

Phytochemical screening and isolation of flavonoid compounds from ethanol extract of Menteng fruit seeds (*Baccaurea racemosa* (Reinw.) Müll. Arg).

Skrining fitokimia dan isolasi senyawa flavonoid dari ekstrak etanol biji buah menteng (*Baccaurea racemosa* (Reinw.) Müll.Arg).

Sarmadansyah¹⁾, Haris Munandar Nasution¹⁾, Anny Sartika Daulay¹⁾, Daeng Elysa Putri Mambang¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah, Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

*e-mail author: harismunandar@umnaw.ac.id

ABSTRACT

Menteng or kepundung is a fruit-producing tree. At first glance, Menteng or kepundung fruit resembles duku fruit with a variety of tastes (sour) and sweet. Menteng originates from Malaysia, Sumatra, Java and Bali. The purpose of this study was to determine the class of chemical compounds found in Menteng fruit seeds and to determine the characteristics of the fruit seed extract isolates by UV spectrophotometry and IR spectrophotometry. This research includes several processes, namely manufacturing simplicia from menteng fruit seeds, phytochemical screening, and simplicia characterisation. The process of making extracts from menteng fruit seed Simplicia, after that extract analysis using paper chromatography (KKt) method, then separation (isolation) of the extract with preparative paper chromatography (KKt) method, tested the purity of isolates by two-way paper chromatography (KKt), and characterisation of isolate crystals by UV spectrophotometry and IR spectrophotometry. The results of the simplicial characterisation of Menteng fruit seeds (*Baccaurea racemose* (Reinw.) Müll. Arg) are 4% water content, 36.81% seawater content, 8.79% ethanol soluble extract, 1.26% ash content, 1.26% ash content. Insoluble 0.5% acid. Phytochemical screening showed positive alkaloids, flavonoids, steroids/triterpenoids and glycosides, while tannins and saponins were negative. From 400 grams of simplicia, 93.3 grams of condensed extract was produced. Characterisation of isolate crystals UV spectrophotometry showed a wavelength of 280 nm, which is suspected to be a flavonoid. The results of the IR spectrophotometry showed aliphatic O-H, C-H, C=O, C-H, C-O and C=C groups.

Keywords: Isolation flavonoids, paper chromatography, spectrophotometric method, Menteng seeds.

ABSTRAK

Menteng atau kepundung merupakan pohon penghasil buah. Sepintas buah menteng atau kepundung menyerupai buah duku dengan rasa beraneka ragam (kecut), manis. Menteng berasal dari Kawasan Malaysia, Sumatra, Jawa dan Bali. Buah menteng memiliki khasiat untuk mencegah radikal bebas. Tujuan penelitian ini merupakan untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terdapat pada biji buah menteng dan mengetahui karakteristik isolat ekstrak biji buah secara Spektrofotometri UV dan Spektrofotometri IR. Penelitian ini mencakup beberapa proses yaitu pembuatan simplisia dari biji buah menteng, lalu skrining fitokimia, kemudian karakterisasi simplisia, selanjutnya proses pembuatan ekstrak dari simplisia biji buah menteng, setelah itu analisis ekstrak dengan metode Kromatografi kertas (KKt), lalu pemisahan (isolasi) ekstrak dengan metode

Kromatografi kertas (Kkt) preparatif, kemudian uji kemurnian isolat secara Kromatografi kertas (Kkt) dua arah, dan karakterisasi kristal isolat dengan Spektrofotometri UV dan Spektrofotometri IR. Hasil karakterisasi simplisia biji buah menteng (*Baccaurea racemose* (Reinw.) Müll.Arg) yaitu kadar air 4%, kadar sari laut air 36,81%, kadar sari larut etanol 8,79%, kadar abu 1,26%, kadar abu tidak larut asam 0,5%. Skrining fitokimia menunjukkan positif alkaloid, flavanoid, steroid/terpenoid dan glikosida sedangkan tannin dan saponin negatif. Dari 400 gram simplisia dihasilkan 93,3 gram ekstrak kental. Karakterisasi kristal isolat Spektrofotometri UV menunjukkan panjang gelombang 280 nm yang disimpulkan merupakan flavanoid. Dan hasil Spektrofotometri IR menunjukkan gugus O-H, C-H alifatik, C=O, C-H, C-O dan C=C.

Kata Kunci: Isolasi flavonoid, kromatografi kertas, metode spektrofotometri, biji menteng

PENDAHULUAN

Indonesia, sebagai salah satu negara dengan keanekaragaman hayati yang luar biasa "megadiversity", memiliki lebih dari 250.000 jenis tumbuhan tinggi di seluruh dunia, dan lebih dari 60% dari jumlah tersebut merupakan tumbuhan tropika. Di dalam hutan hujan tropika diperkirakan terdapat sekitar 30.000 tumbuhan, dengan sekitar 1.260 spesies yang telah terbukti memiliki khasiat obat. Namun, hanya sekitar 180 spesies yang telah dimanfaatkan secara luas dalam industri obat dan jamu, dan hanya beberapa spesies yang telah mendapatkan perhatian budidaya intensif (Atun, 2014).

Hutan tropis yang kaya akan keberagaman tumbuhan bukan hanya menjadi sumber daya hayati, melainkan juga merupakan reservoir senyawa kimia. Senyawa ini melibatkan hasil metabolisme primer seperti karbohidrat, protein, dan lemak yang digunakan oleh tumbuhan untuk pertumbuhannya, serta senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, kumarin, terpenoid, dan steroid. Senyawa metabolit sekunder umumnya memiliki aktivitas biologis dan berperan sebagai mekanisme pertahanan bagi tumbuhan terhadap gangguan hama dan penyakit, baik untuk keberlangsungan hidup tumbuhan maupun untuk menjaga keseimbangan lingkungan sekitarnya (Musman, 2017).

Menteng atau Kepundung, sebagai pohon penghasil buah, memiliki karakteristik yang menyerupai duku dengan rasa yang beragam, mulai dari kecut hingga manis. Menteng berasal dari Malaysia bagian barat dan telah tersebar di wilayah Semenanjung Malaysia, Sumatra, Jawa, dan Bali. *Baccaurea racemosa* memiliki beberapa sebutan lokal seperti Kepundung, Menteng, Kemundung, Kisip, Moho Liok, rambai, dan Tampoi. Tumbuh di

kisaran dataran rendah hingga ketinggian 1000 meter di atas permukaan laut, *Baccaurea racemosa* tersebar luas di hutan-hutan Indonesia dan cenderung tumbuh secara berkelompok. Meskipun seluruh bagian tanaman ini secara tradisional dimanfaatkan untuk meredakan nyeri haid, namun demikian, pertumbuhan tanamannya kurang diperhatikan. Daging buahnya memiliki rasa yang asam, sehingga nilai ekonomisnya cenderung rendah (Permatasari, L., Riyanto, S., & Rohman, A., 2022.). Buahnya tidak hanya dimakan segar, tetapi juga dapat diolah menjadi asinan atau difermentasi untuk pembuatan anggur. Kayu Menteng yang kuat dan awet digunakan dalam berbagai bidang, seperti bahan bangunan, mebel, dan pembuatan perahu. Selain itu, kulit dan daun pohon yang dikenal sebagai kepundung memiliki khasiat sebagai tanaman obat, termasuk dalam pengobatan masalah pencernaan dan sebagai pengatur siklus haid (Hesthiati, 2019).

Senyawa kimia hasil metabolit sekunder telah banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang, seperti zat warna, racun, aroma makanan, obat-obatan, dan lainnya. Namun, untuk mendapatkan senyawa aktif dari metabolit sekunder, diperlukan sumber tanaman yang melimpah, sehingga seringkali mengalami kesulitan dalam pengadaannya. Oleh karena itu, penelitian terus dilakukan, termasuk pemanfaatan kultur jaringan. Walaupun memiliki struktur kimia yang kompleks, memahami senyawa kimia alam ini tetap menarik dari perspektif organik (Musman, 2017). Daun *Baccaurea racemosa* menunjukkan kekuatan aktivitas antioksidan. Beberapa kondisi penyakit seperti kardiovaskular dan kanker seringkali dipicu oleh reaksi oksidasi berlebihan yang dapat menyebabkan kerusakan pada sel. Senyawa antioksidan telah dilaporkan memiliki potensi untuk

mencegah dan mengurangi risiko terjadinya penyakit kardiovaskular, diabetes, arthritis, peradangan, penuaan, dan kanker. Senyawa-senyawa yang terdapat dalam *Baccaurea racemosa* memegang peran penting dalam aktivitas biologis tanaman ini. Daging buah *Baccaurea racemosa* mengandung senyawa fenolik, dan selain itu, daun tanaman ini juga mengandung berbagai golongan asam lemak (Permatasari, L., Riyanto, S., & Rohman, A., 2022.).

Skruining fitokimia menjadi langkah awal dalam penelitian fitokimia, yang bertujuan memberikan gambaran kelompok senyawa yang terkandung dalam tanaman yang sedang diinvestigasi. Metode skruining fitokimia melibatkan reaksi pengujian warna dengan menggunakan pereaksi tertentu (Minarno, 2015) (Afriani et al., 2022). Flavonoid, sebagai kelompok senyawa metabolit sekunder yang umum dijumpai dalam jaringan tanaman, termasuk dalam kategori senyawa fenolik dengan struktur kimia C6-C3-C6. Struktur flavonoid terdiri dari cincin aromatik A, cincin aromatik B, dan cincin tengah heterosiklik yang mengandung oksigen. Perbedaan dalam sistem penomoran dilakukan untuk membedakan posisi karbon di sekitar molekulnya. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan melepaskan atom hidrogen atau melalui kemampuannya untuk mengelat logam. Flavonoid dapat ditemukan dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Redha, 2010).

Isolasi, sebagai proses pengambilan atau pemisahan senyawa bahan alam dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Djamal, 2008), menjadi langkah penting dalam penelitian senyawa organik bahan alam. Salah satu metode isolasi yang umum digunakan adalah Kromatografi Kertas (KKt) (Prasetyo et al., 2022; Nasution et al., 2019). KKt digunakan untuk memisahkan campuran senyawa menjadi senyawa murni dan menentukan jumlahnya (Sastrohamidjojo, 1991). KKt adalah analisis cepat yang membutuhkan jumlah bahan yang minim, baik penyerap maupun sampelnya. KKt berguna untuk memisahkan senyawa hidrofobik seperti lipid dan hidrokarbon, yang sulit diolah dengan kromatografi lapis tipis. KKt juga dapat membantu dalam pencarian eluen untuk kromatografi kolom, analisis fraksi hasil kromatografi kolom, identifikasi senyawa melalui kromatografi, dan isolasi senyawa murni dalam skala kecil (Nurdiani, 2018).

METODE PENELITIAN

Pengumpulan Bahan Tumbuhan

Pengumpulan bahan tumbuhan dilaksanakan dengan metode purposive, di mana satu contoh tumbuhan diambil secara sengaja dari satu lokasi tanpa dibandingkan dengan tumbuhan lainnya. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji buah dari tanaman menteng (*Baccaurea racemosa*) yang dikumpulkan dari wilayah Kota Padang Sidempuan.

Identifikasi Tumbuhan

Penentuan identitas tumbuhan, biji, dan buah dari *Baccaurea racemosa* dilaksanakan di Laboratorium Herbarium Medanense, Universitas Sumatera Utara, Medan.

Singkatan dan Akronim

Kromatografi Kertas (KKt), Kromatografi Kertas 2 Arah (KKt-2A), Spektrofotometri Ultra Violet (UV), Spektrofotometri Infra Red (IR), Butanol-Asam asetat-Air (BAA).

Pembuatan Simplisia

Buah dari tanaman menteng (*Baccaurea racemosa*) yang telah dikumpulkan dibersihkan di bawah aliran air hingga benar-benar bersih dan kemudian dibiarkan mengalir. Berat basah sampel diukur dan mencapai 25 kg, kemudian sampel tersebut dikeringkan dalam lemari pengering pada suhu 40°C. Sampel dianggap telah kering ketika menjadi rapuh, dan setelah mencapai keadaan kering, sampel tersebut diukur beratnya dan dicatat. Selanjutnya, sampel dihaluskan dengan menggunakan blender (Zahara et al., 2022).

Karakterisasi Simplisia

Pemeriksaan karakteristik bahan baku obat (simplisia) melibatkan pengamatan makroskopis simplisia, pemeriksaan mikroskopis serbuk simplisia, penentuan kandungan air, penentuan kadar sari yang dapat larut dalam air, serta penentuan kadar abu yang tidak larut dalam asam (Nasution et al., 2022).

Skruining Fitokimia

Pemeriksaan fitokimia melibatkan analisis terhadap komponen-komponen seperti alkaloid, glikosida, tanin, flavonoid, saponin, dan steroid/triterpenoid, dan merupakan bagian penting dari pengujian yang dilakukan (Karlina et al., 2022). Melalui analisis komponen-komponen ini, penelitian

bertujuan untuk mendapatkan pemahaman yang lebih mendalam tentang komposisi kimia dan potensi bioaktif dari bahan yang sedang diselidiki.

Pembuatan Ekstrak

Proses ini dilakukan menggunakan teknik maserasi. Secara umum, metode maserasi dijalankan sebagai berikut: masukkan 10 bagian bahan baku obat (simplisia) atau campuran simplisia dengan tingkat kehalusan yang sesuai ke dalam sebuah wadah, lalu tambahkan 75 bagian cairan ekstraksi. Tutup wadah tersebut, biarkan selama 5 hari terlindungi dari cahaya sambil sesekali diaduk, dikocok, diperas, dan ampasnya dicuci dengan cairan ekstraksi secukupnya hingga volume total mencapai 100 bagian. Pindahkan dilakukan ke dalam wadah tertutup, lalu biarkan di tempat yang sejuk dan terlindung dari cahaya selama 2 hari. Setelah itu, sari atau filtrat dapat dicurahkan atau disaring (Depkes RI., 1989; Mambang et al., 2021).

Analisis Ekstrak Etanol 96% Secara Kkt

Penggunaan kromatografi kertas (Kkt) bertujuan untuk menentukan fase gerak optimal, yang ditandai dengan kemampuannya menghasilkan bercak dengan intensitas maksimal. Dalam analisis terhadap ekstrak etanol 96%, Kkt digunakan dengan fase diam kertas Whatman dan fase gerak berupa campuran BAA (Butanol, Asam asetat, Air) dengan rasio 4:1:5. Kertas Whatman dilengkapi dengan garis batas atas dan bawah sepanjang 1 cm masing-masing, untuk memudahkan penotolan dan pengukuran jarak yang ditempuh pelarut, sehingga mempermudah perhitungan Rf. Selanjutnya, fase gerak dibuat dengan mencampur n-butanol: asam asetat: air (4:1:5), dimasukkan ke dalam chamber, dan dijenuhkan. Proses penjenuhan bertujuan untuk memastikan bahwa seluruh permukaan dalam bejana terisi uap eluen, sehingga rambatan yang dihasilkan oleh silika bersifat baik dan teratur. Untuk mengkonfirmasi apakah chamber yang berisi fase gerak sudah jenuh, kertas saring ditempatkan di dalamnya; ketika sudah jenuh, eluen akan keluar melalui kertas saring selama proses elusi, dan silika gel akan menyerap fase gerak. Langkah selanjutnya adalah memasukkan kertas yang sebelumnya telah ditotolkan.

Pemisahan Ekstrak Etanol 96% dengan Kkt

Senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak etanol 96% dipisahkan secara Kkt preparatif dengan menggunakan pelarut isokratis BAA

(Butanol, Asam asetat, Air) sebagai fase gerak. Kertas Whatman digunakan sebagai fase diam dalam proses isolasi senyawa flavonoid. Proses isolasi dimulai dengan menambahkan metanol ke dalam ekstrak kental n-butanol dalam jumlah yang cukup. Kemudian, ekstrak tersebut ditotolkan secara memanjang, membentuk pita pada batas awal eluasi pada kertas Whatman nomor 3 hingga jenuh. Selanjutnya, kertas preparatif diekspansi menggunakan fase gerak BAA (n-butanol-asam asetat glasial-air) dengan perbandingan 4:1:5. Setelah mencapai batas eluasi, kertas preparatif diangkat dan dikeringkan. Pita yang terbentuk kemudian dipotong menjadi fragmen kecil dan diekstraksi dengan metanol (Djamil dan Bakriyyah, 2015; Nasution, 2020).

Uji Kemurnian Terhadap Isolat dengan Kkt Dua Arah

Isolat dari fraksi aktif dianalisis dengan menggunakan kromatografi kertas dua arah (Kkt-2A) menggunakan fase gerak yang sesuai dengan fase gerak pada analisis fraksi aktif dengan Kkt. Pada proses kromatografi kertas dua arah (Kkt-2A) menggunakan kertas Whatman, sampel ditotolkan pada titik sekitar 8 cm dari tepi kertas dan 3 cm dari lipatan menggunakan pipa kapiler. Kertas kromatografi dimasukkan ke dalam bejana yang telah berisi pengembang BAA (Butanol, Asam asetat, Air) dengan perbandingan 4:1:5. Proses elusi dilakukan hingga pengembang bergerak ke atas. Setelah larutan pengembang mencapai garis batas, kertas diangkat dari bejana kromatografi dan dikeringkan dalam lemari asam. Noda yang terbentuk diidentifikasi menggunakan lampu UV dengan panjang gelombang 366 nm. Selanjutnya, posisi kertas diputar 90° dari posisi awal dan dicelupkan ke dalam bejana berisi larutan pengembang asam asetat 15%. Proses elusi dilakukan hingga pengembang mencapai batas yang telah ditentukan, lalu kertas diangkat dan dikeringkan. Noda yang terbentuk diidentifikasi menggunakan lampu UV 366 nm, dan selanjutnya diuapi dengan uap amonia (Ardianto, dkk, 2013; Munandar et al., 2023).

Karakterisasi Isolat

Karakterisasi isolat dilakukan melalui analisis spektrofotometri ultraviolet-visible (UV-Vis) dan spektrofotometri inframerah (IR) di Laboratorium Penelitian Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara (USU) Medan.

a. Karakterisasi Isolat menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Isolat dikumpulkan dan dilarutkan dalam 5 ml metanol. Larutan tersebut diaduk selama 5 menit dan dibiarkan selama 1 jam. Kemudian, sampel diuji menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 200 nm, sesuai dengan metode yang dijelaskan oleh Maharani (2016).

b. Karakterisasi Isolat menggunakan Spektrofotometri IR

Proses karakterisasi menggunakan spektrofotometri inframerah (IR) dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Sumatera Utara, sebagaimana diuraikan oleh Munandar Nasution et al. (2022).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Identifikasi Tumbuhan

Hasil identifikasi yang dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Herbarium Medanense (MEDA) Universitas Sumatera Utara terhadap buah menteng yang menjadi fokus penelitian adalah *Baccaurea racemose* (Reinw.) Müll.Arg. Klasifikasi taksonominya termasuk dalam Kingdom (*Plantae*), Divisi (*Spermatophyta*), Kelas (*Dicotyledoneae*), Ordo (*Euphorbiales*), Famili (*Euphorbiaceae*), Genus (*Baccaurea*), Spesies (*Baccaurea racemose* (Reinw.) Müll.Arg), dengan nama lokal Buah Menteng.

Hasil Pembuatan Simplisia

Biji buah menteng (*Baccaurea racemose*) yang berasal dari kota Padangsidimpuan, khususnya daerah Sipirok Kabupaten Tapanuli Selatan, seberat 5 kg telah disiapkan untuk penelitian. Buah menteng tersebut dibersihkan menggunakan air yang mengalir, kemudian dipisahkan antara kulit buah dan bijinya. Biji buah menteng yang sudah dipisahkan dikeringkan dalam lemari pengering selama kurang lebih satu minggu. Setelah satu minggu, biji buah menteng yang telah dikeringkan menghasilkan sampel kering tanpa kandungan air. Selanjutnya, biji buah menteng yang telah dikeringkan dihaluskan menggunakan blender, dan setelah proses blending, serbuknya diayak untuk mendapatkan serbuk simplisia yang halus. Pembuatan simplisia selesai dengan menghasilkan 400 gram serbuk simplisia biji buah menteng. Serbuk simplisia yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam wadah yang ditutup rapat dan disimpan pada suhu ruangan.

Hasil Karakterisasi Simplisia

Pada serbuk simplisia, dilakukan pemeriksaan karakterisasi guna mengevaluasi mutu hasil simplisia tersebut. Karakterisasi ini mencakup pemeriksaan makroskopik, seperti bentuk, ukuran, warna, bau, dan rasa. Selain itu, dilakukan juga pemeriksaan mikroskopik serta penentuan kadar air, kadar sari yang larut dalam air, kadar sari yang larut dalam etanol, kadar abu total, dan kadar abu yang tidak larut dalam asam. Pemeriksaan ini dilakukan sesuai dengan metode yang telah ditetapkan oleh Priscilia & Nasution (2022).

Tabel 1. Karakterisasi Simplisia

Parameter	MMI Edisi V	Simplisia Kulit Buah Menteng (<i>Baccaurea racemose</i>)
Makroskopik (bentuk, ukuran, warna, bau dan rasa)	Coklat sampai coklat kehitaman	Jorong (agak bulat), lebih kurang 0,8cm, coklat, pahit
Kadar air	≤ 10%	4%
Kadar sari larut dalam air	≥ 20%	36,81%
Kadar sari larut dalam etanol	≥ 7%	8,79%
Kadar abu total	≤ 2,5%	1,26%
Kadar abu tidak larut dalam asam	≤ 1%	0,5%

Hasil Skrining Fitokomia serbuk simplisia kulit buah menteng

Penentuan senyawa kimia pada serbuk simplisia kulit buah menteng (*Baccaurea racemosa*)

dilakukan dengan tujuan untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa sekunder yang terkandung di dalamnya. Proses pengeringan simplisia sangat krusial, karena simplisia yang tidak cukup kering

berpotensi mengalami pertumbuhan jamur dan mikroorganisme lainnya. Sesuai dengan standar kesehatan, simplisia dianggap aman jika kadar airnya kurang dari 10% (Depkes RI, 1978).

Penetapan kadar sari yang larut dalam air dan etanol dilakukan untuk menilai jumlah senyawa yang larut dalam kedua pelarut tersebut. Senyawa polar yang larut dalam air akan terlarut oleh air, sedangkan senyawa yang larut dalam etanol akan terlarut oleh etanol. Kadar abu total dan kadar abu yang tidak larut dalam asam diukur untuk mengevaluasi kandungan mineral dalam simplisia. Kadar abu yang tinggi dapat menunjukkan adanya zat anorganik yang signifikan dalam simplisia.

Hasil pemeriksaan yang tercantum dalam tabel menunjukkan bahwa simplisia yang dihasilkan telah memenuhi standar kualitas, sehingga dapat diaplikasikan dalam kehidupan sehari-hari. Kadar air dalam simplisia berperan penting dan berkaitan dengan proses pengeringan, yang merupakan langkah kunci untuk menurunkan kadar air bahan sampai pada tingkat yang diinginkan. Kesesuaian dengan standar kesehatan, yaitu kadar air kurang dari 10%, menjadikan simplisia dianggap aman untuk digunakan (Depkes RI, 1978).

Skrining Fitokimia simplisia biji buah menteng

Penentuan senyawa kimia pada serbuk simplisia biji buah menteng (*Baccaurea racemose*) dilakukan dengan tujuan untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa sekunder yang terkandung di dalamnya. Hasil pengujian menunjukkan adanya senyawa alkaloid dalam simplisia, yang dapat disimpulkan dari endapan berwarna coklat yang terbentuk setelah penambahan pereaksi Dragendorff, Mayer, dan Bouchardat. Menurut standar Kementerian Kesehatan RI tahun 1995, simplisia dianggap mengandung senyawa alkaloid jika terjadi endapan dari dua atau tiga pereaksi tersebut (Depkes RI, 1995). Dalam skrining fitokimia terhadap flavonoid, penambahan serbuk Mg, HCl p, dan amil alcohol menghasilkan larutan berwarna kuning, menunjukkan keberadaan flavonoid dalam simplisia biji buah menteng (*Baccaurea racemose*). Positivitas flavonoid diindikasikan oleh warna merah, jingga, atau kuning (Farnsworth, 1996).

Skrining terhadap saponin tidak menghasilkan busa, bahkan setelah penambahan HCL 2 N, yang menunjukkan bahwa simplisia tidak mengandung saponin. Sifat busa pada saponin disebabkan oleh sifat ampifiliknya, yang

menyebabkan saponin berperan sebagai surfaktan seperti deterjen. Penambahan HCL 2 N bertujuan untuk memperpanjang stabilitas busa, namun ketiadaan busa menandakan ketiadaan saponin, sesuai dengan ketentuan Kementerian Kesehatan RI tahun 1995 (Depkes RI, 1995).

Pada pengujian terhadap tanin, hasil menunjukkan larutan berwarna kuning pucat, menandakan bahwa simplisia biji buah menteng tidak mengandung tannin. Simplisia dianggap positif mengandung tannin jika terbentuk larutan berwarna biru atau hijau kehitaman, sesuai dengan pedoman Kementerian Kesehatan RI tahun 1995 (Depkes RI, 1995).

Dalam skrining glikosida, terlihat cincin berwarna ungu setelah penambahan Molish dan asam sulfat pekat, menandakan bahwa simplisia biji buah menteng positif mengandung glikosida. Reaksi Molish adalah pereaksi umum yang digunakan untuk mengidentifikasi karbohidrat, dalam hal ini, gula, sesuai dengan pedoman Kementerian Kesehatan RI tahun 1996 (Depkes RI, 1996).

Terakhir, skrining terhadap steroid/triterpenoid menunjukkan warna merah, menandakan bahwa senyawa tersebut positif terdapat pada simplisia biji buah menteng (*Baccaurea racemose*). Positivitas triterpenoid ditandai dengan warna merah atau ungu, sedangkan steroid ditandai dengan warna hijau, sesuai dengan ketentuan Kementerian Kesehatan RI tahun 1995 (Depkes RI, 1995).

Rendemen ekstrak

Maserasi adalah metode ekstraksi di mana sampel direndam dalam pelarut yang sesuai dengan senyawa aktif yang akan diekstrak, tanpa atau dengan pemanasan rendah. Beberapa faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi mencakup waktu, suhu, jenis pelarut, dan ukuran partikel (Pratiwi, 2010). Etanol digunakan sebagai pelarut karena bersifat universal, polar, mudah diperoleh, selektif, tidak toksik, memiliki daya serap yang baik, dan tingkat penyarian yang tinggi sehingga dapat mengekstrak senyawa yang bersifat polar dan non-polar (Trifani, 2012). Pelarutan dilakukan dengan etanol 96%, dan hasilnya adalah ekstrak sebanyak 93,3 gram dari serbuk simplisia biji buah menteng (*Baccaurea racemose*).

Hasil Analisis Ekstrak Etanol 96% Secara Kkt

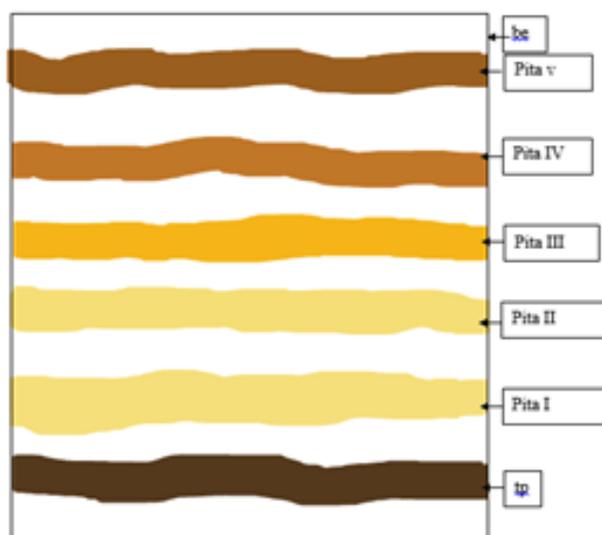
Teknik pemisahan dan pemurnian menggunakan kromatografi kertas (Kkt) digunakan untuk mendapatkan fase gerak (eluen) yang sesuai, memungkinkan pemisahan senyawa dalam sampel berdasarkan nilai faktor retensi (Rf). Fase diam yang digunakan berupa kertas Whatman berukuran 2 cm x 8 cm. Dalam Kkt, eluen yang digunakan adalah BAA (Butanol: Asam Asetat: Air) dengan perbandingan (4:5:1). Pemilihan ini dilakukan karena sampel relatif polar, sehingga kesamaan sifat antara fase gerak dan sampel dapat menghasilkan pemisahan yang efektif (Nuari, dkk, 2017). Berdasarkan data tabel di atas, terdapat tiga noda, dan nilai Rf memenuhi kriteria yang baik, yaitu berada dalam rentang 0,2-0,8 (Rohman, 2009).

Tabel 2. Hasil Analisis Kkt Ekstrak Kulit Buah Menteng.

Warna	Nilai Rf
Coklat Tua	0,4
Kuning Muda	0.55
Coklat Muda	0,7

Hasil Pemisahan Ekstrak Etanol 96% dengan Kkt Preparatif

Kkt preparatif memungkinkan pemisahan komponen berdasarkan polaritasnya, yang kemudian terpisah membentuk pita-pita. Isolasi senyawa flavonoid dari ekstrak etanol 96% dilakukan menggunakan kromatografi kertas preparatif dengan eluen BAA (Butanol: Asam asetat: Air) dalam perbandingan 4:5:1, menggunakan kertas Whatman berukuran 20 cm x 20 cm. Hasilnya terdiri dari lima pita, yakni pita I, pita II, pita III, pita IV, dan pita V, yang diperkirakan mengandung senyawa flavonoid. Metode Kkt preparatif dipilih karena sifatnya yang mudah, sederhana, dan ekonomis. Kelima pita tersebut kemudian dipotong kecil-kecil, dimasukkan ke dalam vial, dan dilarutkan dalam metanol sebanyak 10 ml. Setelah pendiaman selama 1 hari, isi dari kertas Whatman diekstraksi dari masing-masing vial menggunakan spatel. Selanjutnya, semua vial diuji menggunakan metode kromatografi kertas dengan kertas Whatman no.3 berukuran 10 cm x 10 cm, dengan jarak penotolan setiap pita sekitar 2 cm.



Gambar 1. Pita-pita Hasil Kkt Preparatif

Keterangan :

tp = titik penotolan

be = batas elusi

Rf P I = 0,30

Rf P II = 0.45

Rf P III = 0.57

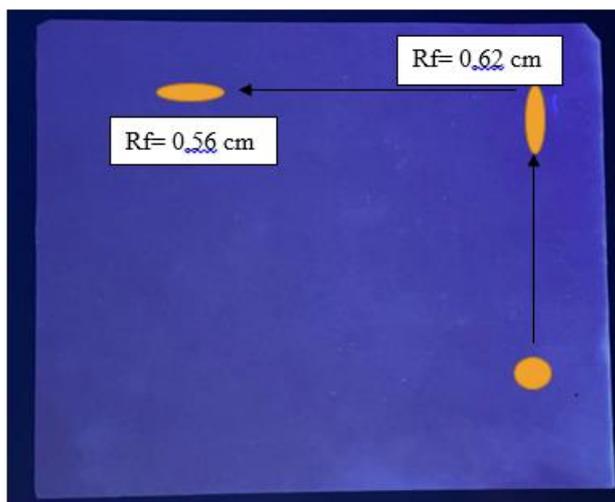
Rf P IV = 0,75

Rf P V = 0,88

Hasil Uji Kemurnian Terhadap Isolat dengan KKT Dua Arah

Kromatografi Kertas Dua Arah (KKT dua arah) digunakan untuk memverifikasi keberhasilan pemurnian isolat P IV. Verifikasi dilakukan dengan mengamati kemunculan noda tunggal tanpa ekor.

Setelah validasi kemurnian isolat P IV berhasil, maserat P IV diuapkan untuk membentuk kristal isolat, dengan hasil berat kristal sebanyak 0,7447 gram. Langkah serupa diulang untuk maserat P I, yang setelah validasi kemurnian diuapkan hingga terbentuk kristal isolat dengan berat 0,7447 gram.



Gambar 2. Hasil Uji Kemurnian Terhadap Isolat dengan KKT Dua Arah

Keterangan :

Eluen I : BAA (Butanol : Asam asetat glasial : Air) 4:1:5

Eluen II : Asam asetat glasial 15%

tp : titik penotolan

be I : batas elusi eluen 1

be II : batas elusi eluen 2

Hasil Karakterisasi Isolat

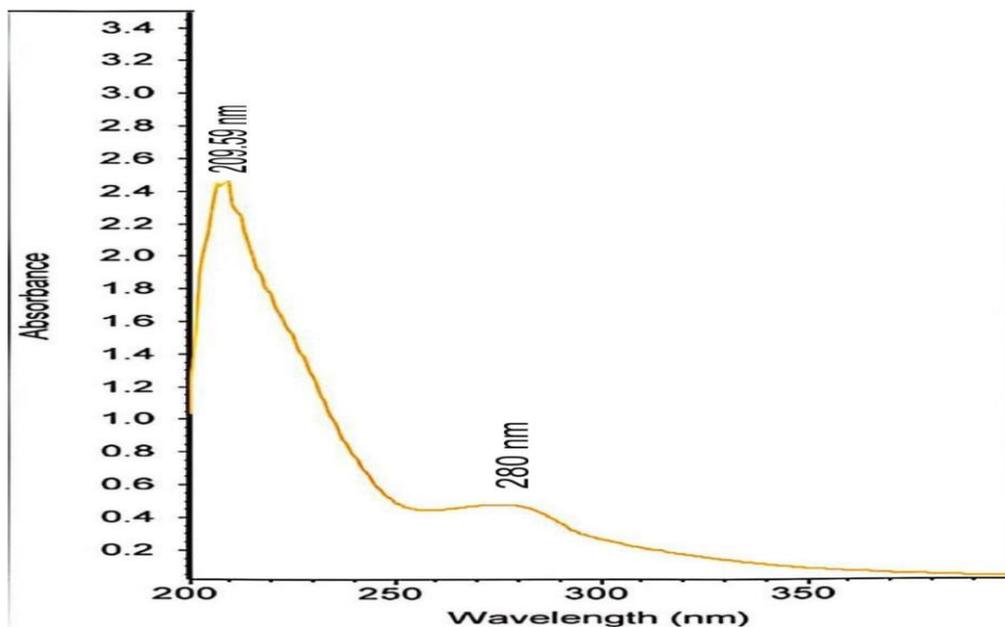
Karakterisasi isolat dilakukan dengan Spektrofotometri Karakterisasi isolat dilakukan dengan Spektrofotometri Ultra Violet (UV) (Thermo Scientific) dan Spektrofotometri Infra Red (IR) atau FTIR (Fourier Transform Infra Red) (Shimadzu). Pada Spektrofotometri UV didapatkan dua puncak gelombang yaitu 209.59 nm dan 280 nm.

Tabel 3. Jarak Spektrum UV pada Flavonoid (Markham, 1988).

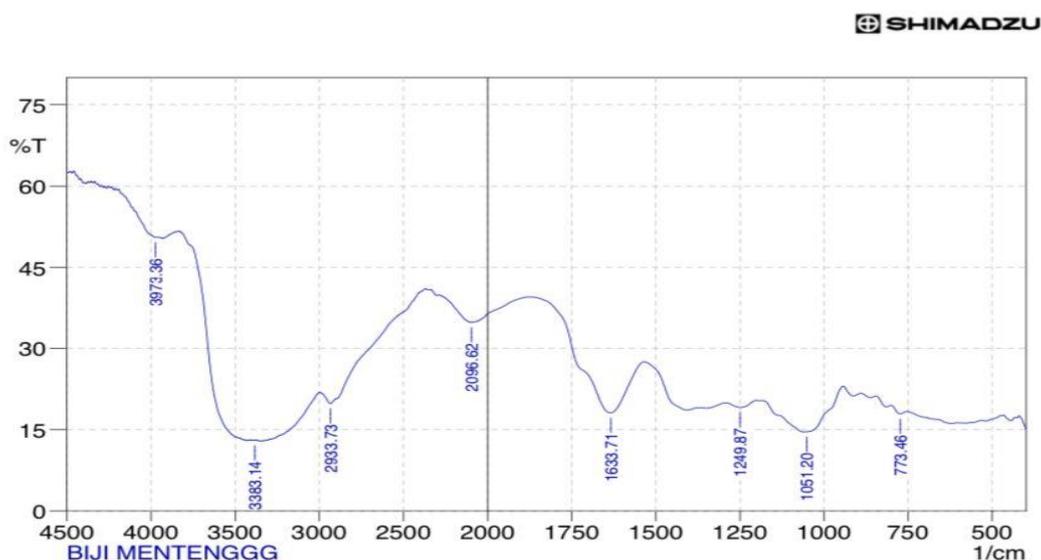
Pita I (nm)	Jenis Flavonoid
250-280	Flavon
250-280	Flavonol (3-OH Substitute)
250-280	Flavovol (3-OH bebas)
245-275	Isoflavones
275-295	Khalkon

Tabel 4. Karakteristik Gugus-gugus dari Spectrum IR

Gelombang (1/cm)	Bentuk Pita	Gugus Dugaan
3383.14	Lebar	O-H
2933.73	Tajam	C-H alifatik
2096.62	Tajam	C=C
1633.71	Tajam	C=O
1249.87	Tajam	C-H
1051.20	Tajam	C-O



Gambar 3. Hasil Spektrofotometri UV Kristal Isolat



Gambar 4. Hasil Spektrofotometri IR Kristal Isolat.

KESIMPULAN

Temuan dari penelitian ini mengungkapkan bahwa kulit buah menteng (*Baccaurea racemose* (Reinw.) Müll.Arg) mengandung senyawa kimia utama, yaitu flavonoid, alkaloid, dan steroid/titerpenoid. Karakterisasi isolat ekstrak etanol biji buah menteng berhasil dilakukan melalui analisis Spektrofotometri UV dan Spektrofotometri IR. Analisis ini menunjukkan adanya ikatan O-H dengan

panjang gelombang 3383.14 cm^{-1} , C-H alifatik dengan panjang gelombang 2933.73 cm^{-1} , ikatan C=C dengan panjang gelombang 2096.62 cm^{-1} , ikatan C=O dengan panjang gelombang 1633.71 cm^{-1} , serta C-H dengan panjang gelombang 1249.87 cm^{-1} dan C-O dengan panjang gelombang 1051.20 cm^{-1} . Keseluruhan hasil ini memberikan pemahaman yang lebih mendalam terkait komposisi kimia dan potensi bioaktif dari kulit buah menteng.

SARAN

Kepada penelitian selanjutnya diharapkan untuk menggunakan eluen yang berbeda lagi untuk metode isolasi senyawa flavonoid pada biji buah menteng agar para peneliti dapat membandingkan hasilnya satu dengan yang lainnya.

REFERENSI

- Afriani, R., Nasution, H. M., Mambang, D. E. P., & Dalimunthe, G. I. (2022). Uji Aktivitas Analgesik Ekstrak Daun Timun Tikus (*Coccinia Grandis* (L.) Voight) Terhadap Mencit Jantan (*Mus Musculus*). 1(April), 157–168.
- Anggraito, Y. U., Susanti, R., Iswari, R. S., Yuniastuti, A., Lisdiana, WH, N., Habibah, N. A., & Bintari, S. H. (2018). Metabolit Sekunder Dari Tanaman. In Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
- Depkes RI. (1989). FI Edisi III
- Endarini, L. H. (2015). Farmakognosi Dan Fitokimia. In Syria Studies (Vol. 7, Issue 1). <https://www.researchgate.net/publication>
- Gunawan, H. (2019). 100 spesies pohon Nusantara : target konservasi ex situ taman keanekaragaman hayati.
- Hanani. (2016). Analisis Fitokimia. In Jakarta penerbit buku kedokteran EGC (Vol. 53, Issue 9).
- Hesthiati, E., Priatmodjo, D., Wisnubudi, G., & Sukartono, I. G. S. (Eds.). (2019). Keanekaragaman Hayati Tanaman Buah Langka Indonesia. Lembaga Penerbit Unas. <https://www.ptonline.com/articles/how-to-get-better-mfi-results>
- Juwita, D. A., Mukhtar, H., & Putri, R. K. (2020). Uji Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah dan Daging Buah Menteng (*Baccaurea racemosa* (Blume) Mull. Arg.) dengan Metode DPPH (2,2 Diphenyl-1-picrylhydrazyl). Scientia : Jurnal Farmasi Dan Kesehatan, 10(1), 56.
- Karlina, V. R., Nasution, H. M., Muslim, U., & Al, N. (2022). Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. 1(April), 131–139.
- Mambang, D. E. P., Nasution, H. M., & Friyani, L. (2021). Skrining Fitokimia dan Penetapan Kadar Flavonoid Total terhadap Ekstrak Etanol Sawi Pahit (*Brassica Juncea* (L.) Czern) dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Farmanesia*, 8(2), 94–100.
- Munandar, A., Nasution, M. P., Nasution, H. M., & Mambang, D. E. P. (2023). Phytochemical Screening And Cytotoxicity Testing Of Ethanol Extract Of Green Bean Sprout (*Vigna Radiata* (L.) Wilczek) With Method BSLT. *Jurnal Farmasainkes*, 2(2), 214–223.
- Munandar Nasution, H., Yuniarti, R., Rani, Z., & Nursyafira, A. (2022). Phytochemical Screening And Antibacterial Activity Test Of Ethanol Extract Of Jengkol Leaves (*Archidendron Pauciflorum* Benth.) I.C. Nielsen Against *Staphylococcus Epidermidis* And *Propionibacterium Acnes*. *International Journal of Science, Technology & Management*, 3(3), 647–653.
- Musman, M. (2017). Kimia Organik Bahan Alam. Kimia Organik Bahan Alam.
- Nasution, H. M. (2020). Skrining fitokimia dan isolasi senyawa steroid/triterpenoid dari ekstrak n-heksana rumput laut *eucheuma alvarezii* doty phytochemical screening and steroid/triterpenoid isolation of n-heksana extract of seaweed *eucheuma alvarezii* doty. *Jurnal Dunia Farmasi*, 4(3), 108–115.
- Nasution, H. M., Fatimah, C., & Syara, N. (2019). Karakterisasi simplisia skrining fitokimia dan uji toksisitas ekstrak etanol herba bintaro (*Cerbera manghas* L.) terhadap *Artemia salina* Leach characterization of phytochemical screening simplicia and toxicity test of herbal ethanol extract bintaro (*Cerber*. *Farmanesia*, 6(1), 19–26.
- Nasution, H. M., Miswanda, D., & Dwiyani, A. O. (2022). Karakterisasi, Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Dadap Serep (*Erythrina variegata* Hassk.) Terhadap tikus. *Prosiding Hasil Seminar Penelitian "Hilirisasi Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat Menuju Universitas Internasional Yang Humanis, Mandiri Dan Islam*, 107–112.
- Nurdiani, D. (2018). Buku Informasi Melaksanakan Analisa Secara Kromatografi Konvensional Mengikuti Prosedur. Kemendikbud, 9, 80.
- Permatasari, L., Riyanto, S., & Rohman, A. (2022,). The Review of *Baccaurea racemosa*: Neglected Plants, but Potential to be Developed. In 2nd Global Health and Innovation in conjunction with 6th ORL Head

- and Neck Oncology Conference (ORLHN 2021) (pp. 383-389). Atlantis Press.
- Prasetyo, M. Y., Hendri, M., Putri, W. A. E., & Aryawati, R. (2022). Isolasi Dan Purifikasi Senyawa Antioksidan Pada Daun Mangrove *Avicennia alba* Dari Kawasan Muara Sungai Musi Kabupaten Banyuasin. *Maspari Journal : Marine Science Research*, 14(1), 63–78.
- Priscilia, C., & Nasution, H. M. (2022). Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Bakung (*Crinum asiaticum* L.) Pada Mencit Putih (*Mus musculus*). *Farmasainkes: Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*, 1(2), 124–132.
- Redha, A. (2010). Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *Jurnal Berlin*, 9(2), 196–202.
- Vifta, R. L., & Advistasari, Y. D. (2018). Skrining Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B.). *Prosiding Seminar Nasional Unimus*, 1, 8–14.
- Zahara, S. L., Lubis, M. S., Dalimunthe, G. I., & Nasution, H. M. (2022). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Lidah buaya (*Aloe Vera* L.) Terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*. *Journal of Health and Medical Science*, 1(2), 157–168.