BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Pengambilan Bahan dan Determinasi Tanaman

Daun kersen (*Muntingia calabura* L.) yang digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini diambil dari daerah persawahan, Desa Ambarketawang, Kecamatan Gamping, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta pada bulan Juli 2022. Daerah yang digunakan sebagai tempat panen daun kersen ini memiliki ketinggian <100 m dari permukaan air laut. Identifikasi tanaman dilakukan dengan membawa daun kersen yang akan digunakan sebagai sampel ke Laboratorium Pembelajaran Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta dengan nomor pendaftaran 323/Lab.Bio/B/VII/2022. Hasil identifikasi tanaman bisa dilihat pada (Lampiran 2).

2. Penyiapan Sampel

Sampel daun kersen (*Muntingia calabura* L.) yang telah diperoleh ± 3 kg disortasi basah. Tujuan dilakukan sortasi basah yaitu untuk membersihkan kotoran ataupun bahan asing lainnya yang menempel pada tumbuhan dan membuang bagian tumbuhan yang tidak diperlukan. Sampel daun kersen dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan pengotor lainnya yang menempel, lalu daun kersen dipotong kecil-kecil untuk memudahkan proses pengeringan. Daun kersen selanjutnya dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C selama 48 jam. Tujuan pengeringan ini dilakukan untuk mengurangi kandungan air yang terdapat dalam daun kersen karena jamur dan mikroorganisme lain mudah tumbuh jika masih terdapat kandungan air dalam simplisia. Simplisia kering kemudian dibuat dalam bentuk serbuk menggunakan *grinder* dengan tujuan untuk memudahkan proses pemisahan/penarikan zat aktif oleh pelarut yang terdapat dalam sel tumbuhan dan selanjutnya diayak

UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA PERPUSTAKAAN

menggunakan ayakan nomor 40 mesh. Penggunaan ayakan nomor 40 mesh karena semakin besar nomor ayakan akan memperluas permukaan tanaman dan mendapatkan ukuran serbuk yang seragam. Didapatkan hasil serbuk daun kersen sebanyak 400 gram.

3. Ekstraksi Sampel

Hasil serbuk daun kersen (*Muntingia calabura* L.) diekstraksi dengan etanol 96%. Ekstrak etanol daun kersen dalam penelitian ini diekstraksi menggunakan metode ultrasonik. Proses ekstraksi ultrasonik dilakukan dengan cara memasukkan 200 g serbuk daun kersen yang dibagi menjadi 4 bagian masing-masing 50 gram ke dalam botol duran dan direndam menggunakan etanol 96% sebanyak 2 liter yang dibagi menjadi 4 bagian masing-masing sebanyak 500 mL. Botol yang sudah dimasukkan daun kersen dan etanol 96%, dimasukkan ke dalam alat sonikator dan masing-masing botol dilakukan ekstraksi selama 10 menit pada suhu 40°C. Pemilihan temperatur bertujuan untuk meminimalir kerusakan kandungan yang terdapat di dalam ekstrak etanol daun kersen. Filtrat yang didapatkan disaring dengan corong *Buchner* yang di dalamnya diletakkan kertas saring dan dibantu dengan pompa vakum dengan tujuan menghilangkan serbuk yang mungkin belum tersaring dengan sempurna (Puspitasari *et al.,*2017). Hasil penyaringan filtrat kemudian dikentalkan menggunakan *waterbath* pada suhu 40°C hingga dihasilkan ekstrak kental.

4. Kontrol Kualitas Ekstrak

a. Perhitungan rendemen ekstrak

Pada penelitian ini, ekstrak kental daun kersen yang diperoleh yaitu sebanyak 84,85 g. Rendemen ekstrak kental yang diperoleh dihitung sebagai persentase perbandingan antara berat ekstrak kental yang diperoleh terhadap berat serbuk daun kersen yang digunakan pada saat proses ekstraksi yaitu 200 g. Persentase rendemen ekstrak dapat dilihat pada Tabel 5 berikut.

UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA PERPUSTAKAAN

Tabel 5. Hasil Persentase Rendemen Ekstrak Etanol Daun Kersen

Sampel	Berat simplisia	Bobot ekstrak	Rendemen ekstrak	Literatur (BPOM RI, 2004)
Ekstrak etanol daun kersen	200 g	84,85 g	42,42%	>16%

Berdasarkan hasil rendemen pada Tabel 5, ekstrak etanol daun kersen memenuhi kriteria jika rendemen tidak kurang dari 16% (BPOM RI, 2004).

b. Identifikasi ekstrak dan uji organoleptik

Identifikasi ekstrak digunakan untuk memberikan objektivitas nama serta spesifikasi tanaman kersen. Pada uji organoleptik bertujuan untuk memberikan pengenalan awal menggunakan alat indera secara objektif dengan mendeskripsikan bentuk, warna, bau dan rasa. Identifikasi ekstrak dan pengamatan organoleptik dapat dilihat pada Tabel 6 berikut.

Tabel 6. Hasil Pengujian Identifikasi Ekstrak dan Pengamatan Organoleptik

Parameter	**Hasil**	**Referensi** (Maifitrianti *et al*., 2014)
Identitas ekstrak		
Nama ekstrak	Ekstrak etanol daun kersen	Ekstrak etanol daun kersen
Nama latin tanaman	*Muntingia calabura* L.	*Muntingia calabura* L.
Bagian tanaman yang digunakan	Daun	Daun
Nama tanaman Indonesia	Tanaman kersen	Tanaman kersen
Uji organoleptik ekstrak		
Warna	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman
Bau	Khas	Khas
Bentuk	Kental, lengket	Kental
Rasa	Pahit	Pahit

Berdasarkan hasil organoleptik pada Tabel 6, menyatakan bahwa ekstrak etanol daun kersen pada penelitian serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Maifitrianti *et al.,*(2014).

5. Penapisan Fitokimia

Tujuan dilakukan uji penapisan fitokimia adalah untuk mengetahui keberadaan senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, fenolik dan tanin dari ekstrak etanol daun kersen. Pada uji ini, hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kersen positif mengandung senyawa fenolik, flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid.

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA

Hasil uji penapisan fitokimia ekstrak etanol daun kersen dapat dilihat pada Tabel 7 berikut.

Tabel 7. Hasil Uji Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kersen

Identifikasi		**Hasil**	**Referensi** (Widjaya *et al.*, 2019)	**Keterangan**
Fenolik		Larutan berwarna hijau kehitaman	Hasil positif jika terbentuk larutan berwarna hijau kehitaman	+
Flavonoid		Larutan berwarna jingga	Hasil positif jika terbentuk larutan berwarna merah, kuning atau jingga	+
Tanin		Larutan berwarna biru kehitaman	Hasil positif jika terbentuk larutan berwarna biru kehitaman	+
Saponin		Terbentuk busa	Hasil positif jika terbentuk busa	+
Alkaloid	Wagner	Terbentuk endapan coklat	Hasil positif jika terbentuk endapan coklat	+
	Mayer	Terbentuk endapan putih	Hasil positif jika terbentuk endapan putih	+
	Dragendrof	Terbentuk endapan jingga	Hasil positif jika terbentuk endapan jingga	+

Keterangan : (+) positif: mengandung golongan senyawa
(-) negatif: tidak mengandung golongan senyawa

Berdasarkan hasil skrining fitokimia pada Tabel 7, ekstrak etanol daun kersen positif mengandung senyawa flavonoid, fenolik, alkaloid, saponin dan tanin. Hal ini serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Widjaya *et al.,*(2019).

6. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi senyawa penanda yang terkandung dalam ekstrak etanol daun kersen dilakukan secara kualitatif. Metode yang digunakan dalam penelitian ini untuk analis senyawa penanda dalam ekstrak yaitu menggunakan metode KLT antara lain fase gerak, fase diam, dan *developing chamber*. Fase diam yang digunakan yaitu plat silika GF_{254}, sedangkan fase gerak dilakukan optimasi pelarut antara kloroform:metanol (9:1), kloroform:metanol (7:3), dan n-heksan:etil asetat (5:5), serta *developing chamber* yang berfungsi sebagai tempat elusi berlangsung menggunakan gelas bejana. Senyawa penanda dalam ekstrak etanol daun

UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA PERPUSTAKAAN

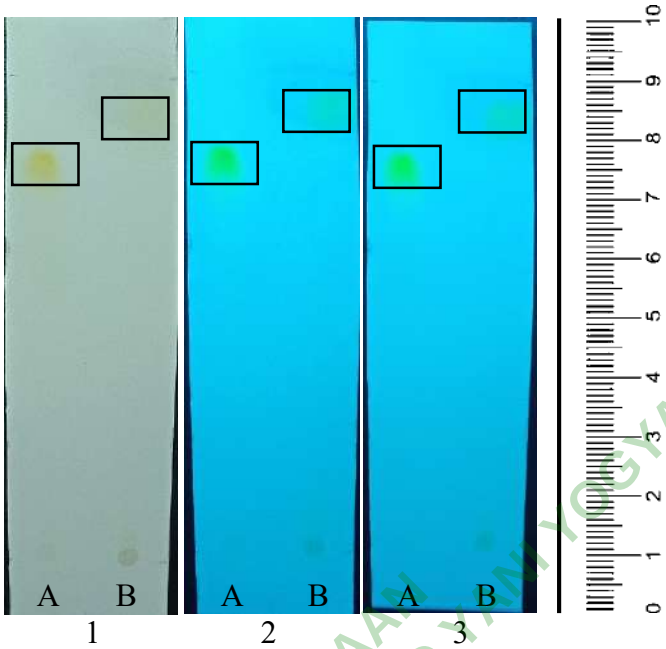
kersen yang diidentifikasi pada penelitian ini yaitu kuersetin dengan optimasi konsentrasi 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm. Optimasi konsentrasi fase gerak yang dilakukan dapat dilihat pada Tabel 8 berikut.

Tabel 8. Hasil Optimasi Fase Gerak pada Uji KLT

No	Fase gerak	Hasil
1	Kloroform:Metanol (7:3)	Terjadi tailing
2	Kloroform:Metanol (9:1)	Elusi sampel melebihi tanda batas
3	N-Heksan:Etil asetat (5:5)	Terjadi pemisahan yang sempurna

Hasil uji KLT ekstrak etanol daun kersen dengan optimasi fase gerak yang dapat digunakan yaitu n-heksan:etil asetat (5:5 v/v) dan optimasi konsentrasi kuersetin yang digunakan yaitu 500 ppm. Preparasi ekstrak kental daun kersen dilakukan dengan cara melarutkan 50 mg ekstrak etanol daun kersen dalam 1 mL metanol *pa* (50.000 ppm), kemudian ekstrak cair tersebut ditotolkan pada fase diam silika gel GF_{254} menggunakan *white tip*. Fase diam silika gel GF_{254} diaktifkan pada oven dengan suhu 100°C selama 15 menit yang bertujuan untuk menghilangkan pengotor dan air yang masih terdapat dalam plat KLT. Plat KLT dielusikan pada fase gerak (n-heksan:etil asetat) yang telah dijenuhkan sebelumnya di dalam *chamber.* Tujuan penjenuhan fase gerak di sini yaitu untuk menyamakan tekanan uap yang terjadi pada fase gerak yang digunakan sehingga pemisahan komponen senyawa dapat berjalan dengan baik. Hasil uji KLT ekstrak etanol daun kersen dengan fase gerak n-heksan:etil asetat (5:5 v/v) dapat dilihat pada Gambar 6 berikut.

UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA
PERPUSTAKAAN



Gambar 7. Profil KLT Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) setelah disemprot $AlCl_3$

Keterangan: 1. Deteksi dengan sinar tampak; 2. Deteksi sinar UV 254 nm; 3. Deteksi sinar UV 366 nm. (A) kuersetin; (B) Ekstrak etanol daun kersen. Fase diam = silika gel F_{254}. Fase gerak = n heksan:etil asetat (5:5 v/v)

Berdasarkan hasil pada Gambar 6, terlihat secara visual tidak terdapat bercak yang sama antara sampel dan pembanding. Deteksi senyawa kuersetin ditandai dengan nilai Rf (*retardation factor)* tetapi tidak sama antara sampel dan kuersetin yang dilihat pada sinar tampak, sinar UV 254 dan 366 nm. Berikut hasil perhitungan Rf dari bercak KLT dapat dilihat pada Tabel 9 berikut.

Tabel 9. Hasil Perhitungan nilai Rf KLT Ekstrak Etanol Daun Kersen

Sampel	Nilai Rf		
	Ekstrak sampel	Standar kuersetin	Standar kuersetin literatur (Pertiwi *et al*., 2020)
Spot 1	0,9375	0,775	0,70

7. Penetapan Kadar Total Senyawa Fenolik

Pengukuran panjang gelombang maksimum asam galat dengan konsentrasi 300 ppm dilakukan setelah penambahan reagen Folin-Ciocalteu dan larutan natrium karbonat 7% pada rentang panjang

UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA PERPUSTAKAAN

gelombang 600-800 nm. Hasil yang diperoleh menghasilkan panjang gelombang maksimum 746 nm yang diukur dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Penentuan OT dilihat dari nilai absorbansi yang stabil. Kestabilan nilai absorbansi selama pengukuran menandakan pembentukan senyawa molybdenum-tungsten yang ditandai dengan larutan yang berwarna biru. Hasil penentuan *operating time* larutan standar asam galat yang diperoleh yaitu 1 jam 40 menit.

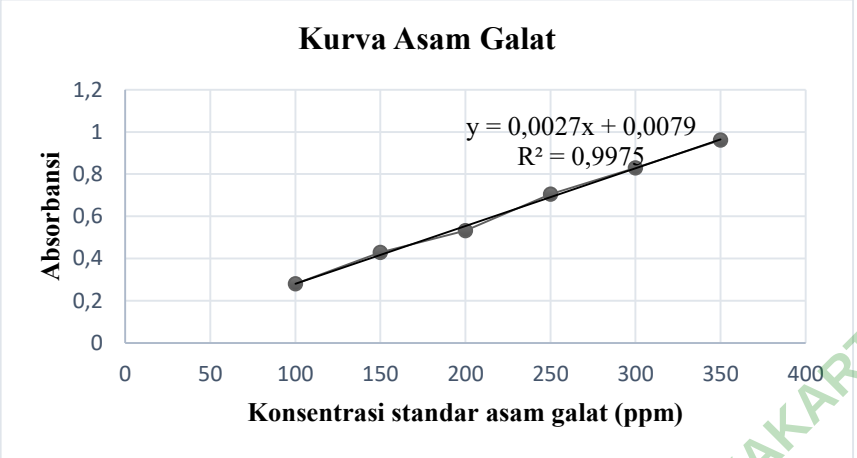
Pada penetapan kadar total senyawa fenolik, panjang gelombang dan OT yang telah diperoleh digunakan untuk membuat kurva kalibrasi asam galat dengan menggunakan enam seri konsentrasi yaitu 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm, 300 ppm, 350 ppm, 400 ppm yang diukur absorbansinya pada panjang gelombang 746 nm dengan menggunakan metanol *pa* sebagai blanko. Setiap konsentrasi dari larutan asam galat diambil sebanyak 0,1 mL dan ditambahkan dengan 0,1 mL reagen Folin-Ciocalteu lalu didiamkan selama 4 menit. Kemudian ditambahkan 1 mL Na_2CO_3 7% dan dikocok hingga homogen dan dicukupkan dengan WFI ad 5 mL lalu diinkubasi selama 1 jam 40 menit pada suhu ruangan.

Berdasarkan hasil kurva yang didapatkan seri konsentrasi yang digunakan yaitu 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm, 300 ppm, 350 ppm. Hasil kurva kalibrasi asam galat untuk penentuan kadar total senyawa fenolik dapat dilihat pada Tabel 10 dan Gambar 7 berikut.

Tabel 10. Absorbansi Kurva Kalibrasi Asam Galat

Konsentrasi (ppm)	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 4	Rata-rata
100	0,301	0,303	0,257	0,259	0,28
150	0,45	0,452	0,406	0,408	0,429
200	0,553	0,555	0,509	0,511	0,532
250	0,726	0,728	0,682	0,684	0,705
300	0,85	0,852	0,806	0,808	0,829
350	0,983	0,985	0,939	0,941	0,962

UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA PERPUSTAKAAN



Gambar 8. Kurva Kalibrasi Konsentrasi Asam Galat (ppm) terhadap Absorbansi Untuk Penentuan Kadar Fenolik Total

Berdasarkan kurva kalibrasi pada Gambar 7, hasil persamaan regresi linier antara konsentrasi asam galat standar terhadap absorbansi yang diperoleh yaitu y = 0,0027x + 0,0079 dengan nilai r = 0,9987. Persamaan regresi linier yang diperoleh tersebut kemudian digunakan untuk menghitung nilai kadar total fenolik yang terkandung dalam ekstrak etanol daun kersen yang dinyatakan atau dihitung sebagai asam galat. Hasil penetapan kadar total fenolik yang diperoleh dalam ekstrak etanol daun kersen dapat dilihat pada Tabel 11 berikut.

Tabel 11. Hasil Perhitungan Kadar Total Fenolik

Replikasi	Absorbansi	Kadar Terhitung		Berat Sampel (g)	Volume Total (mL)	FP	TFC (mg QE/g)
		mg/mL	mg/mL				
1	0,862	316,333	0,316333	0,08	10	1	39,541
2	0,875	321,148	0,321148	0,08	10	1	40,143
3	0,863	316,703	0,316703	0,08	10	1	39,587
4	0,873	320,407	0,320407	0,08	10	1	40,05
						Rata-rata ± SD	39,830 ± 0,310

8. Penetapan Kadar Total Senyawa Flavonoid

Scanning panjang gelombang kuersetin dilakukan dengan menggunakan larutan stok kuersetin 120 ppm yang telah direaksikan dengan $AlCl_3$ 10% dan asam asetat 5% pada rentang panjang gelombang 350-450 nm. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin

UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA PERPUSTAKAAN

yang diperoleh menghasilkan panjang gelombang maksimum 415 nm yang diukur dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

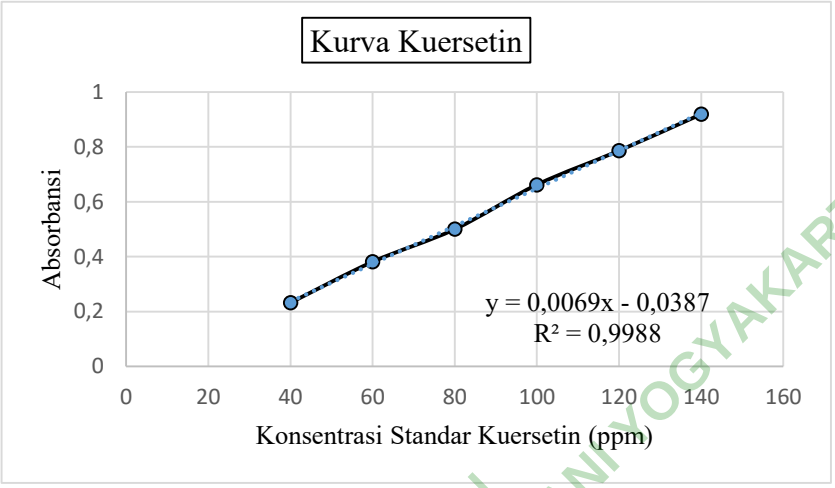
Penentuan *operating time* kuersetin dilakukan dengan menggunakan larutan stok 120 ppm yang telah direaksikan dengan $AlCl_3$ 10% dan asam asetat lalu diukur pada spektrofotometer. Penggunaan larutan stok 120 ppm, dikarenakan pada konsentrasi tersebut dihasilkan nilai absorbansi yang paling baik. Hasil penentuan *operating time* larutan standar kuersetin yang diperoleh yaitu 25 menit.

Pada penentuan kadar total flavonoid, panjang gelombang dan OT yang telah diperoleh selanjutnya digunakan untuk membuat kurva kalibrasi kuersetin dengan menggunakan enam seri konsentrasi yaitu 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, 140 ppm yang diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yaitu 415 nm dengan menggunakan etanol *pa* sebagai blanko. Setiap konsentrasi larutan kuersetin diambil sebanyak 1 mL dan ditambahkan dengan 1 mL alumunium klorida ($AlCl_3$) 10% kemudian ditambahkan dengan asam asetat 5% sebanyak 8 mL lalu diinkubasi selama waktu OT yang telah diperoleh yaitu 25 menit pada suhu ruangan. Kandungan flavonoid didasarkan pada kurva absorbansi dari larutan standar kuersetin. Berdasarkan hasil kurva yang didapatkan seri konsentrasi yang digunakan yaitu 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, 140 ppm. Hasil kurva kalibrasi kuersetin untuk penentuan kadar total flavonoid dapat dilihat pada Tabel 12 dan Gambar 8 berikut.

Tabel 12. Absorbansi Kurva Kalibrasi Kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 4	Rata-rata
40	0,233	0,22	0,242	0,234	0,232
60	0,382	0,369	0,391	0,383	0,381
80	0,485	0,472	0,494	0,556	0,5
100	0,658	0,645	0,667	0,68	0,662
120	0,782	0,769	0,791	0,804	0,786
140	0,915	0,902	0,924	0,937	0,919

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA



Gambar 9. Kurva Kalibrasi Konsentrasi Kuersetin (ppm) Terhadap Absorbansi untuk Penentuan Kadar Flavonoid Total

Berdasarkan kurva kalibrasi pada Gambar 8, hasil persamaan regresi linier antara konsentrasi kuersetin standar terhadap absorbansi yang diperoleh yaitu y = 0,0069x – 0,0387 dengan nilai r = 0,9988. Persamaan regresi linier yang diperoleh tersebut kemudian digunakan untuk menghitung nilai kadar total flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol daun kersen. Hasil penetapan kadar total flavonoid yang diperoleh dalam ekstrak etanol daun kersen dapat dilihat pada Tabel 13 berikut.

Tabel 13. Hasil Perhitungan Kadar Total Flavonoid

Replikasi	Absorbansi	Kadar Terhitung		Berat Sampel (g)	Volume Total (mL)	FP	TFC (mg QE/g)
		mg/mL	mg/mL				
1	0,885	133,869	0,133869	0,08	10	2	33,4672
2	0,876	132,565	0,132565	0,08	10	2	33,1412
3	0,87	131,695	0,131695	0,08	10	2	32,9237
4	0,889	134,449	0,134449	0,08	10	2	33,6122
						Rata-rata ± SD	33,286 ± 0,311

UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA PERPUSTAKAAN

B. PEMBAHASAN

Penelitian ini termasuk dalam jenis penelitian yang bersifat eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui kadar total fenolik dan flavonoid ekstrak etanol daun kersen (*muntingia calabura* L.). Tanaman ini banyak tumbuh di Indonesia sebagai tanaman perindang dan sering tumbuh di tengah retakan rumah, di tepi saluran pembuangan air dan tempat-tempat yang kurang kondusif untuk hidup karena kersen mempunyai kemampuan beradaptasi yang baik (Puspitasari *et al.,*2017).

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Isdiyanti (2021), telah dilakukan penelitian tentang penetapan kadar total senyawa flavonoid ekstrak etanol 70% daun kersen menggunakan metode ultrasonik. Pada penelitian tersebut hanya sampai pada penetapan kadar total senyawa flavonoid, namun belum sampai pada identifikasi golongan senyawa antioksidan lain yang terkandung dalam sampel yaitu senyawa fenolik, sehingga dalam penelitian ini dilakukan identifikasi total senyawa fenolik dan flavonoid ekstrak etanol 96% daun kersen menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Sampel daun kersen yang digunakan dalam penelitian ini dipanen di daerah persawahan Desa Ambarketawang, Gamping Kidul, Sleman, Yogyakarta pada bulan Juli 2022. Daun tanaman kersen yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tua karena menurut penelitian yang dilakukan oleh Nasution (2021), menyatakan bahwa total fenolik dan flavonoid lebih tinggi pada daun tua dibandingkan daun muda. Pengambilan daun pada tanaman dilakukan dengan cara diambil pada urutan ke-3 sampai 6 dari pucuk tanaman kersen.

Sampel daun kersen yang telah dipanen dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C sampai diperoleh simplisia kering yang ditandai dengan simplisia tersebut mudah dihancurkan atau dipatahkan. Tujuan pengeringan ini dilakukan untuk mengurangi kandungan air yang terdapat dalam simplisia karena air dapat menjadi media tumbuhnya jamur dan mikroorganisme lain. Simplisia kering tersebut kemudian dibuat dalam bentuk serbuk dengan menggunakan alat penyerbuk dengan tujuan untuk memudahkan proses pemisahan/penarikan zat aktif oleh pelarut yang terdapat dalam sel tanaman. Selain itu, bentuk serbuk ini

UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA PERPUSTAKAAN

membuat luas kontak antara permukaan jaringan sel dengan pelarut akan semakin besar, sehingga mempermudahkan proses penyarian. Hasil serbuk sampel daun kersen selanjutnya diekstraksi dengan etanol 96%. Ekstrak etanol daun kersen dalam penelitian ini diekstraksi menggunakan metode ultrasonik.

Proses ultrasonik dilakukan menggunakan etanol 96% sebanyak 2 liter selama 10 menit dengan frekuensi 20 kHz pada suhu 40°C. Selama proses ultrasonik berlangsung, sampel dimasukkan ke dalam botol duran, tujuannya untuk mempermudahkan sampel tidak tumpah selama proses ekstraksi. Alasan memilih metode ini karena dapat membantu merusak dinding sel tumbuhan dan memudahkan pelarut untuk masuk ke dalam sampel sehingga dihasilkan ekstrak dengan waktu yang singkat, temperatur rendah dan membutuhkan pelarut yang sedikit (Maleta *et al*., 2018). Pemilihan etanol 96% sebagai pelarut karena etanol 96% memiliki sifat tidak toksik, selektif, absorbsinya baik, dan memiliki kemampuan penyarian yang tinggi sehingga dapat menyari senyawa yang bersifat non polar, semi polar, dan polar. Pelarut etanol 96% juga lebih mudah masuk berpenetrasi ke dalam dinding sel sampel daripada pelarut etanol dengan konsentrasi lebih rendah, sehingga menghasilkan ekstrak yang lebih pekat (Wendersteyt *et al*., 2021). Kemudian filtrat disaring menggunakan corong *Buchner* yang diberi kertas saring dengan menggunakan pompa vakum sehingga proses penyaringan dapat berlangsung lebih cepat. Hasil penyaringan filtrat kemudian diuapkan untuk memperoleh ekstrak kental dengan cara pemanasan menggunakan *waterbath* pada suhu 40°C bertujuan agar senyawa aktif dalam ekstrak tidak rusak.

Ekstrak kental yang diperoleh dihitung rendemen ekstrak sebagai persentase perbandingan antara bobot ekstrak kental yang diperoleh terhadap bobot serbuk daun kersen yang digunakan. Rendemen ekstrak kental daun kersen yang diperoleh yaitu sebesar 42,42%. Hasil rendemen ekstrak daun kersen yang diperoleh memenuhi nilai yang dipersyaratkan yaitu tidak kurang dari 16% (BPOM, 2004).

Skrining fitokimia merupakan metode analisis secara kualitatif yang dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam

UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA PERPUSTAKAAN

ekstrak daun kersen. Skrining fitokimia ekstrak etanol daun kersen yang dilakukan dalam penelitian ini antara lain alkaloid, flavonoid, fenolik, tannin, dan saponin.

Pada identifikasi senyawa alkaloid, digunakan tiga pereaksi yaitu pereaksi Wagner, Mayer dan Dragendrof. Pengujian senyawa alkaloid diperoleh hasil yang positif dari ketiga pereaksi yang digunakan. Pada pereaksi Wagner terbentuk endapan berwarna coklat, pereaksi Mayer terbentuk endapan berwarna putih, dan pereaksi Dragendrof terbentuk endapan berwarna jingga. Hal ini terjadi pada pereaksi Mayer karena terjadinya interaksi antara senyawa alkaloid dengan ion tetraiodomerkurat sehingga membentuk ion logam berat yang mampu mengendapkan senyawa alkaloid yang bersifat basa. Pada pereaksi Dragendrof dapat membentuk endapan jingga, karena senyawa alkaloid berinteraksi dengan ion tetraiodobismutat (Sulistyarini *et al*., 2019).

Pengujian senyawa flavonoid dalam ekstrak etanol daun kersen diperoleh hasil positif yang ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi merah bata setelah ditambahkan Mg dan HCl pekat. Perubahan warna yang terjadi disebabkan karena adanya reduksi flavonoid dengan HCl pekat dan serbuk Mg yang dapat menghasilkan senyawa kompleks (Ikalinus *et al*., 2015).

Untuk identifikasi senyawa fenolik dan tannin dilakukan dengan menggunakan larutan $FeCl_3$. Fungsi penambahan $FeCl_3$ yaitu untuk menentukan adanya gugus fenol dalam sampel. Hasil yang didapat yaitu ekstrak etanol daun kersen mengandung tannin yang ditandai dengan terbentuknya warna biru kehitaman dan mengandung fenolik dengan terbentuknya warna hijau kehitaman. Warna kehitaman yang dihasilkan terjadi karena tannin dan fenol dapat membentuk senyawa kompleks dengan $FeCl_3$ (Sri *et al.,*2014).

Saponin adalah senyawa metabolit sekunder yang memiliki permukaan yang jika dikocok dalam air dapat menimbulkan busa. Hal ini terjadi karena saponin dapat membentuk misel dari gugus polar dan non polarnya (Sangi *et al*., 2012). Pada uji senyawa saponin, diperoleh hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya busa dan tidak hilang setelah penambahan HCl 1%. Timbulnya buih

UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA PERPUSTAKAAN

menandakan adanya glikosida yang memiliki kemampuan untuk membentuk buih dalam air yang dapat terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya.

Hasil uji skrining fitokimia yang diperoleh dalam penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Puspitasari (2017) dan Sami (2017) yang memperoleh hasil positif terhadap senyawa fenolik, tannin, flavonoid, saponin, dan alkaloid dalam ekstrak etanol daun kersen. Daun kersen kaya akan kandungan senyawa flavonoid diantaranya flavon, flavonon, flavan dan biflavan yang mempunyai aktivitas antidiabetes dan sitotoksik. Senyawa fenolik, tannin dan flavon merupakan senyawa utama yang berperan sebagai antioksidan. Uji fitokimia daun kersen mengandung senyawa flavonoid, triterpenoid, alkaloid, saponin, dan steroid (Puspitasari *et al.,*2017). Zakaria (2007) menyatakan bahwa kandungan senyawa daun kersen antara lain flavonoid, tannin, triterpen, saponin, dan polifenol menunjukkan adanya aktivitas antioksidan (Reski *et al*., 2020).

Analisis kualitatif senyawa flavonoid pada ekstrak etanol daun kersen dilakukan menggunakan metode KLT. Pemilihan metode ini dikarenakan analisis pemisahan mudah digunakan, sederhana, cepat dan tidak terlalu mahal. Kombinasi fase gerak yang digunakan yaitu n-heksan:etil asetat (5:5), sedangkan fase diam yang digunakan adalah plat silika gel GF_{254}. Standar kuersetin digunakan dalam pengujian ini sebagai marker dari flavonoid. Berdasarkan hasil pengujian KLT, senyawa flavonoid tidak terdeteksi pada sinar tampak, sinar UV 254 nm, dan sinar UV 366 nm. Hal tersebut dipengaruhi oleh hasil penetapan kadar senyawa fenolik lebih besar dibandingkan senyawa flavonoid, sehingga senyawa flavonoid pada uji ini tidak terdeteksi. Hal lain yang mempengaruhi yaitu tingkat kepolaran pelarut yang tidak sesuai, metode ekstraksi yang digunakan menyebabkan adanya senyawa lain yang terkandung di dalam ekstrak etanol daun kersen, dan dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan tempat tumbuhnya sampel daun kersen. Penelitian yang dilakukan oleh Widyaningrum (2019), pengujian flavonoid ekstrak etil asetat menggunakan deteksi uap amonia menampakkan warna kuning kehijauan. Bercak warna kuning yang dihasilkan karena flavonoid mempunyai gugus kromofor dan ausokrom. Berdasarkan penelitian sebelumnya diketahui nilai hRf bercak sampel ekstrak etil asetat daun kersen sebesar 91,25

UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA PERPUSTAKAAN

bercak yang ditimbulkan bersifat nonpolar karena cenderung terikat dengan fase gerak.

Pemisahan metode ini berdasarkan prinsip *like dissolve like* yaitu didasarkan pada tingkat kepolaran analit yang dapat mempengaruhi interaksinya dengan fase diam dan fase gerak. Jika kepolaran analit sama dengan kepolaran fase gerak, maka analit akan larut dan terbawa oleh fase gerak pada permukaan fase diam. Jika interaksi analit dengan fase gerak semakin kuat, semakin jauh pula analit akan terelusi. Sebaliknya, jika kepolaran analit sama dengan fase diam, maka analit akan tertahan oleh fase diam (Lade *et al*., 2014).

Untuk uji kuantitatif dilakukan penetapan kadar total fenolik dan flavonoid pada ekstrak etanol daun kersen yang merujuk pada prosedur Chun *et al*., (2003) yaitu dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu untuk penetapan kadar total fenolik dan metode $AlCl_3$ untuk penetapan kadar total flavonoid. Metode Folin-Ciocalteu adalah metode yang paling banyak digunakan dalam menentukan kandungan senyawa total fenolik dalam tanaman dengan pertimbangan bahwa dengan metode ini pengerjaannya lebih sederhana. Reagen Folin-Ciocalteu digunakan karena senyawa fenolik dapat bereaksi dengan Folin-Ciocalteu. Prinsip yang mendasar pada metode Folin-Ciocalteu yaitu terbentuknya senyawa kompleks yang berwarna biru dan dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer.

Standar asam galat digunakan untuk penetapan kadar total senyawa fenolik yang termasuk dalam fenolik alami turunan asam hidroksibenzoat yang stabil. Asam galat yang direaksikan dengan reagen Folin-Ciocalteu menghasilkan warna hijau kehitaman dalam suasana basa yang menunjukkan hasil positif. Reaksi senyawa fenolik dilakukan dalam suasana basa supaya terjadi disosiasi proton menjadi ion fenolat. Larutan basa yang digunakan dalam penetapan kadar total senyawa fenolik yaitu larutan natrium karbonat (Na_2CO_3). Saat asam galat direaksikan dengan Folin-Ciocalteu menghasilkan warna kuning yang menandakan bahwa sampel mengandung fenolik, setelah itu ditambahkan dengan larutan Na_2CO_3 sebagai pemberi suasana basa. Selama reaksi berlangsung, gugus hidroksil pada senyawa fenolik akan bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu yang

UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA PERPUSTAKAAN

membentuk kompleks molibdenum-tungsten yang berwarna biru yang bisa dideteksi dengan spektrofotometri UV-Vis. Warna biru yang terbentuk akan semakin pekat, sesuai dengan konsentrasi ion fenolat yang terbentuk, sehingga semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka akan semakin banyak ion fenolat yang mereduksi asam heteropoli fosfomolibdat-fosfotungstat menjadi kompleks molibdenum-tungsten sehingga akan semakin pekat warna biru yang dihasilkan.

Penentuan kadar total senyawa flavonoid dilakukan dengan metode kolorimetri komplementer yang memiliki prinsip pengukuran berdasarkan pembentukan warna. Prinsip metode aluminium klorida dengan terjadinya pembentukan kompleks antara aluminium klorida dengan gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 membentuk kompleks senyawa yang stabil berwarna kuning dari golongan flavon dan flavonol diukur intensitasnya menggunakan spektrofotometer (Azizah *et al*., 2014). Standar kuersetin digunakan untuk penentuan kadar total senyawa flavonoid karena kuersetin adalah flavonoid yang termasuk dalam golongan flavonol yang memiliki gugus keto pada C-4 dan mempunyai gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavonol dan flavon. Selain itu senyawa yang penyebarannya paling luas dalam tanaman dan senyawa yang dapat bereaksi dengan $AlCl_3$, sehingga penetapan kadar total senyawa flavonoid dihitung sebagai kuersetin. Kandungan total flavonoid ditetapkan berdasarkan reaksi kolorimetri yaitu setelah sampel ekstrak daun kersen direaksikan dengan $AlCl_3$ dalam suasana asam. Larutan asam yang dipakai yaitu asam asetat. Penambahan aluminium klorida dalam sampel untuk mendeteksi 7-hidroksil dan membentuk senyawa kompleks antara $AlCl_3$ dengan kuersetin yang ditandai dengan perubahan larutan yang lebih kuning, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke daerah visible (tampak). Fungsi asam asetat untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah visible (tampak).

Penentuan panjang gelombang maksimum mampu memberikan nilai absorbansi maksimum. Panjang gelombang maks ditentukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan

UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA PERPUSTAKAAN

pada konsentrasi tertentu (Gandjar, 2012). Pada penentuan *operating time* untuk mengetahui waktu pengukuran saat larutan bereaksi dengan sempurna yang ditandai dengan nilai absorbansi yang stabil. Kestabilan suatu produk diketahui dengan mengamati absorbansi dari awal direaksikan sampai tercapai nilai serapan yang stabil.

Dalam penetapan kadar total senyawa fenolik dan flavonoid, pengukuran absorbansi sampel, standar asam galat dan standar kuersetin setelah direaksikan dilakukan pengukuran absorbansi dengan replikasi sebanyak tiga kali dengan tujuan untuk memperoleh data yang lebih valid. Hasil penetapan kadar total senyawa fenolik yang diperoleh dalam penelitian ini yaitu sebesar 39,830 ± 0,310 mgQE/g dan kadar total senyawa flavonoid yaitu sebesar 33,286 ± 0,311 mgQE/g. Berdasarkan hasil pengukuran tersebut, kadar total senyawa fenolik pada ekstrak etanol daun kersen lebih besar dibandingkan dengan total flavonoid. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini sama dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Pertiwi (2020) yang memperoleh kadar total fenolik lebih besar dibanding senyawa flavonoid. Hal ini dapat terjadi dikarenakan pelarut yang digunakan sama dan bisa juga dipengaruhi oleh panjang gelombang serta *operating time* yang didapat tidak terlalu jauh sehingga hasil yang didapatkan sama.

Senyawa fenol yang terdapat di alam sangat luas memiliki variasi struktur yang beragam, mudah ditemukan dibanyak tanaman, seperti pada bunga, daun maupun buah. Beberapa senyawa fenolik di alam telah diketahui strukturnya antara lain polifenol (tannin, melanin, lignin), flavonoid, fenil propanoid, fenol monosiklik sederhana, dan kuinon fenolik (Tahir *et al*., 2017). Pada penelitian ini, kadar fenolik ekstrak etanol daun kersen lebih besar dibandingkan dengan kadar total flavonoidnya. Hal ini dikarenakan senyawa fenolik memiliki turunan senyawa lainnya seperti tannin, flavonoid, kumarin, lignin dan senyawa lainnya sehingga diperoleh nilai kadar total senyawa fenolik yang lebih besar dibandingkan dengan kadar total senyawa flavonoid (Pertiwi *et al*., 2020).

UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA PERPUSTAKAAN