

## PROFIL KROMATOGRAFI DAN PENENTUAN KADAR FLAVONOID TOTAL FRAKSI N-HEKSAN DAUN KALANGKALA (*Litsea angulata* BI) MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Puspita Astuti<sup>1)\*</sup>, Rohama<sup>2)</sup>, Setia Budi<sup>3)</sup>

<sup>1,2,3</sup> Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Sari Mulia Banjarmasin, Kalimantan Selatan, Indonesia.

### Info Artikel

Submitted: 22-09-2022

Revised: 03-10-2022

Accepted: 03-05-2023

\*Corresponding author  
Puspita Astuti

Email:  
puspitaastuti97@gmail.com

### ABSTRAK

**Latar belakang:** Kalangkala (*Litsea angulata* BI) merupakan tanaman khas Kalimantan Selatan yang secara empiris digunakan masyarakat dalam pengobatan bisul. Salah satu senyawa yang terkandung yaitu flavonoid, flavonoid memiliki banyak aktivitas farmakologi salah satunya sebagai antibakteri. Flavonoid dapat tersari dengan beberapa pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya salah satunya yaitu n-heksan yang memiliki sifat non polar.

**Tujuan:** Mengetahui profil kromatografi dan kadar flavonoid total fraksi n-Heksan daun Kalangkala (*Litsea angulata* BI) dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis.

**Metode:** Penelitian ini menggunakan metode observasional analitik untuk mengetahui profil kromatografi flavonoid dan observasional deskriptif dalam penentuan kadar flavonoid total fraksi n-Heksan daun Kalangkala (*Litsea angulata* BI) menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.

**Hasil:** Hasil penelitian dari identifikasi senyawa menunjukkan daun Kalangkala (*Litsea angulata* BI) positif mengandung flavonoid. Sedangkan pada profil kromatografi, eluen yang mampu mendeteksi senyawa flavonoid yaitu n-Heksan : Etil asetat (8:12) dengan nada sebanyak tujuh nada. Hasil penentuan kadar flavonoid total fraksi n-Heksan daun Kalangkala (*Litsea angulata* BI) sebesar 8,367 mg QE(*Quersetin Equivalen*)/g.

**Kesimpulan:** Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dari fraksi n-Heksan daun Kalangkala (*Litsea angulata* BI) menunjukkan senyawa flavonoid dengan eluen terbaik n-Heksan : Etil asetat (8:12) serta kadar flavonoid total fraksi n-Heksan daun Kalangkala (*Litsea angulata* BI) sebesar 8,367 mg QE(*Quersetin Equivalen*)/g.

**Kata Kunci:** *Litsea angulata* BI, Flavonoid Total, n-Heksan.

### ABSTRACT

**Background:** Kalangkala (*Litsea angulata* BI) is a typical plant of South Kalimantan which is empirically used by the community in the treatment of boils. One of the compounds contained is flavonoids, flavonoids have many pharmacological activities, one of which is as an antibacterial. Flavonoids can be extracted with several solvents based on the level of polarity, one of which is n-hexane which has non-polar properties.

**Objective:** To determine the chromatographic profile and total flavonoid content of the n-hexane fraction of Kalangkala (*Litsea angulata* BI) leaves by using the UV-Vis Spectrophotometry method.

**Methods:** This study used an analytical observational method to determine the chromatographic profile of flavonoids and descriptive observation in determining the total flavonoid content of the n-hexane fraction of Kalangkala

(*Litsea angulata* Bl) leaf using UV-Vis Spectrophotometry.

**Results:** The results of the identification of the compound showed that the leaves of Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) were positive for flavonoids. Meanwhile, in the chromatographic profile, the eluent capable of detecting flavonoid compounds was n-Hexane: Ethyl acetate (8:12) with seven stains. The results of the determination of the total flavonoid content of the n-hexane fraction of Kalangkala leaves (*Litsea angulata* Bl) was 8,367 mg QE (Quercetin Equivalent)/g.

**Conclusion:** Thin Layer Chromatography (TLC) of the n-Hexane fraction of Kalangkala leaves (*Litsea angulata* Bl) showed flavonoid compounds with the best eluent n-Hexane: Ethyl acetate (8:12) and the total flavonoid content of the n-Hexane fraction of Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) was 8,367 mg QE(Quercetin Equivalent)/g.

**Keywords:** *Litsea angulata* Bl, Total Flavonoid, n-Hexane

## PENDAHULUAN

Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) merupakan tanaman khas Kalimantan Selatan yang dapat hidup di daerah tropis hingga ketinggian mencapai 30 meter. Secara empiris masyarakat Kalimantan Selatan menggunakan tanaman Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) pada bagian daunnya sebagai antiseptik dan pengobatan bisul. Kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) adalah flavonoid, tanin, terpenoid, karetenoid dan kumarin (Kusparadini *et al.*, 2018).

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki struktur inti C6-C3-C6 yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan dengan 3 atom C, biasanya dengan ikatan atom O yang berupa ikatan oksigen heterosiklik. Beberapa flavonoid yang bersifat kurang polar adalah isoflavan, flavanon, flavon termetilasi, dan flavonol sehingga dapat larut pada pelarut yang kepolarannya rendah (Hanani, 2014). Komponen bioaktif seperti flavonoid dapat rusak pada suhu 50°C karena dapat mengalami perubahan struktur (Permana *et al.*, 2017). Flavonoid memiliki aktivitas sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membrane sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Ngajow *et al.*, 2013).

Fraksinasi merupakan salah satu proses pemisahan senyawa yang didasarkan pada kelarutan senyawa pada dua macam pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang digunakan adalah pelarut n-Heksan, n-Heksan merupakan pelarut yang bersifat nonpolar sehingga n-Heksan dapat melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat nonpolar (Rachmawati, 2014). Berdasarkan uraian tersebut perlu dilakukan penelitian terkait profil kromatografi dan penentuan kadar flavonoid total fraksi n-Heksana daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) menggunakan metode Spektrofotometri Uv-Vis.

## METODE

### Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah observasional analitik dan observasional deskriptif. Penelitian observasional analitik merupakan penelitian yang bertujuan mengetahui adanya hubungan antar variabel, sedangkan penelitian observasional deskriptif merupakan penelitian yang bertujuan hanya menggambarkan atau mendeskripsikan suatu hasil yang ditemukan (Jasaputra, 2008). Pada penelitian ini untuk mengetahui profil kromatografi

flavonoid menggunakan jenis penelitian observasional analitik, sedangkan dalam penentuan kadar flavonoid total fraksi n-Heksan Daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) menggunakan jenis penelitian observasional deskriptif.

### Sampel

Sampel yang digunakan adalah Daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) yang sudah tua berasal dari daun nomor 4 dari pucuk daun. Daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) didapatkan di Kabupaten Balangan, Kalimantan Selatan.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah alat-alat gelas, bejana maserasi, KLT, corong pisah, labu ukur, Spektrofotometri UV-Vis. Sedangkan bahan yang digunakan adalah daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl), etanol 96%, n-Heksan, Aquadest, Serbuk Mg, HCl pekat, Diklorometana, Etil asetat, Kuersetin, Amonia, AlCl<sub>3</sub> 10%, Asam asetat 5%.

### Prosedur Kerja

#### Ekstraksi Maserasi

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara merendam simplisia daun kalangkala dengan etanol 96% selama 3x24 jam hingga didapatkan ekstrak cair. Ekstrak cair dikentalkan pada suhu 45°C menggunakan *waterbath* (Mukhriani, 2014).

#### Fraksinasi

Sebanyak 10 gram ekstrak kental daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) dilarutkan dengan n-Heksan dan air/aquadest dengan perbandingan (1:1) sebanyak 50 mL lalu di gojog kembali hingga homogen dan didiamkan hingga memisah. Fraksi n-Heksan yang diperoleh di pekatkan menggunakan *waterbath* pada suhu 45°C (Mu'awwanah & Ulfah, 2013).

#### Uji Senyawa Flavonoid

Sebanyak 1 mL fraksi n-Heksan daun kalangkala (*Litsea angulata* Bl) dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 gram serbuk Mg dan ditetesi HCl pekat. Hasil positif flavonoi menunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga (Dewi *et al.*, 2021).

#### Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Senyawa Flavonoid

Sampel fraksi n-heksan daun kalangkala dan kuersetin masing-masing di aplikasikan pada plat KLT (plat silika gel GF 254 dengan panjang dan lebar 8 x 2 cm) yang telah diaktivasi (Rafi *et al.*, 2013). Variasi eluen yang digunakan adalah n-Heksan : Diklorometana (8:12), n-Heksan : Etil asetat (8:12), dan Diklorometana : Etil asetat (10:10) (Aisyah *et al.*, 2019). Plat KLT dimasukkan kedalam *chamber* yang telah dijenuhkan dengan fase gerak. Kemudian masing-masing eluen dibiarkan terelusi hingga 6 cm dari garis awal. Selanjutnya plat dikeluarkan dari *chamber* dan dikeringkan pada suhu ruang. Setelah plat KLT kering dilakukan visualisasi dengan kromatografi menggunakan pereaksi Amonia sebelum dan sesudah dilakukannya pendeteksian warna melalui sinar tampak, sinar UV 254 nm, dan sinar UV 366 nm. Nilai R<sub>f</sub> dihitung dengan rumus :

$$R_f = \frac{\text{Jarak rambat yang ditempuh fraksi}}{\text{Jarak rambat yang ditempuh fase gerak}}$$

### Penentuan Kadar Flavonoid Total

#### Pembuatan Larutan Baku Induk Kuersetin 1000 ppm

Sebanyak 25 mg kuersetin dilarutkan dengan etanol 96%, lalu dimasukkan kedalam labu ukur 25 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm (Asmorowati & Lindawati, 2019).

#### Pembuatan Larutan Baku Standar Kuersetin 100 ppm

Larutan baku induk dipipet sebanyak 2,5 mL dan dimasukkan kedalam labu ukur 25 mL kemudian diencerkan dengan etanol 96% hingga garis batas dan dihomogenkan sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm (Asmorowati & Lindawati, 2019).

#### Pembuatan Larutan Blanko

Pipet 1 mL  $AlCl_3$  10% kedalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan 8 mL Asam asetat 5%. Kemudian ditambahkan etanol 96% hingga garis batas dan dihomogenkan (Asmorowati & Lindawati, 2019).

#### Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Larutan baku standar kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 mL. Ditambahkan 1 mL  $AlCl_3$  10% dan 8 mL Asam asetat 5%. Panjang gelombang maksimum kuersetin dapat ditentukan dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 370-450 nm. Hasil panjang gelombang maksimum digunakan untuk mengukur serapan dari fraksi n-Heksan daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) (Asmorowati & Lindawati, 2019).

#### Penerapan *Operating Time*

Pipet larutan 1 mL larutan baku standar 100 ppm, kemudian ditambahkan 1 mL  $AlCl_3$  10% dan 8 mL Asam asetat 5%. Absorbansi ditentukan dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang yang diperoleh. Dengan interval waktu 2 menit sampai diperoleh absorbansi yang stabil (Asmorowati & Lindawati, 2019)

#### Pembuatan Kurva Baku Standar Kuersetin

Pembuatan kurva standar dilakukan dengan mengambil larutan baku standar 100 ppm sebanyak 0,2 mL; 0,4 mL; 0,6 mL; 0,8 mL; 1 mL; 1,2 mL dan diencerkan dengan etanol 96% didalam labu ukur 10 mL sehingga konsentrasi yang diperoleh berturut-turut adalah 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, dan 12 ppm. Masing-masing konsentrasi dari kurva standar kuersetin dipipet sebanyak 1 mL, kemudian ditambahkan 1 mL  $AlCl_3$  10% dan 8 mL Asam asetat 5% didiamkan selama *operating time*. Kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh (Asmorowati & Lindawati, 2019).

#### Penetapan Kadar Flavonoid Total Fraksi n-Heksan Daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl)

Sebanyak 25 mg Fraksi n-Heksan Daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) dilarutkan dengan etanol 96%, lalu dimasukkan kedalam labu ukur 25 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Kemudian larutan baku induk dipipet sebanyak 2,5 mL dan dimasukkan kedalam labu ukur 25 mL kemudian diencerkan dengan etanol 96% hingga garis batas dan dihomogenkan sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Kemudian diambil sebanyak 1 mL larutan baku standar fraksi n-Heksan daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) kemudian ditambahkan 1 mL  $AlCl_3$  10% dan 8 mL Asam asetat 5%. Sampel didiamkan selama *operating time*. Kemudian dilakukan pengukuran dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh (Asmorowati & Lindawati, 2019). Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali replikasi. Data absorbansi sampel yang didapat dari Spektrofotometri UV-Vis dimasukkan kedalam <https://ejurnal.unism.ac.id/index.php/jpcs>

persamaan kurva baku kuersetin dengan rumus  $y = bx + a$  menggunakan *microsoft excel*. Sedangkan dalam penentuan kadar flavonoid total menggunakan rumus :

$$T = \frac{C \times V}{M}$$

Keterangan :

T = Total Flavonoid

M = Berat sampel

C = Konsentrasi kuersetin (nilai x)

V = Volume sampel

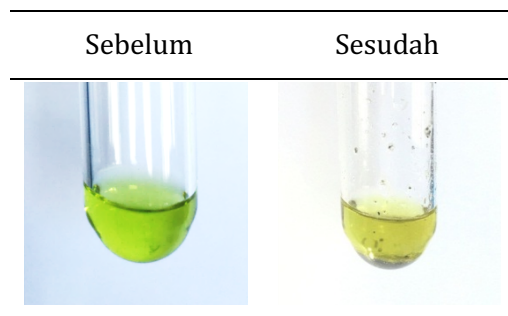
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

Pada proses maserasi menggunakan simplisia kering sebanyak 898,25 gram. Menghasilkan ekstrak kental sebanyak 55,97 gram dengan rendemen ekstrak sebesar 6,23%. Sedangkan pada proses fraksinasi didapatkan fraksi kental sebanyak 1,79 gram dengan rendemen fraksi sebesar 17,9%.

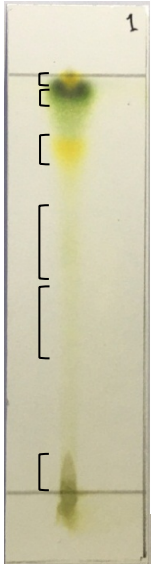
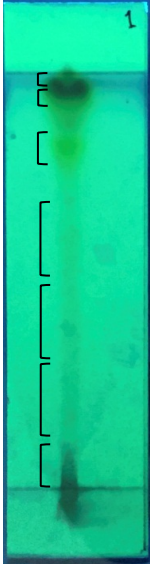
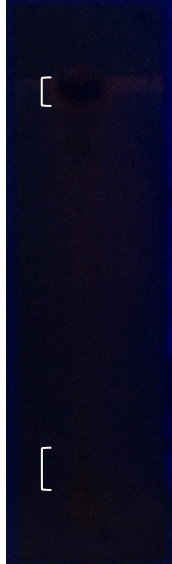
Pada uji senyawa flavonoid terhadap fraksi n-heksan daun kalangkala didapatkan hasil positif flavonoid. Hasil uji senyawa flavonoid dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Uji Senyawa Flavonoid



Pada pengujian KLT menggunakan variasi eluen yang berbeda. Hasil yang didapatkan adalah perubahan warna noda menjadi kuning kecoklatan setelah direaksikan dengan amonia yang menandakan positif flavonoid. Dari ketiga variasi eluen didapatkan eluen yang terbaik yaitu n-Heksan : Etil asetat (8:12), menghasilkan tujuh noda. Hasil dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2 Hasil Identifikasi Flavonoid Metode Kromatografi Lapis Tipis

Senyawa Flavonoid n-Heksan : Etil asetat (8:12) (Aisyah, dkk. 2019)			
Sesudah di reaksikan (Reagent amonia)			
Keterangan	Sinar Tampak	Sinar UV 254	Sinar UV 366
Fraksi n-Heksan Daun Kalangkala ( <i>Litsea angulata</i> Bl			

Hasil penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin adalah 411 nm. Sedangkan hasil *operating time* didapatkan pada menit ke 18 menit.

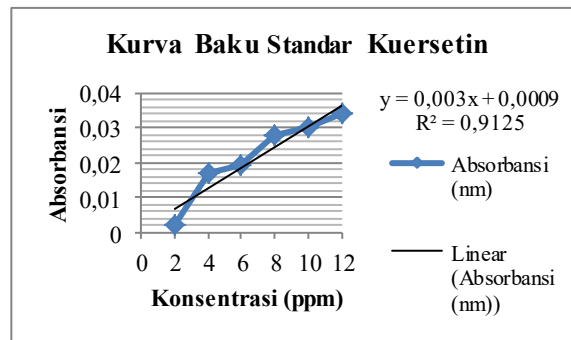
Penentuan kurva baku kuersetin dilakukan dengan cara mengukur absorbansi pada berbagai konsentrasi. Hasil pengukuran dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Absorbansi Larutan Kurva Baku Kuersetin

Konsentrasi (ppm)	2	4	6	8	10	12
Absorbansi	0,002	0,016	0,018	0,028	0,029	0,034
Rata-rata	0,002	0,017	0,019	0,028	0,030	0,034

Hasil persamaan regresi linear kurva baku kuersetin yang diperoleh adalah  $y=0,003x + 0,0009$ . Dapat dilihat pada gambar 1.





Gambar 1. Kurva Baku Kuersetin

Hasil penentuan absorbansi sampel fraksi daun kalangkala dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Penentuan Absorbansi Sampel Fraksi Daun Kalangkala

Sampel	Absorbansi	Rata-rata
Fraksi	0,026	0,026
n-Heksan daun	0,026	
Kalangkala	0,027	

Penentuan kadar flavonoid total dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Penentuan Kadar Flavonoid Total Fraksi n-Heksan Daun Kalangkala

Berat fraksi (gram)	Absorbansi rata-rata ( $\lambda$ )	Kadar Ekivalen (ppm)	Kadar flavonoid Total (mg QE/g)
0,025 g	0,026	8,367	8,367

Penentuan kadar flavonoid didapatkan hasil dengan cara memasukkan nilai rata-rata absorbansi sampel sebesar 0,026 kedalam rumus  $y = 0,003x + 0,0009$  didapatkan hasil sebesar 8,367. Melalui perhitungan rumus kadar flavonoid didapatkan kadar flavonoid sebesar 8,367 mg QE(*Quersetin Equivalen*)/g atau 0,8367%.

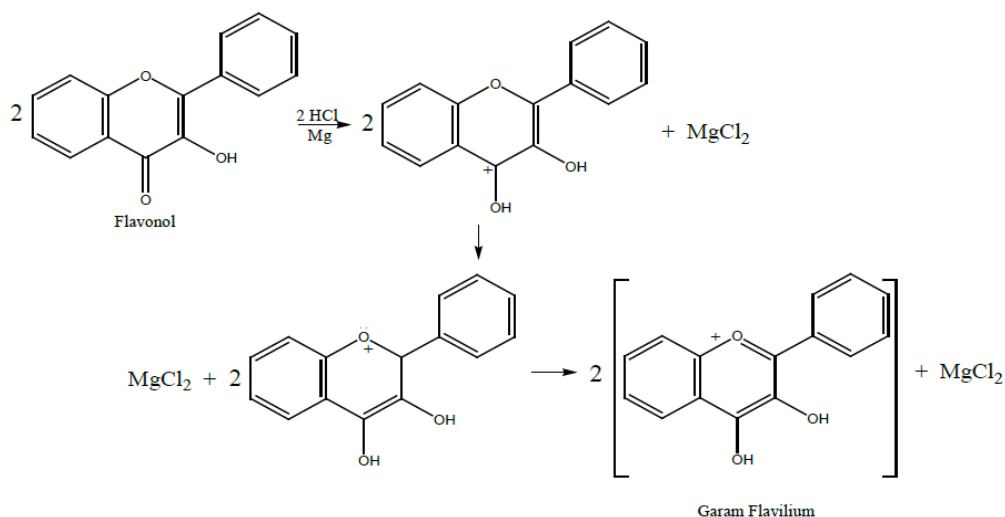
## Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui profil kromatografi serta kadar flavonoid total didalam fraksi n-Heksan daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Spektrofotometri UV-Vis. Spektrofotometri UV-Vis dipilih karena sangat sederhana dan cepat. Sampel yang sudah menjadi simplisia kering kemudian di ekstraksi. Adapun tujuan dari proses ekstraksi yaitu untuk menarik komponen kimia yang terkandung didalam sampel. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Metode tersebut dipilih karena prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana serta tidak dilakukan pemanasan sehingga bahan alam tidak menjadi terurai atau rusak (Nurhasnawati *et al.*, 2017).

Pada proses maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dikarenakan mampu menyari sebagian besar kandungan kimia tanaman serta etanol juga memiliki beberapa sifat seperti absorpsi yang baik, bersifat netral, tidak beracun dan kapang sulit tumbuh dalam etanol 20% keatas (Vonna & Nurismi, 2015). Penggantian pelarut hingga berwarna bening menunjukkan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam sampel telah terekstraksi secara maksimal (Mukhriani, 2014). Dalam proses maserasi cairan dalam penyari akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif, kemudian zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif dan yang ada diluar sel, maka larutan yang terpekat terdesak keluar (Vonna & Nurismi, 2015).

Fraksinasi dari ekstrak kental daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) dilakukan dengan prinsip perbedaan tingkat kepolaran dan konstanta dielektrik antar pelarut. Pelarut n-Heksan digunakan sebagai pelarut untuk fraksinasi karena memiliki sifat non polar, sehingga dapat menyari senyawa flavonoid yang bersifat non polar. Pada proses fraksinasi terbentuk dua lapisan yang berbeda yaitu fraksi n-Heksan (lapisan atas) dan fraksi etanol-air (lapisan bawah). Terbentuknya lapisan tersebut karena perbedaan kepolaran dari kedua pelarut dimana n-Heksan memiliki kepolaran yang lebih kecil dari aquadest (air) (Heliawati, 2018).

Pada uji senyawa flavonoid fraksi daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) menggunakan HCl pekat dengan serbuk magnesium. Tujuan penambahan HCl pekat dan serbuk Mg pada uji warna senyawa flavonoid adalah untuk mereduksi inti  $\alpha$  benzopyron yang terdapat didalam struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium (Illing, 2017). Reaksi flavonoid dengan pereaksi HCl pekat dan serbuk Mg dapat dilihat pada gambar 2.



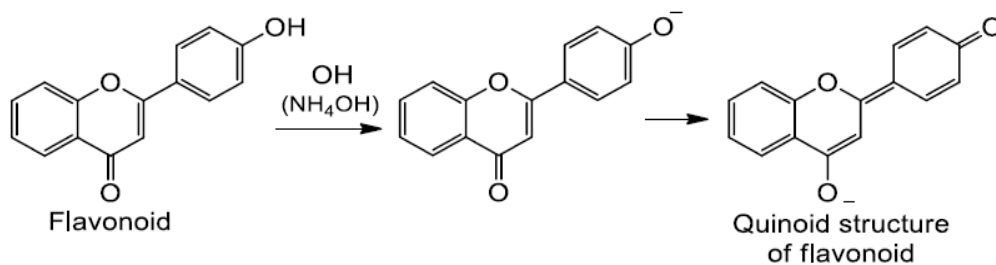
Gambar 2. Reaksi Flavonoid dengan Pereaksi HCl pekat dan Serbuk Mg

Uji selanjutnya yang dilakukan adalah Kromatografi Lapis Tipis (KLT). KLT merupakan metode kromatografi yang paling sering digunakan, peralatan dan bahan yang dibutuhkan untuk pemisahan dan analisis senyawa metabolit sekunder cukup sederhana terdiri atas dua fase yaitu fase gerak (eluen) dan fase diam (lempeng KLT) (Wulandari, 2015).

Penentuan eluen terbaik dilakukan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan variasi eluen pada metabolit sekunder flavonoid. Eluen terbaik akan dipilih jika memiliki banyak bercak atau noda yang terpisah dan terjadi perubahan warna setelah dilakukan <https://ejurnal.unism.ac.id/index.php/jpcs>



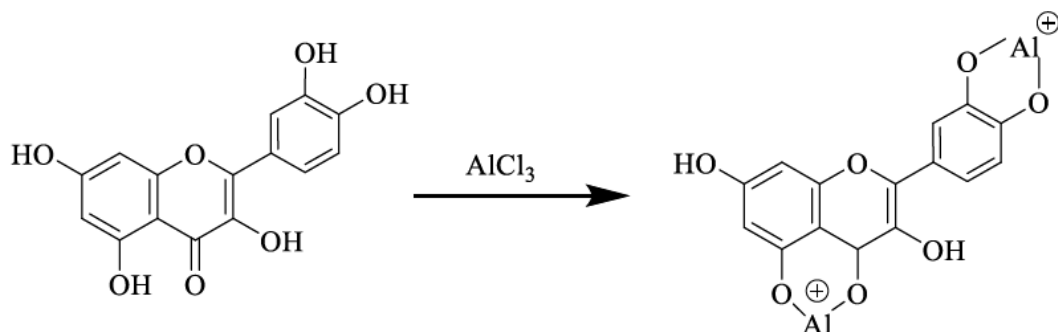
penguapan amonia. Dari ketiga variasi eluen tersebut didapatkan eluen yang terbaik yaitu n-Heksan : Etil asetat (8:12), menghasilkan tujuh noda pada sinar tampak, tujuh noda pada sinar UV 254 nm, dan dua noda pada sinar UV 366 nm. Hal ini terjadi dikarenakan perbedaan kepolaran dari fase gerak (eluen), apabila senyawa flavonoid semakin mendekati kepolaran eluen maka akan terbawa dan terpisah oleh fase gerak. Sehingga dapat dikatakan noda terbanyak terdapat pada eluen yang bersifat non polar. Setelah dilakukan penguapan dengan amonia terbentuklah bercak noda berwarna kuning kecoklatan yang menandakan positif flavonoid. Hal tersebut terjadi karena adanya pembentukan quinoid pada  $\beta$ -ring yang mengandung ikatan terkonjugasi yang lebih panjang (Warsi & Sholichah, 2017). Reaksi flavonoid dengan amonia dapat dilihat pada gambar 3.



Sumber : (Warsi & Sholichah, 2017)

Gambar 3. Reaksi Flavonoid dengan Amonia

Pada penentuan kadar flavonoid fraksi n-Heksan daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk analisis senyawa dalam bentuk larutan berwarna ataupun senyawa dalam bentuk larutan yang dapat direaksikan hingga terbentuk warna. Kuersetin digunakan sebagai baku pembanding karena merupakan salah satu jenis flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus keto pada atom C-4 dan juga gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang bertetangga (Vonna & Nurismi, 2015). Prinsip penetapan kadar flavonoid menggunakan metode aluminium klorida (AlCl<sub>3</sub>) adalah terjadinya pembentukan senyawa kompleks antara aluminium klorida dengan gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari golongan flavon dan flavonon sehingga menghasilkan warna kuning (Suharyanto & Prima, 2020). Reaksi antara kuersetin dengan AlCl<sub>3</sub> dapat dilihat pada gambar 4.



Sumber : (Ramadhan *et al.*, 2021)

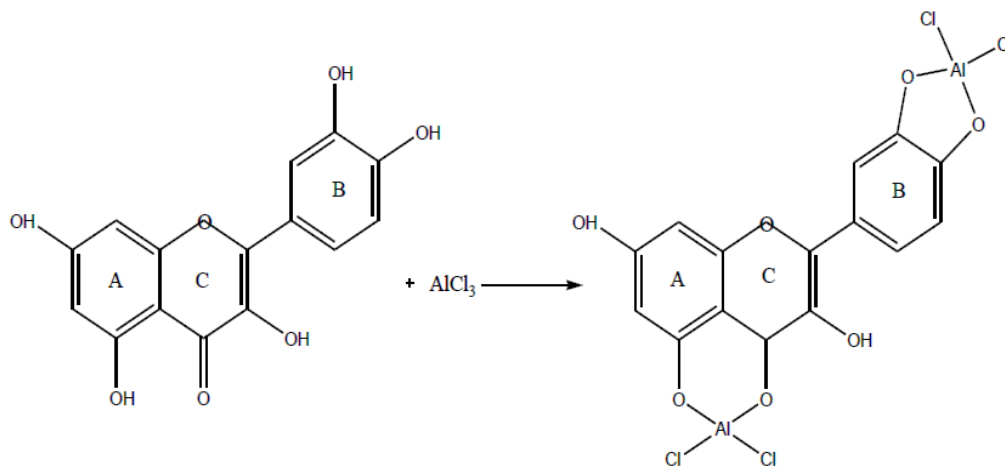
Gambar 4. Reaksi Kuersetin dengan AlCl<sub>3</sub>

Penetapan gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang saat mencapai serapan maksimum, selain itu juga memiliki daya serap yang relatif konstan (Asmorowati & Lindawati, 2019). Hasil yang diperoleh yaitu 411 nm.

Penentuan *operating time* bertujuan untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil yaitu ketika sampel bereaksi sempurna dan membentuk senyawa kompleks. (Asmorowati & Lindawati, 2019). Hasil penentuan *operating time* didapatkan hasil pada menit ke-18 hingga menit ke-22. Pada rentang waktu tersebut absorbansi senyawa terukur relatif lebih stabil. Kestabilan absorbansi ini menandakan reaksi pembentukan sudah optimum.

Penentuan kurva standar kuersetin dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh persamaan regresi linear yang akan digunakan sebagai penentuan kadar dari sampel. Hasil pengukuran absorbansi menunjukkan bahwa konsentrasi berbanding lurus dengan nilai absorbansi yang didapat yaitu semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi pula nilai absorbansi yang didapatkan (Asmorowati & Lindawati, 2019). Sedangkan pada persamaan regresi linear kurva standar kuersetin yang diperoleh adalah  $y=0,003x + 0,0009$  dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,9125. Nilai ( $r$ ) yang diperoleh mendekati angka 1 menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier, sehingga dapat dikatakan bahwa absorbansi dan konsentrasi memiliki korelasi yang sangat kuat (Asmorowati & Lindawati, 2019).

Penentuan kadar flavonoid total dalam fraksi n-Heksan daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) dilakukan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dengan larutan baku kuersetin. Pada penetapan kadar flavonoid larutan sampel ditambahkan  $AlCl_3$  maka terjadi pembentukan kompleks antara flavonoid dengan  $AlCl_3$  sehingga menyebabkan pergeseran panjang gelombang kearah sinar visibel yang ditandai dengan adanya warna kuning pada larutan. Pembentukan senyawa kompleks terjadi ketika  $AlCl_3$  bereaksi dengan gugus keto pada C-4 dan gugus hidroksil pada C-3 atau C-5 pada senyawa flavonoid (Suharyanto & Prima, 2020). Penambahan asam asetat berfungsi untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah visibel (tampak) (Asmorowati & Lindawati, 2019). Reaksi antar  $AlCl_3$  dengan flavonoid dapat dilihat pada gambar 5.



Sumber : (Suharyanto & Prima, 2020)

Gambar 5. Reaksi  $AlCl_3$  dengan Flavonoid

Berdasarkan data pada penelitian sampel diperoleh kadar flavonoid total fraksi n-Heksan daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) sebesar 8,367 mg  $QE^{(Quersetin\ Equivalen)}/g$ .

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada fraksi n-Heksan daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis dapat disimpulkan bahwa hasil uji identifikasi senyawa positif mengandung senyawa flavonoid. Pada uji Kromatografi



Lapis Tipis (KLT) didapatkan eluen terbaik untuk memisahkan senyawa flavonoid yaitu n-Heksan : Etil asetat (8:12) dan kadar flavonoid total fraksi n-Heksan dari daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) sebesar 8,367 mg QE(*Quersetin Equivalen*)/g.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Asmorowati, H., & Lindawati, N. Y. (2019). *Penetapan Kadar Flavonoid Total Alpukat (Persea americana Mill.) dengan Metode Spektrofotometri. Jurnal Ilmiah Farmasi, 15(2), 51–63.* <http://journal.uui.ac.id/index.php/JIF>
- Dewi, I. S., Saptawati, T., & Rachma, F. A. (2021). *Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit dan Biji Terong Belanda ( Solanum betaceum Cav .). Prosiding Seminar Nasional UNIMUS, 4, 1210–1218*
- Ergina, S. N., & Pursitasari, I. D. (2014). *Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (Agave Angustifolia) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air Dan Etanol. J. Akad. Kim, 3(3), 165–172.*
- Hanani E. 2014. *Analisis Fitokimia.* Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Illing I, Safitri W, Erfiana. (2017). *Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. Jurnal Dinamika, 66-84.*
- Kusparadini, H., Putri, A. S., & Diana, R. (2018). *Potensi Tumbuhan Genus Litsea.* In *Mulawarman University Press.*
- Mu'awwanah, A., & Ulfah, M. (2013). *Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Heksan Ekstrak Etanol Daun Karika (Carica pubescens) dan Identifikasi Senyawa Alkaloid dan Flavonoidnya. Journal of Chemical Information and Modeling, 53(9), 1689–1699.*
- Mukhrani. (2014). *Farmaknosi analisis. Universitas Islam Negeri (IUN) ALuddin, 1–188.* <http://repositori.uin-alauddin.ac.id/id/eprint/438>
- Ngajow, M., Abidjulu, J., & Kamu, V. S. (2013). *Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (Pometia pinnata) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus secara In vitro. Jurnal MIPA, 2(2), 128.* <https://doi.org/10.35799/jm.2.2.2013.312>
- Nurhasnawati, H., Handayani, F., & Sukarmi. (2017). *Sokletasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Jambu Bol ( Syzygium malaccense L .). Jurnal Ilmiah Manuntung, 3(1), 91–95.*
- Permana, I. D. G. M., Yuliantari, N, W, A., Widarta, I. W. R. (2017). *Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (Annona muricata L.) Menggunakan Ultrasonik. Media Ilmiah Teknologi Pangan, 4(1), 35–42.*
- Rachmawati., Romadanu., Shanti, D. L. (2014). *Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Lotus (Nelumbo nucifera).* Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.
- Rafi, M., Rudi, H., & Dewi, A. S. (2013). *Atlas Kromatografi Lapis Tipis Tumbuhan Obat Indonesia.* In *Journal of Chemical Information and Modeling (Vol. 53, Issue 9).*
- Ramadhan, H., Rezky, D. P., & Susiani, E. F. (2021). *Penetapan Kandungan Total Fenolik-Flavonoid pada Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Kasturi (Mangifera casturi Kosterman). Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia, 8(1), 58.* <https://doi.org/10.20473/jfiki.v8i12021.58-67>
- Rudiyansyah Aisyah, L. D. (2019). *Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Flavonoid Dari Fraksi Etil Asetat Batang Tumbuhan Senggani (Melastoma Malabathricum L.). Jurnal Kimia* <https://ejurnal.unism.ac.id/index.php/jpcs>



Khatulistiwa, 8(Vol 8, No 2 (2019): Jurnal Kimia Khatulistiwa), 61-66.  
<http://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmipa/article/view/36937>

Suharyanto, & Prima, D. A. N. (2020). *Penetapan Kadar Flavonoid Total pada Juice Daun Ubi Jalar Ungu (Ipomoea Batatas L.) yang Berpotensi Sebagai Hepatoprotektor dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. Cendekia Journal of Pharmacy, 4(2), 110-119.*  
<http://cjp.jurnal.stikescendekiautamakudus.ac.id/index.php/cjp/article/view/89>

Vonna, A., & Nurismi, R. (2015). *Wound Healing Activity of Unguentum Dosage Form of Ethanol Extracts of Areca catechu L. Nut in Mus musculus albinus. Jurnal Natural Unsyiah, 15(2), 115085.*

Warsi, & Sholichah, A. R. (2017). *Phytochemical screening and antioxidant activity of ethanolic extract and ethyl acetate fraction from basil leaf (Ocimum basilicum L.) by DPPH radical scavenging method. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 259(1).*  
<https://doi.org/10.1088/1757-899X/259/1/012008>

Wulandari, L. (2011). *Kromatografi Lapis Tipis*. In Taman Kampus Presindo.