

IDENTIFIKASI PENETAPAN KADAR FLAVONOID DAN TOTAL FENOL PADA FRAKSI KULIT BUAH MELINJO (*GNETUM GNEMON L.*)

Identification of Determination of Flavonoid and Total Phenol Content in The Skin Fraction of Melinjo Fruit (Gnetum gnemon L.)

Bagus Dadang Prasetyo^{1*}, Fendi Yoga Wardana¹, Krisna Indahyati¹, Dhea Aliyyul Wardani¹

¹ Program Studi Sarjana Farmasi Klinis dan Komunitas, Fakultas Sains dan Teknologi, Institut Teknologi, Sains dan Kesehatan RS DR. Soepraoen Kesdam V/BRW Malang, Jawa Timur, Indonesia

*Email: jendbagus@itsk-soepraoen.ac.id

ABSTRACT

Gnetum gnemon L or often known as melinjo is a plant that grows in tropical areas such as Southeast Asia. In addition to the high purine content in melinjo seeds, it turns out that melinjo skin which has been underutilized has many benefits, including the content of polyphenols and flavonoids that can help prevent uric acid disease that often occurs. This study aimed to determine the levels of phenol and flavonoid metabolites in the red melinjo fruit peel fraction. It was held from August to September 2023 at the Pharmacognosy and Chemistry Laboratory of ITSK Dr Soepraoen Hospital Malang. The type of research used was laboratory experiment with Quasi Experimental Design on ethanol fraction, ethyl acetate fraction and n-hexane fraction of melinjo peel. The population used was melinjo fruit leather in RT 15 RW 03 Bantur Village, Malang Regency, East Java. The research sample used melinjo fruit peels that were in good condition and red in color. The study showed that the total flavonoid content in ethanol was 96%; ethyl acetate; n-hexane fractions amounted to 14.2143 mgQE/g; 13.4707 mg QE/g; 31.1703 mg QE/g while the total phenol in ethanol 96%; ethyl acetate; n-hexane fractions amounted to 10.4904 mgGAE/g; 5.5366 mgGAE/g; 9.6911mgGAE/g. The concluded of the study is that melinjo skin contains antioxidants such as total phenols and flavonoids which are quite high, so it has the potential to be used as an alternative source of antioxidants recommended determination total phenol content, flavonoids ethyl acetate fraction of melinjo fruit peel fraction.

Keywords: *Total phenolics, Flavonoids, TLC, Melinjo (Gnetum gnemon L), UV-Vis Spectrophotometry*

ABSTRAK

Gnetum gnemon L atau sering dikenal dengan nama melinjo merupakan tanaman yang banyak tumbuh di daerah tropis seperti Asia Tenggara. Selain kandungan purin yang tinggi pada biji melinjo, ternyata kulit melinjo yang selama ini kurang dimanfaatkan ternyata memiliki banyak manfaat, diantaranya adalah kandungan polifenol dan flavonoid yang dapat membantu mencegah penyakit asam urat yang sering terjadi. Penelitian ini bertujuan untuk penetapan kadar metabolit fenol dan flavonoid pada fraksi kulit buah melinjo merah. Diselenggarakan pada bulan Agustus hingga September 2023 di Laboratorium Farmakognosi dan Kimia ITSK RS Dr Soepraoen Malang. Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen laboratorium dengan desain Quasi Experimental Design pada fraksi etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana kulit melinjo. Populasi yang digunakan adalah kulit buah melinjo yang ada di RT 15 RW 03 Desa Bantur Kabupaten Malang Jawa Timur. Sampel penelitian menggunakan kulit buah melinjo yang kondisinya baik dan berwarna merah. Penelitian menunjukkan bahwa

kandungan total flavonoid dalam etanol adalah 96%; etil asetat; fraksi n-heksana sebesar 14,2143 mgQE/g; 13,4707 mg QE/g; 31,1703 mg QE/g sedangkan total fenol dalam etanol 96%; etil asetat; fraksi n-heksana sebesar 10,4904 mgGAE/g; 5,5366 mgGAE/g; 9,6911mgGAE/g. Kesimpulan penelitian adalah kulit melinjo mengandung antioksidan seperti total fenol dan flavonoid yang cukup tinggi, sehingga berpotensi untuk dijadikan sebagai alternatif sumber obat alami untuk menurunkan kadar purin pada penyakit asam urat, dimana biji melinjo memiliki kandungan yang cukup tinggi. Direkomendasikan uji penetapan kadar total fenol, flavonoid fraksi etil asetat pada fraksi kulit buah melinjo.

Kata kunci: Total fenol, Flavonoid, KLT, Melinjo (*Gnetum gnemon* L), Spektrofotometri UV-Vis

PENDAHULUAN

Gnetum gnemon L. (Gg), sering dikenal sebagai melinjo, adalah tanaman yang tumbuh subur di daerah tropis seperti Asia Tenggara. Keluarga *Gnetaceae* (genus *Gnetum*) termasuk tanaman ini. Tanaman ini memiliki batang berukuran kecil hingga sedang yang tingginya antara 10 dan 15 meter dan memiliki mahkota yang hampir berbentuk kerucut. Batangnya memiliki beberapa cabang dan bulat silinder dengan diameter 40 cm.¹

Melinjo terdiri dari komponen seperti biji dan kulit yang digunakan untuk membuat emping melinjo di berbagai belahan dunia. Asam urat dapat disebabkan oleh tingginya kandungan purin pada biji melinjo. Disamping kandungan biji melinjo yang tinggi purin, ternyata kulit melinjo yang sekarang kurang dimanfaatkan ini mengandung banyak manfaat termasuk flavonoid, saponin, alkaloid, dan polifenol yang dapat membantu menghindari kondisi asam urat yang sering terjadi.² Penelitian milik Jurdillah (2022) menyatakan bahwa ekstrak kulit melinjo mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, tannin, dan terpenoid.³

Menurut hasil penelitian Harsiyani (2022) kandungan flavonoid pada ekstrak kulit melinjo 1,37%.⁴ Kandungan flavonoid pada kulit melinjo diketahui dapat menurunkan kadar asam urat, sehingga dapat menjadi senyawa antihiperurisemia⁵. Antioksidan adalah salah satu ciri khas dari banyaknya sifat yang dimiliki oleh

flavonoid. Selain itu, flavonoid membantu mengurangi penyakit jantung koroner dan peradangan. Zat ini dapat digunakan sebagai pewarna nabati kuning dan merah serta warna merah, ungu, dan biru.⁶

Senyawa fenolik tersebar luas pada tumbuhan, terutama tumbuhan yang mengandung senyawa aromatik dengan struktur khas benzena dan hidroksil. Metabolit sekunder yang paling umum dan banyak ditemukan di dunia tumbuhan adalah senyawa fenolik yang lebih dari 8.000 telah diisolasi dan dikarakterisasi.⁷ Menurut penelitian Lisan Mella Rujiyanti (2020), konsentrasi fenolik total berkisar antara 1,33 mg GAE/g hingga 2,74 mg GAE/g.⁸

Kandungan senyawa fenolik pada kulit melinjo (*Gnetum gnemon* L.) memiliki potensi sebagai alternatif dari allopurinol adalah kulit melinjo, tanaman melinjo berkhasiat sebagai obat antidiare, antibakteri, antihiperlipidemia, serta dapat menurunkan kadar asam urat.⁹

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk untuk penetapan kadar metabolit fenol dan flavonoid pada fraksi kulit buah melinjo merah secara kualitatif dan kuantitatif.

METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium dengan desain *Quasi Experimental Design*. Populasi yang digunakan yaitu kulit buah melinjo yang ada di RT 15 RW 03 Desa Bantur Kecamatan Bantur

Kabupaten Malang Jawa Timur. Sampel penelitian menggunakan kulit buah melinjo yang kondisi baik dan berwarna merah. Waktu pelaksanaan penelitian yaitu Agustus – September 2023. Dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Steril dan Laboratorium Farmakologi Institut Teknologi Sains dan Kesehatan RS.dr. Soepraoen Malang.

Determinasi

Buah melinjo merah diperoleh dari pekarangan rumah, Dusun Krajan RT 15 RW 03 Desa Bantur Kecamatan Bantur Kabupaten Malang Jawa Timur. Identifikasi buah melinjo merah *Gnetum gnemon* L dilakukan di UPT Materi Medica Batu dengan nomor 067/2254/102.20/2023. Bagian tanaman yang digunakan sebagai sampel determinasi adalah bagian buah melinjo merah.

Pembuatan Simplisia

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit buah melinjo merah *Gnetum gnemon* L, sebanyak 4 kg kemudian dipisahkan terlebih dahulu antara kulit buah dan bijinya. Setelah itu dilakukan sortasi pemilihan kulit buah melinjo untuk mendapatkan kualitas kulit yang baik yang mana buah melinjo masih merah segar dan tidak busuk, diperoleh hasil 3,325 kg selanjutnya dilakukan proses pencucian dan pengeringan. Pengeringan menggunakan oven dengan suhu sebesar 60°C dengan waktu selama 24 jam, pada Agustus 2023 di Laboratorium Mikrobiologi Steril dan Laboratorium Farmakologi Institut Teknologi Sains dan Kesehatan RS.dr. Soepraoen Malang. Setelah simplisia kulit melinjo kering, kadar air pada kulit melinjo menyusut 70,9%. Selanjutnya 433 gram dihaluskan menggunakan blender, setelah dipastikan sudah halus sempurna serbuk melinjo diayak menggunakan ayakan ukuran 60 mesh supaya mendapatkan sebuk dengan

seragam, didapatkan hasil 430gram untuk selanjutnya diekstraksi.

Pembuatan Ekstrak

Pada penelitian ini ekstraksi menggunakan metode maserasi karena metode yang mudah dan murah biaya. Simplisia yang sudah diayak dengan ukuran 60 mesh timbang menggunakan neraca analitik sebanyak 400 gram selanjutnya diekstraksi dengan cara maserasi dengan pelarut polar yaitu etanol 96% digunakan sebanyak 1.200 ml dengan perbandingan 1:3 ekstrak dengan pelarut selama 3 x 24 jam. Maserasi menggunakan toples kaca yang ditutup rapat dan dilapisi aluminium foil agar terlindungi dari paparan sinar matahari secara langsung serta dilakukan pengadukan setiap 24 jam sekali. Setelah ekstrak dimaserasi selama 3 x 24 jam, ekstrak hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring dan didapatkan residu dan filtrat etanol sebanyak 900ml yang selanjutnya akan difraksinasi.

Pembuatan Fraksi

Fraksinasi ekstrak kulit buah melinjo dilakukan dengan cara menyaring ekstrak kulit buah melinjo dalam etanol yang diperoleh dari hasil perendaman maserasi. Fraksinasi menggunakan 3 jenis pelarut yang berbeda untuk mendapatkan kepolaran setiap sampel uji yang berbeda. Sebanyak 83 ml filtrat etanol ditambah 83 ml pelarut n-heksana dalam corong pisah dengan perbandingan 1:1 antara filtrat etanol dan n-heksana. Kemudian digoyang goyangkan dalam corong pisah dan diamkan selama beberapa menit hingga terbentuk 2 lapisan fase 2 bening, pisahkan fase 2 yang dihasilkan, sehingga diperoleh fase 2 n-heksana. Fraksi etanol yang dihasilkan dimasukkan ke dalam corong pisah lain dan ditambahkan 83 ml etil asetat dengan perbandingan 1:1 antara fraksi etanol dan etil asetat, kemudian digoyangkan dan dibiarkan dalam

corong pisah 250 ml selama beberapa menit, hingga terbentuk dua lapisan. Hasil fraksinasi etanol, etil asetat, dan N-heksana dirotary evaporator bersuhu 70 °C disesuaikan dengan titik didih pelarut yang digunakan etanol 4 jam, etil asetat 5 jam, n-heksana 7 jam hingga didapat ekstrak kental tiap fraksi dan dipanaskan dalam *waterbath* bersuhu 80 °C hingga didapat ekstrak kering dari setiap fraksi.

Skrining Fitokimia

Uji Flavonoid

Setiap fraksi kulit buah melinjo diambil sepucuk spatula, lalu dilarutkan dalam air, selama 5 menit dididihkan lalu disaring. Filtrat tersebut ditambahkan Mg secukupnya, 1 ml H₂SO₄ (p) pekat dan 2 ml etanol kemudian dikocok dengan kuat, selanjutnya dibiarkan hingga berwarna merah-kuning-jingga yang menunjukkan sampel mengandung flavonoid.

Uji Alkaloid

Setiap fraksi kulit buah melinjo ditambahkan kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan HCl 1% sebanyak 0,5 ml. Larutan dibagi menjadi dua bagian, bagian yang pertama direaksikan dengan 0,5 reagen Dragendorff sedangkan bagian yang kedua direaksikan dengan reagen Mayer. Jika bagian pertama terbentuk endapan berwarna jingga dan pada bagian kedua terbentuk endapan kuning menunjukkan adanya senyawa alkaloid.

Uji Tanin

Setiap fraksi ditambah dengan etanol sampai terendam semuanya. Lalu ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 3%. Jika terdapat warna hitam kebiruan atau hijau menandakan adanya senyawa metabolit sekunder pada sampel.

Uji Saponin

Setiap fraksi dilarutkan dengan 10 ml air panas dan dibiarkan hingga dingin. Setelah dingin dikocok kuat

selama 10 detik secara vertikal. Jika terdapat busa stabil setinggi 1 cm dan ketika ditambahkan HCl 1% dan busa masih stabil bahwa menunjukkan adanya senyawa saponin pada sampel.

Uji Terpenoid

Sebanyak 0,5 gram setiap fraksi dilarutkan dengan 2 ml kloroform pada tabung reaksi, lalu larutan ditetesi dengan H₂SO₄ pekat 2-3 tetes melalui dinding tabung reaksi. Jika terdapat cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya terpenoid dalam sampel.

Identifikasi Senyawa Fenol dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Hasil dari ketika fraksi kulit buah melinjo yaitu fraksi etanol, fraksi etil asetat, fraksi n-heksana diambil 1 gr dan dilarutkan dengan pelarut masing masing sesuai tingkat kepolarannya. serta baku pembanding asam galat 1 gr yang dilarutkan dengan etanol kemudian ketiga sampel fraksi dan satu baku pembanding ditotolkan pada plat KLT silica gel GF254 panjang 8 cm dan lebar 4 cm. Pada fase gerak yang digunakan ialah eluen etil asetat:n-heksana 9:1 plat KLT yang sebelumnya sudah dioven pada suhu 100°C selama 40 menit dimasukkan dalam chamber sampai terelusi dengan sempurna, lalu bercak tersebut diamati pada UV 254 nm dan 366 nm.

Penetapan Kadar Flavonoid

Pembuatan larutan standar quersetin

Ditimbang 10 mg quersetin dan dilarutkan dalam 10 mL etanol menghasilkan larutan induk quersetin 1000 ppm. Kemudian, 1 ml larutan induk quersetin dipipet, lalu 2 ml, 3 ml, 4 mL, dan 5 mL diencerkan dengan etanol hingga volume 10 mL. Hasilnya adalah larutan standar quersetin dengan konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, dan 500 ppm.¹⁰

Pengukuran larutan standar quersetin

Pipet 0,3 mL NaNO₃ 5% dan 4 mL aquadest ke dalam 1 mL setiap larutan standar quersetin. Larutan divorteks dan diamkan selama 5 menit. Selanjutnya larutan ditambah dengan 0,3 mL AlCl₃ 10%, 2 mL NaOH 1 M, dan 10 ml aquadest. Campuran tersebut kemudian dihomogenisasi dan diamkan selama 5 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum 352 nm dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis untuk mengukur serapan.

Penetapan Total Flavonoid Sampel Fraksi Kulit Buah Mlinjo Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Ditimbang sampel sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan dengan etanol sampai dengan 10 mL. Larutan sampel diambil sebanyak 1 ml menggunakan pipet, ditambahkan dengan aquadest sebanyak 4 mL dan NaNO₃ 5% sebanyak 0,3 mL, lalu larutan divortex dan diamkan selama 5 menit. Kemudian larutan ditambahkan AlCl₃ 10% sebanyak 0,3 mL dan NaOH 1 M sebanyak 2 mL, dan aquadest ditambah hingga volume total 10 ml. Setelah itu, campuran tersebut kemudian dihomogenisasi dan diamkan selama 5 menit. Absorbansi diukur diukur pada panjang gelombang maksimum 352 nm dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dengan hasil pada kadar flavonoid yang diperoleh ialah sebagai mg ekuivalen quersetin/g ekstrak (mg QE/g).

$$\frac{c \times v}{m \times 1000} = (\text{mgQE/g})$$

Dimana :

C = konsentrasi sampel (ppm)

V = volume sampel (ml)

m = berat sampel (mg)

Penetapan Kadar Total Fenol Pembuatan larutan standar asam galat

Dengan ditimbang 10 mg asam galat, lalu dilarutkan dalam 10 mL

metanol untuk membuat larutan induk asam galat ppm. Selanjutnya dengan dipipet 0,2 mL larutan induk asam galat, 0,4 mL, 0,8 mL, 1 mL, 1,2 mL, dan 1,6 mL, ditambahkan metanol hingga diperoleh larutan standar asam galat dengan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, dan 160 ppm.¹⁰

Pegukuran larutan standar asam galat

Standar dari asam galat dipipet dengan masing-masing sebanyak 1 mL, kemudian larutan Na₂CO₃ 7,5 % 4 mL dan enceran aquadest (1:1) sebanyak 5 mL pada reagen Folin-Ciocalteu ditambahkan, lalu larutan tersebut ditunggu selama 1 menit dengan cara dihomogen pada inkubasi selama 1 jam dengan suhu 37°C dalam kondisi gelap. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum 735 nm dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

Pembuatan larutan ekstrak sampel Fraksi kulit buah melinjo

Dibuat larutan sampel 1.000 ppm dengan cara ditimbang ekstrak 0,01 g yang dilarutkan hingga volume 10 mL dalam etanol. Labu ukur 10 mL harus diisi dengan 1 mL larutan ekstrak 1.000 ppm.

Penetapan Total Fenol Sampel Fraksi Kulit Buah Melinjo Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Dipipet larutan ekstrak 1000 ppm sebanyak 1mL, Setelah mengencerkan reagen Folin-Ciocalteu dengan 5 mL aquadest (1:1), ditambahkan 4 mL larutan Na₂CO₃ 7,5%. Campuran kemudian dihomogenisasi selama 1 menit dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C dalam tempat gelap. Pada panjang gelombang 778 nm, serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis. Ekuivalen asam galat/gram ekstrak (mg Gae/g) digunakan untuk menghitung kandungan fenol.

$$\frac{c \times v}{m \times 1000} = (mg \text{ GAE}/g)$$

Dimana :
C: konsentrasi sampel (ppm)
V: volume sampel (ml)
M: berat sampel (mg)

Hasil Skrining Fitokimia.

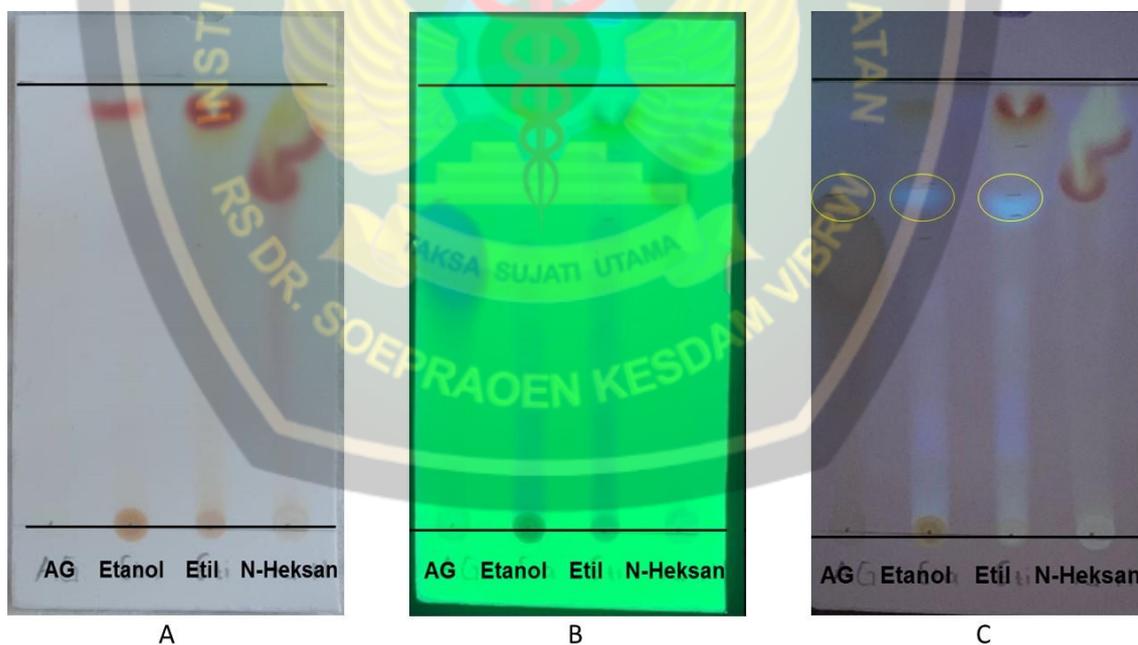
Tabel 1. Hasil skrining fitokimia

Sampel	Uji Flavonoid	Uji Alkaloid	Uji Tanin	Uji Saponin	Uji Terpenoid
Etanol 96%	+	-	-	+	+
Etil Asetat	+	-	-	+	+
N-heksana	+	-	-	-	-

Menurut tabel 1 skrining fitokimia yang dilakukan didapatkan hasil yang positif yaitu mengandung flavonoid, saponin dan terpenoid pada fraksi etanol 96%, sedangkan untuk fraksi etil asetat yang positif mengandung

flavonoid, saponin dan terpenoid. Untuk fraksi N-heksana positif hanya mengandung flavonoid. Hasil yang negatif mengandung alkaloid dan tannin dari ketiga fraksi tersebut.

Hasil KLT.



Gambar 1. Hasil Identifikasi Senyawa Fenolik Fase Gerak Etil asetat:N-heksana 9:1

- A : Plat setelah terelusi difase gerak etil asetat:n-heksana 9:1
- B : Profil KLT setelah terelusi dilihat pada sinar UV 254
- C : Profil KLT setelah terelusi dilihat pada sinar UV 365

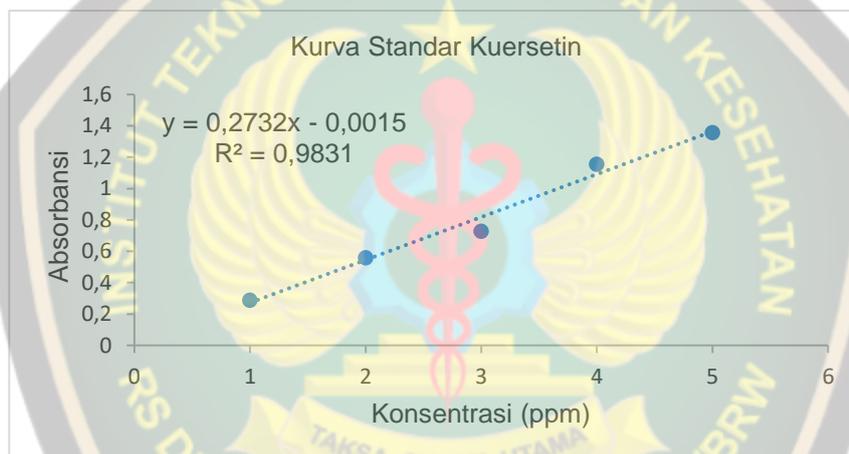
Tabel 2. Nilai Rf Identifikasi Metabolit Sekunder Fenolik Fraksi Kulit Buah Melinjo

Fase Gerak	Kode Sampel	Nilai Rf
Etil asetat : N-Heksana (9:1)	Standar Asam galat	0,48
	Fraksi Etanol	0,48
	Fraksi Etil asetat	0,48

Tabel 2 menunjukkan uji kualitatif menggunakan metode KLT dengan fase diam silika gel GF254 dan fase gerak etil asetat:n-heksana perbandingan 9:1 menggunakan standar asam galat serta sampel yang digunakan ialah fraksi etanol dengan kadar 96%, fraksi etil

asetat, dan fraksi n-heksana kulit melinjo yang menghasilkan gambar A setelah dielusi di fase gerak, pada gambar B plat klt yang sudah dielusi pada fase gerak di lihat pada sinar UV 254, dan gambar C plat klt setelah di elusi di lihat sinar UV 365 dan didapatkan nilai *RF* 0,48 cm.

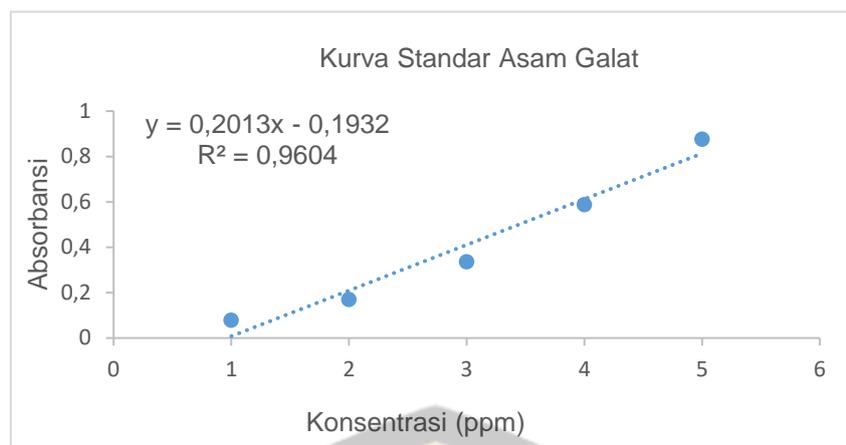
Penentuan Kurva Baku



Gambar 2. Penentuan Kurva Baku Flavonoid

Dari hasil gambar 2 kurva standar yang diperoleh digunakan untuk membuat persamaan regresi linier, dimana diperoleh persamaan regresi linier $y = 0,2732x - 0,0015$ dengan nilai koefisien korelasi $r = 0,9831$. Nilai r yang mendekati 1 menunjukkan kurva

kalibrasi linier dan terdapat hubungan antara konsentrasi larutan sampel dengan nilai serapan. Persamaan regresi linier ini digunakan untuk menghitung kandungan kadar flavonoid dalam fraksi kulit buah melinjo.



Gambar 3. Penentuan Kurva Standar Asam Galat

Dari hasil gambar 3 kurva standar yang diperoleh digunakan untuk membuat persamaan regresi linier, dimana diperoleh persamaan regresi linier $y = 0,2013x - 0,1932$ dengan nilai koefisien korelasi $r = 0,9604$. Nilai r yang mendekati 1 menunjukkan kurva kalibrasi linier dan terdapat hubungan

antara konsentrasi larutan sampel dengan nilai serapan. Persamaan regresi linier ini digunakan untuk menghitung kandungan kadar total fenolik dalam fraksi kulit buah melinjo yang meliputi fraksi etanol, etil asetat dan N-heksana.

Tabel 3. Kadar Flavonoid dan Total Fenol

Sampel	Kadar Flavonoid (mgQE/g)	Kadar Total Fenol (mgGAE/g)
Etanol	14,2143	10,4904
Etil asetat	13,4707	5,5366
N-heksana	31,1703	9,6911

Pada tabel 3 menampilkan hasil kadar total flavonoid dengan hasil tertinggi pada fraksi N-heksana dan diikuti pada fraksi pelarut etanol dan terendah fraksi etil asetat. sedangkan untuk hasil pada fraksi kadar total fenol dengan hasil tertinggi diperoleh pada fraksi pelarut etanol dilanjutkan untuk fraksi N-heksana dan terendah untuk fraksi etil asetat hasil dari penetapan kadar total menggunakan spektrofotometri UV-Vis .

PEMBAHASAN Skrining Fitokimia

Pada hasil skrining fitokimia yang menunjukkan beberapa hasil positif

yaitu pada uji flavonoid, uji saponin dan uji terpenoid sama dengan hasil penelitian milik Jurdillah(2022) dan penelitian milik Suci (2023).^{3,11}

Uji tanin menunjukkan hasil positif, hal tersebut dapat dilihat dari perubahan warna sampel dari merah menjadi hitam kebiruan. Pada sampel fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana terbentuk larutan merah sedangkan pada fraksi etanol terbentuk larutan coklat, hal ini disebabkan metode maserasi yang kurang optimal untuk mengidentifikasi senyawa tanin. Ekstraksi tanin yang baik adalah pada suhu 60 – 80°C,¹² sedangkan pada penelitian ini proses ekstraksi dilakukan

dengan metode maserasi yang hanya dengan suhu ruang, sehingga kurang optimal untuk mengekstraksi senyawa tanin.

Tidak terbentuknya endapan pada uji Mayer, Wagner dan Dragendorff berarti dalam ketiga jenis fraksi kulit buah melinjo tidak terdapat alkaloid. Berbeda dengan penelitian milik Jurdillah (2022) dan penelitian milik Suci (2023) yang menunjukkan hasil positif pada uji alkaloid ekstrak kulit buah melinjo.^{3,11} Beberapa faktor dapat menjadi alasan perbedaan hasil penelitian. Buah melinjo yang mereka uji dipetik di wilayah Desa Waluyo, Kecamatan Buluspesantren, Kebumen, Jawa Tengah dan Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan, Jawa Timur. Hal ini bisa menyebabkan hasil uji berbeda karena perbedaan zat hara pada tanah dan perlakuan atau suhu tiap wilayah yang berbeda juga.

Tidak terbentuknya hasil positif uji terpenoid pada fraksi n-heksana karena fraksi terlalu encer dan begitu diberi tetesan H_2SO_4 langsung menjadi larutan hitam.¹³ Tidak ada batas kadar minimal skrining fitokimia terpenoid, sehingga 3 percobaan penelitian ini diperoleh hasil yang sama pada skrining fitokimia uji terpenoid.

KLT

Setelah dielusi didalam fase gerak terdapat bercak biru pada plat klt pada fraksi etanol dan etil asetat pada sinar UV 365 yang mana sejajar dengan baku perbandingan asam galat kemungkinan karena senyawa di dalam kulit melinjo lebih bersifat polar jadi bercak positif mengandung metabolit sekunder fenol hanya terlihat dipelarut yang bersifat polar dan semi polar yaitu etanol dan etil asetat.

Bercak yang terlihat memiliki nilai Rf 0,48, dan terdapat pula bercak hitam asam galat yang sejajar dengan nilai Rf 0,48. Nilai Rf yang hampir sejajar menunjukkan kesamaan sifat polaritas antara bercak asam galat dan sampel.¹⁴

Semakin dekat nilai Rf suatu bercak dengan nilai Rf sampel standar, semakin mirip komponen senyawanya dengan sampel standar yang dianalisis, Kedua bercak tersebut baik karena berada diantara 0,2 hingga 0,8 yang merupakan kisaran nilai Rf yang baik.¹⁵

Penetapan Kadar Flavonoid

Penentuan panjang gelombang maksimal yang diperoleh yaitu 352 nm untuk flavonoid dan 778 nm untuk total fenol. Menurut buku yang berjudul "*Analisis Kimia Kuantitatif Edisi Ke Enam*" penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui Ketika absorbansi mencapai maksimum sehingga meingkatkan proses absorbansi larutan terhadap sinar. Semakin besar panjang gelombangnya maka akan semakin kecil nilai absorbansinya.¹⁶

Penelitian ini fokus pada penentuan kandungan flavonoid total dan total fenol, sampel ada 3 jenis fraksi dengan pelarut yang berbeda. Persamaan regresi $y = a + bx$ kemudian dimasukkan setelah serapan dari kurva baku diperoleh. Ditentukan kurva baku flavonoid dengan memeriksa serapan total fenol dan larutan baku flavonoid pada gelombang maksimum, seperti digambarkan pada gambar 1.1. Absorbansi (y) diplot terhadap konsentrasi (x) larutan standar. Metode regresi linier digunakan untuk menggambarkan grafik konsentrasi standar. Prosedur yang sama yang digunakan untuk memastikan kandungan total flavonoid sampel ketiga diterapkan pada pengukuran larutan standar, dimana larutan sampel disiapkan dan serapannya diukur pada panjang gelombang yang telah ditentukan yaitu maksimum 352 nm untuk flavonoid dan 778 nm untuk total fenol menggunakan spektrofotometri UV-Visibel.

Tabel 2 menunjukkan bagaimana flavonoid dalam fraksi kulit melinjo dihitung dengan memasukkan

nilai absorbansi pada kurva standar quersetin. Hal ini menyebabkan rata-rata kandungan flavonoid total ekstrak kulit melinjo dengan sebesar 14,2143 mg QE/g untuk fraksi etanol; 13,4707 mg QE/g untuk fraksi etil asetat; 31,1703 mg QE/g untuk fraksi n-heksana.

Perbedaan yang sangat jauh antara kadar flavonoid total pada fraksi etanol dan etil asetat dengan fraksi n-heksana dikarenakan banyak golongan flavonoid yang bersifat non-polar yang terkandung dalam fraksi n-heksana. Jenis flavonoid yang bersifat non polar yaitu isoflavone, flavanon, flavon, dan flavonol.¹⁷

Penetapan Kadar Total Fenol

Dengan memanfaatkan absorbansi fraksi, persamaan kurva baku asam galat (Gambar 3) digunakan untuk menghitung kandungan total fenol pada fraksi etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana kulit melinjo. Kandungan total fenolik ditentukan dengan menggunakan perhitungan kadar dari 3 replikasi absorbansi pada Tabel 2 dengan diperoleh rata-rata total pada kadar fenolik dalam fraksi etanol kulit melinjo yaitu 10,4904 mg GAE/g fraksi etil asetat atau 5,5366 mg GAE/g dan fraksi n-heksana 9,6911 mg GAE/g.

Maka dari itu, hasil ini memperlihatkan bahwa kadar total fenol pada fraksi etanol dan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol kulit melinjo dinyatakan lebih rendah jika dibanding dengan kulit melinjo dengan ekstrak etanol.¹⁸ Berbeda dengan penelitian menurut Devinamenggunakan pelarut etanol dan etil asetat (20:80) pada suhu 30 °C selama 3 jam total fenol 11,805 mg GAE/mg ekstrak.¹⁹

Hal tersebut disebabkan karena pada penelitian sebelumnya hanya terbatas sampai diekstraksi tidak difraksinasi. Karena senyawa fenolik dapat membentuk ikatan hidrogen dengan air, maka senyawa tersebut bersifat polar dan oleh karena itu kurang larut dalam fraksi semi polar seperti etil

asetat,²⁰ sedangkan untuk fraksi n-heksana non polar kadar total fenol lebih tinggi daripada etil asetat yang bersifat semi polar hal tersebut dikarenakan ada beberapa senyawa fenolik yang bersifat non polar seperti flavonoid senyawa non-polar juga dapat ditemukan dalam fraksi pelarut heksana.

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa senyawa non-polar yang terdapat dalam tanaman dapat larut dalam pelarut heksana mirip dengan kadar flavonoid, dalam penelitian ini kadarnya ditentukan dengan mengukur kandungan total pada skala fraksi, bukan kandungan total fenolik ekstrak, untuk memastikan bahwa kadar tersebut juga sesuai dengan hasil dari fraksi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit melinjo mampu menurunkan kadar asam urat hingga 50-55% pada hewan uji, sehingga dapat dianggap efektif sebagai penurun kadar asam urat.

Senyawa aktif yang berpotensi dalam menurunkan kadar asam urat adalah flavonoid atau polifenol setiap kadar fenol dan flavonoid yang ada dalam sumber yang berbeda mungkin berbeda²¹, sehingga penting untuk memilih sumber fenol yang sesuai dengan kebutuhan dan kondisi kesehatan.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat dinyatakan bahwa senyawa fenolik dan flavonoid ditemukan pada fraksi etanol, etil asetat, dan n-heksana ekstrak etanol kulit melinjo dengan menggunakan kromatografi lapis tipis dan skrining fitokimia. Kadar total flavonoid dan fenol yang diukur adalah 14,2143 mgQE/g dan 10,4904 mgGAE/g untuk fraksi etanol; 13,4707mgQE/g dan 5,5366 mgGAE/g untuk fraksi etil asetat; 31,1703 mgQE/g dan 9,6911 mgGAE/g untuk fraksi n-heksana kulit melinjo. Kajian farmakologis terkait aktivitas antioksidan dan manfaat kesehatannya kulit buah

melinjo sebagai obat menurunkan kadar puin pada asam urat. Direkomendasikan untuk penelitian selanjutnya dilakukan uji penetapan kadar total fenol, flavonoid fraksi etil asetat pada fraksi kulit buah melinjo

DAFTAR RUJUKAN

1. Rahmawati P. Penetapan Kadar Flavanoid Total Ekstrak Daun Melinjo (*Genatum Genanom L.*) Dengan Analisis Spektrofotometri Uv-Vis. *Viva Med J Kesehatan, Kebidanan dan Keperawatan.* 2019;10(3):13-20.
doi:10.35960/vm.v10i3.445
2. Nilansari AF, Wardani S. Pelatihan Pengolahan Kulit Melinjo Sebagai Camilan Sehat Untuk Peningkatan Pendapatan Kwt Sejahtera Dusun Kepuh Kulon Desa Wirokerten. *KACANEGARA J Pengabdian pada Masyarakat.* 2021;4(1):37.
doi:10.28989/kacanegara.v4i1.710
3. Jurdillah R, Patricia V, Yuliawati K. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Melinjo (*Gnetum gnemon L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acnes.* *Bandung Conf Ser Pharm.* 2022;2(2):430-437.
doi:10.29313/bcsp.v2i2.4239
4. Hasriyani, Sabaan W, Ali Dahbul N, Kasari E. Testing Antioxidant Activity and Total Flavonoid Levels in Ethanol Extracts of Melinjo Seeds and Skin (*Gnetum gnemon L.*) Using DPPH Method. *16 Univ Res Colloquium .* Published online 2022:735-747.
5. Kiki Abdul RAASM. Penelusuran Pustaka Pemanfaatan Kulit Buah Melinjo (*Gnetum gnemon L.*) Sebagai AntiHiperurisemia. *Pros Farm.* 2021;7(2):758-762.
6. Tandi J, Melinda B, Purwantari A, Widodo A. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus esculentus L.* Moench) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *KOVALEN J Ris Kim.* 2020;6(1):74-80.
doi:10.22487/kovalen.2020.v6.i1.15044
7. Hakim AR, Saputri R. Narrative Review: Optimasi Etanol sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid dan Fenolik. *J Surya Med.* 2020;6(1):177-180.
doi:10.33084/jsm.v6i1.1641
8. Rujiyanti LM, Kunarto B, Pratiwi E. Pengaruh Lama Ekstraksi Kulit Melinjo Merah (*Gnetum gnemon L.*) Berbantu Gelombang Ultrasonik Terhadap Yield, Fenolik, Flavonoid, Tanin dan Aktivitas Antioksidan. *J Teknol Pangan dan Has Pertan.* 2020;15(1):17.
doi:10.26623/jtphp.v15i1.2290
9. Kato E, Tokunaga Y, Sakan F. Stilbenoids isolated from the seeds of melinjo (*Gnetum gnemon L.*) and their biological activity. *J Agric Food Chem.* 2009;57(6):2544-2549.
doi:10.1021/jf803077p
10. Ahmad AR, Juwita J, Ratulangi SAD. Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etilingera elatior (Jack) R.M.SM.*) *Pharm Sci Res.* 2015;2(1):1-10.
doi:10.7454/psr.v2i1.3481
11. Suci PR, Safitri MA, Prasetyo DA. Uji Aktivitas Antioksidan Secara Spektrofotometri Uv-Vis Dengan Metode Dpph Ekstrak Kulit Melinjo (*Gnetum Gnemon L.*) Antioksidan Activity By Uv-Vis Spectrophotometry With The Dpph Method Of Melinjo Peel Extract (*Gnetum Gnemon L.*). *Jurnal Wiyata.* 2023;10(1):46-56.
12. Widodo H, Saing B, Fhauziah E, et al. Jurnal Studi Ekstraksi Teh Hernowo Jaring Saintek. *J Muhammadiyah Med Lab Technol.* 2021;3(1):1-5.
13. Nola F, Putri GK, Malik LH, Andriani N. Isolasi Senyawa

- Metabolit Sekunder Steroid dan Terpenoid dari 5 Tanaman. *Syntax Idea*. 2021;3(7):1612-1619. doi:10.46799/syntax-idea.v3i7.1307
14. Hikmawanti NPE, Yumita A, Rafiq M, Lusiana L. Phenolics and Flavonoids Content of Epiphyllum oxypetalum (DC.) Leaves Fractions using Microplate Based Assay. *Indones J Pharm Sci Technol J Homepage*. 2023;10(1):45-51. <http://jurnal.unpad.ac.id/ijpst/>
15. Ayu SI, Pratiwi L, Nurbaeti SN. Uji Kualitatif Senyawa Fenol dan Flavonoid Dalam Ekstrak N-Heksan Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *J Mhs Farm Fak Kedokt UNTAN*. 2019;4(1):1-6.
16. underwood, A.L. dan Day RA. *Analisis Kimia Kuantitatif Edisi Ke Enam*. Erlangga, Jakarta; 1986.
17. Rodríguez De Luna SL, Ramírez-Garza RE, Serna Saldívar SO. Environmentally Friendly Methods for Flavonoid Extraction from Plant Material: Impact of Their Operating Conditions on Yield and Antioxidant Properties. *Sci World J*. 2020;1-38. doi:10.1155/2020/6792069
18. Marliani L, Naimah A, Roni A. Penetapan Kadar Fenolat Total dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun, Kulit Batang dan Kulit Buah Kasturi (*Mangifera casturi*). *Proceeding Mulawarman Pharm Conf*. 2016;3(April 2016):275-281. doi:10.25026/mpc.v3i2.121
19. 2011 D. Lama Ekstraksi Kulit Melinjo Merah (*Gnetum gnemon* L.) Berbantu Gelombang Ultrasonik Menggunakan Pelarut Etil Asetat terhadap Likopen, β -Karoten dan Aktivitas Antioksidan. *J Teknol Pangan dan Has Pertan*. 2020;15(2):41. doi:10.26623/jtphp.v15i2.2664
20. Pratiwi L, Fudholi A, Martien R, Pramono S. Ethanol Extract, Ethyl Acetate Extract, Ethyl Acetate Fraction, and n-Heksan Fraction Mangosteen Peels (*Garcinia mangostana* L.) As Source of Bioactive Substance Free-Radical Scavengers. *JPSCR J Pharm Sci Clin Res*. 2016;1(2):71. doi:10.20961/jpscr.v1i2.1936
21. Saputra O, Sitepu RJ. Pengaruh Konsumsi Flavonoid Terhadap Fungsi Kognitif Otak Manusia. *Med J Lampung Univ*. 2016;5(3):134-139.