuan menghindari kesalahan percobaan tiap pengukuran. Berdasarkan hasil yang diperoleh seperti yang terlihat pada (Tabel 5) ekstrak etil asetat menunjukkan kadar yang lebih tinggi yaitu  $118,152 \pm 2,146$  mg QE/g, sedangkan ekstrak metanol yaitu  $58,68 \pm 1,767$  mg QE/g, dan  $21,28 \pm 0,473$

mg QE/g pada ekstrak etanol 70%. Hal ini menunjukkan sifat semi-polar dari pelarut etil asetat memungkinkannya menarik senyawa flavonoid yang memiliki sifat polar maupun nonpolar dari tanaman. Diduga bahwa senyawa flavonoid yang terdapat dalam sampel bersifat semipolar yang akan larut dengan mudah dalam pelarut semi-polar.



**Gambar 5.** Kurva Baku Kuersetin



**Gambar 6.** Kadar Flavonoid Total

Penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah senyawa yang larut dalam etanol 70% yang memiliki sifat polar cenderung lebih sedikit dibandingkan dengan jumlah senyawa yang larut dalam etil asetat dan metanol. Ekstrak etil asetat memiliki kemampuan yang baik dalam melarutkan lebih banyak senyawa fenolik dan flavonoid sehingga, sebagian besar senyawa fenolik dan flavonoid yang terkandung dalam daun kayu bulan bersifat semipolar. Kemudian kandungan total fenolik dan flavonoid dalam ekstrak etanol 70% dan metanol lebih rendah dibandingkan dengan kandungan dalam ekstrak etil asetat. Hal ini diduga terjadi karena adanya zat-zat yang bersifat polar, seperti karbohidrat, yang ikut terekstrak selama proses ekstraksi etanol dan metanol. Sebagai akibatnya, keberadaan komponen polar tersebut menyebabkan kandungan fenolik dan flavonoid yang dihasilkan dari daun kayu bulan menjadi lebih rendah [19]. Dengan demikian, ekstrak etil asetat lebih efektif dalam melarutkan senyawa fenolik dan flavonoid dibandingkan ekstrak etanol 70% dan metanol. Perbedaan ini menunjukkan bahwa kadar fenolik dan flavonoid yang diekstraksi dengan etil asetat secara signifikan berbeda dengan kadar fenolik dan flavonoid yang diekstraksi dengan etanol 70% yang dibuktikan dengan nilai  $\text{sig} < 0,05$ .



#### 4. Kesimpulan

Adanya perbedaan pelarut ekstraksi (etanol 70%, metanol, dan etil asetat) pada daun kayu bulan (*Pisonia alba* Span.) berpengaruh secara signifikan terhadap kadar total fenolik dan flavonoid sampel ( $\text{sig} < 0,05$ ) dimana kadar tertinggi ditunjukkan pada ekstrak etil asetat.

#### 5. Ucapan Terimakasih

Tim peneliti mengucapkan terima kasih kepada Prodi Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta yang telah memberikan sarana dan prasarana sehingga memungkinkan tim peneliti untuk menambah wawasan dan pengetahuan melalui penelitian ini. Semoga penelitian ini dapat membawa manfaat bagi kemajuan bangsa Indonesia.

#### Referensi

- [1] D. Susiloningrum and D. Indrawati, "Penapisan Fitokimia Dan Analisis Kadar Flavonoid Total Rimpang Temu Mangga (*Curcuma Mangga Valetton & Zipp.*) Dengan Perbedaan Polaritas Pelarut," *J. Keperawatan dan Kesehat. Masy. Cendekia Utama*, vol. 9, no. 2, p. 126, 2020, doi: 10.31596/jcu.v9i2.593.
- [2] K. Ngibad, "Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolik, Dan Kadar Flavonoid Total Daun Jati Cina (*Senna alexandrina*)," *Lantanida J.*, vol. 11, no. 1, pp. 24–35, 2023.
- [3] R. Nugrahani, Y. Andayani, and A. Hakim, "Skrining Fitokimia Dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus Vulgaris* L) Dalam Sediaan Serbuk," *J. Penelit. Pendidik. IPA*, vol. 2, no. 1, 2016, doi: 10.29303/jppipa.v2i1.38.
- [4] D. Kartikasari, M. Ropiqa, and D. N. Oktavianti, "Pengaruh Perbandingan Konsentrasi Pelarut Terhadap Kadar Flavonoid Total Pada Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*)," *J. Insa. Farm. Indones.*, vol. 1, no. 2, pp. 218–226, 2018.
- [5] B. Arifin and S. Ibrahim, "Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid," *J. Zarah*, vol. 6, no. 1, pp. 21–29, 2018, doi: 10.31629/zarah.v6i1.313.
- [6] D. I. Sari and L. Triyasmono, "Rendemen dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Batang Bangkal (*Nauclea subdita*) dengan Metode Maserasi Ultrasonikasi," *J. Pharmascience*, vol. 4, no. 1, pp. 48–53, 2017, doi: 10.20527/jps.v4i1.5755.
- [7] T. T. Soebagio, Y. S. Hartini, and E. Mursyanti, "Aktivitas Antibakteri Sediaan Sabun Wajah Cair Ekstrak Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*," *Biota J. Ilm. Ilmu-Ilmu Hayati*, vol. 5, no. 2, pp. 69–80, 2020, doi: 10.24002/biota.v5i2.2698.
- [8] M. D. A. Listiawati, K. Nastiti, and M. Audina, "Pengaruh Perbedaan Jenis Pelarut Terhadap Kadar Fenolik Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata* L.)," *J. Pharm. Care Sci.*, vol. 3, no. 1, pp. 110–120, 2022, doi: 10.33859/jpcs.v3i1.234.
- [9] D. Andriani and L. Murtisiwi, "Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.) Dengan Spektrofotometri Uv Vis," *Cendekia J. Pharm.*, vol. 2, no. 1, pp. 32–38, 2018, doi: 10.31596/cjp.v2i1.15.
- [10] N. K. L. P. Yani, K. Nastiti, and Noval, "Pengaruh Perbedaan Jenis Pelarut Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)," *J. Surya Med.*, vol. 9, no. 1, pp. 34–44, 2023, doi: 10.33084/jsm.v9i1.5131.
- [11] L. A. R. Dewantara, A. D. Ananto, and Y. Andayani, "Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Kacang Panjang (*Vigna unguiculata*) dengan Metode Spektrofotometri UV-Visible," *Lambung Farm. J. Ilmu Kefarmasian*, vol. 2, no. 1, p. 102, 2021, doi: 10.31764/lf.v2i1.3759.
- [12] N. Fahmi, I. Herdiana, and R. Rubiyanti, "Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Mutu

- Simplisia Daun Pulutan (*Urena lobata* L.),” *Media Inf.*, vol. 15, no. 2, pp. 165–169, 2020, doi: 10.37160/bmi.v15i2.433.
- [13] S. Unawahi, A. Widyasanti, and S. Rahimah, “Ekstraksi Antosianin Bunga Telang (*Clitoria ternatea* Linn) dengan Metode Ultrasonik Menggunakan Pelarut Aquades dan Asam Asetat,” *J. Keteknikan Pertan. Trop. dan Biosist.*, vol. 10, no. 1, pp. 1–9, 2022, doi: 10.21776/ub.jkptb.2022.010.01.01.
- [14] D. L. Y. Handoyo, “The Influence Of Maseration Time (Immeration) On The Vocity Of Birthleaf Extract (Piper Betle),” *J. Farm. Tinctura*, vol. 2, no. 1, pp. 34–41, 2020, doi: 10.35316/tinctura.v2i1.1546.
- [15] S. I. Ayu, L. Pratiwi, and S. N. Nurbaeti, “Uji Kualitatif Senyawa Fenol dan Flavonoid Dalam Ekstrak N-Heksan Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis,” *J. Mhs. Farm. Fak. Kedokt. UNTAN*, vol. 4, no. 1, pp. 1–6, 2019.
- [16] E. S. Syamsul, Y. Y. Hakim, and H. Nurhasnawati, “Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis,” *J. Ris. Kefarmasian Indones.*, vol. 1, no. 1, pp. 11–20, 2019, doi: 10.33759/jrki.v1i1.46.
- [17] R. Alfian and H. Susanti, “Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus Sabdariffa* Linn) Dengan Variasi Tempat Tumbuh Secara Spektrofotometri,” *Pharmaciana*, vol. 2, no. 1, 2012, doi: 10.12928/pharmaciana.v2i1.655.
- [18] C. E. Dhurhaniana and A. Novianto, “Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*),” *J. Farm. Dan Ilmu Kefarmasian Indones.*, vol. 5, no. 2, p. 62, 2018, doi: 10.20473/jfiki.v5i22018.62-68.
- [19] T. Wanena, E. Suryanto, and D. G. Katja, “Aktivitas Penangkal Radikal Bebas Daun *Chisocheton* sp. (C.Dc) Harms (Meliaceae),” *J. LPPM Bid. Sains dan Teknol.*, vol. 6, no. 1, pp. 8–14, 2021.