

## Pengaruh Metode Ekstraksi *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE) terhadap Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kecombrang (*Etilingera elatior* (Jack.) R. M. Smith)

*Effect of Ultrasonic-Assisted Extraction Method on Total Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Kecombrang Leaves (Etilingera elatior (Jack.) R. M. Smith)*

Mitha Kartika<sup>1</sup>, Muchammad Reza Ghozaly<sup>1\*</sup> dan Putu GMW Mahayasih<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Esa Unggul, Jakarta, Indonesia

**Kata kunci:** *Etilingera elatior*, Total Flavonoid, Aktivitas Antioksidan, IC50, Metode UAE

**Keyword:** *Zingiber officinale*, antioxidant activity, total phenol, total flavonoid, IC50, UAE

**Korespondensi:**

Muchammad Reza Ghozaly  
Program Studi Farmasi  
Universitas Esa Unggul  
[reza.ghozaly@esaunggul.ac.id](mailto:reza.ghozaly@esaunggul.ac.id)

### ABSTRAK

Daun kecombrang (*Etilingera elatior* (Jack.) R.M. Smith) merupakan salah satu jenis tanaman yang termasuk kedalam famili Zingiberaceae. Kandungan senyawa di dalam tanaman kecombrang diketahui memiliki efek farmakologi antara lain antihipertensi, antioksidan, antitumor, antisytotoksik, antikanker, antiaging, larvasida dan antihyperglykemik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan flavonoid total dan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun kecombrang (*Etilingera elatior* (Jack.) R.M. Smith) yang dibuat dengan metode ekstraksi *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE) menggunakan etanol 96%. Hasil pengujian menunjukkan bahwa flavonoid total pada ekstrak kental daun kecombrang metode UAE sebesar 20,33mgQE/g dan pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa nilai IC50 yang diperoleh dengan metode UAE sebesar 33,67 µg/mL, dan antioksidan pada vitamin C sebesar 7,63 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa daun kecombrang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat <50 µg/mL dan akan kaya senyawa flavonoid.

### ABSTRACT

Kecombrang leaves (*Etilingera elatior* (Jack.) R.M. Smith) are a type of plant belonging to the Zingiberaceae family. The compounds contained in the kecombrang plant known to have pharmacological effects, including antihypertensive, antioxidant, antitumor, anticytotoxic, anticancer, antiaging, larvicide and antihyperglycemic. This study aims to determine the total flavonoid content and antioxidant activity of the ethanol extract of kecombrang leaves (*Etilingera elatior* (Jack.) R.M. Smith) which was made using the *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE) method using 96% ethanol. The test results showed that the total flavonoids in the thick extract of kecombrang leaves using the UAE method were 20.33mgQE/g and the antioxidant activity test showed that the IC50 value obtained using the UAE method was 33.67 µg/mL, and the antioxidants in vitamin C were 7.63 µg. /mL. This shows that kecombrang leaves have very strong antioxidant activity <50 µg/mL and are rich in flavonoid compounds.

## PENDAHULUAN

Masyarakat di Indonesia masih banyak yang mengalami masalah kesehatan yang cukup serius yang diakibatkan pola hidup yang tidak sehat dan sering terpaparnya zat berbahaya kedalam tubuh seperti racun, paparan sinar matahari berlebih, asap rokok, polusi udara, dan obat-obatan tertentu yang dapat mengakibatkan terbentuknya senyawa radikal bebas (Hani & Milanda, 2016). Radikal bebas dapat diatasi dengan suatu senyawa penangkal yang disebut antioksidan (Irnawati et al., 2017). Antioksidan berperan untuk menghambat atau mencegah adanya reaksi oksidasi akibat radikal bebas dengan menyumbangkan satu atau lebih elektron (elektron donor) kepada radikal bebas (Sayuti & Yenrina, 2015). Salah satu tanaman yang mengandung senyawa antioksidan adalah tanaman kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack.) R. M. Smith).

Tanaman kecombrang merupakan salah satu jenis tanaman asli Indonesia yang banyak ditemukan tumbuh liar di hutan jati atau semak (Rukmana & Yudirachman, 2016). Berdasarkan hasil penelitian Kusriani et al., (2017), menyatakan bahwa tanaman kecombrang yang diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% memiliki aktivitas antioksidan pada ekstrak daun memiliki nilai IC<sub>50</sub> 52,05 µL/mL, ekstrak bunga memiliki nilai IC<sub>50</sub> 457,54 µL/mL, dan ekstrak rimpang memiliki nilai IC<sub>50</sub> 310,69 µL/mL. Selain memiliki aktivitas

antioksidan yang kuat, daun kecombrang juga mengandung senyawa flavonoid. Hal ini telah dibuktikan pada penelitian Utami, et al., (2020), bahwa simplisia daun kecombrang mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan steroid sedangkan pada ekstrak etanol 70% daun kecombrang dengan menggunakan metode ekstraksi maserasi mengandung senyawa alkaloid, steroid/terpenoid, flavonoid dan tanin. Senyawa tersebut memiliki aktivitas farmakologis sebagai antimikroba, antikanker, antioksidan, larvasida dan *repellent* (Koraag et al., 2016). Flavonoid utama dalam daun kecombrang diketahui merupakan kaempferol dan kuersetin. (Levita et al., 2019). Metode ekstraksi UAE memanfaatkan bantuan gelombang ultrasonik dengan frekuensi antara 20 kHz hingga 2000 kHz (Triyastuti & Djaeni, 2019). Berdasarkan penelitian Utami, et al., (2020) mengenai pengaruh berbagai metode ekstraksi pada penentuan kadar flavonoid ekstrak etanol 70% daun iler (*Plectranthus scutellarioides*) kadar flavonoid pada metode ekstraksi *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) yaitu sebesar 0,75%, metode ekstraksi UAE sebesar 0,62%, metode ekstraksi refluks sebesar 0,45%, dan kadar flavonoid paling kecil yaitu pada metode ekstraksi maserasi sebesar 0,41%, hal ini menunjukkan bahwa penggunaan metode ekstraksi UAE memiliki nilai kadar flavonoid tinggi.

Penelitian ini bertujuan untuk Mengetahui nilai kadar flavonoid total yang

terdapat pada ekstrak etanol 96% daun kecombrang (*Etligeria elatior* (Jack.) R. M. Smith) dan mengetahui potensi ekstrak etanol 96% daun kecombrang (*Etligeria elatior* (Jack.) R. M. Smith) sebagai antioksidan terhadap nilai IC50 yang diekstraksi menggunakan metode ekstraksi UAE

## METODE PENELITIAN

### Alat dan bahan

Alat yang digunakan yaitu alumunium foil, ayakan 40 mesh, batang pengaduk, beaker glass (Iwaki®), blender (Philips), blue tip (Axygen®), cawan penguap (Pyrex®), corong kaca, desikator (Iwaki®), erlenmeyer (Iwaki®), gelas ukur (Iwaki®), kertas saring, labu ukur (Iwaki®), mikropipet (Thermo scientific®), mikroplate 96 well (Biologic®), neraca analitik (Sartorius®), pipet tetes, rak tabung reaksi, rotary evaporator(Heidolph®), spektrofotometri UV-Vis (Tecan Infinite 200 M pro®), tabung reaksi, tanur listrik (Thermolyne Thermo Scientific®), ultrasonic bath (Grant XUB25®), vortex (Thermo Scientific®), waterbath (Grant®), dan yellow tip (Axygen®).

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tanaman Kecombrang (*Etligeria elatior* (Jack) R. M. Smith) segar yang diperoleh dari daerah pegunungan Desa Ciwarak, Kecamatan Jatiwaras, Kabupaten Tasikmalaya, Jawa Barat. Bahan Kimia yang digunakan yaitu AICI<sub>3</sub>, Asam Askorbat (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>) (Emsure®), Asam Klorida (HCL) 2N (Emsure®), Asam

Sulfat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (Emsure®), Aquadest, Asetat Anhidrat (C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>), Besi (III) Klorida (FeCl<sub>3</sub>) (Merck®), Serbuk DPPH (1,1-dyphenil-2-picrylhydrazyl) (Merck®), Etanol 96%, Etanol p.a, Kloroform (Emsure®), Kuersetin p.a (Sigma®), Magnesium Sulfat (MgSO<sub>4</sub>) (Merck®), Metanol p.a, Natrium Asetat (Merck®), Pereaksi Mayer (Merck®), Pereaksi Dragendroff (Merck®).

### Tahapan penelitian

#### *Pembuatan simplisia jahe merah*

Daun kecombrang (*Etligeria elatior* (Jack.) R.M. Smith) dicuci menggunakan air mengalir, diiris dengan ukuran kecil-kecil dan dikeringkan dengan diangin-anginkan selama 3-7 hari pada suhu ruang. Simplisia yang sudah dikeringkan dilakukan sortasi kering, kemudian dibuat serbuk menggunakan blender sehingga berbentuk kasar, selanjutnya diayak dengan menggunakan ayakan 40 mesh, dan simplisia disimpan didalam wadah tertutup rapat (Depkes RI, 1985).

#### *Pembuatan ekstrak daun kecombrang*

Ekstraksi dilakukan dengan cara timbang sebanyak 200 gram serbuk simplisia kecombrang, kemudian ditambahkan etanol 96% dengan perbandingan 1:10, kemudian diekstraksi pada suhu 30°C selama 60 menit menggunakan ultrasonic bath pada frekuensi 38 kHz. Sampel kemudian disaring menggunakan kertas saring hingga diperoleh filtrat, kemudian diupkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C dengan

kecepatan 100 rpm dan diperkatkan dengan waterbath hingga diperoleh ekstrak kental. Proses ekstraksi diulang sebanyak 3 kali (Meysi Andriani & Widarta, 2019).

### *Skriming fitokimia*

#### Uji alkaloid

Sebanyak 2 mL larutan uji diuapkan di atas cawan porselen sampai dihasilkannya residu, kemudian residu dilarutkan dengan 5 mL HCl 2N. Selanjutnya larutan dibagi menjadi 3 bagian untuk ditambahkan pereaksi uji. Tabung A sebagai blanko, tabung B ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendroff dan tabung C ditambahkan 3 tetes pereaksi Meyer. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna jingga pada tabung B, dan endapan kuning pada tabung C (Wahid & Safwan, 2020).

#### Uji flavonoid

Sebanyak 2 mL larutan uji dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 0,2 gram serbuk MgSO<sub>4</sub> dan 10 tetes HCl pekat, lalu kocok. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi warna kemerahan, kuning atau jingga yang menandakan adanya flavonoid (Andasari et al., 2020).

#### Uji tanin

Sebanyak 2 mL larutan uji dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian diteteskan FeCl<sub>3</sub> sebanyak 3 tetes. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna hitam

kehijauan yang menandakan adanya tanin (Andasari et al., 2020).

#### Uji saponin

Sebanyak 2 mL larutan uji dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan air panas sebanyak 10 mL, didinginkan kemudian dikocok kuat selama 10 detik dan diamkan. Jika busanya tidak hilang dengan ditambahkan HCl 2N sebanyak 1 tetes menunjukkan adanya senyawa saponin (Djoko et al., 2020).

#### Uji steroid atau triterpenoid

Sebanyak 2 mL larutan uji dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan tambahkan asam asetat glasial dan asam sulfat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) sebanyak 3 tetes. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau violet pada perbatasan larutan berarti menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan yang membentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid (Wahid & Safwan, 2020).

### ***Penetapan kadar total flavonoid***

#### Pembuatan larutan AlCl<sub>3</sub> 10%

Larutan AlCl<sub>3</sub> 10 % dibuat dengan menimbang AlCl<sub>3</sub> sebanyak 0,5 gram, kemudian memasukkan ke dalam labu ukur 5 mL, lalu ditambahkan aquadest hingga tanda batas. (Haresmita & Pradani, 2022).

#### Pembuatan natrium asetat 1 M

Natrium asetat 1 M dibuat dengan menimbang natrium asetat sebanyak 0,410

gram, kemudian memasukkannya ke dalam labu ukur 5 mL dan ditambahkan aquadest hingga tanda batas (Haresmita & Pradani, 2022).

#### Pembuatan larutan standar kuersetin

Larutan induk kuersetin 1000 µg/mL dibuat dengan menimbang sebanyak 5 mg, kemudian larutkan dengan etanol p.a ke dalam labu ukur 5 mL hingga tanda batas, kemudian dibuat larutan standar dengan konsentrasi 50 µg/mL (Syarifuddin et al., 2022).

#### Penetapan panjang gelombang kuersetin

Panjang gelombang diukur dengan cara memipet 100 µL larutan standar kuersetin 50 µg/mL dimasukkan ke dalam *microplate* 96 *well*, kemudian tambahkan 50 µL AICI<sub>3</sub> 10%, 50 µL etanol p.a, dan 50 µL natrium asetat 1 M. Inkubasi selama 30 menit, lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400-500 nm (Syarifuddin et al., 2022).

#### Pembuatan kurva kalibrasi kuersetin

Larutan standar kuersetin dibuat seri konsentrasi 25, 30, 35, 40, dan 45 µg/mL dari larutan induk 1000 µg/mL. Selanjutnya masing – masing konsentrasi dipipet sebanyak 100 µL dan dimasukkan ke dalam *microplate* 96 *well* lalu tambahkan 50 µL AICI<sub>3</sub> 10%, 50 µL etanol p.a, 50 µL natrium asetat 1 M. Larutan sampel diinkubasi selama 30 menit di ruangan gelap kemudian diukur pada panjang gelombang 425 nm. Pengukuran dilakukan 3 kali replikasi (Syarifuddin et al., 2022).

#### Pengujian kadar flavonoid total

Ekstrak etanol 96 % daun kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack.) R.M. Smith) diambil sebanyak 10 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas (1000 µg/mL). Kemudian diinkubasi selama 30 menit dan diukur pada panjang gelombang maksimum 425 nm. Pengukuran dilakukan 3 kali replikasi (Syarifuddin et al., 2022).

#### Perhitungan kadar flavonoid total

Data absorbansi dan konsentrasi larutan standar dibuat persamaan regresi linier menggunakan rumus sebagai berikut (Yeti & Yuniarti, 2021):

$$y = ax + b$$

Keterangan:

a : Slope dari kurva standar

b : Intersept dari kurva standar

y : Absorbansi sampel

x : Konsentrasi

Kadar flavonoid total dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Deswita et al., 2022):

$$\text{Kadar Flavonoid Total} = (C_f \times V \times FP) / m$$

Keterangan:

C<sub>f</sub> : Konsentrasi Flavonoid total dari persamaan regresi (mg/mL)

V : Volume sampel (L)

FP : Faktor Pengenceran

M : Berat sampel (g)

#### Uji aktivitas antioksidan DPPH

##### Pembuatan larutan DPPH 0,2 mM

Larutan DPPH dibuat dengan menimbang sebanyak 3,94 mg serbuk DPPH, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL,

kemudian larutkan dengan metanol p.a hingga tanda batas (Zukhruf et al., 2021).

### Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

Larutan DPPH 0,2 mM diambil sebanyak 120  $\mu$ L, lalu masukkan kedalam *microplate 96 well* tambahkan metanol p.a sebanyak 80  $\mu$ L, kemudian disimpan ditempat yang terlindung dari cahaya selama 30 menit dan diukur pada panjang gelombang 400-600 nm (Zukhruf et al., 2021).

### Pengukuran larutan standar vitamin C

Larutan stok 1000  $\mu$ g/mL dibuat larutan seri dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10  $\mu$ g/mL. Masing-masing konsentrasi dimasukkan ke dalam *mikroplate 96 well* kemudian tambahkan larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 120  $\mu$ L, lalu diinkubasi selama 30 menit di ruang gelap dan diukur pada panjang gelombang 517 nm. Pengujian dilakukan 3 kali replikasi (Zukhruf et al., 2021).

### Pengukuran aktivitas antioksidan

Larutan ekstrak 1000  $\mu$ g/mL dibuat larutan seri dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40 dan 50  $\mu$ g/mL. Masing-masing konsentrasi dimasukkan ke dalam *mikroplate 96 well* kemudian ditambahkan larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 120  $\mu$ L lalu diinkubasi selama 30 menit dan diukur pada panjang gelombang maksimum 517 nm. Pengujian dilakukan 3 kali replikasi setiap konsentrasinya. Persentase

inhibisi dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Zukhruf et al., 2021) :

$$(\%) \text{ Inhibisi} = \frac{A \text{ blanko} - A \text{ Sampel}}{A \text{ blanko}} \times 100 \%$$

Setelah mendapatkan nilai persentase inhibisi, selanjutnya tentukan persamaan  $y = ax + b$ , kemudian dapat dihitung nilai  $IC_{50}$  dengan rumus (Purwati & Yanti, 2022):

$$IC_{50} = \frac{50-b}{a}$$

Keterangan:

$IC_{50}$  : Inhibitor Concentration 50% ( $\mu$ g/mL)

Y : Persentase inhibisi %

a : Nilai yang ada di persamaan  $y = ax + b$

b : Nilai yang ada di persamaan  $y = ax + b$

x : Nilai  $IC_{50}$  yang didapatkan setelah mengganti  $y = 50$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Determinasi tanaman

Determinasi merupakan tahapan awal untuk mengidentifikasi tanaman yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi pada tanaman kecombrang. Berdasarkan hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan yaitu daun kecombrang (*Etilingera elatior* (Jack.) R. M. Smith) dari famili Zingiberaceae.

### Penetapan kadar air dan kadar abu

Penetapan kadar air bertujuan untuk mengetahui kandungan air yang terdapat dalam simplisia. Kadar air yang terlalu tinggi (>10%) menyebabkan tumbuhnya mikroorganisme dan terjadinya pembusukan (Nurlatifah & Ilham Alifiar, 2021). Penetapan

kadar abu menunjukkan nilai kandungan bahan anorganik atau mineral yang berasal dari proses awal hingga terbentuknya simplisia. Semakin tinggi kadar abu maka kandungan bahan anorganik atau mineral didalam bahan semakin tinggi dan dapat mempengaruhi sifat fisik simplisia (Kusumaningrum et al., 2013). Hasil penetapan kadar air dan kadar abu dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Uji Kadar Air dan Kadar Abu

Sampel Daun Kecombrang	Jumlah	Rata-rata
Kadar Air (%)	10,53	10,60
	10,68	
Kadar Abu (%)	7,33	7,44
	7,56	

Berdasarkan hasil Tabel 1. menunjukkan bahwa kadar air pada simplisia kecombrang memenuhi persyaratan yaitu tidak lebih dari 10,9 % (Kemenkes RI, 2017). Hasil kadar abu pada simplisia kecombrang tidak ditemukan di buku Farmakope Herbal Indonesia sehingga tidak dapat digunakan sebagai acuan parameter simplisia.

### Ekstrak daun kecombrang

Proses ekstraksi bertujuan untuk memisahkan atau menarik satu atau lebih komponen dari suatu sampel pada tumbuhan dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dapat berpengaruh pada hasil ekstrak. Menurut penelitian sebelumnya, penggunaan suhu yang tinggi akan mengakibatkan rusaknya senyawa di dalam

simplisia tersebut dan hasil ekstrak kental yang diperoleh akan lebih rendah dan sebaliknya jika penggunaan suhu yang sangat rendah maka senyawa yang ada di dalam tanaman tidak akan terekstrak secara maksimal (Susiloningrum & Sari, 2023). Serbuk kering daun kecombrang yang telah diekstraksi menggunakan metode UAE menghasilkan ekstrak kental sebanyak 41,75 gram dengan persen rendemen ekstrak yaitu 20,87 %. Semakin tinggi nilai rendemen menunjukkan keefektifan proses ekstraksi dan semakin banyak juga zat-zat berkhasiat yang akan diperoleh dalam daun kecombrang seperti flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, steroid dan triterpenoid (Trinovita et al., 2019).

### Skrining fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol 96% daun kecombrang. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun kecombrang dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Kecombrang

Senyawa	Pereaksi	Hasil Uji
Alkaloid	Mayer	-
	Dragendorff	-
Flavonoid	MgSO <sub>4</sub> + HCl	+
Tanin	FeCl <sub>3</sub>	+
Saponin	HCl 2N	+
Steroid	asam asetat	+
Triterpenoid	glasial dan asam sulfat (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	-

Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak daun kecombrang menggunakan metode ekstraksi UAE memiliki kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan triterpenoid. Pada uji alkaloid menghasilkan endapan berwarna jingga dan pereaksi meyer ditandai dengan adanya endapan berwarna putih kekuningan (Habibi et al., 2018). Hasil penelitian menunjukkan tidak adanya endapan yang berarti bahwa ekstrak etanol daun kecombrang tidak terdapat senyawa alkaloid. Pada uji tanin adanya perubahan warna hijau kehitaman, hal ini terjadi karena terbentuknya senyawa kompleks karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion logam dan non logam (Andasari et al., 2020).

Hasil uji tanin diperoleh hasil perubahan warna hijau kehitaman yang berarti ekstrak etanol daun kecombrang positif mengandung senyawa tanin. Uji saponin ditandai dengan adanya busa yang disebabkan senyawa saponin mengandung senyawa yang larut dalam air (*hidrofilik*) dan senyawa yang larut dalam pelarut nonpolar (*hidrofobik*) yang berguna sebagai surfaktan yang dapat menurunkan tegangan permukaan, oleh karena itu pada saat dikocok, gugus hidrofil akan berikatan dengan air sedangkan gugus hidrofob akan berikatan dengan udara yang akan menghasilkan buih atau busa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kecombrang positif memiliki senyawa saponin karena membentuk busa. Pada uji steroid atau triterpenoid yang akan mengalami

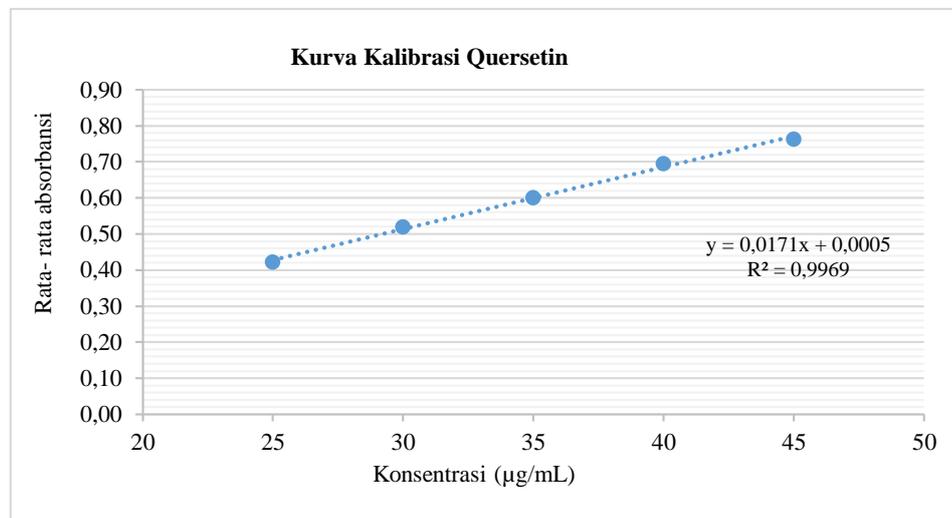
perubahan warna biru atau hijau untuk steroid dan merah atau ungu untuk triterpenoid. Perbedaan warna pada senyawa steroid dan triterpenoid disebabkan karena pada penambahan pereaksi  $H_2SO_4$  dapat menghidrolisis air yang bereaksi dengan turunan asetil yang akan membentuk larutan warna. Perubahan warna yang terbentuk karena terjadinya oksidasi melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi. Hasil penelitian menunjukkan adanya perubahan warna hijau yang berarti ekstrak etanol kecombrang positif mengandung senyawa steroid tetapi tidak adanya perubahan warna pada senyawa triterpenoid. Uji flavonoid akan menghasilkan warna merah, kuning atau jingga yang disebabkan oleh reduksi  $MgSO_4$  dan larutan HCl pekat (Sulistyarini et al., 2020). Hasil penelitian ditandai dengan adanya perubahan warna merah yang berarti ekstrak etanol daun kecombrang memiliki senyawa flavonoid.

### Uji kadar flavonoid total

Kadar flavonoid total diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis karena senyawa flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi yang dapat menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum sinar ultraviolet dan sinar tampak. Penelitian ini menggunakan larutan standar kuersetin, karena kuersetin merupakan zat aktif yang termasuk golongan flavonoid yang sering ditemukan pada tanaman yang terbukti memiliki senyawa antioksidan kuat (Aiyuba et

al., 2023). Pada penelitian ini menunjukkan panjang gelombang maksimum larutan standar kuersetin yaitu 425 nm. Larutan kuersetin dibuat seri konsentrasi 25, 30, 35, 40, dan 45

$\mu\text{g/mL}$  untuk mendapatkan persamaan regresi linier. Hasil kurva kalibrasi larutan kuersetin dapat dilihat pada gambar 1.



**Gambar 1.** Kurva Kalibrasi Kuersetin

Hasil pengukuran absorbansi kuersetin, dibuat kurva kalibrasi untuk mendapatkan garis persamaan regresi linier dimana  $y=0,0171x + 0,0005$  dengan nilai  $r = 0,9984$ , menunjukkan bahwa nilai  $r$  hampir mendekati nilai satu sehingga dapat dikatakan memiliki korelasi yang sangat kuat (Asmorowati & Lindawati, 2019). Persamaan regresi linier kuersetin dapat digunakan sebagai pembanding untuk menentukan suatu konsentrasi senyawa flavonoid pada ekstrak daun kecombrang. Pengukuran kadar flavonoid total ekstrak dibuat dengan konsentrasi  $1000 \mu\text{g/mL}$ . Hasil kadar flavonoid total dapat ditentukan dengan mengganti nilai  $y$  dalam persamaan regresi linier  $y = 0,0171x + 0,0005$  dengan nilai absorbansi dari sampel ekstrak kecombrang. Hasil nilai kadar flavonoid total ekstrak daun

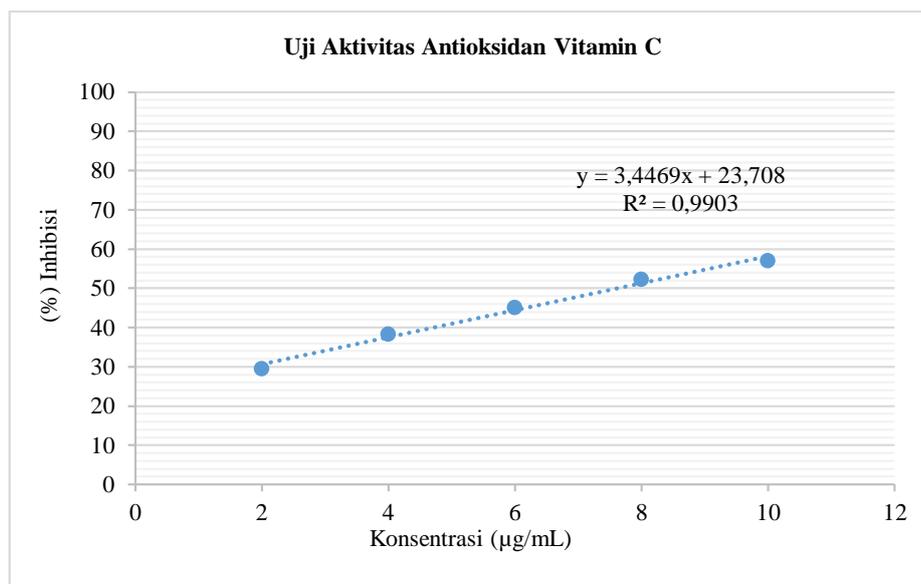
kecombrang menggunakan metode UAE sebanyak  $27,22 \text{ mgQE/g}$  ekstrak. Hasil kadar flavonoid dapat disebabkan oleh faktor suhu ekstraksi. Suhu tinggi akan mengakibatkan adanya radiasi dari gelombang mikro yang dapat mempengaruhi tekanan pada dinding sel akan meningkat dan membengkak, kemudian senyawa aktif yang keluar akan semakin banyak. Metode UAE melibatkan getaran gelombang ultrasonik dengan frekuensi diatas  $20 \text{ kHz}$  yang dibantu dengan pemanasan pada suhu  $30^\circ\text{C}$ , hal ini dapat mempengaruhi hasil kadar flavonoid total yang dihasilkan karena tidak semua flavonoid bersifat tahan panas tergantung kandungan flavonoid dalam bahan alam yang memiliki gugus OH- agar senyawa dapat berikatan pada hidrogen dengan kuat yang dapat memutuskan ikatan ini dengan adanya energi kuat dan senyawa aktif yang ada

di dalam bahan alam akan ikut teroksidasi dan menghasilkan nilai kadar flavonoid yang rendah (Kautsari et al., 2021).

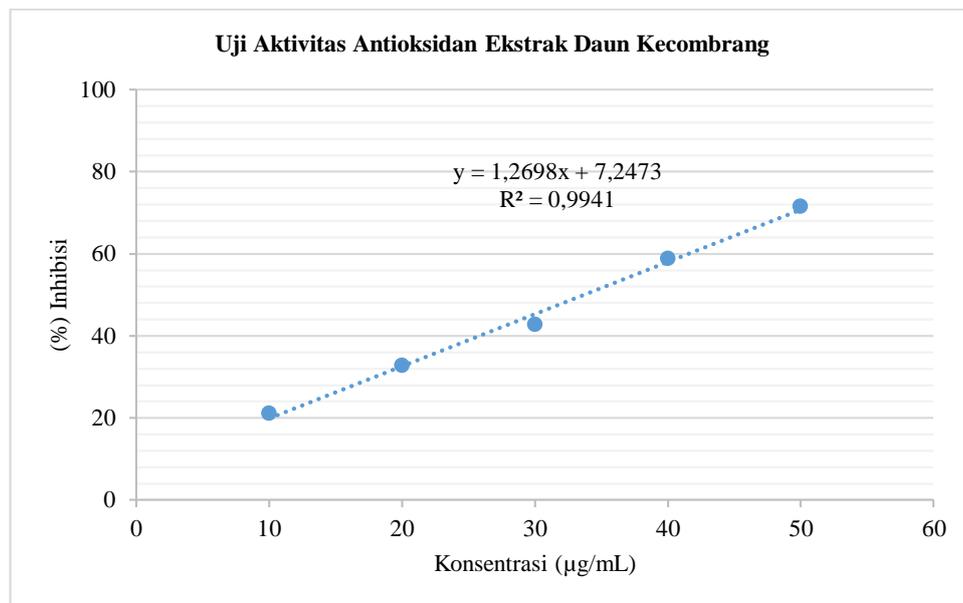
### Uji aktivitas antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*Diphenyl-2-picrylhidrazyl*). Prinsip kerja metode DPPH yaitu ketika DPPH (*Diphenyl-2-picrylhidrazyl*) telah berikatan dengan senyawa antioksidan dalam ekstrak yang dapat memberikan atom hidrogen, maka larutan akan ditandai dengan adanya perubahan warna ungu tua menjadi warna kuning (Pramiastuti et al., 2018). Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan penentuan panjang gelombang dan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan DPPH 0,2 mM. Hasil penelitian diperoleh panjang gelombang maksimal pada 517 nm. Larutan

pembanding yang digunakan yaitu vitamin C karena vitamin C merupakan senyawa pendonor elektron yang berasal dari sifat ikatan ganda antara C-2 dan C-3 dari cincin lakton 6-karbon yang memiliki sifat antioksidan alami yang sangat kuat dan dapat mencegah senyawa-senyawa lainnya mengalami oksidatif (Bahriul, 2014). Larutan vitamin C dibuat dengan berbagai konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ( $\mu\text{g/mL}$ ). Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak kental daun kecombrang dibuat dengan berbagai konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50  $\mu\text{g/mL}$ . Masing- masing konsentrasi ditambahkan larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 120  $\mu\text{L}$  lalu diinkubasi selama 30 menit dan diukur pada panjang gelombang maksimum 517 nm. Pengujian dilakukan 3 kali replikasi baik pada pembanding vitamin C dan sampel ekstrak daun kecombrang



**Gambar 2.** Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C



**Gambar 3.** Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak daun Kecombrang

Hasil pada gambar 2 dan 3 menunjukkan bahwa nilai  $r$  hampir mendekati nilai satu sehingga dapat dikatakan memiliki korelasi yang sangat kuat (Asmorowati & Lindawati, 2019). Setelah diperoleh hasil persamaan regresi linier kemudian hitung nilai  $IC_{50}$ .  $IC_{50}$  merupakan nilai untuk menunjukkan kemampuan penghambatan 50% radikal oleh suatu konsentrasi. Nilai  $IC_{50}$  dapat dihitung dengan memasukkan nilai 50% ke dalam persamaan kurva kalibrasi dari sumbu  $y$  dan dihitung nilai  $x$  untuk mendapatkan konsentrasi  $IC_{50}$ . Jika nilai  $IC_{50}$  dibawah 50 µg/mL maka aktivitas antioksidannya sangat kuat, nilai  $IC_{50}$  berada diantara 50-100 µg/mL aktivitas antioksidannya kuat, nilai  $IC_{50}$  berada diantara 100-150 µg/mL berarti aktivitas antioksidannya lemah, dan nilai  $IC_{50}$  diatas 200 µg/mL menunjukkan aktivitas antioksidannya sangat lemah (Bahriul, 2014). Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa nilai

$IC_{50}$  pada vitamin C yaitu 7,63 µg/mL sedangkan pada ekstrak kental daun kecombrang diperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar 33,67 µg/mL. Pada hasil penelitian aktivitas antioksidan ekstrak daun kecombrang menggunakan metode UAE dan vitamin C memiliki nilai  $IC_{50}$  yang sangat kuat. Tingginya aktivitas antioksidan pada tanaman karena berhubungan dengan adanya kandungan metabolit sekunder yang tersari pada saat proses ekstraksi berlangsung, dimana suhu yang digunakan pada metode UAE tidak lebih dari 50°C sehingga tidak mempengaruhi jumlah kadar flavonoid total yang ada didalam daun kecombrang. Semakin tinggi nilai flavonoid total maka akan semakin tinggi juga aktivitas antioksidan yang ada didalam tanaman dalam mendonorkan elektronnya untuk menghambat perkembangan radikal bebas. Hal ini disebabkan aktivitas flavonoid sangat bergantung pada jumlah gugus -OH

yang dapat menetralkan radikal bebas (Susiloningrum et al., 2021).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol 96% daun dengan metode ekstraksi UAE yaitu sebesar 27,22 mgQE/g ekstrak. Nilai IC<sub>50</sub> dari sampel ekstrak etanol 96% daun kecombrang pada metode ekstraksi UAE yaitu sebesar 33,67 µg/mL. Hal ini menunjukkan ekstrak etanol 96% daun kecombrang menggunakan metode ekstraksi UAE memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat yaitu <50 µg/mL. Perlu dilakukan optimasi waktu dan suhu pada metode ekstraksi UAE untuk mendapatkan hasil ekstraksi yang optimal pada daun kecombrang.

## DAFTAR PUSTAKA

Aiyuba, D. S., Noviadi, A., Rakhmatullah, & Restapaty, R. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Ramania (*Bouea macrophylla* Griffith.) Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Surya Medika*, 8(1), 81–87.

Andasari, S. D., Hermanto, A. A., & Wahyuningsih, A. (2020). Perbandingan Hasil Skrining Fitokimia Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Dengan Metode Maserasi Dan Sokhletasi. *CERATA Jurnal Ilmu Farmasi*, 11(2), 27–31.

Asmorowati, H., & Lindawati, N. Y. (2019). Penetapan kadar flavonoid total alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan metode

spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 15(2), 51–63.

- Bahriul, P. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Dengan Menggunakan 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil. *J. Akad. Kim.* 3, 3(August), 143–149.
- Depkes RI. (1985). *Cara Pembuatan Simplisia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Deswita, S., Rahma, E. N., Njurumana, V. C., & Yanuarti, R. (2022). Pengujian Flavonoid Total Dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Aktif Daun Akar Kaik-Kaik (*Uncaria cordata* (Lour.) Merr) Yang Berpotensi Sebagai Obat Diare. *JB&P: Jurnal Biologi Dan Pembelajarannya*, 9(2), 105–112.
- Djoko, W., Taurhesia, S., Djamil, R., & Simanjuntak, P. (2020). Standardisasi Ekstrak Etanol Herba Pegagan (*Centella asiatica*). *Sainstech Farma: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 13(2), 118–123.
- Habibi, A. I., Firmansyah, R. A., & Setyawati, S. M. (2018). Skrining Fitokimia Ekstrak n-Heksan Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*). *Indonesian Journal of Chemical Science*, 7(1), 1–4.
- Hani, R. C., & Milanda, T. (2016). Review : Manfaat Antioksidan Pada Tumbuhan Buah Di Indonesia. *Farmaka*, 14(1), 184–190.
- Haresmita, P. P., & Pradani, M. P. K. (2022). Penetapan Kadar Total Flavonoid Dalam Jamu “X” Dengan Metode

- Spektrofotometri UV-Visibel. *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis*, 8(2), 177–184.  
<https://doi.org/10.31603/pharmacy.v8i2.6864>
- Irnawati, Purba, M., Mujadilah, R., & Sarmayani. (2017). Penetapan Kadar Vitamin C Dan Uji Aktifitas Antioksidan Sari Buah Songi (*Dillenia Serrata* Thunb). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 6(2), 40–44.
- Kautsari, S. N., Humaedi, A., Wijayanti, D. R., & Safaat, M. (2021). Kadar Total Fenol dan Flavonoid Ekstrak Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) Melalui Metode Ekstraksi Microwave. *Alchemy Jurnal Penelitian Kimia*, 17(1), 96–104.  
<https://doi.org/10.20961/alchemy.17.1.46497.96-104>
- Kemenkes RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia* (Edisi II). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Koraag, M. E., Anastasia, H., Isnawati, R., & Octaviani. (2016). Efikasi Ekstrak Daun dan Bunga Kecombrang (*Etlintera elatior*) terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Jurnal Aspirator*, 8(September), 63–68.
- Kusriani, H., Subarnas, A., Diantini, A., Iskandar, Y., Marpaung, S., Juliana, M., & Silalahi, F. (2017). Aktivitas Antioksidan Dan Sitotooksik Serta Penetapan Kadar Senyawa Fenol Total Ekstrak Daun, Bunga, Dan Rimpang Kecombrang (*Etlintera elatior*). *Jurnal Pharmacy*, 14(01), 51–63.
- Kusumaningrum, R., Supriadi, A., & R.J, S. H. (2013). Karakteristik dan Mutu Teh Bunga Lotus (*Nelumbo nucifera*). *Fishtech*, II(1), 9–21.
- Levita, J., Sumiwi, S. A., Milanda, T., Mutakin, Puspitasari, I. M., & Juwita, T. (2019). *Perspektif Molekular Aktivitas Antiinflamasi Tanaman Kecombrang (Etlintera elatior Jack RM Smith)*. Deepublish.
- Meysi Andriani1), I. D. G. M. P., & Widarta, I. W. R. (2019). Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Aktivitas Antioksidan Dengan Metode Ultrasonic Assisted Ekstraktion (UAE). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 8(3), 330–340.
- Nurlatifah, A. S., & Ilham Alifiar, F. S. (2021). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Kecombrang (*Etlintera elatior* (Jack)R.M.S m) Sebagai Pertumbuhan Rambut Terhadap Kelinci Putih Jantan. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 4(1), 76–86.
- Pramiastuti, O., Zen, D. A., & Aji, B. P. (2018). Penetapan Kadar Total Fenolik dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96 % Daun Kecombrang (*Etlintera Elatior*) Dengan Metode 2,2-Difenil-1-Pikrilhidazil (DPPH). *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*, 1(2), 42–55.
- Purwati, N., & Yanti, F. (2022). Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Makadamai (*Macadamia integrifolia*)

- dengan Metode DPPH. *J. Islamic Pharm*, 7(2), 100–103. <https://doi.org/10.18860/jip.v7i2.17522>
- Rukmana, R., & Yudirachman, H. (2016). *Budidaya Sayuran Lokal*. Nuansa Cendekia.
- Sayuti, K., & Yenrina, R. (2015). *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Andalas University Press.
- Sulistyarini, I., Sari, D. A., & Wicaksono, T. A. (2020). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 56–62.
- Susiloningrum, D., Erliani, D., & Sari, M. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Temu Mangga (*Curcuma mangga* Valeton & Zijp) Dengan Variasi Konsentrasi Pelarut. *Cendekia Journal of Pharmacy; STIKES Cendekia Utama Kudus*, 5(2), 117–127.
- Susiloningrum, D., & Sari, D. E. M. (2023). Optimasi Suhu UAE ( Ultrasonik Assisted Extraction ) Terhadap Nilai Sun Protection Factor (SPF) Ekstrak Rimpang Bangle ( *Zingiber Purpureum* Roxb) Sebagai Kandidat. *Cendekia Journal of Pharmacy ITEKES Cendekia Utama Kudus*, 7(1), 58–66.
- Syafrida, M., Darmanti, S., & Izzati, M. (2018). Pengaruh Suhu Pengeringan Terhadap Kadar Air, Kadar Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun dan Umbi Rumpun Teki (*Cyperus rotundus* L.). *Bioma*, 20(1), 44–50.
- Syarifuddin, K. A., Yusriyani, & Dewi, A. (2022). Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Tempuyung (*Sonchus arvensis*) Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *FitoMedicine : Journal PharmacyandSciences*, 13(2).
- Trinovita, Y., Mundriyastutik, Y., Fanani, Z., & Fitriyani, A. N. (2019). Evaluasi Kadar Flavonoid Total Pada Ekstrak Etanol Daun Sangketan (*Achyranthes Aspera*) Dengan Spektrofotometri. *Indonesia Jurnal Farmasi*, 4(1), 12–18.
- Triyastuti, M. S., & Djaeni, M. (2019). Perbaikan Proses Produksi Antosianin dari Kelopak Bunga Rosella dengan Ekstraksi Berbantuan Ultrasound. *Jurnal Teknik*, 40(2), 115–121. <https://doi.org/10.14710/teknik.v40n2.23258>
- Utami, N. F., Nurdayanty, S. M., Sutanto, & Usep, S. (2020). Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi Pada Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Iler (*Plectranthus scutellarioides*). *Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(1), 76–83.
- Utami, Y. P., Sisang, S., & Burhan, A. (2020). Pengukuran Parameter Simplisia dan Estrak Etanol Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Sm) Asal Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, 24(1), 5–10. <https://doi.org/10.20956/mff.v24i1.9831>

- Wahid, A. R., & Safwan. (2020). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Terhadap Ekstrak Tanaman Ranting Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). *Lambung Farmasi; Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 1(1).
- Yeti, A., & Yuniarti, R. (2021). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Herba Rumput Bambu (*Lopatherum gracile* Brongn.) Dengan Metode Spektrofotometri Visible. *FARMASAINKES: Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*, 1(1), 11–19.
- Zukhruf, N., Kiromah, W., Husein, S., & Rahayu, T. P. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Ganitri (*Elaeocarpus Ganitrus* Roxb.) dengan Metode DPPH (2,2 Difenil-1-Pikrilhidazil). *Farmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(1), 60–67.