



Analysis of Flavonoids on Fraction from Hydrolysate of *Cordia Sebestena* L. Leaves Extract

Ni P. E. Hikmawanti^{1*}, Endang Hanani¹, dan Rini Mardiyanti¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Jl. Delima II/IV
Klender, Jakarta Timur, DKI Jakarta 13460, Indonesia

Submitted 25 March 2022; Revised 22 January 2023; Accepted 15 March 2023; Published 01 February 2024

*Corresponding author: ermy0907@uhamka.ac.id

Abstract

Cordia sebestena L. contains flavonoids, that play a role in free radical scavenging activity. This study aimed to analyze the flavonoids in the hydrolyzed fraction of the 70% ethanol extract of Cordia leaves. The study was divided into 7 stages: (1) maceration using 70% ethanol, (2) acid hydrolysis of the ethanol extract, (3) fractionation of hydrolysate with ethyl acetate, (4) determination of total flavonoid content, (5) antiradical activity assay against 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), (6) thin layer chromatography (TLC) analysis, and (7) identification of flavonoid using UV-Visible Spectrophotometry and Infrared Spectroscopy. The total flavonoid content of the ethyl acetate fraction was 8.20 mgQE/g with an IC₅₀ value of 296.91 g/mL against DPPH radicals. There is one spot of flavonoids in the ethyl acetate fraction (hRf = 85.5). The UV-Vis spectrum on the spot obtained absorption at 340 nm (band I) and 240 nm (band II). The infrared spectrum shows a signal at 3363 cm⁻¹ (O-H stretching), 1727 cm⁻¹ (C=O), and 1060 cm⁻¹ strong (C-O). The ethyl acetate hydrolysate fraction of Cordia leaf contains flavonoid similar to the chalcone group. Further analysis is needed using ¹H NMR or FTIR data from a known chalcone as a standard to confirm the flavonoid.

Keywords: Acid hydrolysis; Boraginaceae; Cordia; Ethyl acetate fraction; Flavonoids

Analisis Flavonoid pada Fraksi Hasil Hidrolisat Ekstrak Daun *Cordia sebestena* L.

Abstrak

Cordia sebestena L. mengandung flavonoid yang berperan dalam aktivitas peredaman radikal bebas. Penelitian ini bertujuan menganalisis senyawa flavonoid pada fraksi hasil hidrolisat ekstrak etanol 70% daun Cordia. Penelitian terbagi menjadi 7 tahapan, yaitu (1) maserasi daun menggunakan etanol 70%, (2) hidrolisis asam pada ekstrak, (3) fraksinasi hidrolisat dengan etil asetat, (4) penentuan kadar flavonoid total dengan kolorimetri, (5) pengujian aktivitas antiradikal terhadap 2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), (6) pemisahan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT), dan (7) identifikasi flavonoid menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan infra merah. Kadar flavonoid total fraksi etil asetat sebesar 8,20 mgQE/g dengan nilai IC₅₀ terhadap radikal DPPH sebesar 296,91 µg/mL. Ada satu bercak flavonoid pada fraksi etil asetat (hRf = 85,5). Hasil spektrum UV-Vis pada bercak tersebut diperoleh serapan pada 340 nm (pita I) dan 240 nm (pita II). Spektrum infra merah menunjukkan adanya sinyal pada 3363 cm⁻¹ (O-H ulur), 1727 cm⁻¹ (C=O), dan 1060 cm⁻¹ kuat (C-O). Fraksi etil asetat hidrolisat ekstrak etanol daun Cordia mengandung senyawa flavonoid yang mirip dengan kelompok kalkon. Namun, diperlukan analisis lebih lanjut untuk memastikan bahwa flavonoid ini merupakan khalkon menggunakan data ¹H NMR atau FTIR dari senyawa khalkon yang telah diketahui.

Kata Kunci: Hidrolisis asam; Boraginaceae; Cordia; Fraksi etil asetat; Flavonoid,

1. Pendahuluan

Banyak tanaman hias berbunga merupakan sumber alami senyawa bioaktif yang bermanfaat untuk kesehatan manusia, terutama sebagai antioksidan. Meskipun demikian, ketertarikan pemanfaatan tanaman ini sebagai sumber makanan dan obat masih rendah. Padahal beberapa studi melaporkan bahwa tanaman hias memiliki potensi sebagai sumber flavonoid (terutama antosianin) sebagai antioksidan dan antiinflamasi.¹ *Cordia sebestena* L. (Boraginaceae) atau *Cordia* merupakan suatu tanaman hias. Daun *Cordia* mengandung senyawa fenolik, flavonoid, saponin, alkaloid, steroid/triterpenoid, dan tannin.² Daun *Cordia* juga mengandung senyawa volatil sebesar 0,05%.³ Daun *Cordia* memiliki beragam aktivitas farmakologi, antara lain antibakteri,⁴ analgetik, antiinflamasi,⁵ antioksidan,⁶ dan lain sebagainya. Studi mengenai toksisitas subakut dari ekstrak etil asetat daun *Cordia* menunjukkan bahwa ekstrak tersebut tidak toksik terhadap hati.⁴ Sebelumnya, telah diisolasi kandungan flavonoid hesperetin dari bunga *Cordia* dengan khasiat antibakteri dan antikanker terhadap kanker serviks *in vitro*.⁷ Namun, studi mengenai flavonoid dari daun *Cordia* belum banyak dieksplorasi.

Flavonoid merupakan kelompok fenolik dengan struktur inti C-15 (C6-C3-C6).⁸ Flavonoid merupakan kelas metabolit sekunder dari bahan alam sebagai nutrasetikal yang paling banyak digunakan pada pengobatan, makanan, suplemen dan lainnya.⁹ Meskipun studi mengenai isolasi maupun sintesisnya telah banyak, para peneliti masih tertarik meneliti flavonoid dan turunannya.¹⁰ Umumnya, flavonoid dapat diekstraksi dari pelarut air, etanol, metanol, n-butanol, aseton, etil asetat, kloroform dan lainnya.¹¹ Pelarut polar digunakan untuk memperoleh flavonoid bentuk glikosida, sedangkan pelarut non-polar untuk ekstraksi bentuk aglikonnya.⁸ Untuk memperoleh bentuk aglikon flavonoid umumnya dilakukan proses hidrolisis terhadap glikosida flavonoid dengan cara asam, basa, maupun enzimatis. Hidrolisis asam merupakan teknik sederhana, cepat dan ekonomis untuk mengubah suatu

glikosida menjadi aglikon.¹² Teknik ini sering kali dilakukan menggunakan HCl 2 N-metanol atau HCl 2M.¹² Hidrolisis glikosida flavonoid dari beberapa sampel sayuran dilaporkan baik dilakukan dengan metode hidrolisis asam menggunakan HCl 1,2 M dalam 50% metanol-air dengan penambahan asam askorbat sebagai pencegah oksidasi pada 80 °C selama 120 menit.¹³

Flavonoid merupakan suatu antioksidan yang secara alami ditemukan dalam bahan alam terutama tumbuhan.¹⁰ Selain itu, flavonoid juga berperan sebagai suatu nutrasetikal dengan khasiat antimikroba, antibakteri, antifungi, antivirus, antiulcer, hepatoprotektif, antiinflamasi, efek kardioprotektif, antineoplasma, dan lainnya.¹⁴ Banyaknya penemuan dan pengembangan obat baru dari flavonoid yang berasal dari tanaman menjadi alasan dilakukannya penelitian ini. Penelitian ini bertujuan melakukan analisis senyawa flavonoid pada fraksi etil asetat hasil hidrolisis ekstrak etanol 70% daun *Cordia* sekaligus menentukan aktivitas antiradikalnya.

2. Metode

2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi toples maserasi, ayakan no. mesh 40, timbangan analitik (Ohaus), mikropipet (Eppendorf), *vacuum rotary evaporator* (Eyela N-1100, Cina), oven (Mettler UN-55), chamber (Camag), kotak UV (Camag), ultrasonik (Branson 5510), spektrofotometer UV-Vis (UV-1601 Series, Shimadzu, Japan), dan spektrometer FTIR (Agilent Cary 630, USA).

2.2. Bahan

Etanol 70%, etil asetat, metanol, kloroform pada tingkat analitik (Merck, Jerman) digunakan sebagai pelarut. Bahan lain yang digunakan antara lain plat KLT GF₂₅₄ (Merck, Jerman), DPPH, AlCl₃ 10%, kalium asetat, kuersetin (Sigma-Aldrich Co., USA), HCl 2N, Na₂SO₄, asam formiat, dan aquades.

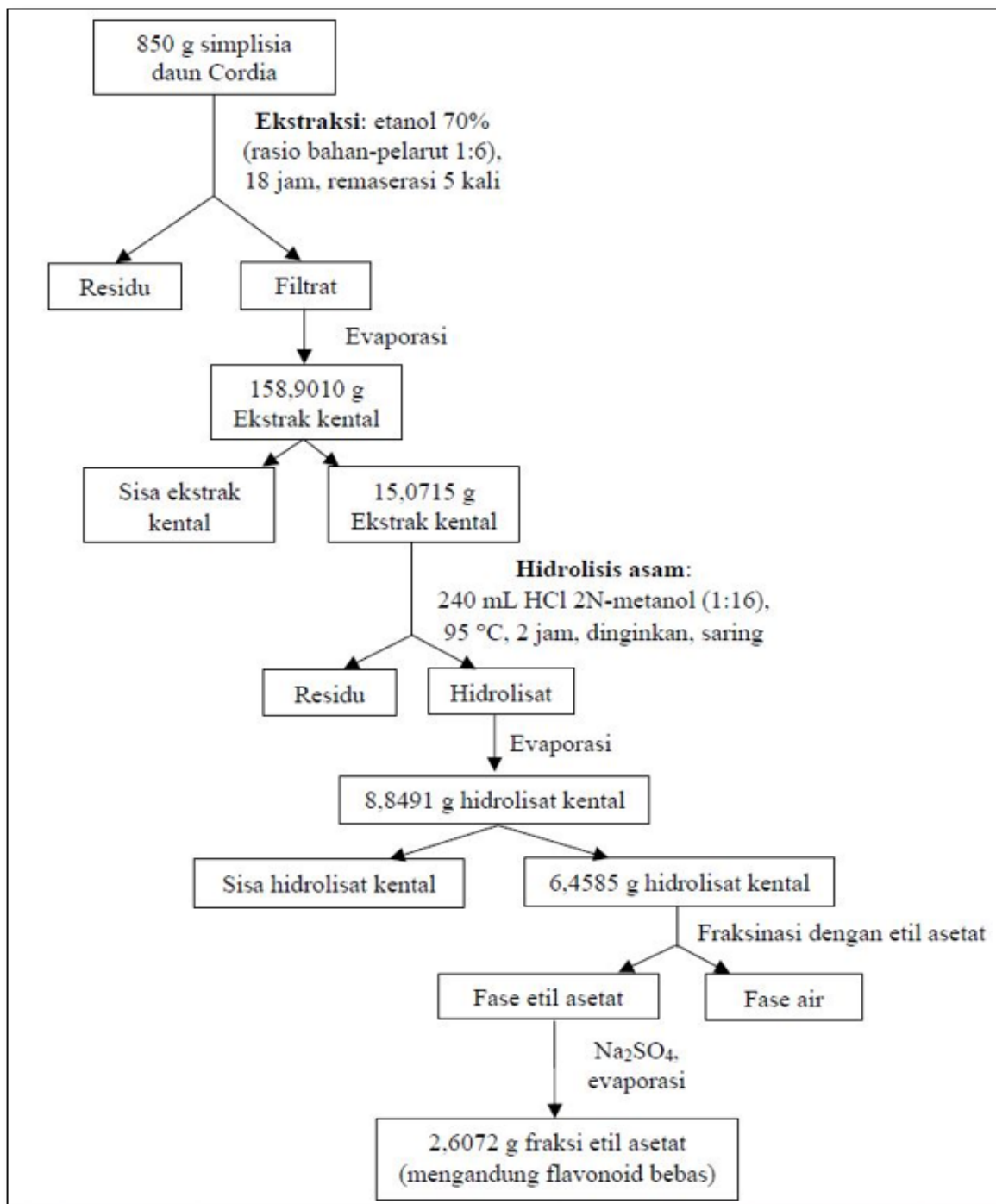
2.3. Metode

2.3.1. Ekstraksi

Daun *Cordia* diperoleh dari pekarangan rumah warga di sekitar Jakarta Timur. Sebelumnya, tanaman telah dideterminasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (*Indonesian Institute of Sciences*), Pusat Penelitian Biologi (*Research Center for Biology*), *Cibinong Sciences Center*, Cibinong. Sampel daun segar (2,5 kg) dibuat simplisia menggunakan oven pada 50 °C. Blender elektrik digunakan untuk menghaluskan simplisia menjadi serbuk untuk selanjutnya

diayak dengan ayakan no. mesh 40. Serbuk kemudian disimpan dalam wadah kering tertutup rapat.¹⁵

Serbuk simplisia (850 g) diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% (dengan rasio bahan-pelarut 1:6) selama 18 jam sambil sesekali diaduk. Ampas yang telah dipisahkan dari filtrat kemudian diremaserasi sampai pemeriksaan terhadap kandungan flavonoid didalamnya memberikan hasil negatif. Filtrat diuapkan pelarutnya menggunakan *vacuum*



Gambar 1. Skema prosedur pemisahan

rotary evaporator pada 50 °C. Evaporasi dilanjutkan dengan penangas air pada 50 °C hingga diperoleh ekstrak kental.¹⁵ Ekstrak dihitung persentase rendemen dan dilakukan penapisan fitokimia sederhana mengikuti prosedur pada Hanani (2015).¹⁶ Skema prosedur ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 1.

2.3.2. Hidrolisis Ekstrak

Ekstrak etanol sebanyak 15,0715 g dicampurkan dengan 240 mL HCl 2N-metanol (dengan rasio bahan-pelarut 1:16) di dalam labu alas bulat. Campuran dipanaskan pada 95 °C selama 2 jam. Setelah dingin, campuran disaring dan dipekatkan di atas penangas air pada 60 °C hingga diperoleh hidrolisat kental.¹⁷

2.3.3. Fraksinasi dari hasil hidrolisat

Hidrolisat sebanyak 6,45 g dilarutkan dalam 20 mL metanol dan 20 mL aquadest, dan kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah. Selanjutnya, campuran difraksinasi menggunakan etil asetat sebanyak 40 mL. Setelah dikocok perlahan dan didiamkan sesaat, fase air (lapisan bawah) dan fase etil asetat (lapisan atas) masing-masing dipisahkan dan dikumpulkan. Fraksi etil asetat disaring menggunakan Na₂SO₄. Fraksi tersebut dipekatkan di atas penangas air dengan suhu 40 °C.¹⁷

2.3.4. Penetapan kadar flavonoid total fraksi

Penetapan kadar flavonoid total dengan metode kolorimetri.¹⁸ Kuersetin digunakan untuk membuat kurva kalibrasi. Kuersetin (1000 µg/mL) dalam metanol kemudian diencerkan hingga diperoleh larutan seri konsentrasi 26, 44, 62, 80, dan 98 µg/mL. Fraksi etil asetat disiapkan dalam metanol (1000 µg/mL). Larutan uji (0,5 mL) secara terpisah dicampur dengan metanol (1,5 mL), AlCl₃ 10% (0,1 mL), kalium asetat 1 M (0,1 mL) dan aquades (2,8 mL), kemudian dihomogenkan. Setelah 30 menit diinkubasi pada suhu kamar, campuran tersebut diukur absorbansinya pada 440 nm menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Selanjutnya grafik hubungan absorbansi terhadap konsentrasi

standar kuersetin digunakan untuk memperoleh persamaan garis linear ($y = bx \pm a$). Persamaan ini selanjutnya digunakan untuk menetapkan konsentrasi flavonoid dalam larutan uji. Selanjutnya, prosedur mereaksikan yang sama dilakukan pada larutan uji fraksi etil asetat 6000 µg/mL (0,5 mL) dalam metanol untuk menentukan kadar flavonoid total pada fraksi tersebut. Pengujian dilakukan triplo.

2.3.5. Penentuan aktivitas antiradikal bebas fraksi

Penentuan aktivitas antiradikal dilakukan terhadap DPPH dengan kuersetin sebagai pembanding mengikuti prosedur Batool et al., (2019)¹⁹ dengan sedikit modifikasi. Larutan DPPH disiapkan dalam metanol dengan konsentrasi 0,2 mM. Larutan fraksi etil asetat disiapkan dengan seri konsentrasi yaitu 50, 150, 250, 350, dan 450 µg/mL. Sedangkan, seri konsentrasi kuersetin sebagai pembanding adalah 2, 4, 6, 8, dan 10 µg/mL. Selanjutnya larutan uji sebanyak 1 mL (baik fraksi etil asetat maupun kuersetin) masing-masing secara terpisah dicampurkan dengan 4 mL DPPH. Campuran diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit dalam kondisi gelap. Absorbansi diukur pada 515 nm menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Pengujian dilakukan triplo. Kapasitas antiradikal dihitung berdasarkan persentase inhibisi terhadap radikal DPPH yang dihitung dengan cara: (absorbansi DPPH - absorbansi sampel) dibagi dengan absorbansi DPPH dikali 100%. Kemudian kurva persentase inhibisi DPPH terhadap konsentrasi masing-masing sampel digunakan untuk memperoleh persamaan garis linear ($y = bx \pm a$). Persamaan tersebut selanjutnya digunakan untuk menghitung konsentrasi sampel yang mampu menghambat 50% radikal DPPH (inhibition concentration 50, IC₅₀) yang dinyatakan dalam µg/mL.

2.3.6. Pemisahan dengan KLT preparatif

Sebelumnya, konfirmasi keberadaan flavonoid dalam fraksi etil asetat dilakukan pada plat KLT GF₂₅₄. Fase gerak yang digunakan adalah kloroform:etil asetat:metanol (3:2:2,5)

dengan penambahan sedikit asam formiat. Pereaksi semprot sitroborat digunakan untuk mendeteksi golongan senyawa flavonoid. Pemisahan flavonoid pada fraksi etil asetat selanjutnya dilakukan pada plat KLT preparatif menggunakan fase gerak yang sama. Visualisasi bercak dipantau pada sinar UV 254 dan 366 nm tanpa disemprot sitroborat. Bercak dihitung nilai R_f -nya dengan cara membagi jarak rambat bercak (cm) dengan jarak rambat eluen (cm) dikali 100.

2.3.7. Analisis senyawa flavonoid

Bercak yang diperoleh dari hasil KLT preparatif dikerok dan dilarutkan dalam metanol dengan bantuan ultrasonik selama 15 menit. Filtrat disaring dengan kapas dan kertas saring. Filtrat kemudian diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis maupun FTIR.

3. Hasil

Hasil identifikasi kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun Cordia terdeteksi senyawa alkaloid, fenolik, flavonoid, tanin, dan saponin. Hasil ekstraksi dan fraksinasi hidrolisat disajikan pada Tabel 1. Kadar flavonoid total fraksi etil asetat diperoleh sebesar 8,20 mgQE/g. Selanjutnya, pengujian aktivitas antiradikal dilakukan terhadap DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Nilai IC_{50} kuersetin adalah 7,028 μ g/mL, sedangkan IC_{50} fraksi etil asetat adalah 296,91 μ g/mL. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antiradikal namun belum sebanding dengan kuersetin sebagai standar/pembanding.

Gambar 2 menunjukkan pola KLT fraksi etil asetat untuk konfirmasi keberadaan

golongan senyawa flavonoid sebelum dilakukan KLT preparatif. Terdapat 4 bercak yang terdeteksi pada sinar 254 nm (sebelum disemprot sitroborat), sedangkan pada 366 nm (setelah disemprot sitroborat) hanya ditemukan 1 bercak dominan berwarna kuning yang disimpulkan bahwa bercak tersebut merupakan suatu flavonoid.¹⁶ Gambar 3 menunjukkan pola kromatogram dari KLT preparatif. Bercak yang tampak kemudian dianalisis lebih lanjut menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

Hasil spektrum UV-Vis pada bercak 1 (Gambar 4) diperoleh serapan pada 340 nm (pita I) dan 240 nm (pita II). Sedangkan spektrum infra merah (Gambar 5) menunjukkan adanya sinyal pada 3363 cm^{-1} melebar (O–H ulur), 1727 cm^{-1} (C=O), 1459 cm^{-1} tajam dengan intensitas lemah dan 1060 cm^{-1} kuat (C–O).

4. Pembahasan

Hasil identifikasi kualitatif ekstrak etanol daun Cordia pada penelitian ini sesuai dengan penelitian Hanani et al., (2019).² Etanol memiliki kemampuan menarik senyawa polifenol, flavonoid, tanin, terpenoid, steroid, dan alkaloid. Polaritas etanol berkaitan dengan keberadaan gugus OH pada strukturnya.^{20,21} Kandungan flavonoid terdeteksi lebih tinggi dalam etanol yang bercampur dengan air pada konsentrasi 70% dibanding etanol absolut.^{21,22} Umumnya, flavonoid pada tumbuhan berada pada bentuk glikosidanya dibandingkan bentuk aglikon. Dengan demikian, prosedur ekstraksi flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan teknik hidrolisis.^{12,16}

Hidrolisis dilakukan untuk melepaskan gula pada glikosida dengan cara asam, basa maupun enzimatis. Hidrolisis asam pada glikosida flavonoid dapat dilakukan dengan

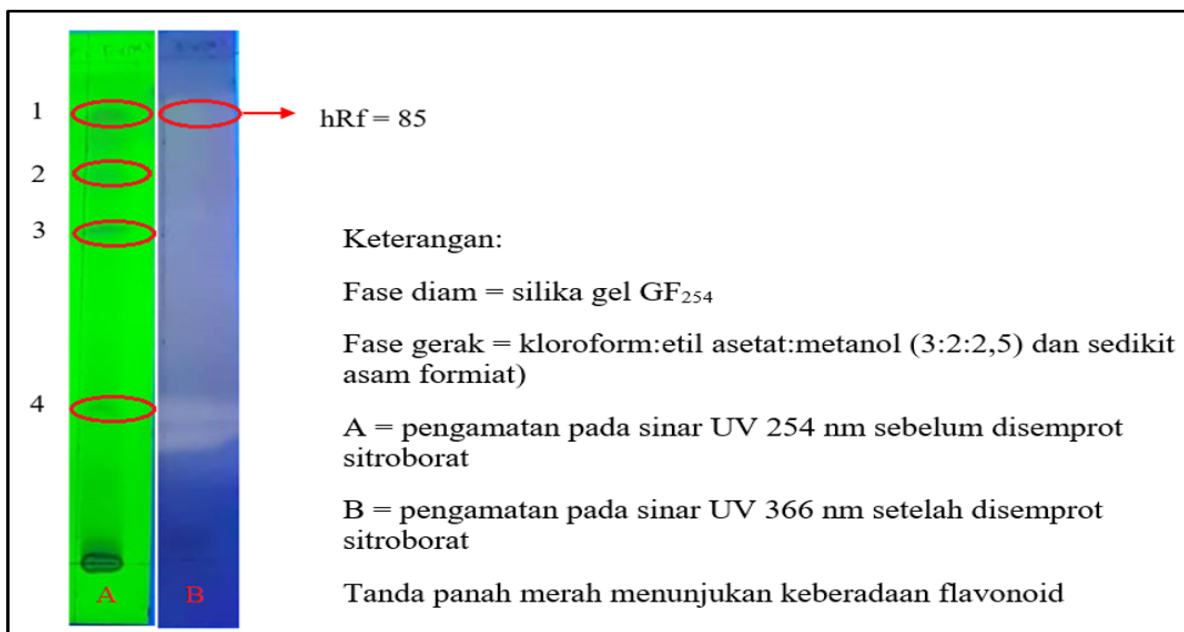
Tabel 1. Hasil ekstraksi dan fraksinasi

Sampel	Bobot (g)	Rendemen (%)
Ekstrak etanol 70%*	158,90	18,69
Hidrolisat**	8,8491	58,71
Fraksi etil asetat***	2,6072	40,37

*Dari 850 g serbuk simplisia

**Dari 15,0715 g ekstrak

***Dari 6,4585 g hidrolisat

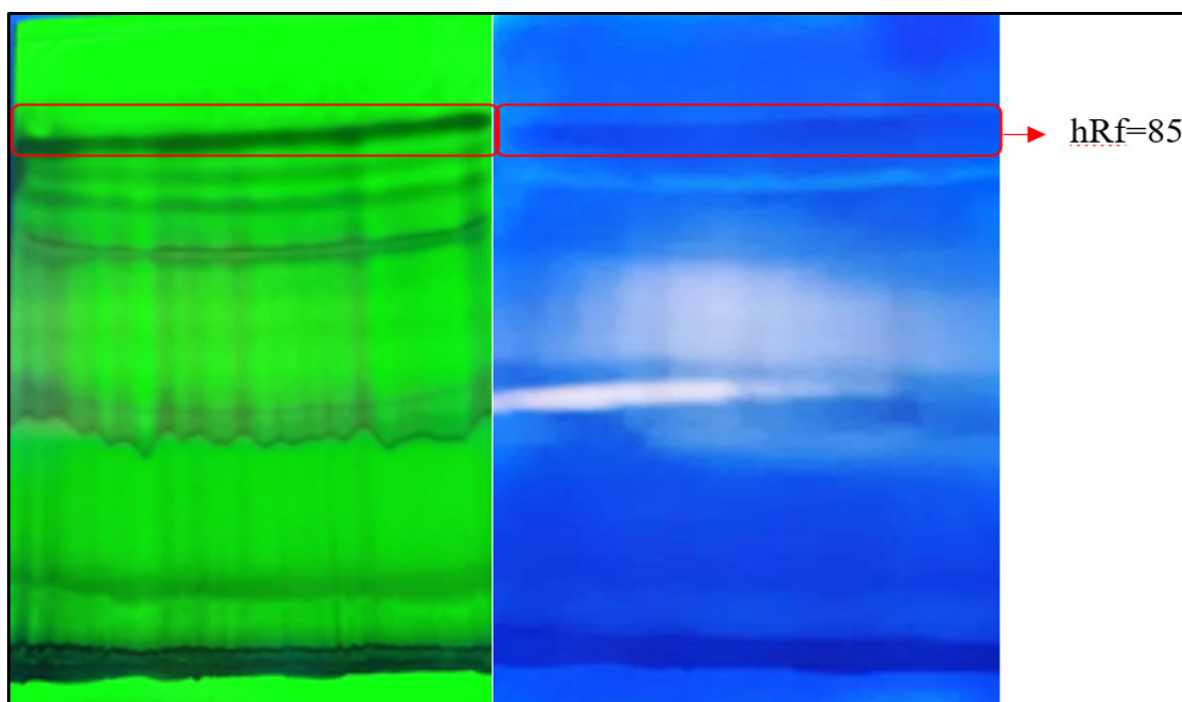


Gambar 2. Pola kromatogram KLT pada fraksi etil asetat

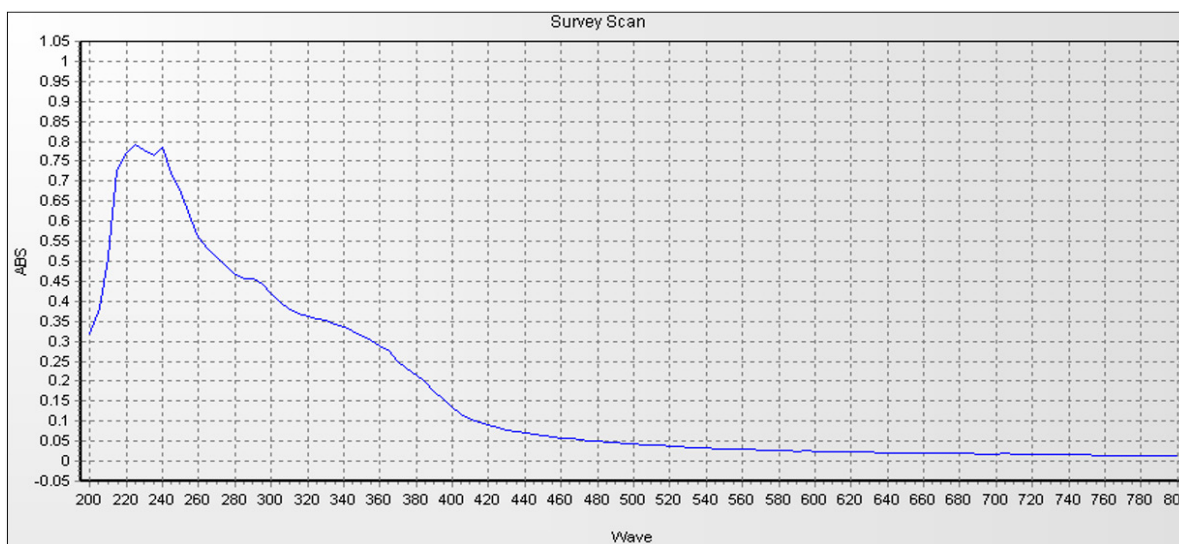
memanaskan campuran bahan dengan 2 N HCl-metanol.¹² Beberapa peneliti ada yang menambahkan asam askorbat di dalam prosedur tersebut untuk mencegah terjadinya oksidasi. Proses hidrolisis dapat dilakukan selama 2 jam pada suhu 80 °C atau lebih.^{12,16} Bentuk aglikon selanjutnya dapat diekstraksi dengan pelarut semipolar yaitu etil asetat.¹⁶ Berdasarkan hasil rendemen dari fraksi etil asetat dari hidrolisat pada Tabel 1,

menunjukkan bahwa fraksi ini mengandung sebagian besar senyawa aglikon dan sedikit glikosida. Kemampuan ini didasarkan pada polaritas etil asetat yang cukup besar karena adanya elektron π dan elektron pasangan bebas pada O.²⁰

Pengujian spektrofotometri yang didasarkan pada pembentukan kompleks aluminium adalah prosedur yang sering digunakan dalam penentuan kadar flavonoid.



Gambar 3. Pola kromatogram KLT preparatif pada fraksi etil asetat pada sinar UV 254 nm (kiri) dan pada sinar UV 365 nm (kanan)

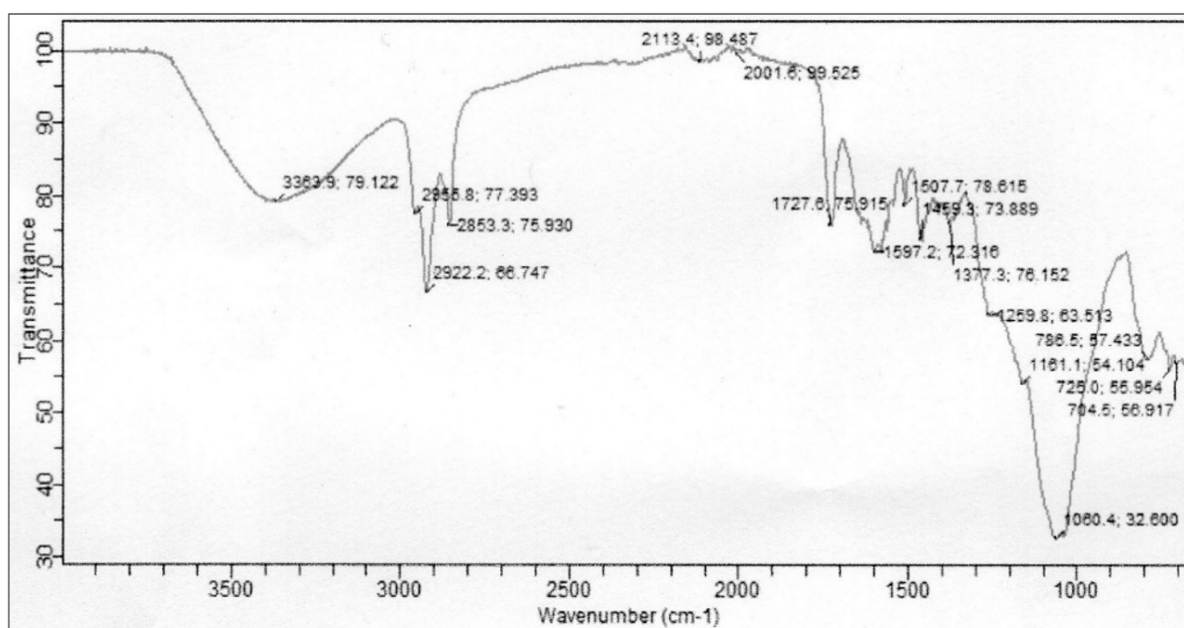


Gambar 4. Spektrum UV bercak 1

Sampel ini direaksikan dengan AlCl_3 dan memungkinkan pengukuran flavonoid totalnya setelah 2-60 menit dalam kisaran 404-430 nm.²³ Prinsipnya, kompleks stabil dari AlCl_3 dengan gugus keto C-4 dan C-3 atau C-5 hidroksil dari struktur flavonoid (flavon dan flavonol) dapat terbentuk setelah penambahan asam. Selain itu, AlCl_3 juga membentuk kompleks stabil dengan gugus ortohidroksil pada cincin A atau B dari flavonoid.²³

Antiradikal merupakan kemampuan senyawa kimia untuk bereaksi dengan radikal bebas.⁹ Senyawa bahan alam dengan aktivitas antiradikal umumnya dari kelompok fenolik. Kelompok fenolik (termasuk

flavonoid) memiliki struktur kimia yang mendukung proses peredaman radikal bebas.⁹ Pada flavonoid, ada beberapa faktor yang menentukan kapasitas antiradikalnya antara lain: (1) adanya gugus orto-dihidroksi pada cincin B mampu menyumbang elektron dan berpartisipasi dalam delokalisasi elektron, (2) adanya ikatan rangkap 2,3 dengan gugus 4-okso pada cincin C bertanggung jawab pada delokalisasi cincin B, (3) adanya gugus 3- dan 5-hidroksil dengan gugus 4-okso pada cincin A dan C ikut berperan dalam menangkalkan radikal, (4) adanya gugus 3-hidroksil^{9,24} Hasil dari studi ini, nilai IC_{50} fraksi etil asetat masih rendah dibandingkan dengan kuersetin sebagai pembanding terhadap peredaman



Gambar 5. Spektrum inframerah bercak 1

radikal DPPH. Senyawa antioksidan baik fenolik maupun flavonoid memberikan respon aktivitas antioksidan dan antiradikal berbeda (terkait mekanismenya) tergantung dari jenis ujinya.²⁵ Hal ini berkaitan dengan fakta bahwa tiap uji memiliki perbedaan spesifisitas pelarut, reagen, dan kondisi pH. Selain itu, sifat hidrofobik/hidrofilik substansi, ukuran molekul, dan jumlah (kuantitas) serta jenis dari gugus fungsi fenolik dan flavonoid yang diujikan juga ikut berperan pada hasil ujinya.⁹ Dengan demikian, diperlukan pengujian dengan metode selain DPPH pada fraksi etil asetat untuk membuktikan hal ini.

Pemisahan dengan KLT masih menjadi metode yang paling banyak digunakan untuk pemisahan disebabkan karena metode ini sederhana, praktis, dan ekonomis serta prosedur kerja yang mudah.²⁶ Hasil kromatogram KLT menunjukkan keberadaan senyawa flavonoid setelah disemprot dengan sitroborat. Sitroborat merupakan reagen yang terdiri atas asam borat dan asam sitrat dalam etanol. Reagen ini bereaksi dengan flavonoid dengan gugus ortho-hidroksi²⁷ dengan hasil positif berwarna kuning terang pada UV 366 nm.¹⁶

Prosedur pendekatan klarifikasi struktur senyawa dapat menggunakan spektroskopi. Spektroskopi UV-Visible dapat digunakan untuk menganalisis kualitatif kelas senyawa tertentu. Spektroskopi inframerah, misalnya *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) merupakan metode dengan resolusi tinggi yang digunakan untuk mengidentifikasi kandungan kimia dengan cepat secara non-destruktif.^{21,28}

Spektroskopi serapan ultraviolet (UV) dari flavonoid memiliki dua serapan maksimal sekitar 300–350 dan 240–285 nm masing-masing sesuai dengan pita I dan II dari cincin A dan B. Sebagian besar flavon, isoflavon dan kalkon terhidroksilasi memberikan serapan maksimum pada 3300–3600 cm⁻¹ karena adanya gugus OH.⁸ Gugus karbonil (C=O) flavonoid diamati sekitar 1727 cm⁻¹. Serapan tajam dan intensitas tinggi teramati pada 1600 dan 1500 cm⁻¹ karena adanya ikatan rangkap pada cincin aromatik.^{8,29} Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat hidrolisat

ekstrak etanol daun *Cordia* mengandung senyawa flavonoid mirip dengan kelompok kalkon. Spektrum UV kalkon mengandung dua pita serapan yang ditunjukkan pada Pita I (340 nm) dengan serapan sebesar 0,785 dan pita II (240 nm) dengan serapan sebesar 0,456. Pita I sering tampak pada 340–390 nm, meskipun terkadang sedikit perubahan atau puncak sering terjadi pada 300–320 nm. Pita II tampak pada 220–270 nm.³⁰ Secara farmakologi, kalkon memiliki khasiat yang luas seperti antidiabetes, antikanker, antiinflamasi, antimikroba, antioksidan, antiparasit, psikoaktif dan neuroprotektif.³¹

5. Kesimpulan

Fraksi etil asetat hasil hidrolisat ekstrak etanol 70% daun *Cordia* mengandung senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas antiradikal DPPH. Flavonoid yang ditemukan memiliki kemiripan dengan kelompok kalkon berdasarkan analisis spektrum UV-sinar tampak dan inframerah. Studi lebih lanjut dalam pemisahan dan pemurnian senyawa ini masih perlu dilakukan kedepannya dengan teknik kromatografi lain dan untuk menentukan struktur molekul senyawa murni perlu menggunakan metode spektroskopi massa dan NMR yang mendukung pada penentuan struktur dari flavonoid.

Referensi

1. Łysiak GP. Ornamental Flowers Grown in Human Surroundings as a Source of Anthocyanins with High Anti-Inflammatory Properties. *Foods*. 2022;11(948).
2. Hanani E, Soewandi SHW, Hayati, Revita N. Pharmacognostical and preliminary phytochemical evaluation of *Cordia sebestena* L. *Pharmacogn J*. 2019;11(5):1100–5.
3. Adeosun CB, Bamigbade O I., Osho A, Atolani O. Volatile Composition of the Leaf, Flower and Fruit of *Cordia sebestena* (L.). *J Essent Oil-Bearing Plants*. 2015;18(4):976–81.
4. Osho A, Otuechere CA, Adeosun CB, Oluwagbemi T, Atolani O.

- Phytochemical, sub-acute toxicity, and antibacterial evaluation of *Cordia sebestena* leaf extracts. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2015;27(2):163–70.
5. Sunaryo H, Siska S, Hanani E, Anindita RS, Yanti N, Lisa. Evaluation of analgesic and anti-inflammatory activities of ethanolic extract of *Cordia sebestena* L. *Eur Pharm J*. 2020;66(2):26–31.
 6. Hikmawanti NPE, Hanani E, Sapitri Y, Ningrum W. Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Different Extracts of *Cordia sebestena* L. Leaves. *Pharmacogn J*. 2020;12(6):1311–6.
 7. Prakash S, Elavarasan N, Subashini K, Kanaga S, Dhandapani R, Sivanandam M, et al. Isolation of hesperetin - A flavonoid from *Cordia sebestena* flower extract through antioxidant assay guided method and its antibacterial, anticancer effect on cervical cancer via in vitro and in silico molecular docking studies. *J Mol Struct*. 2020;1207:127751.
 8. Awouafack MD, Tane P, Morita H. Isolation and Structure Characterization of Flavonoids. In: *Flavonoids - From Biosynthesis to Human Health*. Intech; 2017. p. 45–59.
 9. Huyut Z, Beydemir F., Gülçin E. Antioxidant and Antiradical Properties of Selected Flavonoids and Phenolic Compounds. *Biochem Res Int*. 2017;2017:1–10.
 10. Arifin B, Ibrahim S. Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *J Zarah*. 2018;6(1):21–9.
 11. Alara OR, Abdurahman NH, Ukaegbu CI. Extraction of phenolic compounds: A review. *Curr Res Food Sci*. 2021;4(March):200–14.
 12. Bian Y, Zhang Y, Zhou Y, Li GH, Feng XS. Progress in the Pretreatment and Analysis of Flavonoids: An Update since 2013. *Sep Purif Rev*. 2022;51(1):11–37.
 13. Nuutila AM, Kammiovirta K, Oksman-Caldentey KM. Comparison of methods for the hydrolysis of flavonoids and phenolic acids from onion and spinach for HPLC analysis. *Food Chem*. 2002;76(4):519–25.
 14. Janabi AHW, Kamboh AA, Saeed M, Xiaoyu L, BiBi J, Majeed F, et al. Flavonoid-rich foods (FRF): A promising nutraceutical approach against lifespan-shortening diseases. *Iran J Basic Med Sci*. 2020;23(2):140–53.
 15. Kementerian Kesehatan RI. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. 2nd ed. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI; 2017. 51–55 p.
 16. Hanani E. *Analisis Fitokimia*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC; 2015. 34–45 p.
 17. Irianti T, Murti YB, Kanistri DN, Pratiwi DR, Kuswandi, Kusumaningtyas RA. DPPH Radical Scavenging Activity of Aqueous Fraction from Ethanolic Extract of Talok Fruit (*Muntingia calabura* L.). *Tradit Med J*. 2016;21(1):38–47.
 18. Hikmawanti NPE, Fatmawati S, Asri AW. The Effect of Ethanol Concentrations as The Extraction Solvent on Antioxidant Activity of Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) Leaves Extracts. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2021;755(1):012060.
 19. Batool R, Khan MR, Sajid M, Ali S, Zahra Z. Estimation of phytochemical constituents and in vitro antioxidant potencies of *Brachychiton populneus* (Schott & Endl.) R. Br. *BMC Chem*. 2019;13(32):1–15.
 20. Houghton PJ, Raman A. *Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts*. 1st ed. Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts. Springer-Science+Business Media, B.V.; 1998. 14–16, 24–31, 39–52 p.
 21. Altemimi A, Lakhssassi N, Baharlouei A, Watson DG, Lightfoot DA. *Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts*. *Plants*. 2017;6(42).
 22. Zhang Q-W, Lin L-G, Ye W-C. Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chin Med*. 2018;13(20).
 23. Pękal A, Pyrzynska K. Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. *Food Anal Methods*. 2014;7(9):1776–82.
 24. Gulcin İ. Antioxidants and antioxidant

- methods: an updated overview. *Arch Toxicol.* 2020;94(3):651–715.
25. Gulcin İ. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Arch Toxicol.* 2020;94(3):651–715.
26. Sadeer NB, Montesano D, Albrizio S, Zengin G, Mahomoodally MF. The versatility of antioxidant assays in food science and safety—chemistry, applications, strengths, and limitations. *Antioxidants.* 2020;9(8):1–39.
27. Muyumba NW, Mutombo SC, Sheridan H, Nachtergaeel A, Duez P. Quality control of herbal drugs and preparations: The methods of analysis, their relevance and applications. *Talanta Open.* 2021;4:100070.
28. Sharma B, Agrawal SC, Gupta KC. Colour reactions of chalcones and their mechanism (A review). *Orient J Chem.* 2008;24(1):289–94.
29. Ingle KP, Deshmukh AG, Padole DA, Dudhare MS, Moharil MP, Khelurkar VC. Phytochemicals: Extraction methods, identification and detection of bioactive compounds from plant extracts. *J Pharmacogn Phytochem.* 2017;6(1):32–6.
30. PaviaDL, LampmanGM, KrizGS, Vyvyan JR. Introduction to Spectroscopy. Fourth Edi. Canada: Brooks/Cole; 2001. 15–104p.
31. Aksöz BE, Ertan R. Spectral properties of chalcones II. *Fabad J Pharm Sci.* 2012;37(4):205–16.
32. Salehi B, Quispe C, Chamkhi I, El Omari N, Balahbib A, Sharifi-Rad J, et al. Pharmacological Properties of Chalcones: A Review of Preclinical Including Molecular Mechanisms and Clinical Evidence. *Front Pharmacol.* 2021;11(January).