

## Isolation and Determination of Total Flavonoids in Keji Beling Leaves (*Strobilanthes crispus* L.) Using UV-Vis Spectrophotometry Method

### Isolasi dan Penetapan Flavonoid Total Pada Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus* L.) Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Huwaitdah Istiqomah<sup>a</sup>, Moh. Rivaldi Mappa<sup>a\*</sup>, Rizky Resvita R. Bahi<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Institut Kesehatan dan Teknologi Graha Medika, Kotamobagu, Sulawesi Utara, Indonesia.

\*Corresponding Authors: [mohrivaldimappa@gmail.com](mailto:mohrivaldimappa@gmail.com)

#### Abstract

Keji beling (*Strobilanthes crispus* L.) has several therapeutic activities such as anticancer, antimicrobial, treating diabetes mellitus, cholesterol, and kidney stones. Flavonoids are the main compounds that contribute to the therapeutic activities of keji beling. Along with its therapeutic activities, flavonoids are complicated by physicochemical properties that make these compounds difficult to identify specifically. This study aims to isolate and identify flavonoid compounds in keji beling leaves using UV-Vis spectrophotometry. The method used was experimental, including qualitative and quantitative analysis, with stages including maceration, phytochemical screening, fractionation, thin-layer chromatography (TLC), column chromatography, preparative thin-layer chromatography (PTLC), and UV-Vis spectrophotometry. The extraction results showed a yield of 11.8%. The phytochemical screening test showed positive results for flavonoid compounds. The fractionation process produced two layers, namely polar and nonpolar layers. TLC results with the best solvent ratio (9:1) showed an R<sub>f</sub> value of 0.72. Column chromatography provided good separation results. PTC produced blue-white, orange, red, and purple spots. The results of quantitative analysis of total flavonoids using UV-Vis spectrophotometry with quercetin as a standard showed an average of 11.438 mg QE/g extract and a standard deviation (SD) of  $\pm 0.0058$  mg QE/g and %RSD of 0.05%, indicating a very good level of method precision with a maximum wavelength of sample absorbance at 433 nm.

**Keywords:** Flavonoids, *Strobilanthes crispus*, UV-Vis Spectrophotometry.

#### Abstrak

Keji beling (*Strobilanthes crispus* L.) memiliki beberapa aktivitas terapeutik seperti antikanker, antimikroba, mengobati diabetes mellitus, kolesterol dan batu ginjal. Flavonoid adalah senyawa utama yang berkontribusi terhadap aktivitas terapeutik dari keji beling. Bersamaan dengan aktivitas terapeutiknya, flavonoid dirumitkan oleh sifat fisikokimia yang membuat senyawa ini sulit untuk diidentifikasi secara spesifik. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa flavonoid dalam daun keji beling menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Metode yang digunakan bersifat eksperimental, mencakup analisis kualitatif dan kuantitatif, dengan tahapan meliputi: maserasi, skrining fitokimia, fraksinasi, kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi kolom, kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP), dan spektrofotometri UV-Vis. Hasil ekstraksi menunjukkan rendamen sebesar 11,8%. Uji skrining fitokimia menunjukkan hasil positif terhadap senyawa flavonoid. Proses fraksinasi menghasilkan dua lapisan, yaitu lapisan polar dan nonpolar. Hasil KLT dengan perbandingan pelarut terbaik (9:1) menunjukkan nilai R<sub>f</sub> sebesar 0,72. Kromatografi kolom memberikan hasil pemisahan yang baik. KLTP menghasilkan noda berwarna biru keputihan, oranye, merah, dan ungu. Hasil analisis kuantitatif flavonoid total menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan kuarsetin sebagai standar menunjukkan rata-rata 11,438 mg QE/g ekstrak serta standar deviasi (SD)  $\pm 0.0058$  mg QE/g dan %RSD 0,05%, menunjukkan tingkat presisi metode sangat baik dengan panjang gelombang maksimum absorbansi sampel pada 433 nm.

**Kata Kunci:** Flavonoid, *Strobilanthes crispus*, Spektrofotometri UV-Vis.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** – You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** – You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** – If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the a [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

#### Article History:

Received: 10/06/2025,  
Revised: 09/10/2025,  
Accepted: 09/10/2025,  
Available Online: 30/03/2026.

#### QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v9i1.904>

## Pendahuluan

Keji beling (*Strobilanthes crispus* L.) sering dipakai sebagai tanaman hias ataupun tanaman pagar dikarenakan dapat tumbuh menjulang tinggi dengan bunga yang indah serta cabang dengan pola yang rapat satu sama lain. Selain berfungsi sebagai tanaman hias, tanaman ini sering dipakai sebagai obat tradisional dikarenakan mengandung berbagai macam metabolit sekunder yang mempunyai manfaat terapeutik [1, 2]. Keji beling memiliki beberapa aktivitas terapeutik seperti antikanker, antimikroba, mengobati diabetes mellitus, kolesterol dan batu ginjal [1]. Karena keanekaragaman khasiat dari daun keji beling, sehingga daun ini sering dimanfaatkan diberbagai daerah salah satunya daerah dibagian RT 07, RW 003, Kelurahan Pobundayan, Kecamatan Kota Kotamobagu Selatan, Sulawesi Utara yang dimana masyarakat setempat mengkonsumsi daun keji beling secara turun temurun sebagai antikolestrol. Studi pada hewan menguatkan manfaat kesehatan dari daun keji beling. Kandungan flavonoid daun menurunkan kadar kolesterol darah pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan hiperkolesterolemia dengan cara menghambat produksi kolesterol serta meningkatkan jumlah reseptor LDL pada membran sel hati dan jaringan ekstrak hati [3]. Flavonoid merupakan senyawa yang berkontribusi terhadap manfaat kesehatan tersebut, flavonoid termasuk senyawa termolabil, dan mudah rusak atau mudah teroksidasi pada suhu tinggi [4]. Sifat fisika kimia flavonoid yang sangat rentan dan kompleks tersebut membuat senyawa ini sulit diidentifikasi secara spesifik. Spektrofotometri UV-VIS ialah salah satu metode untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid, meskipun metode seperti HPLC memiliki sensitivitas tinggi dalam identifikasi senyawa flavonoid, penelitian ini menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis karena lebih sederhana, ekonomis, dan sesuai dengan fasilitas yang tersedia dilaboratorium. Selain itu, penelitian ini tidak hanya melakukan analisis kuantitatif, tetapi juga tahap isolasi flavonoid secara bertahap melalui fraksinasi, KLT, kromatografi kolom dan KLTP. Pendekatan ini memberikan kelebihan dalam melihat hubungan antara proses pemisahan dan karakterisasi senyawa flavonoid yang belum dijelaskan secara detail pada penelitian sebelumnya [6, 7].

Spektrofotometri UV-Vis adalah metode untuk mengukur energi cahaya yang diserap oleh suatu sistem kimia pada panjang gelombang tertentu. Rentang panjang gelombang cahaya tampak (visible) ialah 400-750 nm, sementara panjang gelombang cahaya ultraviolet ialah 200-400 nm [5]. Penelitian oleh Dinnurrosifa (2022) melaporkan bahwa flavonoid dapat diidentifikasi dalam ekstrak daun keji beling dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis yang beroperasi pada panjang gelombang maksimum 447,4 nm [6]. Safitri dan Wahlanto (2023) juga menemukan adanya flavonoid pada ekstrak daun keji beling yang dianalisis menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis yang menunjukkan bahwa flavonoid mempunyai panjang gelombang maksimum 465 nm [7]. Oleh karena itu tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan menetapkan kadar flavonoid total pada daun keji beling menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

## Metode Penelitian

### Alat dan Bahan

Alat yang dipakai dalam penelitian ini ialah beaker glass (pyrex®), batang pengaduk, plat KLT (M.1.05554), chamber, spatula, gelas ukur (pyrex®), pipet (OneMed), erlenmeyer (pyrex®), mesh, tabung reaksi (iwaki), rak tabung reaksi, lampu UV 254 dan 366, wadah maserasi, aluminium foil, water bath (XMTE-205), oven (WINA), kertas saring, neraca analitik (OHAUS), pipa kapiler, dan Spektrofotometri UV-Vis

(EVOLUTION One). Bahan yang dipakai dalam penelitian ini ialah daun keji beling (*Strobilanthes crispus* L.), metanol,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{AlCl}_3$ , quersetin, n-heksan, etil asetat, silica gel GF<sub>254</sub>.

### Pengambilan Sampel

Sampel daun keji beling diperoleh dari Kelurahan Pobundayan, Kota Kotamobagu Selatan, Provinsi Sulawesi Utara.

### Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia daun keji beling dimulai dengan pemetikan daun, kemudian dilakukan sortasi basah untuk memisahkan kotoran dan pencucian dengan air mengalir. Selanjutnya, daun dipotong kecil untuk mempermudah pengeringan yang dilakukan dengan cara diangin-anginkan (tanpa sinar matahari langsung) guna mengurangi kadar air. Setelah kering, dilakukan sortasi kering secara manual untuk membersihkan sisa pengotor, dan simplisia disimpan dalam wadah inert pada suhu kamar [8, 9].

### Ekstraksi

Simplisia dihaluskan dan diayak menggunakan mesh 60. Serbuk hasil pengayakan ditimbang sebanyak 100 gram, ditambahkan 150 ml pelarut metanol sambil hingga terendam, diaduk-aduk sesekali, dan dibiarkan selama 3x24 jam. Hasil ekstraksi disaring, dan filtrat dievaporasi menggunakan *water bath* pada suhu 40°C untuk menghasilkan ekstrak kental.

### Skrining Fitokimia

Ekstrak sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan asam sulfat pekat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) sebanyak 3-7 tetes [10].

### Fraksinasi

Ekstrak kental sebanyak 5 gram dilarutkan dengan 20 ml metanol, kemudian dicampurkan dengan 40 ml n-heksan dalam corong pisah. Setelah itu, dikocok dan dibiarkan hingga terbentuk dua lapisan, masing masing lapisan dipanaskan dengan *water bath* pada suhu 40°C untuk memperoleh ekstrak kental.

### Kromatografi Lapis Tipis

Fraksi dan pembanding kuarsetin ditotolkan pada plat KLT ukuran 6x1 yang telah digaris batas atas bawah 0,5 cm. Plat KLT yang sudah ditotolkan dimasukkan ke dalam chamber berisikan fase gerak yaitu n-heksan : etil asetat (Perbandingan 9:1, 8:2, 7:3, 6:4) yang sudah dijenuhkan. Biarkan terelusi hingga eluen mencapai batas atas, kemudian plat. diangin-anginkan dan diamati bercak noda dengan sinar UV dan dihitung nilai R<sub>f</sub>-nya.

### Kromatografi Kolom

Fraksi yang terpilih dengan perbandingan pelarut optimal dilakukan kolom. Kolom disiapkan menggunakan metode basah, dengan dasar kolom yang disumbat kapas, ditambahkan silika gel, kertas saring, lalu dialiri pelarut untuk menghindari patahan. Ekstrak ditempatkan diatas kertas saring, kemudian dialiri fase gerak terpilih sehingga menghasilkan fraksi yang ditampung dan dievaporasi menjadi ekstrak kental. Dimana fraksi ini akan dimonitoring lagi dengan KLT.

### Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Plat berukuran 10x20 dielusi dalam chamber dengan pelarut terpilih, kemudian diidentifikasi dengan sinar UV. Jika positif mengandung flavonoid, hasilnya dikeruk, dilarutkan dengan 10 ml metanol, dan disaring. Cairan hasil penyaringan dimasukkan ke dalam kuvet untuk dianalisis dengan spektrofotometri UV-Vis.

### Spektrofotometri UV-Vis

Isolat hasil penyaringan dianalisis dengan spektrofotometri UV-Vis untuk memperoleh data berupa kadar dari senyawa yang dituju. Analisis dilakukan dengan metode kompleksasi  $\text{AlCl}_3$ , dimana larutan sampel dan standar kuarsetin direaksikan dengan pereaksi  $\text{AlCl}_3$  untuk membentuk kompleks flavonoid- $\text{AlCl}_3$  yang memiliki puncak serapan maksimum pada panjang gelombang sekitar 430-440 nm didaerah visible.

## Hasil dan Pembahasan

### Ekstrak Keji Beling

Sampel berupa simplisia daun keji beling sebanyak 100 gram diekstraksi menggunakan pelarut metanol hingga terendam dengan cara dingin yaitu maserasi. Pemilihan metode maserasi didasari sifat fisika kimia dari senyawa flavonoid yang dituju. Menurut Ramadhani *et al.* (2020) flavonoid merupakan senyawa termolabil, karena adanya keberadaan sistem aromatik terkonjugasi didalamnya yang mengakibatkan senyawa ini mudah menguap jika terkena suhu tinggi [11]. Proses ekstraksi daun keji beling dilakukan memakai pelarut metanol, dimana akan terjadi difusi atau keadaan saat pelarut menarik senyawa dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah sehingga terjadi osmosis yang menyeimbangkan konsentrasi di dalam dan di luar sel [12]. Metanol merupakan pelarut polar dengan nilai konstanta dielektrik sebesar 33,62 yang mampu mengekstraksi semua golongan senyawa flavonoid [13, 14]. Menurut Alfauzi *et al.* (2022) dikarenakan polaritasnya, flavonoid paling baik diekstraksi menggunakan pelarut yang sangat polar seperti methanol [15]. Maserasi dilakukan selama 3 hari dan diaduk sesekali untuk memaksimalkan proses ekstraksi. Guna memisahkan filtrat dari residu, kertas saring dipergunakan untuk menyaring hasil ekstraksi setelah selesai. Ekstrak kental dibuat dengan menguapkan filtrat menggunakan evaporator yang diatur pada suhu 40°C untuk menghindari kerusakan terhadap senyawa flavonoid dan menghilangkan sisa pelarut pada ekstrak kental yang dihasilkan, dikarenakan pada suhu 40°C metanol sudah mulai menguap [16, 17].

Data pada tabel 1 diketahui bahwa ekstrak kental yang didapat dari ekstraksi daun keji beling sebesar 11,83 gram dan rendamennya sebesar 11,8%, hal ini konsisten dengan yang dijelaskan oleh Depkes RI (2000) yang menjelaskan bahwasanya range rendamen dari hasil ekstraksi yang sempurna adalah 10%-15%, sehingga dapat dinyatakan bahwa ekstraksi yang menggunakan metode maserasi dilakukan dengan sempurna [18].

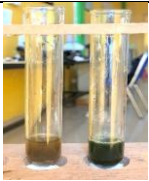
**Table 1.** Hasil Rendamen yang diperoleh

Berat Sampel	Pelarut	Berat Ekstrak	Rendemen (%)
100 gram	150 mL	11,83 gram	11,8

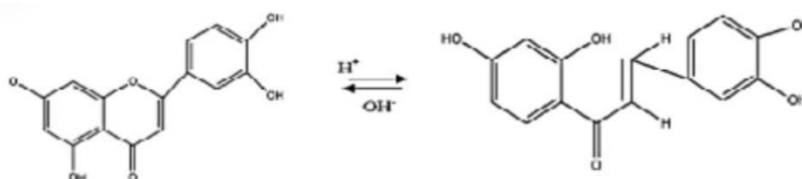
### Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan dengan melarutkan ekstrak kental pada pelarut metanol lalu ditambahkan pereaksi asam sulfat ( $H_2SO_4$ ), kemudian dihomogenkan dan diamati perubahan warna. Perubahan warna menjadi hijau kekuningan menandakan bahwa ekstrak tersebut positif mengandung komponen flavonoid, seperti yang ditunjukkan pada gambar yang ada pada tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Skrining Fitokimia Senyawa Flavonoid

Senyawa	Pereaksi	Hasil Uji	Gambar	Keterangan
Flavonoid	$H_2SO_4$	Hijau kekuningan		Positif

Menurut Inayah *et al.*, (2024) perubahan warna terjadi karena adanya reaksi substitusi elektron yaitu posisi OH pada flavonoid terdistribusi dari atom H dan  $H_2SO_4$ , sehingga terbentuk senyawa kompleks [19].




**Gambar 1.** Reaksi Flavonoid dengan  $H_2SO_4$

### Fraksinasi

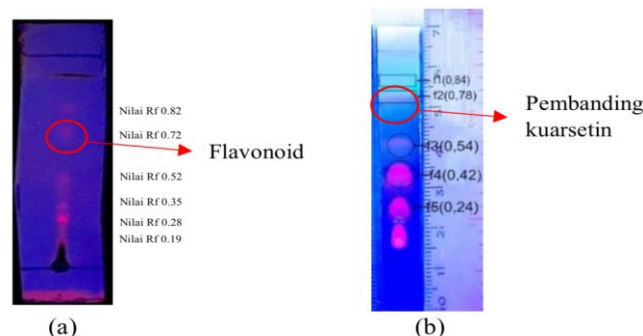
Langkah awal dalam melakukan fraksinasi yakni dimasukkan 5 gram ekstrak kental daun keji beling menggunakan 20 ml metanol, kemudian dipindahkan ke corong pisah. Setelah itu ditambahkan pelarut n-heksan sebanyak 40 ml lalu dikocok dan didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan. Terjadinya pemisahan 2 lapisan karena adanya gaya pendorong (*driving force*) yang disebabkan oleh perbedaan potensial kimiawi antara kedua pelarut, maka terjadi perpindahan massa dari pelarut asal ke pelarut ekstraksi [20]. Setelah diperoleh 2 lapisan yang telah terbentuk yaitu metanol dan n-heksan, kedua lapisan tersebut dipisahkan dan diuapkan menggunakan evaporator. Ekstrak kental berupa lapisan metanol yang dihasilkan kemudian dilanjutkan ke proses kromatografi lapis tipis. Pengambilan lapisan metanol dikarenakan metanol merupakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang tinggi, sehingga dapat menarik flavonoid yang merupakan senyawa polar secara maksimal [15].

**Tabel 3.** Hasil Fraksinasi

Pelarut	Berat Ekstrak	Gambar	Warna Ekstrak
n-heksan (Non Polar)	0,83 gram		Hijau
Metanol (Polar)	1,7 gram		

### Kromatografi Lapis Tipis

Proses pengujian KLT dilakukan dengan ekstrak kental daun keji beling dari hasil fraksinasi dilarutkan menggunakan metanol lalu ditotolkan pada plat KLT. Kemudian plat yang sudah dilakukan penotolan dimasukkan ke dalam chamber berisikan fase gerak berupa dua campuran eluen yang telah dijenuhkan yaitu n-heksan : etil asetat dengan perbandingan (9:1), (8:2), (7:3) serta (6:4) ml selama proses elusi, chamber KLT harus tertutup rapat. Pada proses penotolan, terjadi absorpsi di mana ekstrak ditotolkan ke plat KLT (fase diam) dengan bantuan pipa kapiler, ekstrak yang tadinya berada di dalam pipa kapiler akan terserap ke dalam plat KLT [21]. Setelah itu, plat yang sudah ditotolkan serta dimasukkan ke dalam fase gerak akan mengalami proses partisi yakni proses campuran senyawa bergerak naik ke atas mengikuti pelarut berdasarkan tingkat kepolaran [21]. Selanjutnya plat yang sudah mencapai batas atas dikeluarkan lalu diangin-anginan dan diamati dibawah sinar UV 366 nm yang memperlihatkan bercak noda KLT untuk dihitung nilai Rf-nya. Temuan studi memperlihatkan bahwa rasio eluen n-heksana : etil asetat (9:1 ml) yang menghasilkan pewarnaan yang paling baik, hal ini sesuai dengan penelitian Utami et al., (2018) yang menyatakan bahwa pada perbandingan 9:1 terjadi pemisahan noda yang baik, sehingga ini merupakan rasio eluen yang optimal [22]. Wahdaniyah (2019) menyatakan bahwa pemisahan yang memuaskan dicapai ketika noda yang dihasilkan mudah terlihat dan tidak meninggalkan jejak [23]. Selanjutnya, beberapa noda diidentifikasi dengan nilai Rf sebesar (0.19), (0.28), (0.35), (0.51), (0.72), serta (0.84) berdasarkan data KLT yang diperoleh pada perbandingan 9:1. Menurut Usman dan Muin (2023), flavonoid memiliki nilai Rf dari rentan 0.2 sampai 0.75, sehingga dapat dikonfirmasi ekstrak metanol daun keji beling pada perbandingan 9:1 positif mengandung flavonoid [24]. Hasil yang didapatkan tersebut dibandingkan dengan pembanding kuarsetin yang mendapati nilai Rf sebesar 0,78 [25]. Terlihat pada salah satu hasil noda yang mendekati nilai Rf pada pembanding kuarsetin, sehingga diketahui ekstrak daun keji beling mengandung flavonoid.

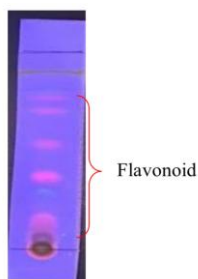


**Gambar 2.** (a) Hasil uji KLT ekstrak metanol keji beling pada lampu UV 366 nm; (b) Pembanding kuarsetin [25]

### Kromatografi Kolom

Pemisahan kromatografi kolom dilakukan dengan menggunakan alat kromatografi kolom yang sudah dirangkai dan diletakkan pada statif. Penyiapan kolom dilakukan menggunakan metode basah, diawali dengan memasukkan sejumlah kapas pada bagian paling bawah guna menahan silika agar tidak keluar bersama pelarut, kemudian dimasukkan silika di atasnya, lalu diletakkan kertas saring lalu kolom dialiri pelarut n-heksan. Tujuan dielusi dengan pelarut untuk menghindari patahan yang mengakibatkan adanya udara pada rongga kolom, sehingga pemisahan dapat dilakukan dengan baik [26]. Ekstrak kental daun keji beling sebanyak 1 gram dilarutkan dengan pelarut metanol sampai sedikit cair lalu dimasukkan ke dalam kolom secara perlahan, kemudian fase gerak yaitu n-heksan : etil asetat (9:1) dialirkan pada kolom. Pada tahap ini akan terjadi perbedaan absorbansi dari setiap kombinasi zat yang akan dipisahkan, fase diam akan menyerap senyawa dengan polaritas yang lebih tinggi, sehingga terjadi penurunan sampel secara bertahap [27]. Fraksi yang dihasilkan dari kolom dikumpulkan dan diuapkan. Fraksi yang diperoleh dimonitoring menggunakan kromatografi lapis tipis, dimana fraksi ini selanjutnya akan digunakan pada metode KLTP.

Sebanyak 10 fraksi dikumpulkan dari hasil elusi kolom. Setiap fraksi dimonitoring dengan KLT menggunakan eluen n-heksan:etil asetat (9:1). Fraksi dengan pola bercak serupa digabungkan menjadi satu, menghasilkan tiga fraksi utama. Fraksi dengan noda paling kuat dibawah sinar UV 366 nm ( $R_f = 0,72$ ) dipilih untuk analisis lanjut menggunakan KLTP.



**Gambar 3.** Hasil uji KLT dari fraksi kolom yang diamati dibawah sinar UV 366 nm, dengan noda utama berwarna biru keputihan pada  $R_f$  0,72 yang menunjukkan keberadaan flavonoid.

### Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Sampel berupa simplisia daun keji beling sebanyak 100 gram diekstraksi menggunakan pelarut metanol hingga terendam dengan cara dingin yaitu maserasi. Pada tahap ini fraksi hasil kromatografi kolom ditotolkan pada lempeng KLTP yang sudah diaktifkan dengan cara dipanaskan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 30 menit, tujuan pengaktifan plat KLTP untuk menghilangkan sisa air yang mengakibatkan kelembaban, dimana kelembaban dapat mempengaruhi hasil [28]. Kemudian plat KLTP dielusi menggunakan perbandingan pelarut terbaik yaitu n-heksan 9 ml :1 ml etil asetat. Setelah mengangin-anginkan plat KLTP yang telah selesai, noda diperiksa di bawah sinar UV 254 nm serta 366 nm. Hasilnya memperlihatkan bahwasanya noda senyawa flavonoid yang berpendar memiliki warna yang beragam, termasuk biru putih, merah, oranye, dan ungu. Pada penelitian Elisabeth et al., (2021) dan Jannah (2022) menyatakan bahwa pada umumnya saat diamati menggunakan sinar UV flavonoid akan menghasilkan warna ungu gelap, biru muda, kuning kehijauan, jingga, merah mudah atau terkadang tidak tampak [29, 30]. Deviani et al., (2024) menjelaskan bahwa dengan adanya radiasi sinar UV 366 nm, molekul flavonoid seperti klakon dan flavonol berpendar, sedangkan glikosida flavonol, antosianin, dan flavon menyerap sinar tersebut serta menghasilkan bercak berwarna hitam [31]. Spektrum warna terlihat ketika menganalisis glikosida flavon serta flavonol, termasuk kuning, kuning pucat, biru, biru-abu-abu, merah, serta antosianin.



**Gambar 4.** Hasil uji KLTP yang disinari lampu UV 366 nm.

## Spektrofotometri UV-Vis

Pemilihan metode spektrofotometri UV-Vis dalam penelitian ini didasarkan pada kemudahan penggunaan, biaya rendah, dan ketersediaan alat dilaboratorium. Meskipun UV-Vis tidak seakurat metode HPLC atau LC-MS untuk identifikasi struktur spesifik, metode ini tetap relevan untuk menentukan kadar total flavonoid, terutama bila dikombinasikan dengan tahap isolasi awal seperti KLT dan kromatografi kolom [38, 39].

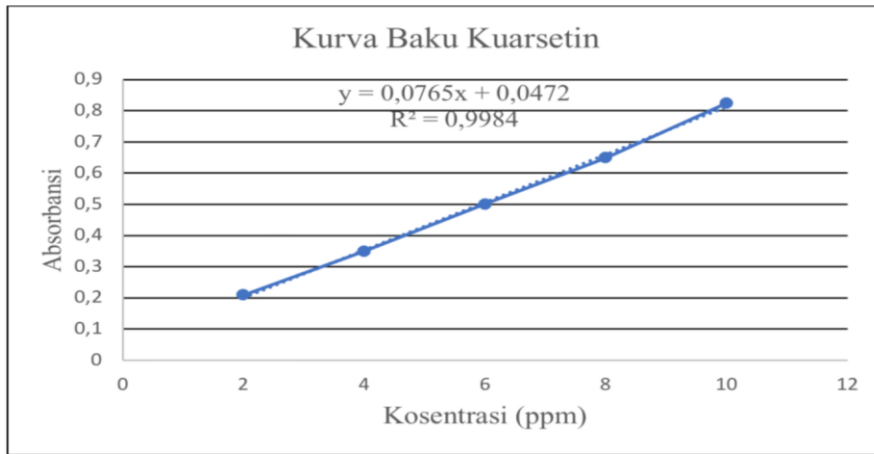
Penentuan kadar flavonoid total ekstrak daun keji beling digunakan kuarsetin digunakan sebagai larutan referensi untuk pembanding dalam mengevaluasi konsentrasi flavonoid karena merupakan salah satu jenis flavonoid golongan flavonol yang didapatkan pada banya jenis tanaman. Salah satu zat yang paling baik untuk menjebak radikal bebas dan menghalangi proses oksidasi ialah kuarsetin, yang dapat menstabilkan radikal fenolik melalui efek resonansi cincin aromatik [32]. Selanjutnya, pembanding kuarsetin dipekatkan ke dalam rentang konsentrasi mulai dari 2 ppm hingga 10 ppm. Dengan memanfaatkan pendekatan persamaan kurva standar untuk membuat persamaan garis linier, seri konsentrasi bisa dipakai guna mengukur kadar flavonoid [33]. Langkah selanjutnya ialah menemukan panjang gelombang maksimum kuarsetin. Absorbansi pada puncaknya diukur pada panjang gelombang yang berkisar antara 400 hingga 600 nm. Sasaran penentuan panjang gelombang maksimum ialah agar mendapatkan nilai absorbansi larutan rujukan standar, yang diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada kisaran 400-800 nm. Angka ini merepresentasikan area absorbansi yang mungkin tercipta [34]. Temuan dari uji yang dilakukan diketahui standar kuarsetin mempunyai panjang gelombang maksimum 433 nm.

Hasil ini dibandingkan dengan penelitian oleh Dinnurrosifa (2022) yang melaporkan bahwa flavonoid dapat diidentifikasi dalam ekstrak daun keji beling dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis yang beroperasi pada panjang gelombang maksimum 447,4 nm [6]. Safitri dan Wahlanto (2023) juga menemukan adanya flavonoid pada ekstrak daun keji beling yang dianalisis menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis yang menunjukkan bahwa flavonoid mempunyai panjang gelombang maksimum 465 nm [7]. Perbedaan panjang gelombang maksimum ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Pertama, perbedaan jenis pelarut dan kondisi pH dapat memengaruhi posisi puncak serapan flavonoid. Kedua, variasi spesies tanaman, usia daun, dan kondisi lingkungan tempat tumbuh dapat mengubah komposisi senyawa flavonoid. Selain itu, perbedaan tingkat kemurnian fraksi hasil isolasi juga dapat menyebabkan pergeseran puncak absorbansi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa flavonoid pada daun keji beling cenderung memiliki gugus kromofor yang menyerap pada panjang gelombang lebih pendek, menunjukkan kemungkinan dominasi flavonol sederhana seperti kuarsetin [6, 7, 35, 36, 37]. Hasil nilai  $R_f$  dan wana noda pada KLT serta KLTP juga mendukung adanya flavonoid, dengan nilai  $R_f$  (0,72) yang mendekati standar kuarsetin (0,78). Hal ini menunjukkan bahwa metode fraksinasi dan pemisahan yang digunakan mampu menghasilkan fraksi yang relative murni.

Hasil pengukuran absorbansi kemudian dipresentasikan dalam bentuk grafik untuk memperoleh persamaan regresi linear. Hukum Lambert-Beer, yang mendemonstrasikan korelasi linier antara tingkat analit dan absorbansi, ialah dasar dari perhitungan. Nilai  $R^2$  sebesar 0,9984 dihasilkan oleh persamaan regresi linier  $y = 0,0765x + 0,0472$  ketika temuan standar kuarsetin diplotkan terhadap absorbansi dan level. Mengacu kurva standar ini, hubungan antara konsentrasi dan absorbansi adalah linier. Setelah itu, kandungan flavonoid total dalam ekstrak daun keji beling dihitung dengan memakai persamaan yang diperoleh sebagai pembanding. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa standar kuarsetin memiliki panjang gelombang maksimum 433 nm sesuai dengan kompleks flavonoid-  $AlCl_3$  yang umum terbentuk pada panjang gelombang visible (430-440 nm), menunjukkan keberhasilan pembentukan kompleks antara gugus karbonil flavonoid dan ion  $Al^{3+}$ . Grafik persamaan dari regresi linier yang telah diukur dapat diamati pada gambar 5.

**Tabel 4.** Pengukuran Absorbansi Kuarsetin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
2	0,209
4	0,349
6	0,500
8	0,649
10	0,824



**Gambar 5.** Grafik persamaan regresi linear kurva baku kuarsetin

Setelah itu, kandungan flavonoid total dalam ekstrak daun keji beling dihitung dengan memakai persamaan yang diperoleh sebagai pembanding. Penetapan kadar total flavonoid ekstrak daun keji beling menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan standar kuarsetin menghasilkan kadar flavonoid awal sebesar 1,144  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 1,143  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , dan 1,143  $\mu\text{g}/\text{ml}$  pada replikasi 1, 2, dan 3. Setelah dimasukkan dalam persamaan kadar flavonoid ekstrak, diperoleh kadar flavonoid masing-masing sebesar 11,445 mg QE/g, 11,435 mg QE/g, serta 11,435 mg QE/g, dengan rata-rata 11,438 mg QE/g ekstrak dengan standar deviasi (SD)  $\pm 0.0058$  mg QE/g dan %RSD 0,05%, menunjukkan tingkat presisi metode sangat baik. Hasil pengukuran disajikan pada tabel 6 dan standar deviasi atau %RSD pada tabel 7.

**Tabel 6.** Kadar flavonoid total ekstrak daun keji beling konsentrasi 10 ppm

Replikasi	Abs. Sampel	Kadar flavonoid awal ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Kadar flavonoid total (mgQE/g)	Rata-rata kadar flavonoid total (mgQE/g)
1	0,836	1,144	11,445	11,438
2	0,835	1,143	11,435	
3	0,835	1,143	11,435	

**Tabel 7.** Nilai SD dan %RSD

Parameter Statistik	Nilai
Jumlah Replikasi (n)	3
Nilai rata-rata (mg QE/g)	11,438
Standar deviasi (SD)	0,0058
Koefisien variasi (%RSD)	0,05
Rentang nilai	11,435-11,445

## Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa metode spektrofotometri UV-Vis bisa digunakan untuk mengisolasi dan menetapkan kadar flavonoid total pada keji beling. Hasil analisis kuantitatif flavonoid total menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan kuarsetin sebagai standar menunjukkan kadar rata-rata sebesar 11,438 mgQE/g ekstrak serta standar deviasi (SD)  $\pm 0.0058$  mg QE/g dan %RSD 0,05%, menunjukkan tingkat presisi metode sangat baik dengan panjang gelombang maksimum absorbansi sampel pada 433 nm.

## Conflict of Interest

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini. Penelitian dilakukan secara independen. Penulis menggunakan fasilitas alat spektrofotometri UV-Vis di Laboratorium Penelitian dan Instrumen, Universitas Negeri Gorontalo, dengan izin dan tanpa keterlibatan pihak laboratorium dalam analisis data atau interpretasi hasil.

## Ucapan Terima Kasih

Penulis berterima kasih kepada seluruh pihak yang telah memberikan dukungan teknis dan fasilitas selama pelaksanaan penelitian ini, khususnya dalam proses isolasi dan identifikasi senyawa.

## Referensi

- [1] Silalahi M. Pemanfaatan Keji beling (*Strobilanthes crispus*) Sebagai Obat Tradisional dan Bioaktivitasnya. Jurnal Emasains: *Jurnal Edukasi Matematika dan Sains* 2020;9(2):196–205. <https://doi.org/10.5281/zenodo.4301127>
- [2] Gunarti NS, et al. Kumpulan Tanaman Obat di Kecamatan Tirtajaya. Yogyakarta: Jejak Pustaka; 2023.
- [3] Rachman FA, Ardiansyah S. Ekstrak Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus* L.) Untuk Penurunan Kadar Kolesterol Pada Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar. *Journal of Medical Laboratory Science Technology* 2019; 2: 1-5. doi: 10.21070/medicra.v2i1.1648
- [4] Ningsih IS, Chatri M, Advinda L, Violita. Flavonoid Active Compounds Found In Plants. *Serambi Biologi* 2023;8 (2):126-132. <https://doi.org/10.24036/srmb.v8i2.206>
- [5] Setyawan AA., Rohmanti G. Penetapan Kadar Flavonoid Metode AlCl<sub>3</sub> pada Ekstrak Metanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.). *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis (JFSP)* 2020;6(2):134-14. <http://dx.doi.org/10.31603/pharmacy.v6i2.3912>
- [6] Dinnurrosifa RS. Evaluasi Kadar Flavonoid Total pada Ekstrak Etanol Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus* Bl.) secara Spektrofotometri Visible. *Repository SITFA* 2022.
- [7] Safitri A, Wahlanto P. Phytochemical Analysis of Flavonoids and Tannins from Ethanol Extract of Keji Beling (*Strobilanthes crispus*) Using UV-Vis Spectrophotometry Method. *Ad-Dawaa Journal of Pharmacy* 2023;1(2):87-92. <http://dx.doi.org/10.52221/dw.v1i2.413>
- [8] Wahyuni R, Guswandi, Rivai H. Pengaruh Cara Pengeringan Dengan Oven, Kering Angin dan Cahaya Matahari Langsung Terhadap Mutu Simplisia Herba Sambiloto. *Jurnal Farmasi Higea* 2014;6 (2):126-133.
- [9] Yasi RM, Harsanti RS, Larasati TT. The Effect of Simplicia Drying Method on the Acquisition of Active Compound Levels of Grinting Grass Simplicia Extract (*Cynodon dactylon* (L.) Pres.). *Jurnal Berakala Saintek* 2022;10(3):147-154.
- [10] Puspa OE, Syahbanu I, Wibowo MA. Uji Fitokimia dan Toksisitas Minyak Atsiri Daun Pala (*Myristica fragans* Houtt) dari Pulau Lemukutan. *JKK* 2017;6(2):1-6.
- [11] Ramadhani MA, Hati AK, Lukitasari NF, Jusman AR. Skirining Fitokimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Serta Fenolik Total Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) Dengan Maserasi Menggunakan Pelerut etanol 96%. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product* 2020;3(1):8-18.
- [12] Hujjatusnaini N, Indah B, Widyastuti R, Ardiansyah. *Buku Referensi Ekstaksi*. Palangkaraya : Institut Agama Islam Negeri Palangkaraya; 2021.
- [13] Yuliani H, Rasyid MI. Efek Perbedaan Pelerut terhadap Uji Toksisitas Ekstrak Pineung Nyen Teusale. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* 2019;6(2):347-352.
- [14] Larasati I, Mahbub K. Pengaruh Pelerut terhadap Kadar Saponin Ekstrak Daun Teratai (*Nymphaea nouchali* Burm. F.). *Pharmaceutical Scientific Journal* 2024; 3(2):1-9.
- [15] Alfauzi RA, Hartati L, Suhendra D, Rahayu TP, Hidayah N. Ekstraksi Senyawa Bioaktif Kulit Jengkol (*Archidendron jiringa*) dengan Konsentrasi Pelerut Metanol Berbeda sebagai Pakan Tambahan Ternak Ruminansia. *Jurnal Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan* 2022;20(3):95-103.
- [16] Astuti NWM, Aryani NLPI, Purwaningsih NKPA, Dewi NKSM, Sari NMK, Heltyani WE, Wirasuta IMAG. Penetapan Kadar Metanol Hasil Destilasi Penguap Vakum Putar Ekstrak Metanol Daun Ubi Ungu menggunakan Raman Spektrofotometer. *Jurnal Farmasi Udayana* 2018;7(1):13-18.
- [17] Ariani N, Musiam S, Niah R, Febrianti DR. Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kadar Flavonoid Ekstrak Etanolik Kulit Buah Alpukat (*Persea Americana* Mill.) dengan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Pharmascience* 2022;9(1): 40-47.
- [18] Depkes RI. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Cetakan Pertama*. Jakarta : Depkes RI; 2000.
- [19] Inayah I, Saepudin S, Ramdhani HM. Identifikasi Struktur Senyawa Flavonoid dari Daun Kesum (*Polygonum minus* Huds.) Menggunakan Metode Pereaksi Geser. *Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda* 2024;8(1):57-68.

- [20] Bahri S. Ekstraksi Kulit Batang Nangka Menggunakan Air untuk Pewarna Alami Tekstil. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal* 2019;8(2):73-88.
- [21] Alen Y, Agresa FL, Yuliandra Y. Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Rebung *Schizostachyum brachycladum* Kurz (Kurz) pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis* 2017,3(2) :146-152.
- [22] Utami YP, Imrawati, Rasyid A. Isolasi dan Karakterisasi Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum minahassne Teijsm dan Binn.*) dengan Metode Spektrofotometri. *Pharmacy Medical Journal* 2018;1(2): 82-92.
- [23] Wahdaniyah N. *Uji Toksisitas Isolat Steroid Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Fraksi n-Heksan Mikroalga Chlorella sp.* [skripsi]. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim; 2019.
- [24] Usman Y, Muin R. Uji Kualitatif dan Perhitungan Nilai Rf Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Daun Gulma Siam. *Journal of Pharmaceutical Science and Herbal Technology* 2023;1(1):10-15.
- [25] Hadi S, Subekti A, Khairunnisa A. Uji Antioksidan dan Penetapan Flavonoid Tuber Pakis Kinca (*Nephrolepis cordifolia* (L) C. Presl). *Indonesian Journal of Chemical Analysis (IJCA)* 2023;6(1):1-9.
- [26] Musa WJA, Duengo S, Tahir RH. Senyawa Triterpenoid dari Tumbuhan Mangrove (*Sonneratia alba*). *Jurnal ITEKIMA* 2017;1(1):36-45
- [27] Emilda, Delfira N. Pemanfaatan Silika Gel 70-230 Mesh Bekas Sebagai Pengganti Fase Diam Kromatografi Kolom pada Praktikum Kimia Organik. *Indonesian Journal of Laboratory* 2023;6(1):45-51.
- [28] Nurhidayanti N, Munir MA, Emelda E, Fatmawati A. Analisis Kafein pada Minuman Kemasan Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Spektrofotometri. *Jurnal Sains dan Terapan Kimia* 2024;6(1): 28-35.
- [29] Elisabeth OJL, Repining TS, Ni MRY. Identifikasi Kandungan Metabolit Sekunder dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-heksan Kulit Jeruk Bali (*Citrus maxima Merr.*). *Jurnal Surya Medika* 2021;6(2):185-200.
- [30] Jannah F. Isolasi, Identifikasi dan Penentuan Kadar Flavonoid Total pada Isolat Hasil Kromatografi Kolom Fraksi Etil Asetat Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.). [skripsi]. Malang : Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim; 2022.
- [31] Deviani N, Hakim AR, Ikeh TSD, Nastiti K. Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Nilai *Sun Protection Factor* (SPF) Fraksi Ekstrak Etanol Daun Sirih Muda (*Piper betle* L.). *Journal of Pharmaceutical Care and Sciences* 2024;5(11): 11-17.
- [32] Yeti A, Rafita Y. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Herba Rumput Bambu (*Lopatherum gracile* Brongn.) Dengan Metode Spektrofotometri Visible. *FARMASAINKES*, 2021;1(1):11-19.
- [33] Nurmila N, Sinay H, Watuguly T. Identifikasi dan Analisis Kadar Flavonoid Ekstrak Getah Angsana (*Pterocarpus indicus* Willd) di Dusun Wanath Kecamatan Leihitu Kabupaten Maluku Tengah. *Biopendix: Jurnal Biologi, Pendidikan dan Terapan*. 2019;5(2):65-71.
- [34] Sukmawati, Sri Sudewi, Julius Pontoh. Optimasi Dan Validasi Metode Analisis Dalam Penentuan Kandungan Total Flavonoid Pada Ekstrak Daun Gedi Hijau (*Abelmoscus Manihot* L.) Yang Diukur Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. *Pharmaconjurnal Ilmiah Farmasi – Unsrat* 2018.
- [35] Harbone, JB. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis (3<sup>rd</sup> ed.)*. London : Chapman & Hall; 1998.
- [36] Mabry TJ, Markham KR, Thomas MB. *The Systematic Identification of Flavonoids*. New York : Spinger-Verlag; 1970.
- [37] Markham KR. *Techniques of Flavonoid Identification*. London : Academic Press; 1989.
- [38] Zhou L. Li H. Ding X. Liu Z. He D. Kowah JAH. Wang L. Yuan M. Liu X. A Review of The Application of Spectroscopy of Flavonoids from Medicine and Food Homology Materials. *Molecules*, 2022;27(22):7766.
- [39] Irakli M. Skendi A. Bouloumpasi E. Chatzopoulou P. Biliaderis CG. LC-MS Identification and Quantification of Phenolic Compounds in Solid Residues from The Essential Oil Industry. *MDPI*, 2021;10(12).