

**Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Kelakai Merah
(*Stenochlaena palustris* (Burm F.) Bedd) Berbantu Ultrasonik**

**Analysis of Total Flavonoid Content in Ethanol Extract of Kelakai Merah Leaves
(*Stenochlaena palustris* (Burm F.) Bedd) Assisted by Ultrasonication**

Chisilia Brydhita Karangan, Wisnu Cahyo Prabowo, Risna Agustina*

Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian "Farmaka Tropis",
Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia

*Email Korespondensi: risna@farmasi.unmul.ac.id

Abstrak

Kelakai merah merupakan tanaman khas kalimantan yang banyak digunakan sebagai obat. Tanaman ini dilaporkan memiliki banyak kandungan senyawa metabolit sekunder diantaranya senyawa golongan fenolik dan flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid dari ekstrak etanol daun kelakai merah (*Stenochlaena palustris* (Burm F.) Bedd) yang diekstraksi dengan menggunakan bantuan gelombang ultrasonik. Ekstraksi berbantu ultrasonik dilakukan dengan variasi waktu (5, 10, 15, 20 dan 25 menit) dan suhu (20, 30, 40, 50 dan 60°C). Ekstrak yang diperoleh pada proses ekstraksi berbantu ultrasonik kemudian diukur kadar flavonoid menggunakan metode spektrofotometri. Hasil penelitian menunjukkan rendemen terbesar proses ekstraksi terdapat pada variasi suhu 60°C dengan waktu 20 menit (15%). Kadar flavonoid tertinggi diperoleh pada variasi suhu 50°C dengan waktu 25 menit (2,56%). Penelitian ini memberikan bukti bahwa ultrasonik dapat digunakan sebagai metode yang efektif untuk mengekstraksi flavonoid total dari daun kelakai merah, yang memiliki potensi aplikasi dalam pengembangan produk-produk herbal dan farmasi yang berbasis pada bahan tumbuhan ini.

Kata Kunci: Kelakai merah, Ekstraksi, Ultrasonik, Flavonoid

Abstract

Kelakai merah is a typical plant of Kalimantan that is widely used for medicinal purposes. This plant is reported to contain numerous secondary metabolite compounds, including phenolic and flavonoid compounds. This research aims to determine the flavonoid content of the ethanol extract of red kelakai leaves (*Stenochlaena palustris* (Burm F.) Bedd) extracted using ultrasonic assistance. Ultrasonic-assisted extraction was carried out with variations in time (5, 10, 15, 20, and 25 minutes) and

temperature (20, 30, 40, 50, and 60°C). The extract obtained during the ultrasonic-assisted extraction process was then measured for flavonoid content using the spectrophotometry method. The research results showed the highest yield of the extraction process at a temperature variation of 60°C with a time of 20 minutes (20%). The highest flavonoid content was obtained at a temperature variation of 50°C with a time of 25 minutes (51.86 ppm quercetin in 100 mg of extract). This study provides evidence that ultrasonication can be used as an effective method for extracting total flavonoids from red kelakai leaves, which have the potential for applications in the development of herbal and pharmaceutical products based on this plant material.

Keywords: Kelakai merah, Extraction, Ultrasonic, Flavonoid

DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v18i1.700>



Copyright (c) 2023, Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences (Proc. Mul. Pharm. Conf.). Published by Faculty of Pharmacy, University of Mulawarman, Samarinda, Indonesia. This is an Open Access article under the CC-BY-NC License.

Cara Sitasi:

Karangan, C. B., Prabowo, W. C., Agustina, R., 2023. Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Kelakai Merah (*Stenochlaena palustris* (Burm F.) Bedd) Berbantu Ultrasonik. *Proc. Mul. Pharm. Conf.* **18**(1). 33-38. DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v18i1.700>

1 Pendahuluan

Tumbuhan kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm F.) Bedd) adalah jenis paku-pakuan yang khas dari Kalimantan Timur dan biasanya digunakan sebagai tumbuhan obat. Selama ini, masyarakat telah mengkonsumsi bagian daun tumbuhan kelakai dan mempercayainya sebagai bahan obat tradisional. Terbukti bahwa daun Kelakai mengandung berbagai jenis metabolit sekunder, seperti senyawa fenol, flavonoid, alkaloid, dan terpenoid [1]. Aktivitas farmakologis *Stenochlaena palustris* (Burm F.) Bedd telah banyak diteliti dan diketahui memiliki beberapa efek farmakologis yang bermanfaat yaitu sebagai antiinflamasi, antiplasmodial, antimikroba, antikanker, dan antioksidan. *Stenochlaena palustris* (Burm F.) Bedd mengandung senyawa fenol dan flavonoid yang memiliki sifat antioksidan [2].

Flavonoid merupakan kelompok besar senyawa polifenol tumbuhan yang dapat ditemukan dalam berbagai jenis bahan makanan dengan konsentrasi yang bervariasi. Senyawa ini memiliki karakteristik unik, seperti

aroma yang kuat, sebagian besar berperan sebagai pigmen berwarna kuning, dan dapat larut dalam air maupun pelarut organik. Flavonoid juga memiliki kecenderungan untuk mengalami degradasi pada suhu tinggi yaitu pada suhu >50°C [3]. Selain itu, sifat anti-inflamasi dari flavonoid dapat berkontribusi dalam mengurangi oksidasi pada *Low-Density Lipoprotein* (LDL), sehingga dapat memiliki efek pencegahan terhadap penyakit jantung. Selain itu, flavonoid juga diketahui memiliki potensi sifat antikanker, antidiabetes, serta dapat berperan dalam pencegahan penyakit Alzheimer dan mengatur gangguan mood [4].

Suatu teknik yang umum digunakan untuk mendapatkan flavonoid melalui proses ekstraksi adalah metode maserasi. Maserasi merupakan langkah ekstraksi yang melibatkan perendaman bahan tanaman dalam pelarut pada suhu ruangan atau suhu tertentu selama jangka waktu yang ditentukan. Teknik maserasi sering diaplikasikan untuk mengekstraksi senyawa-senyawa aktif dari bahan alam, termasuk flavonoid yang terkandung dalam

tanaman [5]. Belakangan ini metode ini mulai dikembangkan salah satunya dengan mengintegrasikan teknologi gelombang ultrasonik. Gelombang ultrasonik mampu menghasilkan energi dengan lebih efisien. Bagian dari gelombang ultrasonik yang menyebar melalui medium cair dapat menciptakan kondisi kavitasi dan melepaskan energi [6]. Berdasarkan hasil penelitian [7] ekstraksi dengan menggunakan ultrasonik dapat meningkatkan kadar flavonoid. Proses ekstraksi dengan menggunakan ultrasonik dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya suhu dan lama ekstraksi sehingga perlu dilakukan optimalisasi hingga diperoleh kondisi optimum dalam proses ekstraksi untuk mendapatkan kadar flavonoid terbaik. Berdasarkan hal tersebut penelitian ini dilakukan untuk mengoptimalkan proses ekstraksi berbantu ultrasonik dalam meningkatkan kadar flavonoid menggunakan parameter waktu dan suhu.

2 Metode Penelitian

2.1 Bahan dan Alat

Bahan: Daun Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm F.) Bedd), Etanol 96%, Kuersetin, AlCl_3 , Natrium Asetat, Aquades, dan Kertas saring.

Alat: Timbangan analitik, Sonikator, Gelas ukur, Gelas kimia, Mikropipet, Corong kaca, Batang pengaduk, Tabung reaksi, Rak tabung, Spatel, Vortex, dan Spektrofotometer UV-Vis.

2.2 Persiapan Sampel

Daun kelakai merah (*Stenochlaena palustris* Burm. (F) Bedd) asal Kelurahan Handil Baru Darat dikumpulkan, dilakukan sortasi basah, dipilih daun kelakai merah kemudian dicuci dan di angin-anginkan serta hindarkan dari paparan matahari secara langsung. Kemudian dilakukan sortasi kering, selanjutnya simplisia kering tersebut dibuat dalam bentuk serbuk.

2.3 Ekstraksi Sampel

Simplisia daun kelakai merah ditimbang sebanyak 100gram lalu ditambahkan etanol 96% sebanyak 100 ml kemudian dilakukan proses ekstraksi metode maserasi berbantu

gelombang ultrasonik dengan menggunakan variasi waktu (5, 10, 15, 20 dan 25 menit) dan suhu (20, 30, 40, 50 dan 60°C) sesuai dengan rancangan penelitian. Hasilnya disaring dengan kertas saring dan diperoleh filtrat. Dilakukan remaserasi hingga filtrat yang diperoleh bening. Filtrat kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

2.4 Penentuan Kadar Flavonoid

Kandungan flavonoid total ditentukan secara spektrofotometri visible sesuai dengan Farmakope Herbal Indonesia (2017) dengan beberapa modifikasi yaitu timbang saksama lebih kurang 0.1g ekstrak kemudian dilarutkan, dimasukkan kedalam labu takar 10mL dan tambahkan etanol PA hingga tanda tera. Larutan kuersetin digunakan sebagai larutan pembanding. Larutan kuersetin dibuat dengan variasi konsentrasi 4.68 ppm, 9.37 ppm, 18.75 ppm, 37.5 ppm, 75 ppm, dan 150 ppm.

Pipet secara terpisah 0,5 mL larutan uji dan masing-masing seri larutan pembanding ke dalam wadah yang sesuai, tambahkan pada masing-masing 1,5 mL etanol PA, 0,1 mL AlCl_3 10%, 0,1 mL Na Asetat 1M dan 2,8 mL air. Kocok dan diamkan selama 30 menit pada suhu ruang dan diukur serapan pada Panjang gelombang serapa maksimum. Dilakukan pengukuran blanko dengan cara sama, tanpa penambahan AlCl_3 . Kemudian dibuat kurva kalibrasi dan hitung kadar flavonoid larutan sampel.

2.5 Analisis Data

Analisis flavonoid total dilakukan dengan menggunakan persamaan regresi yang diperoleh dari larutan standar kuersetin.

3 Hasil dan Pembahasan

Tanaman Kelakai (*Stenochlaena palustris* Burm. (F) Bedd) merupakan tanaman yang banyak memiliki aktivitas farmakologis. Menurut penelitian [8] daun kelakai (*Stenochlaena palustris* Burm.(F) Bedd) mengandung flavonoid, yang dapat diidentifikasi melalui perubahan warna menjadi merah jingga. Penelitian senyawa flavonoid dan senyawa fenolik dari tanaman dianggap signifikan, karena flavonoid memiliki potensi sebagai bahan dasar untuk penelitian dalam bidang farmakologi. Flavonoid ditemukan di seluruh jaringan tumbuhan, mencakup buah,

akar, daun, dan kulit luar batang. Sebagai senyawa alami, flavonoid memiliki potensi sebagai agen antioksidan yang dapat melawan radikal bebas. Radikal bebas ini memainkan peran kunci dalam terjadinya penyakit degeneratif dengan cara merusak sistem kekebalan tubuh, oksidasi lipid, dan oksidasi protein [9].

Metode ekstraksi yang digunakan adalah ultrasonik atau *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE). Prinsip ekstraksi ini memanfaatkan gelombang ultrasonik yang ditransmisikan melalui pelarut untuk menyebabkan kavitasi mikro pada sekeliling bahan yang akan diekstraksi sehingga terjadi pemanasan akhirnya melepaskan senyawa ekstrak. Efek mekanik yang ditimbulkan adalah memecah dinding sel tanaman sekaligus meningkatkan transfer massa sehingga senyawa fitokimia yang terkandung di dalam tanaman lebih banyak berdifusi. Proses kavitasi akan meningkatkan polaritas sistem termasuk zat yang disari dan pelarut etanol yang kontak dengan zat yang disari maka akan menimbulkan zat aktif keluar sel dan memaksimalkan hasil rendemen ekstrak. Proses yang mudah tidak menggunakan banyak waktu serta hemat dalam penggunaan pelarut menjadikan metode UAE dinilai lebih efisien dan praktis dalam ekstraksi suatu senyawa metabolit.

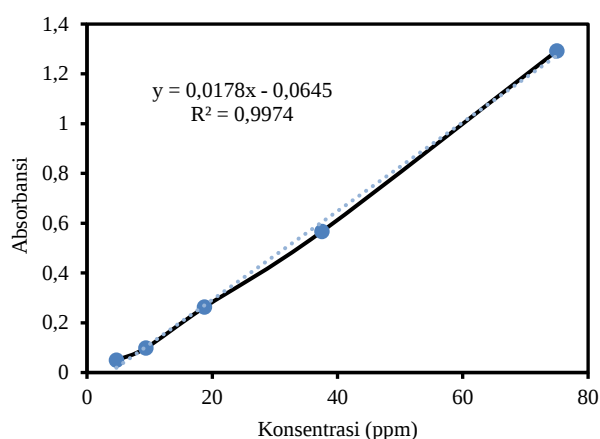
Proses ekstraksi Kelakai (*Stenochlaena palustris* Burm. (F) Bedd) dengan menggunakan UAE menunjukan Sebagian besar rendemen hasil yang sesuai dengan standar farmakope herbal Indonesia (FHI) yakni suatu ekstrak tanaman hendaknya memiliki rendemen hasil ekstraksi lebih dari 10%. Data hasil rendemen dapat dilihat pada tabel 1.

Berdasarkan hasil tersebut terlihat pada suhu 20°C rendemen yang diperoleh berada pada nilai di bawah 10%. Faktor suhu memengaruhi kemampuan suatu pelarut untuk melarutkan senyawa metabolit yang terkandung dalam suatu simplisia tanaman. Suhu dapat meningkatkan pergerakan-pergerakan molekul pelarut hingga mampu menembus dinding sel dan sitoplasma yang merupakan lokasi terdapatnya senyawa-metabolit [10].

Tabel 1. Rendemen Ekstrak Kelakai Merah (*Stenochlaena palustris* (Burm F.) Bedd) menggunakan UAE

Suhu (°C)	Waktu (Menit)	Rendemen (%)
20	5	8
	10	9
	15	9
	20	9
	25	12
30	5	11
	10	12
	15	13
	20	13
	25	13
40	5	12
	10	13
	15	12
	20	13
	25	12
50	5	10
	10	12
	15	12
	20	13
	25	13
60	5	10
	10	11
	15	12
	20	15
	25	13

Analisis kuantitatif senyawa flavonoid total menggunakan spektrofotometri UV-Vis dilakukan untuk menentukan tingkat flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak daun Kelakai (*Stenochlaena palustris* Burm. (F) Bedd). Analisis flavonoid dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis karena flavonoid memiliki sistem aromatik terkonjugasi yang menunjukkan pita absorpsi kuat dalam spektrum cahaya ultraviolet dan spektrum cahaya tampak. Kuersetin digunakan sebagai standar dalam menentukan kadar flavonoid total hal ini karena kuersetin merupakan kelas flavonol yang banyak ditemukan dalam tumbuhan. Sebelum dilakukan proses pengukuran terlebih dahulu ekstrak yang mengandung flavonoid direaksikan menggunakan metode aluminium klorida. Aluminium klorida akan bereaksi dengan senyawa flavonoid membentuk kompleks stabil dengan gugus karbonil pada C4 dan hidroksil pada C3 (flavonol), C5 flavonol dan flavon. Hal ini juga akan membentuk kompleks asam labil dengan hidroksil dalam posisi orto pada cincin B flavonoid sehingga akan terjadi perubahan warna menjadi kuning setelah penambahan natrium asetat [11].



Gambar 1. Absorbansi Standar Kuersetin

Pada penetapan kadar flavonoid total, terlebih dahulu ditentukan Panjang gelombang maksimum dan waktu inkubasi yang akan digunakan. Hal ini bertujuan untuk menjadikan reaksi tersebut berlangsung sempurna dan kondisi pengukuran berlangsung pada kondisi optimum. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 431 nm. Panjang gelombang tersebut yang kemudian digunakan untuk mengukur absorbansi dari masing-masing konsentrasi kuersetin hingga diperoleh persamaan garis linear yang nantinya digunakan untuk penetapan kadar flavonoid total pada ekstrak. Hasil pengukuran serapan larutan standar kuersetin yang diperoleh dimasukkan ke dalam Microsoft Excel untuk mendapatkan kurva kalibrasi larutan standar kuersetin berupa grafik kurva konsentrasi versus absorbansi seperti yang terlihat pada gambar 1. Berdasarkan grafik dapat dilihat bahwa kurva kalibrasi dengan persamaan regresi untuk absorbansi kuersetin pada konsentrasi 100, 50, 25, 12,5, 6,25 ppm sebesar $y = 0,0178x - 0,0645$. Larutan standar senyawa flavonoid diperoleh hubungan yang linier antara absorbansi dengan konsentrasi. Pada pengukuran absorbansi yang ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9974. Nilai (r) ini mendekati angka 1 yang menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier. Persamaan regresi yang diperoleh kemudian digunakan sebagai dasar rumus untuk menentukan kadar flavonoid dari ekstrak Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm F.) Bedd). Hasil perhitungan kadar flavonoid ekstrak disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Kadar Flavonoid Ekstrak Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm F.) Bedd)

Suhu (°C)	Waktu (Menit)	Rerata Kadar Flavonoid (%)
20	5	1,07
	10	0,81
	15	1,91
	20	2,30
	25	1,36
30	5	1,27
	10	1,49
	15	1,16
	20	1,32
	25	1,25
40	5	0,62
	10	1,43
	15	1,05
	20	1,59
	25	1,37
50	5	1,55
	10	1,13
	15	1,39
	20	1,26
	25	2,59
60	5	1,04
	10	1,31
	15	0,66
	20	1,10
	25	2,53

Suhu medium dan waktu sangat memengaruhi proses ekstraksi flavonoid menggunakan UAE. Suhu medium dalam proses ekstraksi berkaitan erat dengan perubahan sifat-sifat pelarut. Kenaikan suhu dapat menurunkan viskositas dan tegangan permukaan pelarut tetapi meningkatkan tekanan uap. Ketika tekanan uap terlalu tinggi efisiensi ekstraksi akan lebih lemah sehingga menyebabkan kadar metabolit yang diperoleh lebih sedikit. Suhu dalam proses UAE yang disarankan dalam proses UAE adalah 20-70°C[12]. Peranan waktu menunjukan lamanya pelarut memperoleh gelombang ultrasonik dan berinteraksi dengan simplisia. Semakin lama waktu interaksi maka semakin banyak pula kesempatan suatu pelarut untuk melakukan penetrasi kedalam dinding sel suatu tanaman sehingga efisien untuk menarik senyawa metabolit sekunder. Berdasarkan tabel tersebut terlihat pada suhu 50°C dengan lama proses ekstraksi selama 25 menit memiliki nilai kadar flavonoid tertinggi sebesar 2,59%.

4 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian menunjukan bahwa kadar flavonoid tertinggi yang diperoleh pada proses ekstraksi kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm F.) Bedd) menggunakan

bantuan gelombang ultrasonik adalah 2,59% dengan waktu ekstraksi selama 25 menit dan suhu 50°C.

5 Pernyataan

5.1 Penyandang Dana

Penelitian ini tidak mendapatkan pendanaan dari sumber manapun.

5.2 Kontribusi Penulis

1. Chisilia Brydhita Karangan bertugas melakukan penelitian, mengolah dan menyusun manuskrip publikasi
2. Wisnu Cahyo Prabowo Bertugas mengarahkan penelitian dan menyusun manuskrip publikasi
3. Risna Agustina mengarahkan penelitian dan menyusun manuskrip publikasi

5.3 Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan.

6 Daftar Pustaka

- [1] Fitriyani, A., Khusniyah, K., Rahayu, M.O., Adawiyah, N.R. and Abriyani, E., 2022. Analisis Senyawa Flavonoid Daun Kelakai, Jeruk Kalamansi Dan Kulit Buah Alpukat Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Journal of Comprehensive Science* (JCS), 1(5), pp.1339-1345.
- [2] Hendra, R., Khodijah, R., Almurda, M., Haryani, Y., Nugraha, A.S., Frimayanti, N., Teruna, H.Y. and Abdullah, R., 2022. Free radical scavenging, anti-infectious, and toxicity activities from *Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd. extracts. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2022.
- [3] Yeti, A. and 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), pp.11-19.
- [4] Midian. 2007. Penuntun fitokimia dalam farmasi. Bandung: Penerbit ITB. Hal: 177-178.
- [5] Susanty S, Yudistirani SA, Islam MB. Metode Ekstraksi Untuk Perolehan Kandungan Flavonoid Tertinggi dari Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.). *Konversi*. 2019;8(2):31-36.
- [6] Ramisetty, K.A., Pandit, A.B. and Gogate, P.R., 2015. Ultrasound assisted preparation of emulsion of coconut oil in water: Understanding the effect of operating parameters and comparison of reactor designs. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 88, pp.70-77.
- [7] Sasadara, M.M.V. and Wiranata, I.G., 2022. Pengaruh Pelarut dan Metode Ekstraksi terhadap Kandungan Metabolit Sekunder dan Nilai IC50 Ekstrak Umbi Bit (*Beta vulgaris* L.). *Usadha*, 2(1), pp.7-13.
- [8] Hakim, A.R., Savitri, A.S. and Saputri, R., 2021. Aktivitas Antioksidan Dari Infusa Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd). *Journal Pharmaceutical Care and Sciences*, 1(2), pp.121-125.
- [9] Siddiqui, M.M., Rais-Bahrami, S., Turkbey, B., George, A.K., Rothwax, J., Shakir, N., Okoro, C., Raskolnikov, D., Parnes, H.L., Linehan, W.M. and Merino, M.J., 2015. Comparison of MR/ultrasound fusion-guided biopsy with ultrasound-guided biopsy for the diagnosis of prostate cancer. *Jama*, 313(4), pp.390-397.
- [10] Sholihah, M.A., Ahmad, U. and Budiastra, I.W., 2017. Aplikasi gelombang ultrasonik untuk meningkatkan rendemen ekstraksi dan efektivitas antioksi dan kulit manggis. *Jurnal keteknikan pertanian*, 5(2).
- [11] Sembiring, E.N., Elya, B. and Sauriasari, R., 2018. Phytochemical screening, total flavonoid and total phenolic content and antioxidant activity of different parts of *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. *Pharmacognosy journal*, 10(1).
- [12] Chaves, J.O., De Souza, M.C., Da Silva, L.C., Lachos-Perez, D., Torres-Mayanga, P.C., Machado, A.P.D.F., Forster-Carneiro, T., Vázquez-Espinosa, M., González-de-Peredo, A.V., Barbero, G.F. and Rostagno, M.A., 2020. Extraction of flavonoids from natural sources using modern techniques. *Frontiers in Chemistry*, 8, p.507887.