

Penentuan Kadar Flavonoid Daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Hamsidar Hasan^{1*}, A. Mu'thi Andy Suryadi², Syamsul Bahri³, Ni Luh Widiastuti⁴

^{1,2,4} Jurusan Farmasi Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo,
Jl. Jenderal Sudirman No. 06 Kota Gorontalo 96128, Indonesia

³ Fakultas Pertanian, Universitas Negeri Gorontalo,

Jl. Jenderal Sudirman No. 06 Kota Gorontalo 96128, Indonesia

* Penulis Korespondensi. Email: hamsidar.hasan@ung.ac.id

ABSTRAK

Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) merupakan salah satu tumbuhan gulma yang dimanfaatkan menjadi obat tradisional khususnya pada bagian daun. Flavonoid adalah salah satu metabolit sekunder yang terkandung dalam daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) yang berfungsi sebagai anti inflamasi, analgesik, antipiretik dan anti diabetes. Besarnya kadar flavonoid yang dapat tertarik dioptimalkan dengan pemilihan metode ekstraksi yang tepat. Metode ekstraksi yang tepat akan menentukan banyaknya zat yang dapat tertarik dan mendapatkan kandungan zat aktif yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan kadar flavonoid dalam ekstrak metanol daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) pada dua metode maserasi berbeda yaitu maserasi bertingkat dan maserasi total. Pada maserasi bertingkat menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan metanol sedangkan maserasi total menggunakan pelarut metanol. Analisis kualitatif pada penelitian ini menggunakan metode uji pereaksi warna dan kromatografi lapis tipis menggunakan eluen yaitu n-heksan : etil asetat dengan perbandingan (7:3) dan analisis kuantitatif menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 435 nm dengan pembanding standar quersetin. Hasil menunjukkan bahwa kadar rata-rata flavonoid ekstrak metanol daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) dengan menggunakan metode maserasi bertingkat sebesar 2,9750% dan metode maserasi total sebesar 4,8822%. Kadar tertinggi diperoleh dari ekstrak metanol daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) dengan metode maserasi total.

Kata Kunci:

Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.), Flavonoid, Maserasi, Spektrofotometri UV-Vis

Diterima:

18-02-2023

Disetujui:

29-04-2023

Online:

01-05-2023

ABSTRACT

Knop grass (*Hyptis capitata* Jacq.) is a weed used as a traditional medicine, especially for the leaves. Flavonoids are one of the secondary metabolites contained in the Knop Grass (*Hyptis capitata* Jacq.) leaves, which function as anti-inflammatory, analgesic, antipyretic and anti-diabetic. The amount of extracted flavonoids is optimized by choosing the right extraction method, as it will determine the amount of substance that can be attracted and obtain a high content of active substances. This research aimed to compare the flavonoid levels in the methanol extract of Knop Grass (*Hyptis capitata* Jacq.) leaves in two different maceration methods: multilevel maceration and total maceration. Multilevel maceration employed n-hexane, ethyl acetate and methanol solvents, while total maceration employed methanol solvent. In the meantime, the qualitative analysis in this research used the color reagent test method, whereas the thin layer chromatography used the eluent, namely n-hexane : ethyl

acetate with a ratio (7:3). In addition, the quantitative analysis used the UV-Vis spectrophotometry method at a maximum wavelength of 435 nm with standard quercetin as a comparison. The result signified that the average flavonoid level in the methanol extract of Knop Grass (*Hyptis capitata* Jacq.) leaves using the multilevel maceration method was 2,9750%. The total maceration method was 4,8822%. Furthermore, the total maceration method donated the highest concentration obtained from the methanol extract of Knop Grass (*Hyptis capitata* Jacq.) leaves.

Copyright © 2023 Jsscr. All rights reserved.

Keywords:

Knop Grass; Hyptis capitata Jacq.; Flavonoid; Maceration; UV-Vis Spechtrifotometry

Received: 2022-02-18	Accepted: 2023-04-29	Online: 2023-05-01
--------------------------------	--------------------------------	------------------------------

1. Pendahuluan

Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) dikenal di daerah Gorontalo dikenal dengan nama Dungo Herani. Rumput Knop telah dimanfaatkan oleh beberapa suku di Indonesia untuk mengatasi berbagai macam penyakit, seperti obat pada luka terbuka, demam maupun diabetes. Organ tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai obat juga bervariasi mulai dari daun, pucuk, batang muda dan bunga. Pada penelitian Kusuma *et al.*, [1] mengemukakan bahwa ekstrak metanol daun Rumput Knop mengandung sejumlah senyawa fitokimia seperti alkaloid, tanin dan flavonoid. Kandungan flavonoid sebagai kandidat antioksidan pada Rumput Knop yang berkontribusi sebagai analgesik atau pereda nyeri dan inflamasi pada sakit kepala, demam dan perut kembung serta anti kanker dan anti diabetes [2].

Ekstraksi merupakan suatu metode pemisahan suatu zat yang didasarkan pada perbedaan kelarutan terhadap dua cairan tidak saling larut yang berbeda, biasanya yaitu air dan yang lainnya berupa pelarut organik. Metode ekstraksi yang dilakukan pada penelitian ini adalah maserasi total dan maserasi bertingkat. Metode maserasi digunakan karena memiliki beberapa keunggulan yaitu metode sederhana, mudah, relatif murah, terjadinya kontak antara sampel dengan pelarut yang cukup lama memudahkan pelarut untuk mengikat senyawa yang ada pada sampel dan tidak perlu pemanasan sehingga kecil kemungkinan bahan alam menjadi rusak atau terurai [3,4]

Metode maserasi total adalah metode yang hanya menggunakan satu pelarut untuk ekstraksi. Kelebihan metode ini yaitu lebih sederhana dan tidak memerlukan waktu yang lama, akan tetapi rendemen yang dihasilkan sangat sedikit. Sedangkan metode maserasi bertingkat merupakan metode yang akan mengekstrak keseluruhan senyawa dari suatu bahan berdasarkan polaritas pelarut yang akan digunakan secara bertahap. Kelebihannya yaitu ekstrak yang didapatkan lebih murni dibandingkan dengan maserasi total, menghasilkan senyawa secara spesifik pada tiap pelarut yang digunakan dan menghasilkan rendemen dalam jumlah yang besar akan tetapi penggunaan pelarut akan sangat banyak [5,6]

Menurut Sàadah *et al.*, [7], kandungan metabolit sekunder utama didapatkan dengan cara melakukan optimasi dalam proses pembuatan ekstrak. Optimasi pembuatan ekstrak perlu dilakukan untuk mendapatkan kandungan zat aktif yang tinggi. Optimasi pembuatan ekstrak salah satunya adalah metode ekstraksi. Metode ekstraksi akan menentukan banyaknya zat yang dapat tersari dari simplisia tanaman sesuai dengan tingkat kepolaran pelarut. Banyaknya zat yang dapat tersari dapat dilihat dengan optimasi metode ekstraksi sehingga perlu dilakukan penelitian untuk membandingkan kadar metabolit sekunder yaitu flavonoid pada ekstrak daun Rumput Knop dengan metode maserasi total dan maserasi bertingkat.

Penetapan kadar flavonoid akan diuji menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada bilangan gelombang maksimum lalu diamati puncak serapannya sehingga akan menghasilkan nilai absorbansi dan dianalisis kadar senyawa pada ekstrak. Spektrofotometer UV-Vis dapat digunakan untuk menganalisis banyak zat organik dan anorganik, selektif mempunyai ketelitian yang tinggi dengan kesalahan relatif sebesar 1%-3%, analisis dapat dilakukan dengan cepat dan tepat, serta dapat digunakan untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Spektrum serapan ultra violet dan serapan tampak merupakan cara tunggal yang paling bermanfaat untuk mengidentifikasi struktur flavonoid. Flavonoid mengandung sistem aromatis yang terkonjugasi dan dapat menunjukkan pita serapan kuat pada daerah UV-Vis [8,9].

Permadi *et al.*, [10] telah melakukan penelitian tentang perbandingan metode maserasi berbeda terhadap kadar flavonoid total ekstrak herba ciplukan secara kolorimetri, hasil menunjukkan tidak ada perbedaan nyata pada kadar flavonoid total dari kedua metode ekstraksi dan kedua metode ekstraksi tidak memberikan pengaruh terhadap hasil kadar flavonoid.

Handayani *et al.*, [11] telah melakukan penelitian tentang perbandingan kadar flavonoid pada ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) pada metode ekstraksi dingin yang berbeda, hasil menunjukkan kadar flavonoid yang didapatkan lebih tinggi pada metode remaserasi dibandingkan metode perkolasi.

Berdasarkan uraian diatas dapat dinyatakan bahwa pemilihan metode ekstraksi yang tepat dapat mempengaruhi banyaknya kandungan senyawa flavonoid yang dapat tertarik di dalam pelarut, maka dari itu perlu adanya penelitian tentang perbandingan kadar flavonoid ekstrak daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) pada metode maserasi berbeda secara Spektrofotometri UV-vis.

2. Metode Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental laboratorium dengan tujuan untuk membandingkan kadar senyawa flavonoid dari ekstrak daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) pada metode maserasi bertingkat dan maserasi total dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis.

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian yaitu aluminium foil, asam klorida (HCl), serbuk simplisia daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.), etanol 70%, etil asetat, kain saring, kertas saring, lempeng KLT silika gel, metanol p.a (pro analysis) dan metanol teknis, n-Heksan, serbuk Magnesium (Mg) dan tisu.

Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu batang pengaduk, blender, cawan porselen, camber, gelas kimia (Pyrex®), gelas ukur (Pyrex®), hot plate, lampu UV 254 nm dan 366 nm (Camag®), mikropipet, neraca analitik (Osuka®), pipa kapiler, pipet tetes, pisau, rak tabung reaksi, Spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific®; Jerman), spatula, tabung reaksi, vial dan wadah maserasi.

Ekstraksi Daun Rumput Knop

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi total yaitu hanya menggunakan satu jenis pelarut. Serbuk simplisia daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) sebanyak 300 g dimasukkan ke dalam wadah maserasi lalu ditambahkan metanol sebanyak 3000 mL atau hingga sampel terendam. Kemudian didiamkan selama

3 x 24 jam sambil sesekali diaduk (setiap 6 jam). Setelah 3 x 24 jam hasil ekstraksi dipisahkan residu dan filtrat. Filtrat yang didapatkan kemudian diuapkan menggunakan hot plate hingga didapatkan ekstrak kental. Hasil ekstrak kental akan dihitung %rendamennya.

Maserasi Bertingkat

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut dengan kepolaran makin meningkat yaitu n-heksan, etil asetat dan metanol. Serbuk simplisia daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) ditimbang sebanyak 300 g dimasukkan ke dalam wadah maserasi lalu ditambahkan n-heksan sebanyak 3000 mL atau hingga sampel terendam. Kemudian didiamkan selama 3 x 24 jam sambil sesekali diaduk (setiap 6 jam). Setelah 3 x 24 jam hasil ekstraksi dipisahkan residu dan filtrat. Residu (ampas) serbuk simplisia dikeringkan dengan cara diangin-anginkan beberapa saat hingga kering. Setelah residu kering dimaserasi kembali selama 3 x 24 jam menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 3000 mL dengan sesekali diaduk (setiap 6 jam), setelah 3 x 24 jam residu dipisahkan dari filtrat. Residu (ampas) serbuk simplisia dikeringkan kembali kemudian dimaserasi lagi menggunakan pelarut metanol sebanyak 3000 mL dengan prosedur yang sama.

Hasil filtrat dari masing-masing pelarut kemudian diuapkan menggunakan hot plate hingga terbentuk ekstrak kental dan akan dihitung %rendamennya menggunakan rumus [12]:

$$\text{Rendamen (\%)} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Simplisia Awal}} \times 100\%$$

Skринing Fitokimia Ekstrak Daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.)

Uji Flavonoid

Sebanyak ± 1 mL ekstrak cair masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan HCl Pekat dan Serbuk Magnesium, lalu dipanaskan dengan waktu 15 menit di atas penangas air. Apabila terbentuk warna kuning, jingga dan merah berarti positif flavonoid [13].

Analisis Kromatografi Lapis

Ekstrak metanol kental masing-masing metode ekstraksi daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) dianalisis menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase diam silika gel dan fase gerak eluen n-heksan dan etil asetat pada berbagai perbandingan. Masing-masing ekstrak dilarutkan dengan pelarut yang sesuai, ditotolkan pakai pipa kapiler pada lempeng tepat pada garis batas awal elusi lalu dikeringkan. Setelah itu lempeng dimasukan dalam chamber yang telah diisi dengan beberapa perbandingan eluen yang digunakan. Plat dikeluarkan dari chamber dan dikeringkan. Masing-masing KLT divisualisasi di bawah lampu UV 254 nm dan 366 nm. Lalu lempeng KLT disemprotkan dengan penampak bercak yaitu reagen AlCl_3 10%. Setelah didapatkan noda yang diinginkan dilanjutkan dengan menghitung nilai R_f -nya menggunakan rumus [14]:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang Ditempuh oleh Komponen}}{\text{Jarak yang Ditempuh oleh Pelarut}}$$

Penetapan Kadar Flavonoid

Pembuatan larutan standar Quarsetin

Dilakukan penimbangan sebanyak 10 mg baku standar quersetin yang digunakan dan dilarutkan dalam metanol p.a (*pro analysis*) sebanyak 10 ml yang digunakan untuk 1000 ppm. Dari larutan standar quersetin 1000 ppm tersebut, dipipet sebanyak 2 mL yang dilarutkan ke dalam metanol p.a (*pro analysis*) sebanyak 20 mL yang digunakan untuk 100 ppm [15].

Pembuatan seri konsentrasi standar Quarsetin

Dari konsentrasi 100 ppm dibuat beberapa konsentrasi yang berbeda yaitu 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm dengan memipet 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml berturut-turut dan dilarutkan dengan metanol p.a (*pro analysis*) hingga 10 ml. Kemudian dipipet sebanyak 0,5 ml masing-masing konsentrasi larutan quersetin diencerkan dengan 1,5 ml metanol p.a (*pro analysis*) lalu di tambahkan 0,1 ml AlCl_3 10%, 0,1 ml Natrium asetat 1M dan 2,8 ml aquadest. Setelah itu didiamkan pada suhu ruang selama operating time (30 menit) [15].

Optimasi Panjang Gelombang Maksimum (λ_{max}) Quarsetin

Optimasi panjang gelombang dilakukan yaitu untuk mengetahui panjang gelombang maksimum yang akan digunakan dalam pengukuran kadar sampel ekstrak metanol daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Salah satu konsentrasi larutan standar quersetin yang digunakan akan diukur pada panjang gelombang 400-450 nm untuk melihat gelombang maksimum dengan absorbansi tertinggi [15].

Pembuatan Kurva Kalibrasi Standar Quarsetin

Larutan standar quersetin yang telah dibuat pada beberapa konsentrasi dan telah didiamkan pada suhu ruang yaitu konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm dilakukan pengukuran untuk mendapatkan nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada gelombang maksimum yang diperoleh sebelumnya [15].

Penetapan kadar flavonoid dalam sampel Ekstrak metanol daun Rumput Knop

Penetapan kadar flavonoid ekstrak metanol daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) dari 2 metode yaitu maserasi tunggal dan maserasi bertingkat masing-masing dibuat pada konsentrasi sebesar 1000 ppm dengan menimbang sebanyak 100 mg dari ekstrak, kemudian dilarutkan dalam metanol p.a (*pro analysis*) sebagai pelarut sebanyak 100 mL. Larutan uji 1000 ppm kemudian dipipet sebanyak 0,5 ml lalu ditambahkan dengan 1,5 ml metanol p.a (*pro analysis*), kemudian di tambahkan 0,1 ml AlCl_3 10%, 0,1 ml Natrium asetat 1 M, dan 2,8 ml aquadest. Setelah itu didiamkan pada suhu ruang selama operating time (30 menit). Absorbansi larutan dibaca pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh sebelumnya dilakukan dalam tiga replikasi untuk setiap larutan. Hasil absorbansi kemudian dihitung menggunakan persamaan regresi linear dari kurva baku standar quersetin yang telah diukur sebelumnya untuk memperoleh konsentrasi flavonoid yang terkandung pada ekstrak [15].

3. Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi Daun Rumput Knop

Daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) diperoleh dari Desa Tri Rukun, Kecamatan Wonosari, Kabupaten Boalemo, Provinsi Gorontalo. Daun Rumput Knop yang telah diambil dicuci bersih, dirajang kemudian dikeringkan dan dihaluskan agar memperoleh serbuk simplisia.

Tabel 1. Hasil Rendamen Daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.)

Metode Ekstraksi	Ekstrak	Berat Sampel (gram)	Volume Pelarut (mL)	Berat Ekstrak (gram)	Rendemen (%)
Maserasi Bertingkat	n-Heksan	300	3000	40	13,3
	Etil Asetat	289	3000	42	14,5
	Metanol	276	3000	48	15,6
Maserasi Total	Metanol	300	3000	52	17,3

Tabel 1 menunjukkan bahwa hasil ekstrak dari maserasi bertingkat dengan sampel daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) sebanyak 300 g menggunakan pelarut n-heksan diperoleh persen rendemen sebanyak 13,3%, pelarut etil asetat persen rendemen sebanyak 14,5%, dan pelarut metanol persen rendemen sebanyak 15,6%. Sedangkan hasil ekstrak dari maserasi total dengan sampel daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) sebanyak 300 g menggunakan pelarut metanol diperoleh persen rendemen sebanyak 17,3%. Hasil persen rendemen dari masing-masing ekstrak n-heksan, etil asetat, metanol pada maserasi bertingkat dan metanol pada maserasi total memiliki persen rendemen yang memenuhi syarat, dimana hasil tersebut menunjukkan bahwa proses ekstraksi berjalan dengan baik. Hal ini disesuaikan dengan syarat rendemen ekstrak kental daun Rumput Knop menurut Depkes RI, [16] yaitu tidak kurang dari 13,0%. Menurut Apriliani *et al.*, [17] mengemukakan bahwa faktor yang mempengaruhi rendemen adalah kadar air dan kadar lemak dalam produk akhir. Hasil rendemen dari suatu sampel sangat diperlukan karena untuk mengetahui banyaknya ekstrak yang diperoleh selama proses ekstraksi. Semakin tinggi nilai rendemen menunjukkan bahwa ekstrak yang dihasilkan semakin besar.

Skrining Fitokimia Senyawa Flavonoid Ekstrak Daun Rumput Knop

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa flavonoid pada masing-masing ekstrak. Uji skrining fitokimia ini dilakukan pada ekstrak daun Rumput Knop metode maserasi bertingkat dan maserasi total menggunakan pereaksi *wilstater* dilakukan dengan menambah asam klorida (HCl) dan bubuk Magnesium (Mg).

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Senyawa Flavonoid Ekstrak Daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.)

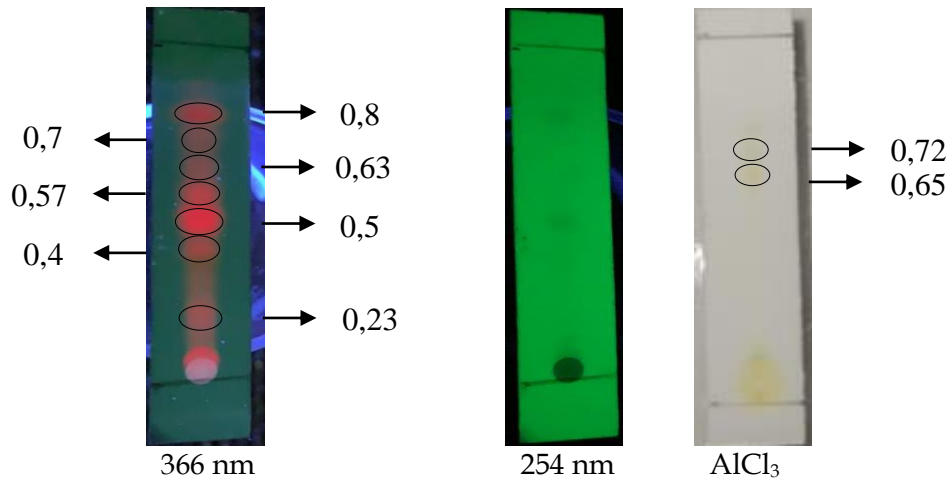
Metode Maserasi	Ekstrak Daun Rumput Knop	Reagen	Positif	Hasil	Keterangan
Maserasi Bertingkat	n-Heksan	HCl + Serbuk Mg	Hijau, Merah, Kuning, Ungu	(-)	Tidak berubah Warna
	Etil Asetat	HCl + Serbuk Mg	Hijau, Merah, Kuning, Ungu	(+)	Merah tua
	Metanol	HCl + Serbuk Mg	Hijau, Merah, Kuning, Ungu	(+)	Merah tua
Maserasi Total	Metanol	HCl + Serbuk Mg	Hijau, Merah, Kuning, Ungu	(+)	Merah tua

Tabel 2 menunjukkan data hasil uji skrining fitokimia senyawa flavonoid ekstrak daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) metode maserasi bertingkat positif mengandung flavonoid pada ekstrak etil asetat dan metanol. Sedangkan pada metode maserasi total positif mengandung senyawa flavonoid pada ekstrak metanol yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna merah tua. Hal ini sesuai menurut Rukmini *et al.*, [18] dan Dewi *et al.*, [19] bahwa uji positif flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga. Uji flavonoid positif pula yakni dengan adanya perubahan warna hijau kehitaman atau hijau pekat. Hal ini didukung menurut Tambaru *et al.*, [20] yang menyebutkan bahwa daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) mengandung senyawa flavonoid.

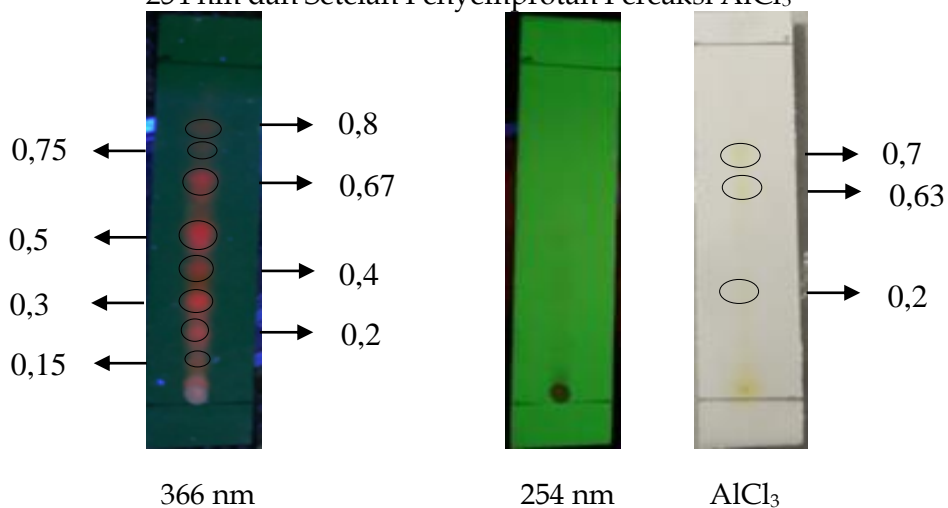
Hasil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Daun Rumput Knop

Pengujian kualitatif ekstrak daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT), elusi menggunakan eluen n-heksan : etil asetat dengan perbandingan 7:3. Setelah dilakukan proses elusi kemudian dilihat bercak noda pada lampu UV 254 nm, UV 366 nm dan ditegaskan menggunakan pereaksi $AlCl_3$ 10%.

Hasil noda yang nampak berfluoresensi berwarna kemerahan dan bercak noda pada ekstrak metanol maserasi bertingkat terdapat 7 Sedangkan hasil bercak noda pada ekstrak metanol maserasi total terdapat 8. Hasil nilai Rf akan dibandingkan dengan nilai Rf dari pembanding yaitu standar quarsetin. Nilai Rf quarsetin yaitu pada rentang nilai 0,64 - 0,69 [10,21,22]. Salah satu bercak noda dari 8 noda yang teridentifikasi pada ekstrak metanol maserasi total memiliki nilai Rf yang sama dengan quarsetin yaitu 0,67. Hal ini menandakan bahwa ekstrak metanol maserasi total mengandung senyawa flavonoid. Pada ekstrak metanol maserasi bertingkat memiliki 7 bercak noda, salah satunya memiliki nilai Rf 0,63 yang relatif sama dengan nilai Rf standar quarsetin sehingga ekstrak metanol maserasi bertingkat juga mengandung flavonoid.



Gambar 1. Hasil KLT Ekstrak Metanol Daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) Metode Maserasi Bertingkat Fase Gerak (7 : 3) Pada Lampu UV 366 nm, UV 254 nm dan Setelah Penyemprotan Pereaksi AlCl_3



Gambar 2. Hasil KLT Ekstrak Metanol Daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) Metode Maserasi Total Fase Gerak (7 : 3) Pada Lampu UV 366 nm, UV 254 nm dan Setelah Penyemprotan Pereaksi AlCl_3

Nilai Rf flavonoid menurut Rahayu *et al.*, [23] adalah noda dengan nilai Rf antara 0,2 - 0,75 menunjukkan noda yang mengandung flavonoid. Hasil noda yang nampak pada UV 366 nm menunjukkan fluoresensi berwarna kemerahan menunjukkan bahwa mengandung senyawa flavonoid. Menurut Yuda *et al.*, [24] dan Robinson, [25] mengemukakan bahwa terdapat penafsiran warna bercak dari segi struktur flavonoid, yang dimana pada sinar UV 366 nm terdapat noda fluoresensi biru muda. Beberapa senyawa (flavonol, kalkon) akan berfluoresensi di bawah sinar UV 366 nm sedangkan senyawa lain (glikosida flavonol, antosianin, flavon) menyerap sinar dan tampak sebagai bercak gelap dengan latar belakang berfluoresensi. Glikosida flavon dan flavonol berfluoresensi kuning, flavonol kelihatan kuning pucat, katekin biru pucat, antosianin kelabu biru, kalkon dan auron merah.

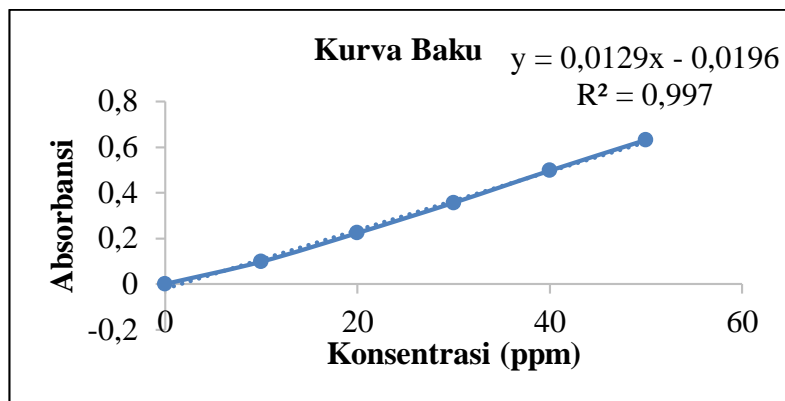
Hasil bercak noda profil KLT pada UV 366 nm dan 254 nm dipertegas dengan penyemprotan pereaksi AlCl_3 didapatkan hasil perubahan warna menjadi warna kuning. Hal ini menandakan bahwa kedua ekstrak positif mengandung flavonoid. Hal ini sesuai menurut Asmorowati *et al.*, [26] dan Nunung *et al.*, [27] mengemukakan

bahwa penambahan reagen semprot $AlCl_3$ menunjukkan bercak warna kuning menjadi lebih intensif, hal ini terjadi karena adanya pembentukan senyawa kompleks. Penggunaan pereaksi $AlCl_3$ untuk mendeteksi senyawa golongan flavonoid akan menghasilkan warna kuning.

Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum quersetin diperoleh 435 nm (λ_{max} Quersetin) pada pengukuran quersetin dari rentang panjang gelombang 400-450 nm menggunakan salah satu konsentrasi baku quersetin.

Tabel 3. Hasil Pembacaan Nilai Absorbansi Larutan Baku Quersetin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
10	0,098
20	0,224
30	0,357
40	0,498
50	0,633



Gambar 3. Kurva Baku Quersetin

Berdasarkan data hasil pada gambar 3 diperoleh persamaan regresi linear pembandingan quersetin yaitu $y = 0,0129x - 0,0196$ dengan koefisien korelasi (r) = 0,997.

Flavonoid Ekstrak Metanol Daun Rumput Knop

Tabel 4 menunjukkan hasil kadar rata-rata flavonoid ekstrak metanol daun Rumput Knop dengan menggunakan metode maserasi bertingkat sebesar 2,9750% b/v dan metode maserasi total sebesar 4,8822% b/v. Dari hasil tersebut didapatkan bahwa kadar flavonoid pada metode maserasi total lebih tinggi dibandingkan pada metode maserasi bertingkat. Perbedaan kadar yang diperoleh kemungkinan karena pada maserasi bertingkat pada proses penarikan senyawa terjadi pada tiga jenis pelarut yang berbeda sehingga senyawa flavonoid lainnya telah terekstraksi pada pelarut n-heksan, etil asetat lalu terakhir pada metanol.

Tabel 4. Hasil Kadar Flavonoid Daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.)

Metode Maserasi	Berat Sampel (mg)	Replikasi	Absorbansi	Kadar (mg/L)	Persentase Kadar (%) b/v	Rata-rata (%) b/v
Bertingkat	100	1	0,108	9,8915	2,9671	2,9750
		2	0,109	9,9690	2,9907	
		3	0,108	9,8915	2,9671	
Total	100	1	0,189	16,1705	4,8512	4,8822
		2	0,190	16,2481	4,8744	
		3	0,192	16,4031	4,9209	

Hal ini didukung pada hasil skrining fitokimia pada tabel 2 bahwa pada ekstrak etil asetat juga positif flavonoid sehingga terdapat sebagian senyawa flavonoid telah ditarik sebelumnya ke pelarut etil asetat lalu setelah itu ke pelarut metanol sehingga membuat kadar flavonoid ekstrak metanol maserasi bertingkat berkurang. Berbeda dengan maserasi total yang hanya menggunakan satu jenis pelarut yaitu metanol sehingga senyawa flavonoid lebih banyak tertarik pada pelarut tersebut. Hal ini didukung menurut Permadi *et al.*, [10] bahwa maserasi bertingkat membuang senyawa non-polar dan semi polar dengan n-heksan dan etil asetat sehingga menyisakan senyawa polar dan akhir diekstraksi kembali dengan pelarut polar metanol. Menurut Hendryani *et al.*, [28] mengemukakan bahwa secara umum flavonoid adalah senyawa polar karena memiliki gugus -OH yang membentuk ikatan hidrogen, namun beberapa flavonoid bebas jenis isoflavan, flavon, flavanon, auron, kalkon, antosianin dan flavonol termetoksilasi merupakan senyawa kurang polar sehingga flavon jenis lain akan dapat terekstraksi pada pelarut n-Heksan maupun etil asetat.

4. Kesimpulan

Ekstrak daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) pada maserasi bertingkat positif mengandung senyawa flavonoid dalam ekstrak etil asetat dan metanol sedangkan pada maserasi total positif mengandung senyawa flavonoid dalam ekstrak metanol dilihat dari hasil uji pereaksi wilstater dan hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Kadar rata-rata flavonoid pada ekstrak metanol Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) maserasi bertingkat diperoleh sebesar 2,9750% b/v dan pada ekstrak metanol Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) maserasi total diperoleh sebesar 4,8822% b/v. Terdapat perbedaan kadar rata-rata flavonoid dalam ekstrak metanol daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) dengan metode maserasi bertingkat dan maserasi total. Didapatkan bahwa kadar flavonoid pada metode maserasi total lebih tinggi dibandingkan pada metode maserasi bertingkat.

Referensi

- [1]. Kusuma, I.W. *et al.* (2020) 'Biological Activities and Phytochemicals of *Hyptis capitata* Grown in East Kalimantan, Indonesia', *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 8(2), pp. 58-64.
- [2]. To'bungan, N. *et al.* (2021) 'Toksistas Akut Ekstrak Etanol Batang Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)', *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 6(1), pp. 52-57.

- [3]. Susanty and Bachmid, F. (2016) 'Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays L.*)', *Jurnal Konversi*, 5(2), pp. 87-93.
- [4]. Badaring, D.R. *et al.* (2020) 'Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*', *Indonesian Journal of Fundamental Sciences (IJFS)*, 6(1), pp. 16-26.
- [5]. Septiana, A.T. and Asnani, A. (2012) 'Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat (*Sargassum duplicatum*) Menggunakan Berbagai Pelarut Dan Metode Ekstraksi', *AGROINTEK*, 6(1), pp. 22-28.
- [6]. Putri, N.A. *et al.* (2022) 'Ekstraksi Maserasi Bertingkat Kulit Mangga (*Mangifera indica L.*) Untuk Pengambilan β -Karoten', *Seminar Nasional Teknik Kimia Soeardjo Brotohardjono XVIII*, pp. 66-70.
- [7]. Sàadah, H. *et al.* (2017) 'Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia (L.) Merr*) Dengan Metode Spektrofotometri', *Jurnal Borneo Journal of Pharmascientech*, 1(1).
- [8]. Mukhriani *et al.* (2015) 'Analisis Kadar Flavonoid Total Pada Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis', *Jurnal Farmasi UIN Alaudin Makassar*, 3(2), pp. 37-42.
- [9]. Rohmah, S.A.A. *et al.* (2021) 'Validasi Metode Penetapan Kadar Pengawet Natrium Benzoat pada Sari Kedelai di Beberapa Kecamatan di Kabupaten Tulungagung Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis', *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 3(2), pp. 120-127.
- [10]. Permadi, A. *et al.* (2018) 'Perbandingan Metode Ekstraksi Bertingkat dan Tidak Bertingkat Terhadap Flavonoid Total Herba Ciplukan (*Physalis angulata L.*) Secara Kolorimetri', *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Farmasi*, 1(1), pp. 1-10.
- [11]. Handayani, I.A. *et al.* (2016) 'Perbandingan Kadar Flavonoid Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa [Scheff] Boerl*) Secara Remaserasi dan Perkolasi', *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 1(1), pp. 79-87.
- [12]. Dewatisari, W.F. *et al.* (2017) 'Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun *Sansevieria sp*', *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 17(3), pp. 197-202.
- [13]. Muthamainnah, B. (2017) 'Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum L.*) Dengan Metode Uji Warna', *Media Farmasi*, 13(2), pp. 23-28.
- [14]. Kamar, I. *et al.* (2021) 'Identifikasi Parasetamol dalam Jamu Pegal Linu Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis', *Jurnal Kimia Sains dan Terapan*, 3(1), pp. 24-29
- [15]. Mukhriani *et al.* (2015) 'Analisis Kadar Flavonoid Total Pada Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis', *Jurnal Farmasi UIN Alaudin Makassar*, 3(2), pp. 37-42.
- [16]. Depkes RI (2017) *Farmakope Herbal Indoneisa Edisi II. 2nd edn*, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2nd edn. Jakarta, Indonesia: Kementerian Kesehatan RI.
- [17]. Apriliani, A. *et al.* (2019) 'Perbandingan Metode Maserasi Dan Refluks Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Selutui Puka (*Tabernaemontana macrocarpa Jack*)', *Farmasi Galenika*, 6(1), pp. 33-42.
- [18]. Rukmini, A. *et al.* (2020) 'Skrining Fitokimi Familia Piperaceae', *Jurnal Biologi dan Pembelajarannya*, 7(1), pp. 28-32.
- [19]. Dewi, I.S. *et al.* (2021) 'Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit dan Biji Terong Belanda (*Solanum betaceum Cav.*)', *UNIMUS*, 4, pp. 1210-1218.

- [20]. Tambaru, E. *et al.* (2019) 'Jenis Tumbuhan Liar Familia Lamiaceae Berkhasiat Obat di Hutan Kota Universitas Hasanuddin Tamalanrea Makassar', *Bioma: Jurnal Biologi Farmasi*, 4(1), pp. 77-87.
- [21]. Koirewoa, Y.A. *et al.* (2012) 'Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.)', *Pharmakon UNSRAT*, 1(1), pp. 47-52.
- [22]. Priyanto, J.A. *et al.* (2014) 'Flavonoids Production Capability Test of Tea Mistletoe (*Scurrula atropurpurea* BL. Dans) Endophytic Bacteria Isolates', *Jurnal Sains dan Matematika*, 22(4), pp. 89-96.
- [23]. Rahayu, S. *et al.* (2015) 'Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Limbah Kulit Bawang Merah Sebagai Antioksidan Alami', *Jurnal al Kimiya*, 2(1), pp. 1-8.
- [24]. Yuda, P.E.S.K. *et al.* (2017) 'Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L.) ', *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 3(2), pp. 61-70.
- [25]. Robinson, T. (1995) *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi ke-4 Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB Press
- [26]. Asmorowati, H. and Lindawati, N.Y. (2019) 'Penetapan Kadar Flavonoid Total Alpukat (*Persea americana* Mill.) Dengan Metode Spektrofotometri', *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 15(2), pp. 51-63.
- [27]. Nunung *et al.* (2019) 'Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)', *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 4(1).
- [28]. Hendryani, R. *et al.* (2015) 'Ekstraksi Antioksidan Daun Sirih Merah Kering (*Piper croatum*) Dengan Metode Pra-Perlakuan Ultrasonic Assisted Extraction (Kajian Perbandingan Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi)', *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*, 3(2), pp. 33-38.