

PENGARUH METODE EKSTRAKSI TERHADAP KADAR FLAVONOID TOTAL DAUN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*)

Indah Purnama Sari¹, Rengganis Ulvia^{1*}, Nofran Putra Pratama¹

¹ Program Studi S1 Farmasi, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta, Indonesia
rengganisulvia@gmail.com

Keywords	Abstract
Lime Leaves, <i>Citrus aurantifolia</i> , Total Flavonoid Content, Maceration, Ultrasound Assisted Extraction	<p>Lime leaves (<i>Citrus aurantifolia</i>) have health benefits as anti-inflammatory, appetite stimulant, antidiarrheal, and weight loss. This activity cannot be separated from the secondary metabolite compounds contained in lime leaves, one of which is flavonoids. Flavonoid compounds from lime leaves can be maximized using appropriate extraction methods. This study aims to determine the effect of extraction methods on total flavonoid content in lime leaves. Lime leaves were extracted with 96% ethanol (1:10) using the maceration and Ultrasound Assisted Extraction (UAE) method. Qualitative tests were carried out using phytochemical screening tests and quantitative tests by measuring the total flavonoid content of macerated and UAE lime leaf extract using UV-Vis spectrophotometry. The quantitative data obtained was then analyzed statistically using the SPSS Independent Samples T-Test with a confidence level of 95%. The yield value of the maceration method was 14.43% and the UAE method was 8.8%. The total flavonoid content produced by the UAE method was 38.626 ± 0.321 mg QE/g extract, and the maceration method was 36.876 ± 0.368 mg QE/g. Based on the statistical analysis of the Independent Samples T-Test, it was found that there was a significant difference between the total flavonoid levels of lime leaf extract from maceration and UAE ($p < 0.05$). The UAE extraction method produces higher flavonoid content than the maceration method. These results indicate that the extraction method influences the total flavonoid content of lime leaves.</p>
Daun Jeruk Nipis, <i>Citrus aurantifolia</i> , Kadar Flavonoid Total, Maserasi, Ultrasound Assisted Extraction	<p>Daun jeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>) memiliki manfaat kesehatan yaitu sebagai antiinflamasi, penambah nafsu makan, antidiare, menurunkan berat badan. Aktivitas tersebut tidak lepas dari senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada daun jeruk nipis salah satunya flavonoid. Penarikan senyawa flavonoid pada daun jeruk nipis dapat dimaksimalkan menggunakan metode ekstraksi yang sesuai. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi terhadap kadar flavonoid total pada daun jeruk nipis. Daun jeruk nipis diekstraksi dengan etanol 96% (1:10) menggunakan metode maserasi dan <i>Ultrasound Assisted Extraction</i> (UAE). Uji kualitatif dilakukan dengan uji skrining fitokimia. Uji kuantitatif dengan mengukur kadar flavonoid total ekstrak daun jeruk nipis hasil maserasi dan UAE menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Data kuantitaif yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik menggunakan SPSS uji <i>Independent Samples T-Test</i> dengan taraf kepercayaan 95%. Ekstrak daun jeruk nipis hasil maserasi diperoleh rendemen sebesar 14,43% dan hasil UAE 8,8%. Hasil uji skrining fitokimia menunjukkan ekstrak daun jeruk nipis mengandung senyawa fenolik, saponin, tannin, alkaloid, flavonoid dan terpenoid. Kadar flavonoid total yang diperoleh dari ekstrak daun jeruk nipis hasil maserasi dan UAE berturut-turut sebesar</p>

$38,626 \pm 0,321$ mg QE/g dan $36,876 \pm 0,368$ mg QE/g. Berdasarkan analisis statistik uji Independent Samples T-Test diketahui terdapat perbedaan signifikan antara kadar flavonoid total ekstrak daun jeruk nipis hasil maserasi dan UAE ($p<0,05$). Metode ekstraksi UAE menghasilkan kadar flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan metode maserasi. Hasil ini menunjukkan bahwa metode ekstraksi mempengaruhi kadar flavonoid total daun jeruk nipis.

©JIFA: JURNAL ILMIAH FARMASI ATTAMRU
D 3 Farmasi Universitas Islam Madura

PENDAHULUAN

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) merupakan salah satu tanaman yang sering digunakan oleh masyarakat sebagai bumbu dapur. Bagian daun jeruk nipis memiliki manfaat kesehatan yaitu sebagai antiinflamasi, penambah nafsu makan, antidiare, menurunkan berat badan, antipiretik, dan juga antibakteri. Daun jeruk nipis memiliki kandungan flavonoid yaitu kuersetin sebagai senyawa aktif yang memberikan efek antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 98,58 µg/mL (Yanuarty *et al.*, 2021). Penelitian yang dilakukan oleh Kethall *et al.*, (2017) membuktikan daun jeruk nipis mengandung flavonoid dengan kadar sebesar 38.36 ± 1.47 mgQE/g. Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder yang termasuk dalam kelompok senyawa polifenol yang diketahui memiliki aktivitas antikanker, antibakteri, dan antiinflamasi (Komara & Maulana, 2023).

Flavonoid dapat diperoleh dengan proses ekstraksi yang merupakan proses penarikan senyawa metabolit sekunder dari bahan alam. Metode ekstraksi terbagi menjadi dua jenis, yaitu ekstraksi secara konvensional dan non konvensional. Secara konvensional yaitu maserasi dengan keuntungan dapat mencegah kerusakan pada senyawa-senyawa yang bersifat termolabil seperti flavonoid (Triesty & Mahfud, 2017). Metode non konvensional yaitu *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) adalah modifikasi dari maserasi yang menggunakan bantuan gelombang ultasonik dan dapat digunakan untuk senyawa flavonoid yang tidak tahan pemanasan sehingga dapat menjaga kualitas dari produk dan dapat membuat ekstraksi lebih efektif dan efisien. Senyawa flavonoid diketahui dapat terdegradasi pada suhu diatas 60°C (Widayanti *et al.*, 2023). Oleh karena itu, metode ekstraksi maserasi dan UAE menjadi pilihan terbaik untuk ekstraksi senyawa flavonoid.

Berdasarkan penelitian sebelumnya menyebutkan perbedaan cara ekstraksi berpengaruh terhadap stabilitas dan kadar senyawa yang tersari dalam pelarut (Nursamsiar, 2022). Hasil oleh Saini, (2019) dengan sampel kulit jeruk mandarin menunjukkan hasil kadar flavonoid total dengan metode maserasi sebesar 3,75 mg/QE/g dan metode UAE 4,40 mg/QE/g. Pada penelitian Suhendar, (2020) ekstraksi dengan metode maserasi menghasilkan kadar flavonoid total sebesar 0,41% mg/QE dan metode UAE 0,62%

mg/QE. Kajian ini menunjukkan bahwa ekstraksi dengan berbagai metode mempengaruhi kadar flavonoid total. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi yaitu maserasi dan UAE terhadap kadar flavonoid total daun jeruk nipis, sehingga dari hasil penelitian akan diperoleh metode ekstraksi terbaik untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder dengan kadar optimal.

METODE

Alat

Ayakan 40 mesh, cawan porselin, erlenmeyer, grinder (Fomac), kompor listrik, labu ukur, mikropipet (Ohaus), penangs air, pipet ukur, sonikator (GT-Sonic), spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific Genesys 10S), timbangan analitik (Ohaus PAJ1003), toples kaca untuk maserasi, tabung reaksi, dan alat-alat gelas kaca lainnya (Pyrex).

Bahan

Aquadest, AlCl_3 , amonia, CH_3COOK , etanol (p.a), FeCl_3 , HCl, kuersetin (Sigma), kertas saring, reagen Mayer, reagen Wagner, reagen Dragendorff, reagen Bouchardat, simplisia daun jeruk nipis, *blue tip*, *white tip*, dan *yellow tip*.

Preparasi Sampel Daun Jeruk Nipis

Daun jeruk nipis diperoleh dari Sumber Batikan, Tirienggo, Kecamatan Bantul, Kabupaten Bantul, Yogyakarta. Sampel didetermiasi di Laboratorium Pembelajaran Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Jenderal Ahmad Dahlan Yogyakarta. Sebanyak 2 kg daun jeruk nipis yang telah dipanen dicuci menggunakan air mengalir guna menghilangkan dari kotoran yang menempel di permukaan daun. Sampel dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C dan dihaluskan menggunakan grinder serta diayak dengan ayakan 40 mesh.

Ekstraksi Daun Jeruk Nipis

a. Maserasi

Sebanyak 100 g serbuk simplisia daun jeruk nipis diekstraksi dengan etanol 96% (1:10 b/v) selama 3 hari dan dilakukan pengadukan selama 10 menit setiap 24 jam pada suhu ruang dan terlindung dari cahaya matahari. Rendaman disaring hingga didapatkan filtrat (1). Ampas diremaserasi dengan 500 mL etanol 96% selama 1 hari, kemudian disaring hingga didapatkan filtrat (2). Kemudian filtrat 1 dan 2 digabungkan dan dipekatkan dengan penangas air pada suhu 50°C. Hasil ekstrak ditimbang dan dihitung nilai rendemennya.

b. UAE

Serbuk simplisia daun jeruk nipis sebanyak 100 g ditambahkan 1000 mL etanol 96% (1:10 b/v). Ekstraksi menggunakan sonikator selama 60 menit pada suhu 25°C dan disaring untuk mendapatkan filtrat (1). Ampas diekstraksi kembali dengan 500 mL etanol 96% selama 60 menit suhu 25°C menggunakan sonikator kemudian disaring hingga diperoleh filtrat (2). Hasil filtrat 1 dan 2 diuapkan pada suhu 50°C menggunakan penangas air.

Ekstrak daun jeruk nipis hasil maserasi dan UAE ditimbang dan dihitung nilai rendemennya menggunakan persamaan dibawah ini:

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak (akhir)}}{\text{Bobot simplisia (awal)}} \times 100\%$$

Skrining Fitokimia

a. Flavonoid

100 mg sampel dilarutkan dalam 10 mL etanol p.a. Diambil 1 mL sampel ditambahkan serbuk Mg 1 mg dan ditambahkan 5 tetes HCl. Apabila terbentuk warna merah, kuning dan jingga maka positif mengandung flavonoid.

b. Fenolik

100 mg sampel dilarutkan dalam 10 mL etanol p.a. Diambil 1 mL sampel ditambahkan dengan tiga tetes larutan FeCl_3 1%. Apabila terbentuk warna ungu kehitaman menunjukan hasil positif adanya fenolik.

c. Saponin

100 mg sampel dilarutkan dalam 10 mL etanol p.a. Diambil 1 mL sampel diletakan pada tabung reaksi, lalu ditambahkan aquadest 5 mL dan digojog selama 1 menit. Jika terbentuk buih, ditambahkan 4 tetes larutan HCl 1 M. Jika tidak ada buih, dilanjutkan pemanasan 2-3 menit. Dibiarkan dingin lalu di kocok kuat. Terbentuknya buih stabil dalam waktu 8-10 menit menandakan terdapat senyawa saponin dalam sampel.

d. Tanin

100 mg sampel dilarutkan dalam 10 mL etanol p.a. Diambil 1 mL sampel ditambahkan 3 tetes FeCl_3 1%. Hasil positif dapat dilihat berdasarkan terbentuknya warna biru tua dan hijau kehitaman.

e. Alkaloid

100 mg sampel dilarutkan dengan 10 mL etanol dan ditambahkan 15 mL amonia kemudian hasil pencampuran tersebut disaring. Selanjutnya 2 mL larutan HCl 2M ditambahkan pada filtrat dan dikocok. Hasil yang didapatkan dimasukkan dalam 4

tabung reaksi masing-masing 5 tetes. Tabung 1 berisi larutan blanko, sedangkan tabung 2, 3, dan 4 akan dicampur dengan 1 tetes pereaksi Mayer, Wagner, Dragendorff pada setiap tabung. Pada penambahan perekasi Mayer, positif mengandung alkaloid jika endapan putih atau kuning. Pada penambahan perekasi Wagner, positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan coklat. Pada penambahan Dragendorff, mengandung alkaloid jika terbentuk endapan jingga. Hasil positif alkaloid pada pengujian sekurang kurangnya terdapat dua reagen yang positif.

f. Terpenoid

100 mg sampel dilarutkan dalam 10 mL etanol p.a. Diambil 1 mL sampel ditambahkan dengan perekasi Bouchardat. Terbentuknya warna jingga kecoklatan menunjukkan adanya terpenoid.

Penetapan Kadar Flavonoid Total

a. Pembuatan larutan AlCl_3 10%

Ditimbang serbuk AlCl_3 sebanyak 5 g dan dilarutkan dengan aquadest dalam labu ukur 50 mL.

b. Pembuatan CH_3COOK 5%

Diambil 981,4 mg CH_3COOK lalu dilarutkan dengan sebagian aquadest hingga larut sempurna di *beaker glass*. Kemudian dimasukan dalam labu ukur 10 mL ditambahkan aquadest hingga batas garis.

c. Pembuatan larutan standar kuersetin

Ditimbang 10 mg standar kuersetin, dilarutkan dengan etanol p.a sampai volume 100 mL dan didapatkan larutan dengan konsentrasi 100 ppm. Standar kuersetin dibuat seri konsentrasi 40, 50, 60, 70, 80 dan 90 ppm dalam labu ukur 10 mL.

d. Penentuan panjang gelombang maksimal kuersetin

500 μL larutan kuersetin 60 ppm diambil kemudian direaksikan dengan 500 μL etanol p.a, 100 μL CH_3COOK 5%, 100 μL AlCl_3 10%, 2,8 mL aquades, dibaca dengan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 200-700 nm. Panjang gelombang yang didapat 455 nm.

e. Penetapan *operating time* kuersetin

Diambil larutan kuersetin 60 ppm sebanyak 500 μL kemudian 500 μL etanol p.a, 100 μL CH_3COOK 5%, 100 μL AlCl_3 10% dan 2,8 mL aquades. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal 455 nm, absorbansi panjang gelombang dicatat

setiap 1 menit selama 60 menit hingga diperoleh absorbansi yang stabil. *Operating time* yang diperoleh adalah 22 menit.

f. Pembuatan kurva baku kuersetin

Kurva baku kuersetin menggunakan seri konsentrasi 40, 50, 60, 70, 80 dan 90 ppm. 500 μL larutan seri konsentrasi direaksikan 500 μL etanol p.a, 100 μL CH₃COOK 5%, 100 μL AlCl₃ 10% dan aquades 2,8 mL. Kemudian didiamkan selama 22 menit dan dibaca pada panjang gelombang 433 nm.

g. Pembuatan larutan uji

Ditimbang 10 mg ekstrak daun jeruk nipis hasil maserasi dan UAE, kemudian larutkan pada etanol p.a sampai volume 10 mL untuk UAE, dan 5 mL untuk maserasi hingga di peroleh konsentrasi 1000 ppm dan 2000 ppm.

h. Penetapan kadar flavonoid total

Larutan uji ekstrak daun jeruk nipis hasil maserasi 1000 ppm dan UAE 2000 ppm diambil sebanyak 500 μL ditambahkan 500 μL etanol p.a, 100 μL CH₃COOK 5%, 100 μL AlCl₃ 10%, dan 2,8 mL aquadest, didiamkan sampel selama *operating time* yaitu 22 menit. Absorbansi dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal 433 nm.

Analisis Data

a. Penentuan Kadar Flavonoid

Absorbansi sampel yang dapat diperoleh dimasukkan dalam persamaan regresi linier $y = bx + a$ dari kurva baku kuersetin untuk mendapatkan konsentrasi flavonoid (nilai x). Kadar flavonoid total ditentukan dengan rumus pada persamaan dibawah ini:

$$\text{TCF} = \frac{C \cdot V \cdot fp}{g}$$

Keterangan:

- TFC = Total flavonoid *content* (mg QE/gram)
- C = Konsentrasi flavonoid (nilai x)
- V = Volume ekstrak yang digunakan (ml)
- Fp = Faktor pengenceran
- G = Berat sampel yang digunakan (g)

b. Analisis Statistika

Analisis statistika menggunakan *Software Statistical Package for Social (SPSS)*. Uji homogenitas dengan *Levene Statistic* dan uji normalitas dengan *Shapiro-*

Wilk ($p>0,05$). Data yang normal dan homogen dilanjutkan uji *Independent Samples T-Test* dengan nilai signifikansi $p<0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Tahap awal penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman yang bertujuan untuk memastikan tanaman yang dipakai pada penelitian adalah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Oleh karena itu dapat dipastikan bahwa semua data dan hasil penelitian yang diperoleh berasal dari spesies tanaman yang benar. Tanaman dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C untuk mencegah rusaknya kandungan simplisia terutama senyawa flavonoid yang dapat terdegradasi pada suhu diatas 60°C (Widyasari *et al.*, 2020). Penghalusan dan pengayakan serbuk simplisia guna untuk memperkecil dan menyeragamkan ukuran partikel agar dapat meningkatkan lusa permukaan untuk memaksimalkan proses ekstraksi (Prasetyo *et al.*, 2022).

Ekstraksi Daun Jeruk Nipis

Proses pengambilan senyawa metabolit sekunder dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi maserasi dan UAE. Metode maserasi dipakai karena kesederhanaan peralatan dan prosedur kerjanya. Selain itu, metode ini termasuk eksstraksi dingin sehingga menghindari degradasi senyawa termolabil (Suhendar *et al.*, 2020). Sedangkan metode UAE dipilih karena memiliki kelebihan dibandingkan metode ekstraksi maserasi ialah cepatnya perpindahan masa, dapat meningkatkan penetrasi cairan menuju dinding sel, dan mengefisiensi waktu dan pelarut yang digunakan karena adanya bantuan gelombang ultrasonik (Dias *et al.*, 2021). Pemilihan etanol 96% sebagai pelarut didasarkan pada sifat polarnya yang mampu menarik senyawa-senyawa polar seperti flavonoid (Suhendar *et al.*, 2020).

Hasil ekstrak kental dari metode maserasi dan UAE kemudian dihitung % randemennya untuk mengetahui perbandingan berat ekstrak yang didapatkan. Nilai rendemen yang besar menunjukkan banyaknya komponen senyawa yang dapat terekstraksi. Semakin besar nilai rendemen, maka semakin banyak senyawa yang terbawa di suatu bahan baku (Senduk *et al.*, 2020). Besar kecilnya nilai rendemen merupakan parameter yang menentukan keberhasilan proses ekstraksi (Vifta *et al.*, 2019). Hasil perhitungan randemen dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai Rendemen Ekstrak Kental Daun Jeruk Nipis

Metode	Rendemen (%)
--------	--------------

Maserasi	14,43
UAE	8,77

Nilai rendemen yang baik ialah tidak <10 % (Depkes RI, 2017). Metode maserasi menghasilkan nilai rendemen sebesar 14,43% yang berarti memenuhi syarat standar yang ditetapkan, sedangkan metode UAE sebesar 8,77% yang tidak memenuhi syarat. Efektifitas proses ekstraksi dipengaruhi beberapa faktor yaitu jenis pelarut, ukuran partikel, metode ekstraksi, dan lama proses ekstraksi. Metode maserasi menghasilkan nilai rendemen yang lebih tinggi dibandingkan metode UAE dikarenakan maserasi menggunakan waktu ekstraksi yang lebih lama sehingga kontak antar pelarut pada simplisia lebih optimal (Syarifuddin *et al.*, 2020).

Skrining Fitokimia

Ekstrak yang diperoleh dilakukan analisis kualitatif berupa skrining fitokimia untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder berupa uji flavonoid, fenolik, saponin, tanin, alkaloid, dan terpenoid. Dari uji skrining fitokimia membuktikan ekstrak daun jeruk nipis mengandung senyawa flavonoid, fenolik, saponin, tanin, alkaloid, dan terpenoid dan untuk hasil lengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Skrining Fitokimia

Golongan Senyawa	Metode Ekstraksi	
	Maserasi	UAE
Flavonoid	+	+
Fenolik	+	+
Saponin	+	+
Tanin	+	+
	Mayer	-
Alkaloid	Wagner	+
	Dragendorff	+
Terpenoid	+	+

Keterangan :

(+): Positif mengandung senyawa.

(-): Tidak mengandung senyawa.

Hasil uji ini sejalan dengan penelitian (Yanuarti *et al.*, 2021) yang menyebutkan jika daun jeruk nipis mengandung senyawa flavonoid, fenolik, saponin, tanin, alkaloid, dan terpenoid. Senyawa flavonoid pada sampel ditentukan dengan Mg dan HCl pekat (Sangi *et al.*, 2012). Senyawa flavonoid akan tereduksi pada saat penambahan magnesium dan HCl pekat. Hal ini ditandai dengan munculnya reaksi berwarna kuning hingga merah. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak daun jeruk nipis maserasi dan UAE membentuk warna kuning yang menandakan bahwa positif terdapat senyawa flavonoid. Penentuan

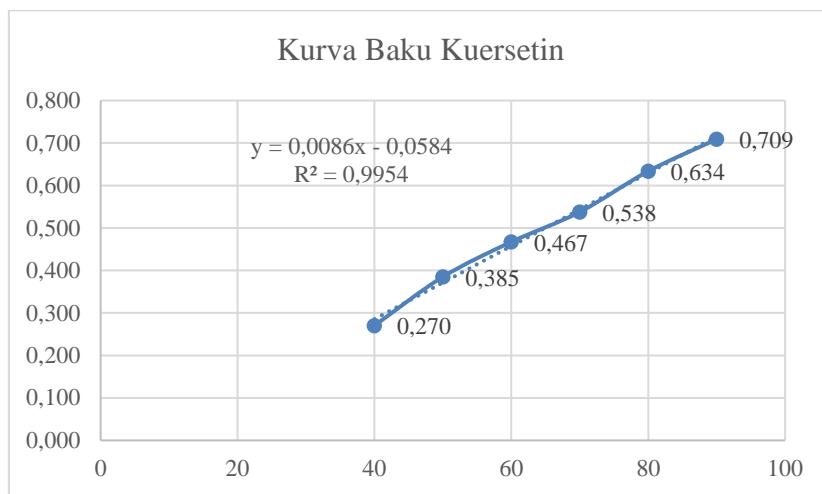
senyawa fenolik pada sampel direaksikan ekstrak dengan tiga tetes larutan FeCl_3 , reaksi positif dari hasil ditunjukkan terbentuknya kompleks ungu kehitaman yang berasal dari reaksi antara gugus fenol pada sampel dengan FeCl_3 (Qomaliyah *et al.*, 2023).

Keberadaan zat aktif pada sampel yaitu saponin dapat diamati saat terbentuknya buih yang stabil. Sifat surfaktan alami dari saponin, yang disebabkan oleh gugus glikosida polarnya yang bereaksi dengan air lalu mengalami hidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya, memungkinkan terbentuknya buih saat sampel dikocok. Hal ini selaras dengan penelitian sebelumnya yang dimana terbentuknya buih yang stabil setelah ditambahkan HCl pekat (Oktavia & Sutoyo, 2021). Identifikasi tanin dengan menggunakan reagen FeCl_3 1%. Perubahan warna menjadi hitam kehijauan setelah penambahan FeCl_3 1% merupakan hasil indikasi adanya tanin. Reaksi ini terjadi karena ion Fe^{3+} dari FeCl_3 bereaksi dengan gugus fenol dalam struktur tanin sehingga terbentuknya larutan yang berubah menjadi hijau kehitaman (Oktavia & Sutoyo, 2021).

Identifikasi alkaloid dilakukan dengan memakai tiga pereaksi yaitu, pereaksi Mayer, Dragendorff dan Wagner. Pereaksi Mayer terkandung kalium iodida dan merkuri klorida, endapan yang terjadi karena adanya reaksi antara alkaloid dengan kalium iodida sehingga terbentuk endapan putih dengan hasil uji dinyatakan positif pada ekstrak UAE tetapi tidak pada maserasi. Faktor yang dapat mempengaruhi hasil negatif pada uji alkaloid metode maserasi menggunakan pereaksi mayer salah satunya ialah konsentrasi alkaloid yang rendah. Jika konsentrasi alkaloid dalam sampel rendah maka tidak cukup untuk membentuk endapan yang terlihat dengan reagen Mayer selain itu ekstraksi pada UAE melibatkan gelombang ultrasonik sehingga dapat menarik senyawa alkaloid lebih banyak dibandingkan dengan maserasi (Sari *et al.*, 2019). Pereaksi Wagner mengandung kalium iodida dan iodium. Senyawa alkaloid akan membentuk ikatan kovalen koordinasi antara ion logam K^+ dari kalium iodida dan atom N dari senyawa alkaloid membentuk endapan kompleks kalium alkaloid berwarna coklat, (Erwan & Parbuntari, 2023). Bismuth nitrat dan kalium iodida yang terkandung di pereaksi Dragendorff dalam larutan asam asetat anhidrat. Reaksi yang terjadi antara alkaloid dan pereaksi dragendorff yaitu ligan mengalami substitusi dimana atom N memiliki pasangan elektron bebas dan dari kalium tetraiodobismut hingga membentuk endapan jingga (Erwan & Parbuntari, 2023). Hasil uji menggunakan reagen Dragendorff dan reagen Wagner untuk identifikasi alkaloid membuktikan bahwa alkaloid positif terkandung dalam ekstrak hasil maserasi dan UAE. Penentuan senyawa terpenoid yaitu dengan penambahan pereaksi Bouchardat. Pada kedua

ekstrak menghasilkan warna jingga kecoklatan yang menandakan bahwa kedua ekstrak positif mengandung senyawa terpenoid. Perubahan warna ini terjadi karena proses oksidasi pada senyawa terpenoid dengan membentuk ikatan rangkap terkonjugasi.

Kadar flavonoid ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis yang melibatkan reaksi pembentukan kompleks antara flavonoid dan AlCl₃. Prinsip metode ini adalah terjadinya kompleks antara AlCl₃ dengan suatu gugus keto pada atom C posisi nomor 4 dan gugus hidroksi pada atom C posisi nomor 3 atau 5 yang berdampingan dari golongan flavon dan flavonol. Pada penetapan kadar flavonoid total senyawa pembanding yang digunakan adalah kuersetin, karena senyawa tersebut merupakan flavonid golongan flavonol yang meliki gugus keto pada atom C posisi nomor 4 dan gugus hidroksil pada atom C posisi nomor 3 dan 5 yang berdampingan (Azizah *et al.*, 2014). Penambahan AlCl₃ menghasilkan kompleks dengan gugus hidroksi keton sehingga warna yang dihasilkan dapat dilihat pada gelombang *visible*.



Gambar 1. Kurva Baku Kuersetin

Penentuan kadar flavonoid total diawali dengan pembacaan panjang gelombang maksimal yang bertujuan untuk menentukan serapan maksimal. Hasil pembacaan panjang gelombang maksimal kuersetin adalah 433 nm. Penetapan *operating time* bertujuan menentukan jangka waktu inkubasi. Hasil nilai absorbansi menunjukkan waktu stabil dari menit ke 22 – 43, sehingga *operating time* yang digunakan adalah 22 menit. Penentuan kadar flavonoid dihitung menggunakan persamaan regresi linier $y = 0,086x - 0,0584$ r = 0,9954 (Gambar 1).

Tabel 3. Kadar Flavonoid Total

Metode	Flavonoid Total (mg QE/g) ± SD	CV (%)
Maserasi	36,876 ± 0,386	0,89
UAE	38,626 ± 0,321	0,76

Kemudian nilai x yang diperoleh didistribusikan kedalam rumus perhitungan TFC. Metode maserasi menghasilkan kadar flavonoid total daun jeruk nipis sebesar $36,876 \pm 0,386$ mg QE/g dengan nilai CV 0,89%, sedangkan metode UAE sebesar $38,626 \pm 0,321$ mg QE/g dengan nilai CV 0,76% seperti pada Tabel 3. Nilai CV yang dihasilkan sudah baik karena kurang dari 5% persyaratan nilai CV (Pratiwi, 2021). Berdasarkan hasil dapat disimpulkan bahwa metode ekstraksi UAE daun jeruk nipis menghasilkan kadar flavonoid total lebih baik dibandingkan dengan metode maserasi. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian (Suhendar *et al.*, 2020) pada sampel daun iler, metode UAE menghasilkan kadar lebih tinggi sebesar 0,6252 mg QE/g dibandingkan dengan metode maserasi yaitu 0,415 mg QE/g. Metode esktraksi UAE melibatkan aplikasi gelombang ultrasonik pada frekuensi tinggi yaitu 20 kHz (20000 Hz) pada suhu terkontrol yaitu 25°C untuk dapat memecah dinding sel yang akan membantu terlepasnya senyawa aktif keluar, sedangkan metode maserasi hanya melibatkan perendaman simplisia dalam pelarut dengan pengadukan secara berkala (Suhendar *et al.*, 2020). Adanya perbedaan metode esktraksi juga dapat dihubungkan antara nilai rendemen dengan kadar flavonoid total. Rendemen ekstrak yang diperoleh dari metode maserasi sebesar 14,43% dengan kadar flavonoid total $36,876 \pm 0,386$ mg QE/g sedangkan metode UAE menghasilkan rendemen sebesar 8,77% dan kadar flavonoid total $38,626 \pm 0,321$ mg QE/g. Besarnya rendemen ekstrak tidak berkorelasi dengan kadar flavonoid total karena efisiensi ekstraksi senyawa aktif sangat dipengaruhi oleh metode esktraksi yang digunakan (Suhendar *et al.*, 2020). Komposisi rendemen yang lebih besar memungkinkan lebih banyak senyawa non-flavonoid seperti alkaloid, saponin dan tanin yang tidak memiliki kontribusi signifikan terhadap nilai flavonoid total, dengan kata lain metode maserasi mengekstraksi flavonoid dengan konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan UAE. Metode UAE menggunakan bantuan gelombang ultrasonik yang bisa memecah dinding sel simplisia sehingga memaksimalkan penarikan senyawa metabolit sekunder terutama flavonoid.

Analisis data kadar flavonoid total dilakukan dengan uji *Independent Sample T-test* program SPSS, yang dimana untuk menentukan adanya perbedaan yang signifikan dari dua kelompok data yang tidak berhubungan. Uji homogenitas (*Levene's*) dan normalitas (*Shapiro-Wilk*) dengan taraf kepercayaan 95% membuktikan hasil terdistribusi normal dan

juga homogen ($p<0,05$). Uji statistik *Independent Sample T-Test* membuktikan bahwa adanya perbedaan yang signifikan antara kadar flavonoid total ekstrak daun jeruk nipis hasil UAE dan maserasi ($p<0,05$). Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa perbedaan metode ekstraksi mempengaruhi kadar flavonoid total pada daun jeruk nipis.

KESIMPULAN

Perbedaan metode ekstraksi mempengaruhi kadar flavonoid total pada daun jeruk nipis. Metode ekstraksi UAE menghasilkan kadar flavonoid total lebih tinggi yaitu $38,626 \pm 0,321$ mg QE/g, dibandingkan metode maserasi sebesar $36,876 \pm 0,386$ mg QE/g.

DAFTAR PUSTAKA

- Azizah, D. N., Kumolowati, E., & Faramayuda, F. (2014). Penetapan Kadar Flavonoid Metode AlCl₃ Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao L.*). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(2), 45–49. <https://Doi.Org/10.26874/Kjif.V2i2.14>
- Erwan, M. O., & Parbuntari, H. (2023). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*). *Periodic*, 12(3), 39. <https://Doi.Org/10.24036/Periodic.V12i3.118432>
- Dias, A. L. B., De Aguiar, A. C., & Rostagno, M. A. (2021). Extraction Of Natural Products Using Supercritical Fluids And Pressurized Liquids Assisted By Ultrasound: Current Status And Trends. *Ultrasonics Sonochemistry*, 74(April). <https://Doi.Org/10.1016/J.Ultsonch.2021.105584>
- Kemenkes RI. (2017). Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. Jakarta: Kementerian kesehatan republik Indonesia.
- Khettal, B., Kadri, N., Tighilet, K., Adjebli, A., Dahmoune, F., & Maiza-Benabdeslam, F. (2017). Phenolic Compounds From Citrus Leaves: Antioxidant Activity And Enzymatic Browning Inhibition. *Journal Of Complementary And Integrative Medicine*, 14(1). <https://Doi.Org/10.1515/Jcim-2016-0030>
- Komara, A.I., & Maulana, I.T. (2023). Potensi Tanaman Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) Sebagai Antikanker. *Jurnal Riset Farmasi*, 89–94. <https://Doi.Org/10.29313/Jrf.V3i2.3123>
- Nursamsiar, N. (2022). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Karamunting (*Rhodomyrtus Tomentosa* (Aiton) Hassk) Dengan Metode Dpph. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 5(2), 183–191. <https://Doi.Org/10.29313/Jiff.V5i2.9053>
- Oktavia, F. D., & Sutoyo, S. (2021). Skrining Fitokimia, Kandungan Flavonoid Total, Dan

- Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Tumbuhan Selaginella Doederleinii. *Jurnal Kimia Riset*, 6(2), 141. <https://Doi.Org/10.20473/Jkr.V6i2.30904>
- Oktavia, S. N., Wahyuningsih, E., Andasari, S. D., & Normaidah. (2020). Skrining Fitokimia Dari Infusa Dan Ekstrak Etanol 70% Daun Cincau Hijau (*Cyclea Barbata Miers*). *Cerata Jurnal Ilmu Farmasi*, 11(1), 1–6. <https://Doi.Org/10.61902/Cerata.V11i1.84>
- Pratiwi, I. (2021). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Dan Fraksi Etil Asetat Daun Jeruk Nipis (*Citrus Aurantiifolia*) (Christm. & Panz.) Swingle) Serta Uji Antibakteri Terhadap *Salmonella Thypi*.
- Prasetyo, A.B., Imawati, M. F., Sumadji, A.R. (2022). Pengaruh Metode Maserasi Dan Soxhletasi Terhadap Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum Basilicum L.*). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 8(2), 317–321. <https://Doi.Org/10.51352/Jim.V8i2.641>
- Qomaliyah, E. N., Indriani, N., Rohma, A., & Islamiyati, R. (2023). Skrining Fitokimia, Kadar Total Flavonoid Dan Antioksidan Daun Cocor Bebek. *Current Biochemistry*, 10(1), 1–10. <https://Doi.Org/10.29244/Cb.10.1.1>
- Saini, A., Panesar, P. S., & Bera, M. (2019). Comparative Study On The Extraction And Quantification Of Polyphenols From Citrus Peels Using Maceration And Ultrasonic Technique. *Current Research In Nutrition And Food Science*, 7(3), 678–685. <https://Doi.Org/10.12944/Crnfsj.7.3.08>
- Sangi, M. S., Momuat, L. I., & Kumaunang, M. (2012). Uji Toksisitas Dan Skrining Fitokimia Tepung Gabah Pelepas Aren (*Arenga Pinnata*). *Jurnal Ilmiah Sains*, 12(2), 127. <https://Doi.Org/10.35799/Jis.12.2.2012.716>
- Sari, B. L., Triastinurmiatiningsih, T., & Haryani, T. S. (2020). Optimasi Metode Microwave-Assisted Extraction (Mae) Untuk Menentukan Kadar Flavonoid Total Alga Coklat Padina Australis. *Alchemy Jurnal Penelitian Kimia*, 16(1), 38. <https://Doi.Org/10.20961/Alchemy.16.1.34186.38-49>
- Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (2020). The Rendement Of Boiled Water Extract Of Mature Leaves Of Mangrove Sonneratia Alba. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1), 9. <https://Doi.Org/10.35800/Jpkt.11.1.2020.28659>
- Suhendar, U., Utami, N. F., Sutanto, D., & Nurdayanty, S. M. (2020). Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi Pada Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Iler (*Plectranthus Scutellarioides*). *Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(1), 76–83.

- https://Doi.Org/10.33751/Jf.V10i1.2069
- Syarifuddin, A. N., Purba, R. A., Boru Situmorang, N., & Marbun, R. A. T. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum Basilicum L.*) Terhadap Bakteri *Streptococcus Mutans*. *Jurnal Farmasimed (Jfm)*, 2(2), 69–76.
https://Doi.Org/10.35451/Jfm.V2i2.368
- Triesty, I., & Mahfud, M. (2017). Ekstraksi Minyak Atsiri Dari Gaharu (*Aquilaria Malaccensis*) Dengan Menggunakan Metode Microwave Hydrodistillation Dan Soxhlet Extraction. *Jurnal Teknik Its*, 6(2).
https://Doi.Org/10.12962/J23373539.V6i2.24491
- Vifta, Rissa Laila. (2019). Perbandingan Total Rendemen Dan Skrining Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper Betle L.*) Secara Mikrodilusi. *Journal Of Science And Application Technology*, 2(1), 87–93. https://Doi.Org/10.35472/281450
- Widayanti, E., Mar'ah Qonita, J., Ikayanti, R., & Sabilah, N. (2023). Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kadar Flavonoid Total Pada Daun Jinten (*Coleus Amboinicus Lour*). *Indonesian Journal Of Pharmaceutical Education*, 3(2), 219–225.
https://Doi.Org/10.37311/Ijpe.V3i2.19787
- Widyasari, R., & Handayani, S. (2020). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Metanol Kulit Jeruk Sambal Secara Spektrofotometri Uv-Visibel. *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 4(2), 111–118. https://Doi.Org/10.37874/Ms.V4i2.129
- Yanuary, R. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Daun Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Farmasindo Politeknik Indonusa Surakarta*, Vol. 5, 53–56.