

PENENTUAN KADAR FLAVONOID EKSTRAK ETANOL FRAKSI N-HEKSAN, FRAKSI ETIL ASETAT DAN FRAKSI AIR DAUN KETEPENG CINA (*Cassia alata* L.) DITINJAU DARI LAMA WAKTU EKSTRAKSI

Febriyanto Eko Syahputra¹⁾, Anita Dwi Septiarini²⁾, Desy Ayu Irma Permatasari³⁾

¹Mahasiswa S1 Farmasi, Universitas Duta Bangsa, ^{2,3}Dosen S1 Farmasi, Universitas Duta Bangsa
^{1,2,3}Jl. Pinang Raya No.47, Jati, Cemani, Grogol, Sukoharjo
Email: ¹febriyantoekosyahputra@gmail.com

Abstrak

Bahan alam telah lama dikenal baik sebagai obat, bahan makanan, bumbu, kosmetik, maupun sebagai bahan ramuan yang digunakan dalam upacara ritual keagamaan. Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut mengenai pengujian kadar flavonoid ekstrak etanol daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.), sehingga potensi tumbuhan ini sebagai bahan baku obat untuk pencegahan maupun pengobatan berbagai penyakit dapat lebih dikembangkan secara maksimal. Tujuan penelitian ini untuk menerangkan pengaruh perbedaan lamanya waktu ekstraksi terhadap kadar flavonoid dengan memanfaatkan daun ketepeng cina. Metode yang digunakan adalah penelitian eksperimental yang terdiri dari tiga kelompok perlakuan pengestraksian tumbuhan yaitu lama waktu ekstraksi 6, 8, dan 10 hari. Metode ekstraksi menggunakan maserasi dengan pelarut etanol 70% yang kemudian di fraksinasi menggunakan N-Heksan, Etil asetat dan Air. Kadar flavonoid diperoleh menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Rendemen hasil ekstraksi yang diperoleh pada lama waktu 6, 8 dan 10 hari secara berturut-turut sebanyak 24,21; 28,00 dan 32,03 % dengan kadar flavonoid yang diperoleh dalam 100 g sample masing-masing yaitu, maserasi 6 hari dengan Fraksi N-Heksan 0,53 mg, 8 mg, 0,9 mg, Etil asetat 30 mg, 31 mg, 30 mg, Air 9 mg, 8,4 mg, 9 mg, lalu maserasi 8 hari fraksi N-Heksan 9,2 mg, 3,1 mg, 9,7 mg, Etil asetat 75 mg, 74 mg, 75 mg, Air 22 mg, 23 mg, 23 mg, dan maserasi 10 hari fraksi N-Heksan 15 mg, 15 mg, 16 mg, Etil asetat 206 mg, 187 mg, 189, Air 95 mg, 97 mg, 96 mg.

Kata kunci: Waktu ekstraksi, fraksinasi, spektrofotometri UV-Vis, flavonoid

PENDAHULUAN

Obat Tradisional (OT) merupakan salah satu warisan budaya bangsa Indonesia yang telah digunakan selama berabad-abad untuk pemeliharaan dan peningkatan kesehatan serta pencegahan dan pengobatan penyakit. Sebagai warisan budaya bangsa yang telah terbukti banyak memberi kontribusi pada pemeliharaan kesehatan, jamu sebagai obat tradisional asli Indonesia perlu terus dilestarikan dan dikembangkan (Depkes RI, 2008).

Salah satu tumbuhan berkhasiat adalah tumbuhan ketepeng cina (*Cassia alata* L.). Secara tradisional, daun ketepeng cina (*Cassia alata* L) digunakan sebagai pencahar, obat cacing, penghilang gatal-gatal, dan obat kelainan kulit yang disebabkan oleh parasit kulit (Haryana, 2005). Umumnya masyarakat menggunakan daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) yaitu dengan cara digosokkan pada kulit yang sakit atau terinfeksi jamur, panu

atau ditumbuk sampai halus lalu ditempelkan pada kulit yang sakit (Muhammad, 2010).

Ketepeng cina (*Cassia alata* L) digunakan sebagai obat tradisional dengan pengolahan sederhana. Cara pengolahan yang biasa dilakukan oleh masyarakat adalah: direbus kemudian digosokkan pada kulit, direbus kemudian diminum hasil rebusannya dan lain sebagainya (Muhammad, 2010). Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Ida Wati dkk, (2017) yang berjudul "Pengaruh Konsentrasi Pelarut, Waktu Ekstraksi, dan Nisbah Bahan Baku Dengan Pelarut Terhadap Ekstraksi Kunyit" menyimpulkan bahwa ekstrak dan kadar kurkumin tertinggi yang diperoleh dari perbedaan lama waktu ekstraksi dalam hal ini waktu yang digunakan adalah 6, 8, 10, dan 12 jam adalah pada sampel yang diambil selama 12 jam. Sedangkan pada penelitian yang telah dilakukan oleh Dewi Selvia Fardhyanti dan Ria Dwita Riski (2015) yang berjudul "Pemungutan Brazilin Dari

Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan L.*) Dengan Metode Maserasi dan Aplikasinya Untuk Pewarnaan Kain” menyatakan bahwa waktu ekstraksi menentukan banyaknya zat aktif yang dapat berdifusi keluar dari matriks padat atau simplisia menuju pelarut. Sehingga semakin lama waktu ekstraksi maka semakin banyak pula zat aktif yang dapat di ekstraksi. Berdasarkan hal tersebut diatas, penulis akhirnya mengaplikasikan metode diatas terhadap daun ketepeng cina (*Cassia alata L.*). Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut mengenai pengujian kadar flavonoid fraksi N-heksan, etil asetat dan air, ekstrak etanol daun ketepeng cina (*Casia alata L.*), sehingga potensi tumbuhan ini sebagai bahan baku obat untuk pencegahan maupun pengobatan berbagai penyakit dapat lebih dikembangkan secara maksimal. Penelitian ini digunakan variasi perbedaan lama waktu ekstraksi maserasi yaitu 6 hari, 8 hari dan 10 hari, dimana sesuai pada buku yang ditulis oleh Howard C. Ansel, 4 (2011), menyebutkan bahwa minimal waktu maserasi terbaik adalah 3 hari.

METODE PENELITIAN

Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai dari penyusunan proposal sampai laporan skripsi (Oktober- Desember 2020).

Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium kimia Politeknik Indonusa Surakarta

Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah deskriptif eksperimen yaitu penelitian pencarian fakta dengan interpretasi data hasil penelitian di laboratorium.

Variabel Penelitian

Variabel bebas

Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau menyebabkan terjadinya perubahan. Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini yaitu lama waktu maserasi (6, 8, dan 10 hari), fraksi N-Heksan, Etil asetat dan Air ekstrak etanol daun ketepeng cina (*Cassia alata L.*)

Variabel Terikat

Variabel terikat adalah faktor-faktor yang diamati dan diukur oleh peneliti dalam sebuah penelitian untuk menentukan ada tidaknya pengaruh dari variabel bebas. Variabel terikat yang digunakan pada penelitian ini adalah kadar flavonoid yang terkandung dalam fraksi N-heksan, etil asetat dan air daun ketepeng cina (*Cassia alata L.*) berdasarkan variasi waktu ekstraksi 6, 8, dan 10 hari.

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang pengaduk, cawan porselin, corong kaca, gelas beker, gelas ukur, mikro pipet, oven, penangas air, seperangkat alat maserasi, spektrofotometer UV-Vis, dan timbangan analitik.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain akuades, $AlCl_3$, ekstrak kental daun ketepeng cina (*Cassia alata L.*), etanol, etil asetat, HCl, kalium asetat, logam magnesium, N-Heksan, larutan perbandingan kuersetin.

Prosedur Penelitian

Determinasi Tanaman

Pada proses awal penelitian ini adalah dilakukan identifikasi dan determinasi daun ketepeng cina (*Cassia alata L.*) dengan mencocokkan ciri-ciri morfologis yang terdapat dalam literatur. Determinasi dilakukan di Laboratorium BP2TO2T, terhadap sampel tanaman secara utuh dari bagian akar hingga daun.

Pembuatan Simplisia dan Serbuk Simplisia

Tumbuhan ketepeng cina (*Cassia alata L.*) diambil dari desa Pelem Putih, Bulu, Sukoharjo, tumbuhan yang diambil berumur kisaran tiga bulan dengan pengambilan sampel daun yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua (berwarna hijau cerah), kemudian dilakukan sortasi basah, dicuci, dan kemudian dilakukan perajangan simplisia. Daun yang telah dirajang kemudian dimasukkan kedalam oven untuk dikeringkan dengan menggunakan suhu $60^{\circ}C$ kemudian dilakukan penyerbukan simplisia. Simplisia di tentukan LOD (*Loss On Drying*).

Ekstraksi Sampel

Sampel diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% dengan perbandingan maserasi yaitu 1:10 (100 gram dalam 1 liter). Sampel daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) yang telah kering ditimbang masing-masing sebanyak 100 gram dimasukkan kedalam wadah maserasi kemudian ditambahkan etanol 70% sebanyak 1 liter hingga terendam seluruhnya. Terdapat tiga wadah maserasi untuk membedakan hasil ekstraksi berdasarkan lama maserasi yaitu 6 hari, 8 hari, dan 10 hari. Wadah maserasi ditutup dan disimpan sambil diaduk 1x24 jam. Selanjutnya disaring, kemudian filtrat etanol dikumpulkan. Kemudian filtrat dipekatkan pada *rotary evaporator* dengan suhu 60°C hingga memperoleh ekstrak kental dan kemudian dihitung rendemennya.

Uji Kadar Air

Pada uji ini dilakukan menggunakan alat yaitu *moisture analyzer* dengan cara, masukkan kurang lebih 2 gram ekstrak dan ditimbang secara seksama dalam wadah kusus yang disediakan pada alat. Setelah itu dilakukan pengaturan untuk pembacaan yang akan dilakukan, pembacaan menggunakan alat *moisture analyzer* dengan durasi pembacaan kurang lebih 20 menit. Setelah mesin berhenti, kemudian akan muncul nominal angka pada monitor yang berarti hasil kadar air yang diperoleh.

Susut pengeringan ekstrak

Pada uji ini dilakukan menggunakan alat yaitu *moisture analyzer* dengan cara, masukkan kurang lebih 2 gram ekstrak dan ditimbang secara seksama dalam wadah kusus yang disediakan pada alat. Setelah itu dilakukan pengaturan untuk pembacaan yang akan dilakukan, pembacaan menggunakan *moisture analyzer* dengan durasi pembacaan kurang lebih 20 menit. Setelah mesin berhenti, kemudian akan muncul nominal angka pada monitor yang berarti hasil kadar air yang diperoleh.

Uji Bebas Alkohol

Pengujian bebas alkohol dilakukan dengan cara dimasukkan ekstrak kental ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan H₂SO₄ lalu di tambakan lagi dengan CH₃CO₂H, lalu dipanaskan. Hasil uji negatif

bila tidak tercium bau khas ester (Evi Kurniawati 2015).

Uji Fitokimia

Identifikasi Saponin

Sebanyak 3 gram ekstrak etanol daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) dilarutkan dalam 100 mL etanol. Larutan ekstrak ditotolkan pada plat KLT silica gel GF₂₅₄. Plat KLT dimasukkan kedalam *chamber* yang telah jenuh dengan fase gerak kloroform-metanol-air (64:50:10) dan dielusi sampai tanda batas. Setelah dielusi pelat KLT dikeluarkan dari *chamber* dan dikeringkan. Pelat yang telah dikeringkan, selanjutnya diamati dengan sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Nilai Rf noda dihitung dan warna yang timbul dicatat.

Identifikasi Tanin

Sebanyak 3 gram ekstrak etanol daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) dilarutkan dalam 100 mL etanol. Larutan ekstrak ditotolkan pada olat KLT silica gel GF₂₅₄. Plat KLT dimasukkan kedalam *chamber* yang telah jenuh dengan fase gerak -etil asetat-methanol-air (100:13,5:10) dan dielusi sampai tanda batas. Setelah dielusi pelat KLT dikeluarkan dari *chamber* dan dikeringkan. Pelat yang telah dikeringkan, selanjutnya diamati dengan sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Nilai Rf noda dihitung dan warna yang timbul dicatat.

Identifikasi Flavonoid

Sebanyak 3 gram ekstrak etanol daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.) dilarutkan dalam 100 mL etanol. Larutan ekstrak ditotolkan pada plat KLT silica gel GF₂₅₄. Plat KLT dimasukkan kedalam *chamber* yang telah jenuh dengan fase gerak kloroform-aseton-asam format (70:20:10) dan dielusi sampai tanda batas. Setelah dielusi pelat KLT dikeluarkan dari *chamber* dan dikeringkan. Pelat yang telah dikeringkan, selanjutnya diamati dengan sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Nilai Rf noda dihitung dan warna yang timbul dicatat.

Fraksinasi

Fraksinasi dibuat dengan menimbang ekstrak kental didalam gelas kimia sebanyak 10 gram. Ekstrak yang sudah ditimbang dilarutkan dengan akuades 100 ml. Larutan

dipartisi dengan menambahkan N-heksan dalam corong pisah dan sesekali katup labu pemisah dibuka untuk mengeluarkan gas yang dihasilkan saat pengocokan. Campuran larutan didiamkan hingga terdapat dua fase kemudian larutan di tampung dan dilanjutkan penggojogan menggunakan etil asetat. Fase etil asetat ditampung dalam wadah, kemudian dilanjutkan lagi dengan fase air. Hasil fraksi kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C selama 10 menit (Brenda dkk, 2017).

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks}) Kuersetin

Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin dilakukan dengan *running* larutan kuersetin pada *range* panjang gelombang 200-800 nm. Hasil *running* menunjukkan panjang gelombang maksimum standar baku kuersetin berada pada panjang gelombang 417 nm. Panjang gelombang maksimum tersebut yang digunakan untuk mengukur serapan dari sampel ekstrak etanol daun ketepeng cina (*Cassia alata* L.).

Penentuan *Operating Time*

Larutan kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 1 mL $AlCl_3$ 10% dan 8 mL kalium asetat 5%. Larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang yang telah diperoleh dengan interval pada waktu 2 menit sampai diperoleh absorbansi yang stabil.

Pembuatan Kurva Baku Standar Kuersetin

Ditimbang sebanyak 10 mg baku standar kuersetin dan dilarutkan dalam 10 mL etanol 70%. Larutan stok dipipet sebanyak 5 mL dan dicukupkan volumenya sampai 50 mL dengan etanol 70% sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Larutan standar kuersetin 100 ppm, kemudian dibuat beberapa konsentrasi yaitu 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, dan 80 ppm. Masing-masing konsentrasi larutan standar kuersetin ditambahkan 0,1 mL $AlCl_3$, 0,1 mL kalium asetat, 2,8 mL aquadest, dan 1,5 mL etanol 70%. Setelah itu diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar dan diukur absorbansinya menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Markham, 1998).

Penetapan Kadar Flavonoid Total Fraksi Daun Ketepeng cina

Ditimbang sebanyak 10 mg sampel dan dilarutkan dalam 10 ml etanol 70%, sehingga didapat larutan baku 1000 ppm. Larutan stok dipipet 1 ml dan dicukupkan volumenya sampai 10 ml dengan etanol 70% sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Larutan standar kuersetin 100 ppm, Kemudian dilakukan preparasi sampel dengan cara mengambil larutan ekstrak sebanyak 1 ml, ditambah dengan 0,1 ml $AlCl_3$, 0,1 ml kalium asetat, 2,8 ml aquadest, dan 1,5 ml etanol 70%. Setelah itu didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer *UV-Visible* pada panjang gelombang maksimum. Tiap sampel larutan dibuat dalam tiga kali replikasi.

Teknik Analisis Data

Perhitungan LOD (*Loss On Drying*)

Perhitungan LOD (*Lost On Drying*) menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ LOD} = \frac{\text{Bobot simplisia basah} - \text{Bobot simplisi kering}}{\text{Bobot simplisia basah}} \times 100\%$$

Perhitungan Rendemen

Rendemen ekstrak dihitung dengan rumus:

$$\text{Rendemen \%} = \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot simplisia kering}} \times 100\%$$

Perhitungan Kadar Air Ekstrak

$$\text{Kadar air Ekstrak} = \frac{B \text{ Ekstra (B Cawan + Ekstrak kental + B Cawan + Ekstark kering)}}{B \text{ Ekstrak kental}}$$

Perhitungan Kadar Flavonoid

$$(y = bx + a)$$

Y= Variabel response atau variabel akibat (Dependent)

X= Variabel predicator atau variabel factor penyebab (Independent)

a= konstanta

b= koefisien regresi (kemiringan: besaran respon yang ditimbulkan oleh predicator).

Analisis Data Menggunakan SPSS

Untuk uji statistika kandungan flavonoid total, semua analisis akan diulang sebanyak tiga kali dari tiga sampel berbeda dengan konsentrasi sama, serta dilakukan uji dengan menggunakan *two way analysis of variance* (ANOVA) pada tingkat kepercayaan 95%.

Analisis *Two way ANOVA* atau uji satu faktor pada dasarnya bertujuan untuk membandingkan nilai rata-rata yang terdapat pada variable terikat di semua kelompok yang dibandingkan. Nilai masing-masing kelompok di lihat berdasarkan pada variable bebas yang berskala kategori. Fungsi variable bebas adalah untuk mewakili kelompok-kelompok yang akan di teliti. Variable bebas dalam analisis anova dua faktor disebut juga sebagai variable faktor, sementara kelompok-kelompok yang dibandingkan disebut sebagai variable tingkatan faktor.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi Tumbuhan

Hasil determinasi tumbuhan ketepeng cina (*Cassia alata* L) yang diambil dari desa pelem putih bulu sukoharjo, menunjukkan bahwa daun ketepeng cina (*Cassia alata* L) yang digunakan adalah tumbuhan dari spesies *Cassia alata* L.

2. Pengeringan Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata*. L)

Hasil pengeringan daun ketepeng cina (*Cassia alata* L) menggunakan oven suhu 60°C, selama 7 jam adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Pengeringan Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata*. L)

Berat basah (gram)	Berat kering (gram)	LOD (Loss On Drying) (%)
3500	324,78	3,499

Simplisia kering diperoleh sebanyak 300,84 gram dengan LOD sebesar 91,405%. Proses pengeringan simplisia yang dilakukan menggunakan oven, menyebabkan zat yang mudah menguap akan keluar dari simplisia sehingga diperoleh LOD seperti di atas. LOD yang diperoleh menunjukkan bahwa dalam daun ketepeng cina (*Cassia alata* L) terkandung beberapa zat yang mudah menguap pada suhu pengeringan simplisia (60°),

sehingga diperoleh LOD 91,405% seperti yang tertera pada Tabel 1.

3. Ekstraksi

Hasil ekstraksi masing masing simplisia (3x100 gram) yang diekstraksi selama 6, 8 dan 10 hari, diperoleh ekstrak kental dan sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil Ekstraksi

Ekstrak dengan Lama Waktu Ekstraksi (hari)	Simplisia Kering yang Digunakan (gram)	Ekstrak Kental yang Diperoleh (gram)	Rendemen yang Diperoleh (%)
6	100	24,21	24,21
8	100	28,00	28,00
10	100	32,03	32,03

Sesuai dengan hasil yang diperoleh bahwa lama waktu ekstraksi 10 hari, ekstrak kental yang diperoleh lebih banyak (32,03 gram) dibandingkan dengan lama waktu ekstraksi 6 dan 8 hari (24,21 dan 28,00 gram). Ekstrak kental yang diperoleh pada lama waktu ekstraksi 10 hari paling banyak, menunjukkan bahwa pelarut (dalam hal ini kami menggunakan etanol 70%) lebih maksimal menarik zat yang terkandung dalam simplisia. Banyaknya ekstrak kental yang diperoleh menunjukkan keefektifan proses ekstraksi, bahwa semakin lama waktu ekstraksi maka semakin maksimal pelarut menarik zat yang mudah melarut. Efektivitas proses ekstraksi dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan sebagai penyari, ukuran partikel simplisia, metode dan lama waktu ekstraksi.

4. Uji Kualitatif Ekstrak Etanol Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.)

a. Uji Organoleptis

Hasil uji organoleptis masing masing ekstrak etanol daun ketepeng cina (*Cassia alata* L) adalah sebagai berikut:

Tabel 3. Uji Organoleptis Ekstrak Etanol Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L)

Ekstrak Dengan Lama Waktu Ekstraksi (hari)	Bentuk	Warna	Bau
6	Ekstrak Kental	Hijau Kehitaman	Khas
8	Ekstrak Kental	Hijau Kehitaman	Khas
10	Ekstrak Kental	Hijau Kehitaman	Khas

Hasil analisis data yang diperoleh diatas bahwa, warna yang dihasilkan ialah akibat warna ekstrak kental hasil ekstraksi. Bau khas yang dihasilkan yaitu akibat proses ekstraksi yang

terjadi, maka bau yang di hasilkan adalah perpaduan antara bau daun ketepeng cina (*Cassia alata* L) segar dengan bau etanol. Ciri-ciri ekstrak kental yaitu kental, bau khas dan warna hijau kehitaman (Depkes, 2000).

b. Uji Fitokimia

Uji kualitatif ekstrak etanol daun ketepeng cina (*Cassia alata* L) dengan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis) yaitu: lempeng KLT yang telah diukur dan diberi tanda, kemudian sampel ditotolkan pada tanda, berikutnya plat KLT dimasukkan dalam *chamber* yang diberi fase gerak, dalam hal ini uji yang akan dilakukan yaitu uji saponin, flavonoid, tannin, dan alkaloid.

c. Uji Saponin

Pada hasil penelitian ini dapat dilakukan uji kualitatif saponin. Hasil yang diperoleh yaitu menunjukkan adanya saponin yang ditandai dengan warna merah jambu sampai ungu (Santos et al, 1978). Uji saponin dengan menggunakan KLT dengan timbulnya Rf 0,82 yang berwarna kuning pada UV 366 nm menegaskan adanya kandungan saponin pada ekstrak kental ketepeng cina (*Cassia alata* L).

d. Uji Tanin

Pada hasil penelitian ini dapat dilakukan uji kualitatif tanin. Hasil yang diperoleh yaitu senyawa tanin dengan warna noda saat disinari dengan lampu UV 254 nm berwarna lembayung dan lampu UV 366 berwarna hijau kuning. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Mangun wardoyo (2009). Uji tanin dengan timbulnya Rf 0,64 yang berwarna lembayung pada UV 254 nm dan warna hijau kekuningan pada UV 366 nm. Hal ini menunjukkan adanya tanin pada ekstrak kental daun ketepeng cina (*Cassia alata* L).

e. Uji Flavonoid

Pada hasil penelitian ini dapat dilakukan uji kualitatif flavonoid. Hasil yang diperoleh yaitu menunjukkan adanya flavonoid yang ditandai dengan warna kuning jingga. Hasil positif

ditandai dengan warna merah jingga, merah ungu dan kuning jingga (Depkes RI, 1989). Uji flavonoid dilakukan dengan menggunakan KLT dengan timbulnya noda pada Rf 0,90 berwarna kuning pada UV 254 nm dan berwarna biru pada UV 366 nm. Hal ini menunjukkan bahwa adanya flavonoid pada ekstrak kental daun ketepeng cina (*Cassia alata* L).

Hasil identifikasi menggunakan KLT menunjukkan bahwa adanya saponin, tannin dan flavonoid pada ekstrak yang diperoleh.

5. Fraksinasi

Hasil dari ekstraksi sampel daun ketepeng cina (*Cassia alata* L) selanjutnya dilakukan fraksinasi. Fraksinasi ini dilakukan untuk memisahkan golongan senyawa dari golongan yang lain berdasarkan perbedaan polaritas pelarut. Pelarut yang digunakan yaitu n-heksan sebagai pelarut yang bersifat nonpolar, etil asetat sebagai pelarut semi polar dan air sebagai pelarut yang bersifat polar. Hasil fraksinasi daun ketepeng cina (*Cassia alata* L) dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 4. Tabel hasil fraksinasi

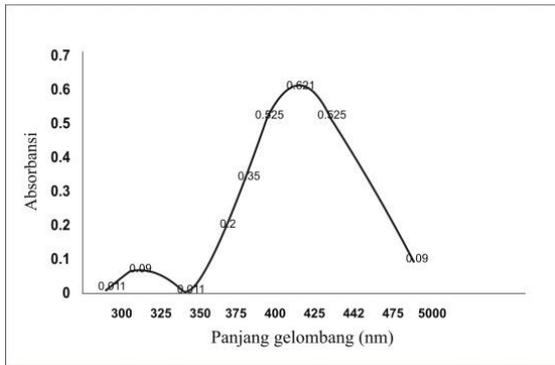
Lama waktu (hari)	Bobot ekstrak (gram)	Larutan fraksi	Bobot fraksi yang diperoleh (gram)	Rendemen (%b/b)
6	10	n-heksan	0.61	16.39
		Etil asetat	1.40	7.14
		Air	1.05	2.22
8	10	n-heksan	0.62	16.12
		Etil asetat	1.43	6.99
		Air	1.10	2.14
10	10	n-heksan	0.6	16.66
		Etil asetat	1.47	7.40
		Air	1.18	0.85

Berdasarkan tabel diatas, dapat disimpulkan bahwa hasil rendemen yang diperoleh dari fraksinasi menggunakan n-heksan mendapatkan jumlah yang terbanyak diikuti dengan fraksinasi dari etil asetat dan kemudian yang paling sedikit untuk menarik rendemen yaitu fraksinasi yang menggunakan air.

6. Uji Kuantitatif Flavonoid

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Hasil yang diperoleh penentuan panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada Gambar 1.

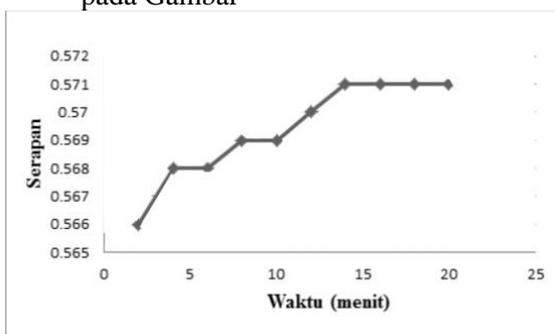


Gambar 1. Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Panjang gelombang maksimum yang dipilih untuk penetapan kadar flavonoid ekstrak etanol daun ketepeng cina (*Cassia alata* L) yaitu yang dihasilkan dari pembacaan panjang gelombang maksimum larutan baku kuersetin dengan konsentrasi 10 ppm adalah 417 nm. Panjang gelombang kuersetin murni adalah 370 nm, akan tetapi terdapat pergeseran panjang gelombang pada saat penambahan $AlCl_3$ dan Na. asetat sehingga diperoleh panjang gelombang lebih dari 430 nm (Markham,1998).

b. Penentuan *Operating Time*

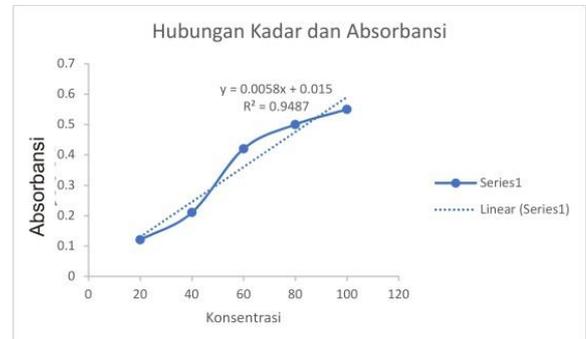
Hasil yang diperoleh dari penentuan *operating time* dapat dilihat pada Gambar



Gambar 2. Hasil *Operating Time* kurva baku kuersetin

Penentuan *operating time* dilakukan untuk mengetahui bahwa reaksi antara $AlCl_3$ dengan kuersetin sudah selesai sehingga tidak ada lagi peningkatan serapan sinar UV – Vis atau serapan sudah stabil (konstan). Data penentuan *operating time* yang diperoleh menunjukkan waktu yang dibutuhkan kuersetin untuk bereaksi sempurna dengan $AlCl_3$ minimal selama

14 menit. Oleh karena itu pada saat akan melakukan pembacaan kadar, sebaiknya setelah dilakukan pencampuran kuersetin dan $AlCl_3$ diinkubasi dahulu selama minimal 14 menit.



Gambar 3. Persamaan Linier Serapan Kurva Baku

Dari hasil pengukuran pada Tabel tersebut, dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin tinggi pula serapan yang dihasilkan. Hasil baku kuersetin yang diperoleh diplotkan antara kadar dan serapannya, sehingga diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y = 0,0058x + 0,015$ dengan nilai $R^2 = 0,9634$. Persamaan kurva baku kuersetin dapat digunakan sebagai pembanding untuk menentukan konsentrasi senyawa flavonoid pada ekstrak daun ketepeng cina (*Cassia alata* L). Nilai R^2 yang mendekati 1 menunjukkan bahwa kalibrasi linier dan terdapat hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi.

Pada pengukuran senyawa flavonoid total, larutan sampel ditambahkan $AlCl_3$ yang dapat membentuk senyawa kompleks, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah *visible* (tampak). Selain itu penetapan kadar flavonoid pada penambahan natrium asetat adalah untuk mendeteksi adanya gugus 7 hidroksil, sedangkan perlakuan inkubasi 14 menit yang dilakukan sebelum pengukuran dimaksudkan agar reaksi terjadi sempurna, sehingga menghasilkan intensitas warna yang maksimal.

c. Pembacaan Ekstrak Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Pembacaan ekstrak untuk mengetahui berapa absorbansi flavonoid

dalam ekstrak etanol daun ketepeng cina (*Cassia alata* L) didapatkan hasil seperti pada tabel berikut:

Tabel 5. Hasil pembacaan kadar menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Lama waktu Ekstraksi	Larutan Fraksi Yang Digunakan	absorbansi yang di peroleh (nm)
6 hari	N-Heksan	0.021
		0.019
		0.024
	Etil asetat	0.140
		0.143
		0.142
	Air	0.064
		0.061
		0.065
8 hari	N-Heksan	0.100
		0.103
		0.105
	Etil asetat	0.315
		0.313
		0.318
	Air	0.130
		0.137
		0.134
10 hari	N-Heksan	0.159
		0.163
		0.166
	Etil asetat	0.820
		0.814
		0.822
	Air	0.480
		0.488
		0.486

Dari hasil pembacaan absorbansi di atas, diketahui bahwa hasil yang diperoleh terbanyak yaitu pada larutan fraksi etil asetat pada lama waktu maserasi 10 hari hal ini disebabkan karena larutan maserasi yang menarik flavonoid memiliki waktu yang cukup banyak untuk menarik flavonoid secara maksimal.

7. Analisis Data SPSS

Setelah data absorbansi diperoleh, kemudian dilakukan analisis data menggunakan spss dengan metode *two way anova*.

Tes *normality* merupakan tes untuk memenuhi syarat pengujian *two way anova* yaitu, tes dapat dilakukan apabila hasil tes *normality* memiliki hasil data yang homogen. Tes *normality* ini dilakukan dengan menggunakan metode *Kolmogorov-Smirnov^a* dan *Shapiro-Wilk*. Hasil tes yang dilakukan menunjukkan bahwa data homogen, hal ini dapat dilihat dari hasil signifikansi yang diperoleh adalah 0,061 yang artinya hasil ini melebihi standar acuan yaitu 0,05.

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual for Z	.144	27	.155	.928	27	.061

a. Lilliefors Significance Correction

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable:KADAR

F	df1	df2	Sig.
.711	8	18	.679

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + L + F + L * F

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:KADAR

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.573 ^a	8	.197	2.082E4	.000
Intercept	1.679	1	1.679	1.777E5	.000
L	.826	2	.413	4.374E4	.000
F	.496	2	.248	2.624E4	.000
L * F	.251	4	.063	6.657E3	.000
Error	.000	18	9.444E-6		
Total	3.252	27			
Corrected Total	1.574	26			

a. R Squared = 1.000 (Adjusted R Squared = 1.000)

Nilai <0,05 diterima, ada perbedaan yang signifikan Nilai >0,05 data ditolak, tidak ada perbedaan yang signifikan. Berdasarkan hasil uji menggunakan SPSS dengan metode *two way anova* diatas, menunjukkan bahwa r hitung < r tabel yang berarti dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan signifikan yang berarti terhadap kadar flavonoid yang dihasilkan dari perbedaan lama waktu maserasi dan pelarut fraksinasi yang digunakan, dan dapat dilihat jumlah kadar yang diperoleh terbesar yaitu pada metode maserasi 10 hari dan dengan larutan fraksi etil asetat.

KESIMPULAN

1. Waktu ekstraksi yang baik yaitu 10 hari dengan variasi fraksinasi menggunakan etil asetat, hal ini dapat dilihat pada jumlah kadar yang diperoleh lebih besar dibandingkan dengan larutan fraksi n-heksan, dan air pada lama waktu maserasi 6, 8 dan 10 hari.
2. Kadar flavonoid rata-rata yang diperoleh setelah dilakukan fraksinasi menggunakan yaitu sebagai berikut:

- a. Fraksi N-heksan pada lama waktu maserasi 6 hari 8,83 mg, 8 hari 7,33 mg, dan 10 hari 35,33 mg/100 g sample
 - b. Fraksi etil asetat pada lama waktu maserasi 6 hari 30,33 mg, 8 hari 74,66 mg, dan 10 hari 194 mg/100 g sample.
 - c. Fraksi air pada lama waktu 6 hari 8,8 mg, 8 hari 22,66 mg, dan 10 hari 96 mg/100 g sample.
3. Kadar flavonoid yang terbanyak yaitu pada metode fraksinasi menggunakan etil asetat dan pada lama waktu maserasi 194 mg/100 g sampel.

DAFTAR PUSTAKA

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I)*. Jakarta: Direktorat Jenderal POM.

Departemen Kesehatan RI. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Dewi Selvia Fardhyanti, Ria Dwitita Riski. (2015). Pemungutan Brazilin Dari Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan L*) dengan Metode Maserasi dan Aplikasinya Untuk Pewarnaan Kain. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan JBAT*. 4 (1): 6-13. ISSN: 2303-0623.

Eko Budi Minarno. (2015). Skrining Fitokimia dan Kandungan Total Flavonoid Pada Buah *Carica Pubescens lenne & K. Koch* Di Kawasan Bromo, Cangar, Dan Dataran Tinggi Dieng. *El-Hayah*. Vol.5, No.2: 73-82.

Endang Hanani. (2015). *Analisis Fitokimia*. Jakarta: Buku kedokteran EGC.

Evi Kurniawati. (2015). Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Wiyata*. Mahasiswa Pascasarjana Analisa Farmasi Universitas Airlangga Surabaya

Hariana Arief. (2013). *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya. Jilid 2*. Jakarta: Penebar Swadaya.

- Howard C. Ansel. (2011). *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Ibnu Gholib Gandjar dan Abdul Rohman. (2015). *Spektroskopi Molekuler untuk Analisis Farmasi*: Yogyakarta: Gadjah Mada University Press Anggota IKAPI.
- Ida Wati, Maya Rahmadiani Musadi, Nadia Siti Khumaira, & Ade Rizki Amelia. (2017). Pengaruh Konsentrasi Pelarut, Waktu Ekstraksi, dan Nisbah Bahan Baku Dengan Pelarut Terhadap Ekstraksi Kunyit Kuning. *Jurnal ITEKIMA*. Vol.2 No1, ISSN:2548-947x
- Jonathan, Sarwono. (2006). *Metode Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Khoerul Anwar, Liling Triyasmono. (2016). Kandungan Total Fenolik, Total Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). *Jurnal Pharmascience*, Vol 3, No.1, pp: 83-92. ISSN-Print: 2355-5386.
- Lengkoan Brenda F., Paulina V.Y. Yamlean, Adithya Yudistira. (2017). Formulasi Dan Uji Efektivitas Sediaan Gel Ekstrak Bunga Pacar Air (*Impatiens Balsamina* L.) Sebagai Antiseptik Tangan. *Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT*, Vol. 6, No. 4.
- Lestari, W.E.W. (2006). Pengaruh Nisbah Rimpang Dengan Pelarut dan Lama Ekstraksi Terhadap Mutu Oleoresin Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*). *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Mangun Wardoyo, W., Eni, C. dan Tepy U. (2009). Ekstraksi Dan Identifikasi Senyawa Antimikroba Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol 7. 2015
- Markham, K.R. (1998). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Penerbit ITB: Bandung.
- Muhammad Abu, Margareth H. (2010). *Kamus Pintar Obat Herbal*. Yogyakarta: Nuha Medika.
- Philips, C.R. and E.G. Menez. (1988). *Seagrass*. Smith Sonian. Washington DC: Institutions Press.
- Putri WS, Warditiani NK, Larasanty LPF. (2013). Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L.) *Skripsi*. Fakultas Farmasi, Universitas Udayana, Bali.
- Robinson T. (1995). *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Kosasih Padmawinata, Penerjemah; Bandung: ITB. Terjemah dari: *The Organic Constituents Of Higher Plants*.
- Santos, A.F., B.Q. Guevera, A.M. (1978). *Phytochemical, Microbiologic and Pharmacological, Screening Of Medical Plants*. Manila: Research Center University of Santos Thomas.
- Soebagio. B., T. Rusdiana, K. Khairudin. (2007). Pembuatan gel dengan aqupec Hv-505 dari ekstrak umbi bawang merah (*Allium cepa* L.) sebagai antioksidan. *Seminar Penelitian Dosen Fakultas Farmasi*. Universitas Padjadjaran. Bandung.
- Tiwari P, Bimlesh K, Mandeep K, Gurpreet K, Harleen K. (2011). *Skrining Fitokimia dan Ekstraksi*.
- Tri Panji. (2012). *Teknik Spektroskopi untuk Elusidasi Struktur Molekul, Edisi Pertama*. Yogyakarta: Graha Ilmu.