

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil**

##### 1. Determinasi

Derterminasi tanaman dilakukan untuk memastikan identitas dari tanaman daun sukun yang digunakan. Determinasi tanaman dilaksanakan di Laboratorium Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta dengan nomor hasil determinasi 216/Lab.Bio/B/V/2024 pada tanggal 28 April 2024. Hasil determinasi menunjukkan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini ialah spesies *Artocarpus altilis* (Park) Fosberg (Lampiran 2).

##### 2. Preparasi Sampel

Daun sukun dipanen pada bulan Mei 2024 di Desa Panggunharjo, Kecamatan Sewon, Kabupaten Bantul. Daun sukun sebanyak 3 kg disortasi basah dan dibersihkan kotoran serta benda-benda asing yang menempel pada saat pengumpulan bahan. Kemudian dicuci dengan air mengalir, dilanjutkan dengan pemotongan menjadi bagian kecil untuk mempercepat pengeringan. Proses pengeringan dilakukan selama 72 jam menggunakan oven pada suhu 40°C. Sampel dapat dikatakan kering apabila daun mudah hancur ketika diremas. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air simplisia dan menghindari pertumbuhan kapang atau jamur (Listina *et al.*, 2023). Simplisia yang sudah kering dihancurkan menggunakan grinder, lalu disaring menggunakan ayakan nomor 40 mesh dan didapatkan 453 g serbuk daun sukun.

##### 3. Ekstraksi Sampel

Daun sukun diekstraksi menggunakan metode maserasi dan UAE menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstraksi dengan maserasi dilakukan selama 3 hari dan UAE selama 60 menit pada suhu 30°C. Daun sukun yang sudah diekstraksi dipisahkan filtrat dan ampasnya kemudian disaring dengan saringan kertas, hingga diperoleh ekstrak bening (filtrat 1). Ampas yang dihasilkan dari

teknik maserasi diremaserasi selama 1 hari diaduk tiap 8 jam sekali dan ampas hasil dari teknik UAE diekstraksi kembali selama 60 menit pada suhu 30°C, kemudian disaring hingga diperoleh ekstrak bening (filtrat 2). Tujuan penyaringan untuk memisahkan ampas dengan pelarut untuk mendapatkan ekstrak bening. Ekstrak bening diuapkan menggunakan kompor listrik dan wajan dengan suhu 40°C. Hasil ekstrak kental ditimbang dan dihitung % rendemen. Hasil rendemen ekstrak kental dapat dilihat pada **Tabel 2**.

**Tabel 2. Hasil Rendemen Ekstrak Kental Daun Sukun**

Metode	Berat Simplisia (g)	Ekstrak		Rendemen (%)
		Kental + Wadah (g)	Berat Wadah (g)	
Maserasi	100	69,3719	57,4743	11,8976
UAE	100	66,0420	54,9566	11,0854

Berdasarkan hasil rendemen pada **Tabel 2** metode maserasi memiliki % rendemen yang lebih tinggi yaitu 11,8976% dibandingkan metode UAE yaitu 11,0854% kedua metode ekstraksi memenuhi persyaratan nilai rendemen yang baik yaitu tidak kurang dari 10% berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia (Kementerian Kesehatan RI, 2017).

#### 4. Uji Organoleptis

Uji organoleptis termasuk pengamatan menggunakan indera yang bertujuan untuk pengenalan awal secara objektif karakteristik dari ekstrak berupa aroma, bentuk, rasa dan warna. Hasil uji organoleptis dapat dilihat pada **Tabel 3**, dimana ekstrak daun sukun memiliki aroma khas, bentuk kental, rasa pahit dan warna coklat kehitaman sesuai dengan persyaratan Farmakope Herbal Indonesia (Kementerian Kesehatan RI, 2017).

**Tabel 3. Hasil Uji Organoleptis**

Parameter	Hasil (Kementerian Kesehatan RI, 2017)	
Aroma	Khas	Khas
Bentuk	Kental	Kental
Rasa	Pahit	Pahit
Warna	Coklat Kehitaman	Coklat Kehitaman

## 5. Uji KLT

Uji KLT digunakan untuk mengidentifikasi senyawa yang terdapat dalam campuran secara kualitatif yaitu untuk mengetahui senyawa flavonoid dalam ekstrak etanol 96% daun sukun. Perbandingan yang digunakan yaitu kuersetin. Fase diam yaitu silika gel 60 F<sub>254</sub> yang memiliki sifat relatif polar. Plat silika gel 60 F<sub>254</sub> diaktifkan terlebih dahulu menggunakan oven selama 30 menit dengan suhu 100°C. Pada saat analisis KLT, konsentrasi ekstrak daun sukun hasil maserasi dan UAE yang digunakan adalah konsentrasi 10.000 ppm dan kuersetin yang digunakan 5.000 ppm dengan penotolan masing-masing sebanyak 4 totolan dengan jarak totolan 1 cm. Selanjutnya dielusi dengan fase gerak hingga eluen naik sampai tanda batas, setelah itu dikeringkan pada suhu ruang sebelum dilakukan uji pada sinar tampak dan sinar UV.

Optimasi fase gerak dilakukan sebanyak 3 kali dan dapat dilihat pada **Tabel 4**, pertama menggunakan kombinasi fase gerak air : metanol : etil asetat (5:4:1 v/v/v), untuk hasil yang didapatkan bercak terelusi sampai tanda garis batas. Optimasi kedua menggunakan kombinasi fase gerak etil asetat : kloroform (3:7 v/v), untuk hasil yang didapatkan pada standar kuersetin terlihat telling sedangkan sampel terelusi dengan baik, kemudian menggunakan fase gerak asam format : aseton : toluena (2:4:4 v/v/v) yang menunjukkan hasil elusi terbaik dan optimal.

**Tabel 4. Hasil Optimasi Fase Gerak**

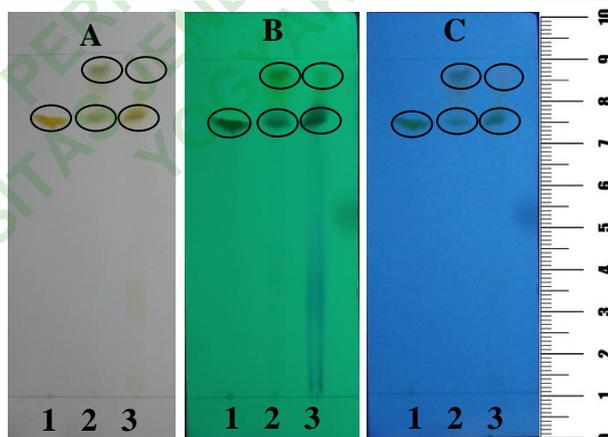
No	Fase Gerak	Perbandingan Pelarut	Hasil Optimasi	Literatur
1	Etil Asetat : Metanol : Air	1 : 4 : 5	Bercak terelusi sampai tanda garis batas	(J. Y. Putri <i>et al.</i> , 2023)
2	Kloroform : Etil Asetat	7 : 3	Standar terlihat tetapi <i>telling</i> sedangkan sampel terelusi dengan baik	(Riasari <i>et al.</i> , 2022)
3	Asam Format : Aseton : Toluena	2 : 4 : 4	Bercak standar dan sampel terlihat jelas dan terelusi sejajar	(Annegowda <i>et al.</i> , 2012)

Hasil elusi menggunakan fase gerak asam format : aseton : toluena terjadi pemisahan senyawa yang baik ditandai bercak dengan adanya sejajar antara

standar kuersetin dan sampel (Gambar 11). Bercak hasil elusi dihitung nilai Rfnya yang telah dirangkum pada **Tabel 5**.

**Tabel 5. Perbandingan Warna dan Nilai Rf**

No	Sampel	Warna Pada Plat KLT			Hasil Nilai Rf (cm)
		Sinar Tampak	Sinar UV <sub>254</sub> nm	Sinar UV <sub>366</sub> nm	
1	Kuersetin	Kuning	Kuning	Kuning	0,812
2	Ekstrak UAE	Hijau kekuningan	Kuning kehijauan	Kuning kehijauan	0,812
			Hijau kekuningan	Hijau kekuningan	0,95
3	Ekstrak Maserasi	Hijau kekuningan	Kuning kehijauan	Kuning kehijauan	0,812
			Hijau kekuningan pudar	Hijau kekuningan pudar	0,95



**Gambar 11. Hasil Uji KLT Sampel Dibandingkan Dengan Standar Kuersetin**  
Keterangan: 1: Standar Kuersetin, 2: Ekstrak UAE, 3: Ekstrak Maserasi. A: Visualisasi Tampak, B: UV<sub>254</sub> nm, C: UV<sub>366</sub> nm.

Nilai Rf dapat digunakan bukti dalam mengidentifikasi suatu senyawa. Berdasarkan **Tabel 5** nilai sampel dan standar menunjukkan hasil yang sama yaitu 0,812 cm. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pada ekstrak daun sukun hasil UAE dan maserasi mengandung senyawa kuersetin. Nilai Rf yang baik menunjukkan pemisahan yang cukup baik berkisaran antara 0,2-0,8,

berdasarkan nilai Rf yang dihasilkan dari sampel dan standar masuk dalam rentang yang baik (Alyidrus *et al.*, 2022). Terdapat bercak dengan nilai Rf 0,95 cm pada ekstrak daun sukun hasil UAE dan maserasi yang menunjukkan adanya senyawa lain pada ekstrak.

## 6. Penentuan Kadar Flavonoid Total

### a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Pembacaan panjang  $\lambda_{\max}$  bertujuan untuk mengetahui  $\lambda$  yang memberikan serapan optimum. Penentuan  $\lambda_{\max}$  menggunakan standar kuersetin konsentrasi 50 ppm dengan penambahan  $\text{CH}_3\text{COOH}$  5% dan penambahan reaksi pewarnaan dengan  $\text{AlCl}_3$  10%. Pembacaan  $\lambda$  menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan rentang 400-800 nm. Hasil pengukuran  $\lambda_{\max}$  kuersetin yang didapatkan adalah 415 nm, yang mana hasil tersebut sesuai dengan penelitian Iman *et al.*, (2023) dengan  $\lambda$  kuersetin 415 nm.

### b. Penentuan *Operating Time* Kuersetin

Penentuan *operating time* dilakukan untuk menentukan lama waktu inkubasi. *Operating time* kuersetin menggunakan standar kuersetin konsentrasi 50 ppm dengan penambahan  $\text{AlCl}_3$  10% dan  $\text{CH}_3\text{COOH}$  5%. Pengukuran dilakukan selama 60 menit dengan selang waktu 1 menit pada  $\lambda_{\max} = 415$  nm. Hasil absorbansi menunjukkan nilai stabil dari menit ke-32 – 35, sehingga *operating time* yang digunakan adalah 32 menit. Hasil *operating time* pada penelitian ini hasilnya tidak jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya ialah menit ke-30 (Suharyanto & Prima, 2020).

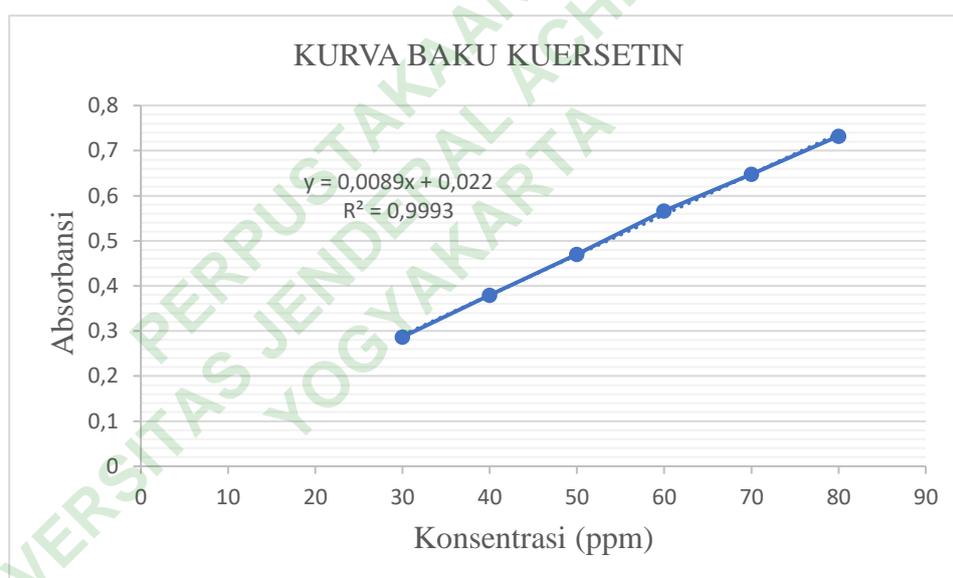
### c. Penentuan Kurva Baku Kuersetin

Penentuan kurva baku kuersetin dilakukan pada seri konsentrasi 30, 40, 50, 60, 70, 80 ppm. Penentuan variasi konsentrasi mengikuti prinsip hukum *Lambert-Beert*, yang menentukan rentang absorbansi yang diperoleh pada kurva baku antara 0,2-0,8. Pembuatan dilakukan dengan cara diambil 0,5 mL dari setiap konsentrasi kuersetin ditambahkan 0,5  $\text{AlCl}_3$  10% dan  $\text{CH}_3\text{COOH}$  5% 4 mL lalu ditunggu reaksinya selama 32

menit dan dibaca pada  $\lambda_{\max}$  415 nm. **Tabel 6** menunjukkan data absorbansi kurva baku kuersetin, semakin tinggi konsentrasi menunjukkan semakin tinggi pula nilai absorbansi.

**Tabel 6. Absorbansi Kurva Baku Kuersetin**

Konsentrasi (ppm)	Rata-Rata $\pm$ SD
30	0,2866 $\pm$ 0,0015
40	0,3793 $\pm$ 0,0032
50	0,4703 $\pm$ 0,0023
60	0,5663 $\pm$ 0,0106
70	0,6476 $\pm$ 0,0028
80	0,7323 $\pm$ 0,0049



**Gambar 12. Kurva Baku Kuersetin**

Perhitungan dari hasil kurva baku yang dibuat diperoleh persamaan regresi linier yaitu,  $y = 0,0089x + 0,022$   $r = 0,9993$ . Nilai  $r$  mendekati 1 menunjukkan hubungan yang kuat antara konsentrasi dan absorbansi. Selanjutnya, persamaan regresi dari kurva baku yang telah didapatkan dilanjutkan untuk menghitung kadar flavonoid total.

d. Penentuan Kadar Flavonoid Total

Penentuan kadar flavonoid total untuk mengetahui seberapa besar kadar flavonoid total pada ekstrak etanol 96% daun sukun dengan metode

kolometri spektrofotometri UV-Vis menggunakan larutan aluminium klorida berdasarkan pembentukan kompleks antara senyawa flavonoid dengan aluminium klorida. Kuersetin dijadikan sebagai pembanding karena kuersetin adalah senyawa flavonoid golongan flavonol dengan gugus keto pada C-3 dan C-5 yang berdekatan (Ramayani *et al.*, 2021). Nilai absorbansi sampel yang diperoleh dilanjutkan dengan perhitungan TFC dengan memasukan nilai absorbansi sampel dalam persamaan garis linier  $y = 0,0089x + 0,022$   $r = 0,9993$ . Nilai absorbansi (y) dan kadar terhitung ( $\mu\text{g/mL}$ ) (x), lalu satuannya dirubah menjadi (mg/mL). Kadar terhitung (mg/mL) yang telah didapatkan dimasukan kedalam rumus TFC (*Total Flavonoid Content*) dengan menghasilkan kadar terhitung dengan volume yang digunakan (mL) dikali dengan faktor pengenceran kemudian dibagi dengan sampel (g) yang digunakan. Hasil penentuan kadar flavonoid total ditampilkan pada **Tabel 7**.

**Tabel 7. Kadar Flavonoid Total**

Metode	Flavonoid Total (mg QE/g) $\pm$ SD	CV (%)
Maserasi	42,3322 $\pm$ 0,3792	0,895
UAE	44,689 $\pm$ 0,1764	0,394

Berdasarkan hasil rata-rata kadar flavonoid total pada **Tabel 7** menunjukkan metode ekstraksi UAE daun sukun menghasilkan kadar flavonoid total yang lebih tinggi yaitu sebesar 44,689 mg QE/g, dibandingkan dengan metode ekstraksi maserasi sebesar 42,332 mg QE/g. oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa metode ekstraksi mempengaruhi terhadap kadar flavonoid total.

## 7. Analisis Data

Hasil data yang didapatkan selanjutnya dianalisis dengan perangkat lunak SPSS. Uji *Levene's* digunakan untuk uji homogenitas dan uji *Shapiro-Wilk* untuk uji normalitas dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil analisis data didapatkan data yang homogen dan terdistribusi normal dibuktikan dengan nilai signifikansi  $>0,05$ . Analisis data dilanjutkan dengan uji T- *Independent* dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil menunjukkan terdapat perbedaan yang

signifikan antara kadar flavonoid total ekstrak daun sukun metode maserasi dibandingkan dengan metode UAE. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa perbedaan metode ekstraksi dapat mempengaruhi kadar flavonoid total ekstrak daun sukun secara signifikan.

**Tabel 8. Hasil Uji Statistika Kadar Flavonoid Total**

Metode	Uji Normalitas ( <i>Shapiro-Wilk</i> )	Uji Homogenitas ( <i>Levene's</i> )	Uji T-Test
Maserasi	0,510*	0,208**	0,001***
UAE	0,363*		

Keterangan: Sig >0,05 data terdistribusi normal (\*), Sig >0,05 data terdistribusi homogen (\*\*), Sig (2-tailed) <0,05 terdapat perbedaan signifikan (\*\*\*).

## B. Pembahasan

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi terhadap kadar flavonoid total dari daun sukun. Penelitian diamati dengan determinasi dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran simplisia. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman adalah (*Artocarpus altilis* (Park) Fosberg.). Daun sukun dipanen pada bulan Mei 2024 di Desa Panggungharjo, Kecamatan Sewon, Kabupaten Bantul. Pemanenan sampel dilakukan pada pagi hari dikarenakan tanaman masih mengandung zat aktif tinggi dan belum banyak terjadi penguapan karena suhu tinggi dari sinar matahari. Bagian yang diambil yaitu bagian daun yang hijau segar dan tidak terlalu tua yaitu 3-5 tangkai dahan daun (Evifania *et al.*, 2020). Daun sukun sebanyak 3 kg disortasi basah dan dibersihkan kotorannya atau benda-benda asing yang menempel saat pengumpulan bahan. Kemudian kotoran dibersihkan dari daun sukun dengan mencucinya dengan air mengalir, dilanjutkan dengan pemotongan menjadi bagian kecil untuk mempercepat pengeringan. Proses pengeringan menggunakan oven pada suhu 40°C untuk mencegah kerusakan kandungan simplisia terutama senyawa flavonoid yang akan diuji pada penelitian ini. Senyawa metabolit sekunder flavonoid terdegrasi atau rusak pada suhu pemanasan diatas 60°C (Dewi *et al.*, 2017). Simplisia yang sudah kering dihaluskan menggunakan grinder untuk memperkecil ukuran partikel. Partikel yang kecil dapat meningkatkan luas permukaan yang dapat memaksimalkan proses ekstraksi (Primasari *et al.*, 2022) kemudian, simplisia

diayak menggunakan ayakan nomor 40 mesh untuk menghasilkan ukuran partikel yang seragam (Faijah *et al.*, 2020). Daun sukun yang didapatkan sebanyak 453 gram yang selanjutnya diekstraksi menggunakan metode maserasi dan UAE.

Pemilihan metode ekstraksi yang sesuai didasarkan sifat bahan dan senyawa yang akan dipisahkan. Pada penelitian ini menggunakan dua metode ekstraksi yang berbeda yaitu metode konvensional maserasi dan non konvensional UAE. Metode maserasi didasarkan pada prinsip adanya proses perendaman bahan melalui proses pelarutan senyawa kimia berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut yang sesuai tanpa proses pemanasan (Latifa *et al.*, 2022). Kelebihan metode maserasi adalah biaya lebih murah, proses pengerjaan dan alat yang sederhana, dan tidak ada proses pemanasan yang membuat senyawa bahan alam tidak mudah terurai (Candra *et al.*, 2021). Metode UAE dengan prinsip adanya gelombang ultrasonik yang membentuk efek kavitasi yang menghasilkan pemanasan dan pembentukan senyawa ekstrak. Metode sonikasi memiliki kelebihan dibandingkan metode ekstraksi maserasi ialah kecepatan perpindahan masa lebih cepat, dapat mempercepat penetrasi cairan ke dinding sel, dan mengefisien waktu dan pelarut yang digunakan (Fauziyah *et al.*, 2022).

Pada proses ekstraksi serbuk simplisia diekstraksi dengan pelarut etanol 96%, karena flavonoid bersifat polar maka senyawa dapat ditarik keluar dari serbuk simplisia oleh etanol 96% yang juga bersifat polar. Hal tersebut berdasarkan prinsip “*like dissolve like*” yaitu senyawa polar bisa larut dalam pelarut polar, senyawa semi polar bisa larut dalam pelarut semi polar dan senyawa non polar bisa larut dalam pelarut non polar. Etanol 96% dipilih karena yaitu murah, mudah didapatkan, dan universal (Ramayani *et al.*, 2021). Setelah proses ekstraksi, dilakukan penyaringan untuk memisahkan ampas dengan pelarut dan didapatkan ekstrak bening, kemudian ekstrak diuapkan menggunakan kompor listrik dan wajan dengan suhu 40°C (Latif *et al.*, 2018). Tujuan dilakukan penguapan untuk menghilangkan cairan penyari dan untuk mendapatkan ekstrak kental. Suhu 40°C dipilih untuk meminimalkan kerusakan senyawa flavonoid seperti kuersetin yang dapat terdegradasi atau rusak suhu 70°C (Pratiwi *et al.*, 2022). Setelah penguapan dan didapatkan ekstrak kental dihitung nilai % rendemen.

Perhitungan % rendemen ekstrak bertujuan untuk mengetahui perbandingan jumlah ekstrak yang dihasilkan terhadap berat simplisia awal dan untuk menentukan jumlah senyawa aktif yang berhasil ditarik dari bahan tersebut. Syarat rendemen yang baik adalah tidak kurang dari 10% (Kementerian Kesehatan RI, 2017). Hasil % rendemen ekstrak dapat dilihat pada **Tabel 3**, metode maserasi didapatkan % rendemen sebesar 11,8976%, sedangkan metode UAE didapatkan sebesar 11,0854% yang berarti memenuhi syarat standar yang telah ditetapkan. Rendemen tertinggi diperoleh pada metode maserasi diikuti UAE, karena pada metode tersebut digunakan waktu ekstraksi lebih lama sehingga memungkinkan kontak yang lebih lama antara pelarut dan bahan atau simplisia (Ramadhan *et al.*, 2020). Hal ini menyebabkan proses penetrasi pelarut ke dalam sel menjadi lebih optimal. Maserasi dilakukan selama 3 hari dan ekstraksi UAE selama 60 menit dengan masing-masing dilakukan pengulangan ekstraksi sebanyak satu kali dengan cara yang sama. Waktu ekstraksi maserasi lebih lama menyebabkan sebagian besar senyawa dapat terekstraksi dengan maksimal. Ekstrak daun sukun metode maserasi dan UAE selanjutnya dianalisis secara kuantitatif dan kualitatif.

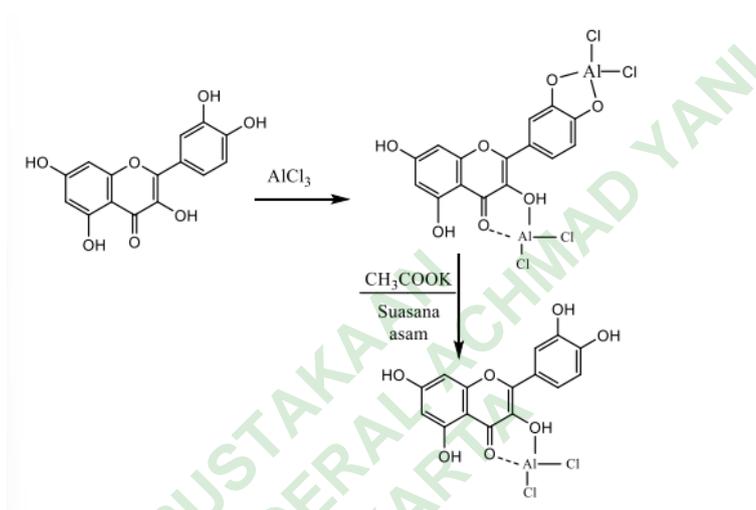
Analisis kualitatif menggunakan metode KLT bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid dalam ekstrak daun sukun hasil maserasi dan UAE. KLT memiliki prinsip zat aktif akan terlarut dan tertarik oleh pelarut apabila memiliki kepolaran yang serupa antara fase gerak dan fase diam (Harahap *et al.*, 2024). Pembanding yang digunakan untuk uji KLT yaitu kuersetin dan fase diam menggunakan silika gel 60 F<sub>254</sub> yang mempunyai sifat relatif polar. Silika gel 60 F<sub>254</sub> diaktifkan menggunakan oven selama 30 menit suhu 100°C untuk menghilangkan kadar air yang terkandung dalam lempeng plat (Mahdalena *et al.*, 2022). Fase gerak yang sesuai diperoleh dari hasil optimasi beberapa kombinasi fase gerak. Hasil optimasi kombinasi fase gerak terbaik adalah asam format : aseton : toluena (2:4:4 v/v/v) yang menunjukkan hasil bercak yang sejajar dan terlihat jelas.

Pengamatan UV<sub>254</sub> didasarkan pada prinsip bahwa plat dengan indikator fluoresensi akan bersinar saat dilihat dibawah UV<sub>254</sub> dan akan menghasilkan bercak noda pemisahan berwarna gelap, sedangkan ketika disinari UV<sub>366</sub> absorben ini tidak akan berfluoresensi sehingga latar belakang yang dihasilkan berwarna gelap dan

bercak senyawa menunjukkan noda pemisahan yang bersinar. Sebaliknya senyawa pada bercak noda pemisahan yang bersinar (Kautsari *et al.*, 2021). Hasil KLT ekstrak daun sukun metode maserasi dan UAE timbul bercak noda yang sejajar jika dilihat secara visual dan terelusi dengan baik, masing-masing bercak noda berwarna kuning kehijauan dapat dilihat pada **Gambar 11**. Berdasarkan penelitian Latif *et al.*, 2018; Mahdalena *et al.*, (2022) menyebutkan bahwa flavonoid dapat berfluorensensi dan memberikan warna kuning, hijau, atau biru. Dilanjutkan pengukuran dan perhitungan didapatkan nilai Rf yang hasilnya dapat dilihat pada **Tabel 5**. Dari hasil nilai Rf tersebut diidentifikasi bahwa ekstrak maserasi dan UAE dan baku pembanding kuersetin masing-masing mendapatkan nilai Rf 0,812. Menurut penelitian Latif *et al.*, 2018; Mahdalena *et al.*, (2022) nilai Rf dapat menjadi bukti identifikasi senyawa, ditandai dengan kesamaan karakteristik pada senyawa yang mempunyai nilai Rf yang sama atau hampir sama. Hasil uji KLT juga menunjukkan bercak dengan nilai Rf 0,95 yang menunjukkan terdapat senyawa lain pada ekstrak. Ekstrak daun sukun mengandung berbagai senyawa diantaranya tanin, saponin, alkaloid, terpenoid (Kaidun *et al.*, 2022), dan senyawa flavonoid lain seperti kuersetin, rutin, kaempferol dan antosianidin oleh karena itu memungkinkan apabila ada senyawa lain selain kuersetin. Nilai Rf yang diperoleh menunjukkan perbedaan karakteristik senyawa dan berguna sebagai identifikasi senyawa. Nilai Rf yang lebih kecil menunjukkan senyawa polar, dan sebaliknya. Hal ini karena fase diam bersifat polar. Senyawa polar akan terikat kuat pada fase diam, yang menghasilkan nilai Rf menjadi rendah. Persaingan fase diam dan fase gerak untuk mengikat komponen dalam campuran yang dipisahkan, karena terjadinya pemisahan pada KLT. Persaingan ini terjadi karena perbedaan polaritas antara fase diam dan komponen cair. Komponen yang lebih polar akan lebih banyak terserap oleh fase diam (Forestryana & Arnida, 2020).

Flavonoid dapat diukur secara kualitatif dengan metode kolorimetri sederhana. Metode ini melibatkan reaksi membentuk warna kompleks antara flavonoid dan aluminium klorida. Penambahan aluminium klorida menghasilkan kompleks dengan gugus hidroksi keton sehingga warna yang dihasilkan dapat dilihat gelombang *visible*. Struktur flavonoid dan flavonol mempunyai gugus keto pada

atom C-4 dan gugus hidroksi atom C-5 atau C-3 berdekatan (Chang *et al.*, dalam Ramayani *et al.*, 2021) sehingga menghasilkan senyawa kompleks yang stabil, flavonoid dapat dideteksi berdasarkan berubahnya warna kuning ketika terkena sinar *visible* atau UV. Fungsi penambahan ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) asam asetat untuk menstabilkan dan mempertahankan amplitudo gelombang pada daerah sinar tampak (Amalia *et al.*, 2022).



**Gambar 13. Reaksi Flavonoid dengan  $\text{AlCl}_3$**  (Lindawati & Ma'ruf, 2020)

Penentuan kadar flavonoid dihitung menggunakan persamaan garis regresi linier  $y = 0,0089x + 0,022$   $r = 0,9993$  yang diperoleh dari kurva baku kalibrasi standar kuersetin sehingga didapatkan konsentrasi ( $x$ ). Oleh karena itu, persamaan regresi yang digunakan bersifat linier, nilai  $r$  yang diperoleh mendekati 1 menunjukkan hubungan yang kuat antara absorbansi dan konsentrasi. Nilai  $x$  kemudian didistribusikan dengan rumus perhitungan TFC. Penetapan kadar flavonoid total dilakukan pengukuran kedua ekstrak dengan konsentrasi 1.500 ppm ekstrak daun sukun hasil maserasi dan UAE yang dilakukan sebanyak 3 kali replikasi dan didapatkan nilai rata-rata. Metode UAE menghasilkan kadar flavonoid yang lebih tinggi yaitu  $44,689 \pm 0,1764$  mg QE/g dengan nilai CV 0,394%, dibandingkan dengan metode maserasi sebesar  $42,3322 \pm 0,3792$  mg QE/g dengan nilai CV 0,895%. Berdasarkan hasil dapat disimpulkan bahwa metode ekstraksi UAE daun sukun menghasilkan kadar flavonoid total lebih tinggi dibandingkan metode maserasi. Nilai CV yang dihasilkan sudah baik karena kurang dari 5% persyaratan nilai CV (Kusumawardani *et al.*, 2024).

Pada penelitian ini nilai % rendemen ekstrak hasil maserasi lebih besar dibandingkan dengan metode UAE namun tidak berbeda jauh, sedangkan kadar flavonoid total ekstrak hasil UAE lebih tinggi dibandingkan hasil maserasi. Berdasarkan penelitian Utami *et al.*, (2020) menunjukkan nilai % rendemen ekstrak tidak mempengaruhi kadar flavonoid total, karena nilai % rendemen yang tinggi tidak selalu menghasilkan kadar flavonoid total yang tinggi dikarenakan tergantung dari cara kerja ekstraksi yang digunakan dalam menarik senyawa (Utami *et al.*, 2020). Metode ekstraksi UAE daun sukun menghasilkan kadar flavonoid total lebih baik karena, metode UAE menerapkan mekanisme ekstraksi dengan adanya gelombang ultrasonik frekuensi diatas 20 kHz. Gelombang ultrasonik dapat memecah dinding sel, sehingga memudahkan pelepasan senyawa aktif (Suhendar *et al.*, 2020). Metode UAE memiliki kelebihan dibandingkan metode maserasi yaitu dapat meningkatkan kemampuan cairan menembus dinding sel, kecepatan perpindahan massa lebih cepat, meningkatkan efisiensi ekstraksi, volume pelarut kecil, suhu rendah dan waktu yang singkat (Iman *et al.*, 2023). Metode ekstraksi maserasi merupakan teknik ekstraksi tanpa pemanasan yang hanya mengandalkan polaritas pelarut untuk menarik senyawa aktif. Mekanisme ekstraksi maserasi melibatkan perendaman dan pengadukan sesekali pada suhu ruangan untuk membantu pengeluaran senyawa aktif dalam sel (Suhendar *et al.*, 2020). Dalam metode maserasi dan UAE kualitas pengestrakan didapatkan ekstrak UAE yang lebih baik, sehingga metode UAE mendapatkan kadar flavonoid total yang lebih tinggi dibandingkan metode maserasi. Berdasarkan hasil KLT metode UAE menghasilkan dua bercak noda yang terlihat jelas dengan nilai  $R_f$  0,8 dan 0,95 dibandingkan dengan metode maserasi yang artinya tidak hanya ada senyawa kuersetin, namun terdapat senyawa metabolit sekunder lainnya.

Analisis dilakukan dengan uji *Independent Samples T-Test* program SPSS, untuk menentukan adanya perbedaan signifikansi dua kelompok data yang tidak berhubungan yaitu kadar flavonoid total hasil maserasi dan UAE. Sebelum uji *T-Test*, dilakukan uji *Levene's* untuk uji homogenitas dan uji *Shapiro-Wilk* untuk uji normalitas dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil uji homogenitas dan normalitas menunjukkan data yang homogen dan terdistribusi normal. Kemudian, dilanjutkan

dengan uji *Independent Samples T-Test* dengan hasil nilai sig. 2-tailed 0,001 <0,05 yang menunjukkan perbedaan metode ekstraksi berpengaruh terhadap kadar flavonoid total secara signifikan. Metode UAE secara signifikan menghasilkan TFC lebih tinggi dibandingkan metode maserasi.

PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI  
YOGYAKARTA