

Characterization and determination of total flavonoid content of extract and fraction of papaya jantan flower (*Carica papaya* L.) using UV-Vis spectrophotometry

Karakterisasi dan penetapan kadar flavonoid total ekstrak dan fraksi bunga pepaya jantan (*Carica papaya* L.) dengan spektrofotometri UV-Vis

Dilla Nur Pratiwi¹, Nastiti Utami^{1*}, Diah Pratimasari¹

¹Program Studi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, Surakarta, Jawa Tengah

*Corresponding author: nastiti.utami@stikesnas.ac.id

Abstract

Background: The potential of pepaya jantan flowers (*Carica papaya* L.) as functional herbal ingredients, such as antioxidants, is influenced by the activity of secondary metabolites, one of which is flavonoids.

Objective: This study aims to determine the total flavonoid content and characterization of flavonoids in the ethanol extract and flower fraction of papaya jantan (*Carica papaya* L.).

Method: Pepaya jantan flower was extracted by maceration using ethanol 70% then fractionated using multilevel fractionation. The identification of flavonoids was tested using Taubeck, Wilstater, and TLC. Extract and fractions were determined of flavonoid content using the colorimetric method and identification of flavonoids based on the wavelength of cinnamoyl and benzoyl in the spectrum UV-Vis.

Results: The results of the determination of flavonoid content showed that ethanol extract was the highest at 0.6805 ± 0.0045 %QE and n-hexane fractions were the lowest at 0.4178 ± 0.0058 %QE. Identification of flavonoids using the UV-Vis spectroscopy method showed the absorption of substituted 3-OH flavonol and free 3-OH flavonol.

Conclusion: The highest flavonoid content was found in the ethanol extract of papaya jantan flower. The types of flavonoids in the extract and fractions of male papaya flower indicated the type of flavonol based on the wavelength of cinnamoyl and benzoyl.

Keywords: Carica, flavonoid, cinnamoyl, benzoyl, spectrophotometry UV-Vis

Intisari

Latar belakang: Potensi bunga pepaya jantan (*Carica papaya* L.) sebagai antioksidan dipengaruhi metabolit sekunder, salah satunya flavonoid.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid total serta karakterisasi flavonoid dalam ekstrak etanol dan fraksi bunga pepaya jantan (*Carica papaya* L.).

Metode: Bunga pepaya jantan dilakukan maserasi dengan etanol 70%, dilanjutkan fraksinasi bertingkat. Identifikasi flavonoid dilakukan menggunakan metode Taubeck, Wilstater dan KLT. Kadar flavonoid ekstrak dan fraksi ditetapkan menggunakan metode kolorimetri serta identifikasi flavonoid berdasarkan pita *cinnamoyl* dan *benzoyl* pada spektrum UV-Vis.

Hasil: Hasil penetapan kadar flavonoid menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki kadar tertinggi sebesar $0,6805 \pm 0,0045$ %QE, serta kadar terendah dalam fraksi n-heksan sebesar $0,4178 \pm 0,0058$ %QE. Identifikasi flavonoid metode spektrofotometri UV-Vis menunjukkan penyerapan flavonol 3-OH substitusi dan flavonol 3-OH bebas.

Kesimpulan: Kadar flavonoid tertinggi ditemukan dalam ekstrak etanol bunga pepaya. Jenis flavonoid dalam ekstrak dan fraksi bunga pepaya jantan mengindikasikan jenis flavonol berdasarkan panjang gelombang dari *cinnamoyl* dan *benzoyl*.

Kata kunci : carica, flavonoid, *cinnamoyl*, *benzoyl*, Spektrofotometri UV-Vis

1. Pendahuluan

Pengembangan obat tradisional harus memenuhi syarat yaitu aman, berkhasiat dan bermutu, sehingga pengembangan obat tradisional perlu didukung adanya bukti ilmiah untuk mengetahui

kandungan zat aktif dalam bahan obat berkhasiat. Bahan obat yang berasal dari alam memiliki kandungan senyawa kimia serta berkhasiat sebagai senyawa aktif adalah metabolit sekunder, senyawa tersebut saling berperan menimbulkan efek terapi (Yuslianti *et al.*, 2016).

Keberadaan senyawa dalam beberapa bagian tanaman *Carica papaya* seperti daun, akar, dan biji pepaya menunjukkan berbagai aktivitas biologis seperti antidiabetes (Juárez-Rojop *et al.*, 2014), anti-fertilitas (Nwaehujor *et al.*, 2014), anti-jamur (Tay & Chong, 2016), anti-bakteri (Baskaran *et al.*, 2012), anti-tumor (Zuhrotun Nisa *et al.*, 2017), dan antioksidan (Imaga *et al.*, 2010). Kandungan flavonoid dalam daun *Carica papaya* memiliki sifat antioksidan kuat jika dibandingkan dengan kontrol positif penisilamin (Nugroho *et al.*, 2017). Bunga pepaya jantan memiliki kandungan senyawa fenolik (*caricapapayol*) (Lien *et al.*, 2019), flavonoid (kuersetin, apigenin, dan kaempferol) (Andarwulan *et al.*, 2012), dan sterol (β -sitosterol 3-O- β -D-glukopiranosida dan 3-O-(6-O-tetradecanoyl- β -D-glukopiranosil)- β -sitosterol) (Nga *et al.*, 2020). Adanya kandungan flavonoid dalam bunga pepaya jantan, hal ini membuat bunga pepaya jantan berpotensi memiliki sifat antioksidan. Bunga pepaya jantan di masyarakat dimanfaatkan sebagai antidiabetik yaitu dengan mengkonsumsi air rebusannya, hal ini dikarenakan adanya kandungan flavonoid yang bekerja dengan meregenerasi dan merangsang pelepasan insulin oleh sel beta pankreas (Pongoh *et al.*, 2020). Senyawa flavonoid termasuk dalam golongan polifenol yang berpotensi memiliki fungsi sebagai antioksidan, antidiabetik, dan antiinflamasi (Manurung *et al.*, 2017).

Penelitian tentang kandungan senyawa dalam bunga pepaya jantan masih sangat terbatas. Eksplorasi kandungan senyawa diperlukan untuk mendukung pengembangan bunga pepaya jantan sebagai obat tradisional. Maka tujuan penelitian ini adalah sebagai langkah awal untuk mengembangkan obat tradisional dengan melakukan penetapan kadar flavonoid total dan melakukan karakterisasi jenis flavonoid dalam ekstrak dan fraksi bunga pepaya jantan (*Carica papaya* L.).

2. Metodologi penelitian

2.1. Bahan dan teknik pengumpulan sampel

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga pepaya jantan, etanol 70%, etil asetat, n-heksan (Borneo kimia), HCl pekat, serbuk Mg, etanol p.a, AlCl₃ 10%, asam asetat, n-butanol, metanol p.a, *aquadest*, silika gel GF254 (Merck), kuersetin (Sigma Aldrich). Bunga pepaya jantan (*Carica papaya* L.) segar sebanyak 3 kg diambil dari daerah Desa Kepanjen, Klaten, Jawa Tengah secara *random sampling*. Bunga dipanen saat pagi hari dan dipilih bunga yang berwarna kuning segar.

2.2. Penyiapan sampel

Sampel bunga pepaya jantan (*Carica papaya* L.) yang telah dipanen dilakukan determinasi di Laboratorium Biologi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta, Jawa Tengah dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi bunga pepaya jantan. Bunga pepaya jantan (*Carica papaya* L.) disortasi basah dan dilakukan pencucian, selanjutnya sampel dikering-anginkan selama 1 hari untuk selanjutnya dilakukan pengeringan selama 3 hari di oven dengan suhu 40°C. Bunga pepaya jantan yang telah kering dilakukan pengecilan ukuran serta diayak pada *mesh* no. 60.

2.3 Ekstraksi

Serbuk bunga pepaya jantan (*Carica papaya* L.) sebanyak 200 gram dilakukan maserasi dengan etanol 70% sebanyak 1,5 Liter selama 3 hari serta dan diaduk 1 kali tiap 24 jam. Hasil maserasi disaring, residu hasil maserasi kemudian ditambahkan 0,5 Liter etanol 70% untuk dilakukan remaserasi selama 2 hari. Filtrat hasil maserasi dan remaserasi digabung untuk selanjutnya dipekatkan agar didapatkan ekstrak kental menggunakan *rotary evaporator* dan *waterbath* pada suhu 50°C.

2.4 Fraksinasi cair-cair

Fraksinasi cair-cair dilakukan untuk memisahkan komponen berdasarkan tingkat kepolaran menggunakan n-heksan, etil asetat, *aquadest*. Ekstrak kental sebanyak 20 gram ditambahkan dengan *aquadest* hangat 100 mL, selanjutnya larutan ekstrak dipartisi dengan 100 mL n-heksan hingga terbentuk 2 lapisan, kedua lapisan tersebut dipisahkan. Partisi dilanjutkan dengan pelarut semi-polar yaitu 100 mL etil asetat dan dilakukan pemisahan antara fase etil asetat dengan fase yang lain. Partisi dilakukan hingga larutan berwarna bening. Selanjutnya hasil fraksinasi dipekatkan hingga didapatkan fraksi kental.

2.5 Skrining fitokimia flavonoid

2.5.1 Uji Wilstater

Sebanyak 0,1 gram ekstrak dan fraksi dari bunga pepaya jantan (*Carica papaya* L.) ditambahkan serbuk magnesium (Mg) dan HCl pekat sebanyak 3-4 tetes. Perubahan warna menjadi merah-jingga pada ekstrak dan fraksi menunjukkan positif kandungan flavonoid (Asmorowati dan Lindawati, 2019).

2.5.2 Uji Taubeck

Sebanyak 0,1 gram ekstrak dan fraksi dari bunga pepaya jantan (*Carica papaya* L.) ditambahkan *aquadest* selanjutnya diuapkan dengan *waterbath*, ditambah aseton, asam borat dan asam oksalat. Campuran diuapkan di atas *waterbath* dan ditambah 5 mL eter. Adanya fluoresensi kuning dibawah sinar UV 366 nm menunjukkan positif kandungan flavonoid (Djamil & Zaidan, 2016).

2.6 Uji kualitatif flavonoid secara KLT

Plat KLT sebelum ditotolkan sampel dilakukan aktivasi untuk menghilangkan kandungan air selama 30 menit pada suhu 110°C. Sebanyak 20 mg ekstrak dan fraksi-fraksi kental bunga pepaya ditambahkan 2 mL pelarut yang sesuai. Ekstrak, fraksi-fraksi bunga pepaya jantan, dan standar kuersetin ditotolkan pada plat KLT menggunakan *yellow tip*. Proses elusi dilakukan dengan fase gerak n-butanol: asam asetat: *aquadest* (4:1:5). Plat KLT yang telah terelusi sempurna dilakukan pengamatan bercak noda menggunakan sinar UV 254 nm, UV 366 nm, serta dicelup dengan penampak bercak KMnO₄.

2.7 Uji kuantitatif kandungan flavonoid (Asmorowati dan Lindawati, 2019)

2.7.1 Pembuatan larutan baku induk 1000 ppm

Sebanyak 10,0 mg standar kuersetin dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu ukur 10 mL.

2.7.2 Pembuatan larutan intermediet 100 ppm

Larutan baku induk dipipet sebanyak 1 mL ditambahkan etanol p.a dalam labu ukur 10 mL hingga didapat konsentrasi 100 ppm.

2.7.3 Pembuatan larutan blangko

Dipipet 1 mL Larutan AlCl₃ 10% dan asam asetat 5% sebanyak 8 mL, serta ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas labu ukur 10 mL.

2.7.4 Penentuan operating time

Larutan intermediet dipipet sebanyak 1 mL, ditambahkan AlCl₃ 10% sebanyak 1 mL dan asam asetat 5% 8 mL. Pengukuran *operating time* dilakukan pada panjang gelombang teoritis kuersetin 415 nm selama 60 menit (Ipandi *et al.*, 2016).

2.7.5 Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin

Larutan intermediet dipipet sebanyak 1 mL dan direaksikan dengan 1 mL AlCl₃ 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Pembacaan dilakukan pada panjang gelombang 400-450 nm. Panjang gelombang maksimum yang dihasilkan digunakan untuk mengukur serapan sampel.

2.7.6 Pembuatan kurva baku kuersetin

Konsentrasi deret standar dibuat 50, 70, 90, 110, dan 130 ppm, sehingga larutan baku induk dipipet sebanyak 0,25; 0,35; 0,45; 0,55; dan 0,65 mL ditambahkan etanol p.a hingga 5 mL ke dalam labu ukur. Tiap konsentrasi seri baku dipipet sebanyak 1 mL, dan ditambahkan 1 mL AlCl₃ 10% dan 8 mL asam asetat 8%, dilakukan pendiaman selama 26 menit. Penentuan absorbansi kurva baku dilakukan pengukuran pada panjang gelombang 415 nm.

2.7.7 Penetapan kadar flavonoid total

Masing-masing ekstrak dan fraksi bunga pepaya jantan sebanyak 160 mg dilarutkan dengan etanol p.a hingga 10 mL dalam labu ukur. Masing-masing ekstrak dan fraksi dipipet 1 mL ditambahkan AlCl₃ 10% sebanyak 1 mL dan asam asetat 5% 8 mL, dilakukan pendiaman selama 26 menit untuk selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi sampel menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

2.8 Karakterisasi flavonoid dengan spektrofotometer UV-Vis

Masing-masing ekstrak dan fraksi bunga pepaya jantan (*Carica papaya L.*) ditimbang 5 mg, sampel dilarutkan menggunakan metanol p.a dalam labu ukur 5 mL. Karakterisasi dilakukan dengan menganalisis larutan uji menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-400 nm. Hasil analisis ditandai adanya ikatan pertama (*band I*) 300-400 nm menunjukkan sistem *cinnamoyl* dan ikatan kedua (*band II*) 240-285 nm menunjukkan sistem *benzoyl*.

2.8 Analisis data

2.8.1 Perhitungan kadar flavonoid total

Perhitungan kadar flavonoid total dihitung menggunakan persamaan regresi linear hasil hubungan konsentrasi seri standar dan absorbansi. Kadar flavonoid dinyatakan dalam jumlah persentase ekuivalen kuersetin (QE) untuk tiap gram ekstrak dan fraksi, dengan rumus:

$$\text{Kadar Flavonoid Total (\%QE)} = \frac{\text{Konsentrasi } \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right) \times \text{Volume Sampel (mL)}}{\text{Berat Sampel (gram)}} \times 100\%$$

2.8.2 Perhitungan koefisien variasi (% KV)

Perbandingan simpangan kadar flavonoid total dengan rata-rata kadar sampel dapat diketahui dengan melakukan perhitungan persentase koefisien variasi. Persentase koefisien variasi yang baik menunjukkan nilai persentase < 2% (Snyder *et al.*, 2009).

3. Hasil dan pembahasan

3.1 Penyiapan sampel

Bunga pepaya jantan dilakukan determinasi untuk mencocokkan morfologi tanaman dengan literatur, hasil determinasi menyatakan bahwa sampel merupakan tanaman pepaya dengan bunga berjenis kelamin jantan. Ekstraksi serbuk bunga pepaya jantan menggunakan metode maserasi. Ekstraksi dilakukan untuk menarik komponen senyawa kimia yang terdapat dalam sampel dengan kepolaran pelarut yang sesuai. Pada beberapa bagian tanaman *Carica papaya* lebih banyak mengandung senyawa polar dibandingkan senyawa non polar (Asghar *et al.*, 2016), sehingga pelarut yang dipilih adalah jenis pelarut polar. Pelarut ekstraksi yang digunakan adalah etanol 70% merupakan jenis pelarut polar, penggunaan etanol 70% mampu menarik senyawa flavonoid. Maserasi merupakan teknik ekstraksi dingin, sehingga teknik ini dapat meminimalkan kerusakan senyawa akibat proses pemanasan (Riwanti *et al.*, 2020). Simplisia hasil maserasi dilakukan remaserasi untuk mengoptimalkan proses penyarian senyawa. Proses pengadukan dilakukan agar terjadi kontak yang lebih optimal antara sampel dan pelarut (Ningsih *et al.*, 2015). Proses pemekatan ekstrak dan fraksi dilakukan dengan *rotary evaporator* dan *waterbath* pada suhu 50°C. Pemilihan suhu 50°C untuk menghindari kerusakan senyawa flavonoid, karena senyawa flavonoid salah satunya senyawa rutin dapat terdegradasi pada suhu 70°C sebanyak 10% setelah 2 jam pemanasan dan akan terdegradasi sebanyak 50% pada suhu 90°C. Senyawa flavonoid lain seperti luteolin menurun sebesar 30% pada suhu 70°C dan akan terdegradasi sebanyak 45% pada suhu 90°C (Chaaban *et al.*, 2017). Pemekatan ekstrak dan fraksi berfungsi menghilangkan pelarut, hal tersebut bertujuan agar pelarut tidak memengaruhi khasiat dari zat aktif apabila digunakan dalam pengobatan (Sa'adah & Nurhasnawati, 2017). Karakter fisik dari ekstrak kental yang didapat berwarna coklat kehitaman, tekstur kental, dan aroma menyengat pahit.

Fraksinasi cair-cair merupakan pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran dengan pelarut yang tidak saling bercampur (Sembiring *et al.*, 2016). Pemilihan pelarut dalam fraksinasi bertingkat berdasarkan tingkat kepolaran suatu pelarut yaitu diawali dengan pelarut non polar, semi polar, dan polar. Tujuan fraksinasi bertingkat ini agar senyawa metabolit sekunder tertarik dalam pelarut yang sesuai. Pelarut n-heksan dapat menyari senyawa non polar seperti terpenoid dan sterol, sedangkan pelarut etil asetat dapat menyari senyawa semi polar seperti alkaloid flavonoid, dan saponin, sedangkan pelarut *aquadest* dapat menarik senyawa polar seperti saponin (Degu *et al.*, 2020). Oleh karena itu, pelarut n-heksan digunakan sebagai fraksinasi paling pertama untuk menghindari kompetisi penarikan senyawa dengan etanol. Apabila fraksinasi pertama

menggunakan etil asetat atau *aquadest* dapat menyebabkan kompetisi penarikan senyawa, sehingga penyarian zat aktif menjadi tidak optimal.

3.2. Skrining fitokimia flavonoid

Skrining fitokimia flavonoid dilakukan untuk melihat keberadaan senyawa flavonoid dalam ekstrak dan fraksi bunga pepaya jantan. Identifikasi flavonoid dalam penelitian ini menggunakan kontrol positif senyawa kuersetin karena senyawa ini termasuk golongan senyawa flavanoid. Hasil fitokimia flavonoid ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi *aquadest* positif menggunakan uji Taubeck dan Wilstater ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Skrining fitokimia flavonoid ekstrak dan fraksi bunga pepaya jantan

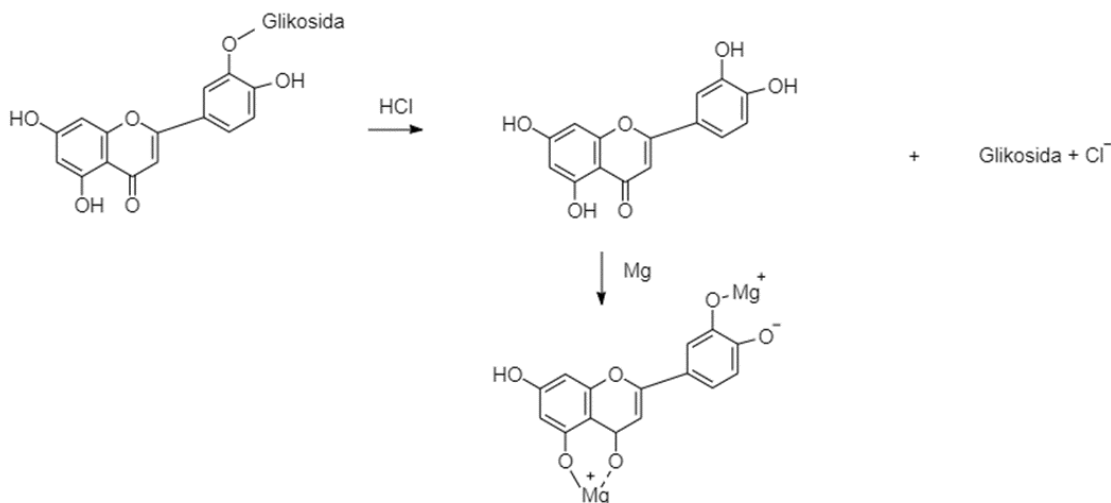
Sampel	Uji	
	Wilstater	Taubeck
Kuersetin	+	+
Ekstrak etanol	+	+
Fraksi n-heksan	+	+
Fraksi etil asetat	+	+
Fraksi air	+	+

Keterangan:

(+) = Positif (mengandung flavonoid)

(-) = Negatif (tidak mengandung flavonoid)

Penambahan serbuk Mg dan HCl pekat pada uji Wilstater menyebabkan proses reduksi pada ortohidroksi menghasilkan senyawa kompleks Mg-flavonoid yang warna merah atau jingga pada *flavonol*, *flavanon*, *flavanonol* dan *xanton*, reaksi dapat dilihat pada Gambar 1.

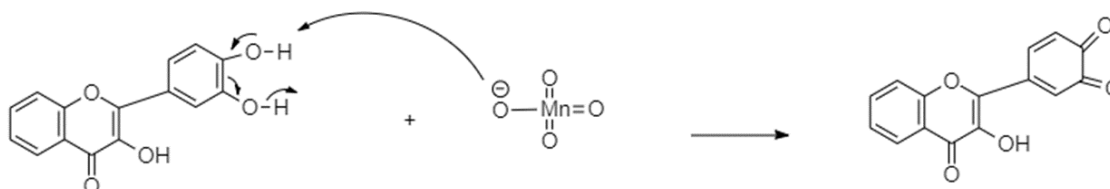


Gambar 1. Uji flavonoid dengan reaksi Wilstater

Penambahan aseton, asam borat, asam okasalat pada uji Taubeck berfungsi memperbesar pergeseran batokromik melalui kompleks flavonoid. Pembentukan kompleks memberikan fluoresensi kuning pada UV 366 nm (Mariana *et al.*, 2013).

3.3 Uji kualitatif flavonoid secara KLT

Hasil pengamatan diperoleh nilai *Rf* pada ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi *aquadest* sebesar 0,19 dan 0,94. Senyawa flavonoid diidentifikasi dengan penampak bercak $KMnO_4$. Setelah dicelupkan $KMnO_4$ akan menampakkan bercak berwarna kuning karena senyawa flavonoid sensitif terhadap oksidasi. Reaksi oksidasi flavonoid dengan $KMnO_4$ dapat dilihat pada Gambar 2. Nilai masing-masing *Rf* sampel ditunjukkan pada Tabel 2.



Gambar 2. Mekanisme reaksi oksidasi flavonoid

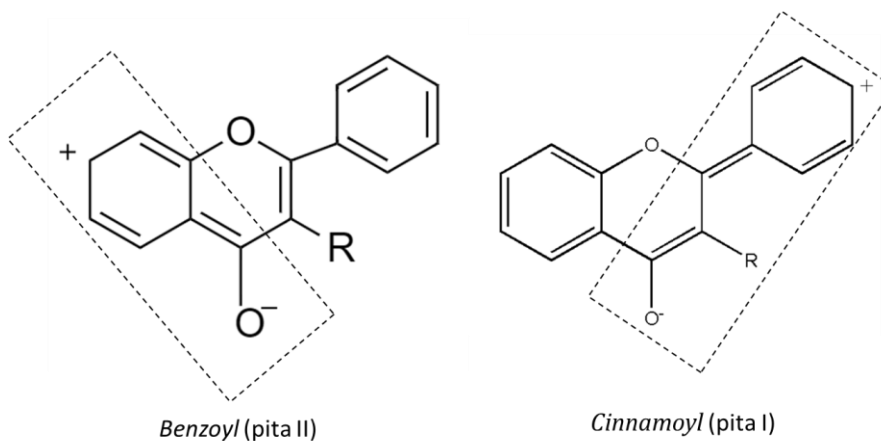
Tabel 2. Hasil pengamatan KLT ekstrak dan fraksi bunga pepaya jantan

Sampel	<i>Rf</i>	Sebelum dicelup $KMnO_4$		Setelah dicelup $KMnO_4$
		UV 254 nm	UV 366 nm	Tampak mata
Kuersetin	0,94	Kecoklatan	Biru	Kuning
Ekstrak etanol	0,19	Kecoklatan	Biru	Kuning
Fraksi n-heksan	0,94	Kecoklatan	Biru	Kuning
	0,19	Kecoklatan	Biru	Kuning
Fraksi etil asetat	0,94	Kecoklatan	Biru	Kuning
	0,19	Kecoklatan	Biru	Kuning
Fraksi <i>aquadest</i>	0,94	Kecoklatan	Biru	Kuning
	0,19	Kecoklatan	Biru	Kuning

Hasil elusi plat KLT ekstrak dan fraksi bunga pepaya jantan dengan fase gerak n-butanol : asam asetat : *aquadest* (4:1:5) menunjukkan adanya 2 pemisahan bercak pada nilai *Rf* 0,19 dan 0,94. Hal tersebut mendukung data identifikasi tentang adanya kandungan flavonoid, salah satunya seperti kuersetin dalam ekstrak maupun fraksi-fraksi, karena memiliki nilai *Rf* dan warna noda yang sama seperti kuersetin.

3.4 Karakterisasi senyawa flavonoid dengan spektrofotometri UV-Vis

Karakterisasi senyawa flavonoid dilakukan dengan melihat karakter spektrum menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Adanya serapan pita I (*cinnamoyl*) pada daerah 300-400 nm berasal dari serapan cincin B pada molekul flavonoid, serapan pita II (*benzoyl*) pada daerah 220-280 nm berasal dari cincin A ($\pi \rightarrow \pi^*$) (Markham, 1988).



Gambar 3. Struktur *benzoyl* dan *cinnamoyl* pada flavonoid

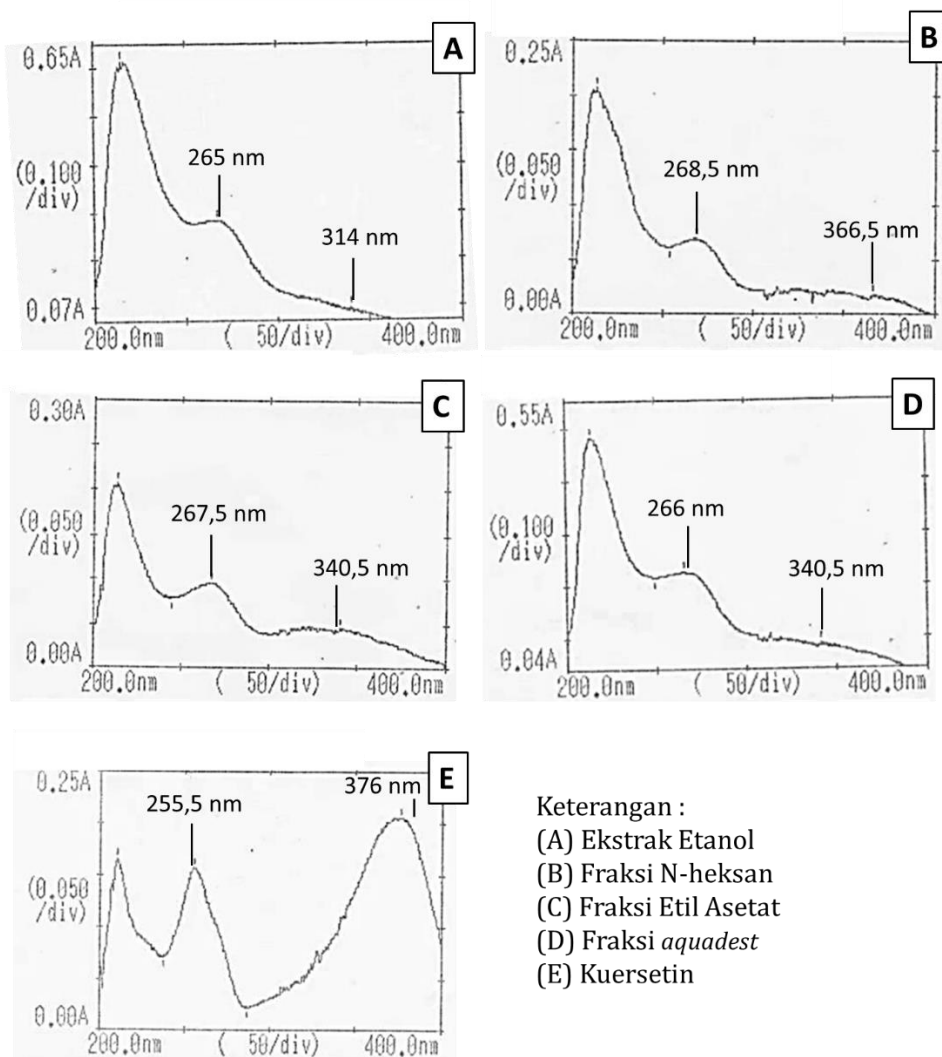
Serapan maksimum pita I (330-360 nm) dan pita II (250-280 nm) dalam ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi *aquadest* bunga pepaya jantan (*Carica papaya* L.) menunjukkan adanya karakteristik *flavonol 3-OH* tersubstitusi, sedangkan spektrum pada fraksi n-heksan menunjukkan adanya karakteristik *flavonol 3-OH* bebas pada pita I (350-385 nm) dan pita II (250-280 nm), penjelasan ini dapat dilihat di Tabel 3.

Tabel 3. Hasil spektrum flavonoid ekstrak dan fraksi bunga pepaya jantan

No.	Sampel	Pita I (<i>cinnamoyl</i>)	Pita II (<i>benzoyl</i>)	Interpretasi Jenis Flavonoid (Feng, et al., 2017)
1.	Ekstrak etanol	340,0 nm	265,5 nm	Flavonol 3-OH tersubstitusi
2.	Fraksi n-heksan	366,5 nm	268,5 nm	Flavonol 3-OH bebas
3.	Fraksi etil asetat	340,5 nm	267,5 nm	Flavonol 3-OH tersubstitusi
4.	Fraksi <i>aquadest</i>	341,0 nm	266,0 nm	Flavonol 3-OH tersubstitusi
5.	Kuersetin	376,0 nm	255,5 nm	Flavonol 3-OH bebas

Spektrum flavonoid dari ekstrak dan fraksi bunga pepaya jantan dapat dilihat pada Gambar 4. Berdasarkan hasil analisis terdapat serapan daerah 210-216 nm pada setiap fraksi dan ekstrak, hal tersebut diduga berasal dari serapan metanol, karena metanol dapat memberikan serapan terendah pada 205 nm (Rastuti & Purwati, 2012). Perbedaan polaritas penyari flavonoid menunjukkan perbedaan jenis flavonoid yang terekstraksi. Fraksi n-heksan menunjukkan adanya jenis flavonol yang memiliki polaritas yang lebih rendah seperti aglikon flavonoid, hal ini dapat

dibuktikan dari hasil karakterisasi dengan spektrofotometer UV-VIS yang menunjukkan jenis flavonol 3-OH bebas.



Gambar 4. Spektrum flavonoid dari ekstrak dan fraksi bunga pepaya jantan

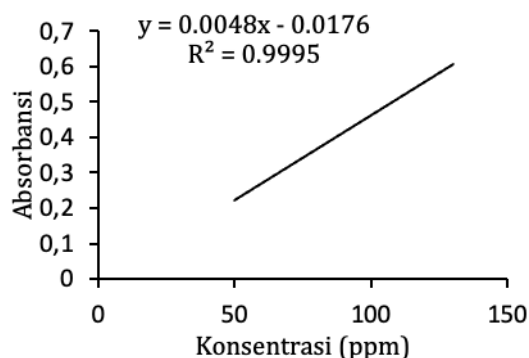
Perbedaan hasil spektrum dalam ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi *aquadest* mengandung senyawa flavonoid yang lebih polar seperti glikosida yang terikat pada molekul flavonoid, hal ini dapat dibuktikan dari hasil karakterisasi dengan spektrofotometer UV-VIS yang menunjukan jenis *flavonol 3-OH* tersubstitusi.

3.5 Penetapan kadar flavonoid total

Analisis kadar flavonoid total menggunakan metode kolorimetri yaitu dengan adanya dengan prinsip pembentukan warna karena terbentuknya senyawa kompleks antara $AlCl_3$ dengan gugus

keton pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari *flavonol* dan *flavon*. Standar yang digunakan yaitu kuersetin karena memiliki gugus keton pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 dan C-5 yang bertetangga.

Penetapan kadar flavonoid diawali dengan penentuan *operating time* (OT). Penentuan OT dilakukan untuk mengetahui lama waktu yang tepat agar sampel bereaksi dengan reaktan membentuk senyawa yang stabil (Beda, 2018). OT reaksi kuersetin dengan AlCl_3 10% didapatkan pada menit ke 26. Selanjutnya untuk mengetahui panjang gelombang saat mencapai serapan maksimum dan memiliki daya serap relatif konstan, dilakukan pengukuran panjang gelombang maksimum. Pengukuran dilakukan pada rentang panjang gelombang 400-450 nm dan memberikan nilai absorbansi optimum sebesar 0,558, absorbansi ini menunjukkan panjang gelombang maksimum berada pada daerah 415 nm.



Gambar 5. Kurva hubungan konsentrasi dengan absorbansi kuersetin

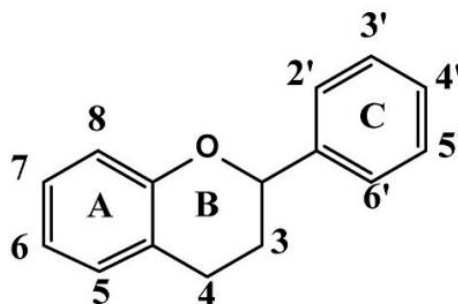
Kurva baku dibuat menggunakan konsentrasi 50, 70, 90, 110, dan 130 ppm, karena pada konsentrasi tersebut dihasilkan absorbansi yang baik antara 0,2-0,8. Hasil kurva hubungan konsentrasi dengan absorbansi kuersetin menunjukkan adanya perbandingan lurus yaitu semakin besar konsentrasi yang digunakan maka semakin besar pula nilai absorbansi yang dihasilkan. Persamaan linier yang dihasilkan $y = 0,0048x - 0,0176$ dengan nilai koefisien korelasi 0,9995 yang mendekati 1 menunjukkan adanya hubungan antara konsentrasi larutan dengan nilai absorbansi dan kurva kalibrasi linear serta memiliki korelasi sangat kuat yang sesuai dengan hukum *Lambert Beer*.

Kandungan flavonoid total dalam ekstrak tanaman obat dapat ditentukan kolorimetri, salah satunya menggunakan aluminium klorida. Ion Al(III) digunakan sebagai agen pengompleks. Metode ini didasarkan pada pembentukan kelat Al(III) -flavonoid. Karena banyaknya gugus okso dan hidroksil pada flavonoid memiliki afinitas yang besar untuk mengikat ion logam seperti Al(III) .

Tabel 3. Hasil kadar flavonoid total ekstrak dan fraksi bunga pepaya jantan

Sampel	Pengulangan	Absorbansi	Kadar Flavonoid (% QE)	Rata-rata Kadar Flavonoid±SD (% QE)	% KV
Ekstrak Etanol	I	0,503	0,6779	0,6805±0,0045	0,6613
	II	0,503	0,6779		
	III	0,509	0,6858		
Fraksi n-Heksan	I	0,299	0,4122	0,4178±0,0058	1,3882
	II	0,303	0,4174		
	III	0,308	0,4239		
Fraksi Etil Asetat	I	0,398	0,5411	0,5411±0,0052	0,9610
	II	0,394	0,5359		
	III	0,402	0,5463		
Fraksi <i>aquadest</i>	I	0,382	0,5203	0,5207±0,0007	0,1344
	II	0,382	0,5203		
	III	0,383	0,5216		

Penetapan flavonoid memerlukan agen pengompleks untuk meningkatkan nilai absorbansi dan menjadi pengoreksi larutan ekstrak yang umumnya berwarna hijau muda- coklat yang memberikan serapan 400-450 nm, sehingga diperlukan penambahan agen pengompleks aluminium klorida yang menghasilkan warna larutan kuning. Penambahan asam asetat dalam analisis kadar flavonoid dilakukan untuk membentuk suasana asam. Hal ini akan membuat C-4 keto dan 3 atau 5-OH tetap stabil membentuk kompleks dengan $AlCl_3$ sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah batokromik yang maksimal (Ipandi *et al.*, 2016). Pengikatan flavonoid-Al dapat terjadi di tiga lokasi: gugus 3-hidroksi - 4-karbonil (situs 3-4 di cincin-B); gugus 5-hidroksi (cincin-A) - gugus 4-karbonil (cincin-C) (situs 4-5); dan 3',4' - gugus dihidroksi (situs 3' - 4'" dalam cincin-C) (Chang *et al.*, 2002).



Gambar 6. Struktur umum flavonoid

Kadar senyawa flavonoid tertinggi dapat dilihat pada Tabel 3 yaitu pada ekstrak etanol sebesar 0,6805±0,0045 %QE, kadar senyawa flavonoid terendah pada fraksi n-heksan sebesar 0,4178 ±0,0058 %QE. Berdasarkan hasil penetapan kadar flavonoid maka senyawa flavonoid dalam bunga pepaya jantan memiliki sifat semi polar, polar dan non polar. Ekstrak etanol memiliki kadar flavonoid tertinggi karena etanol dapat menyari senyawa metabolit sekunder dengan polaritas yang luas seperti glikosida flavonoid dan aglikon flavonoid.

Kandungan flavonoid dalam fraksi etil asetat menunjukkan senyawa flavonoid bersifat semi polar juga banyak terdapat pada bunga pepaya jantan. Flavonoid yang tersari dalam fraksi *aquadest* merupakan senyawa flavonoid yang berikatan dengan glikosida, yang umumnya bersifat polar larut dalam *aquadest*. Fraksi n-heksan menunjukkan kandungan flavonoid bersifat non polar yang paling rendah, flavonoid yang bersifat non polar ini dapat ikut menarik senyawa non polar seperti steroid dan lemak (Firnando, 2019).

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa bunga pepaya jantan (*Carica papaya* L.) mengandung flavonoid dengan jenis *flavonol 3-OH* tersubstitusi pada ekstrak etanol, fraksi etil asetat, fraksi *aquadest*, sedangkan fraksi n-heksan menunjukkan *flavonol 3-OH* bebas. Kadar flavonoid terdapat tertinggi terdapat dalam ekstrak etanol sebesar $0,6805 \pm 0,0045$ %QE, diikuti fraksi etil asetat $0,5411 \pm 0,0052$ %QE, fraksi *aquadest* $0,5207 \pm 0,0007$ %QE, kadar terendah dalam fraksi n-heksan $0,4178 \pm 0,0058$ %QE.

Daftar pustaka

- Andarwulan, N., Kurniasih, D., Apriady, R. A., Rahmat, H., Roto, A. V., & Bolling, B. W. (2012). Polyphenols, carotenoids, and ascorbic acid in underutilized medicinal vegetables. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 339-347. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.01.003>
- Asghar, N., Naqvi, S. A., Hussain, Z., Rasool, N., Khan, Z. A., Shahzad, S. A., Sherazi, T. A., Janjua, M. R., Nagra, S. A., Zia-Ul-Haq, M., & Jaafar, H. Z. (2016). Compositional difference in antioxidant and antibacterial activity of all parts of the *Carica papaya* using different solvents. *Chem Cent J*, 10, 5. <https://doi.org/10.1186/s13065-016-0149-0>
- Asmorowati, H., dan Lindawati, N. Y., 2019, Penetapan Kadar Flavonoid Total Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan metode spektrofotometri, *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 15(2), 51–63.
- Baskaran, C., bai, V. R., Velu, S., & Kumaran, K. (2012). The efficacy of *Carica papaya* leaf extract on some bacterial and a fungal strain by well diffusion method. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2, S658-S662. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(12\)60239-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S2222-1808(12)60239-4)
- Beda, T. O. (2018). *Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (Drymoglossum Piloselloides [L.] Presl) dengan Metode Kolorimetri AlCl3* Politeknik Kesehatan Kemenkes Kupang]. Kupang.
- Chaaban, H., Ioannou, I., Chebil, L., Slimane, M., Gerardin, C., Paris, C., Charbonnel, C., Chekir-Ghedira, L., & Ghoul, M. (2017). Effect of heat processing on thermal stability and antioxidant activity of six flavonoids: CHAABAN et al. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41, e13203. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13203>
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10, 178-182. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- Degu, S., Negeri, N. G., Abebe, A., Berihun, A., Arega, E., Sisay, B., Gameda, H., Ashebir, R., Amano, A., Fekadu, N., Kasahun, T., Taye, S., & Bitew, A. (2020). In Vitro Antifungal Activity,

- Phytochemical Screening and Thin Layer Chromatography Profiling of *Impatiens tinctoria* A. Rich Root Extracts. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 8, 189-196.
- Djamil, R., & Zaidan, S. (2016). Isolasi Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr), Euphorbiaceae. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 14(1), 57-61.
- Firnando, H. (2019). Penetapan Kadar Total Fenolik Dan Flavonoid Fraksi Butanol Dan Fraksi Air dari Ekstrak Etanol Rimpang *Acorus Sp.* *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 4(1).
- Imaga, N., Gbenle, G., Okochi, I., Adenekan, S., Duro-Emmanuel, T., Oyeniya, B., Dokai, P., Oyenuga, M., Otumara, A., & Ekeh, F. (2010). Phytochemical and antioxidant nutrient constituents of *Carica papaya* and *Parquetina nigrescens* extracts. *Scientific Research and Essays*, 5(16).
- Ipandi, I., Triyasmono, L., & Budi, P. (2016). Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kajajahi (*Leucosyke capitellata* Wedd.). *Pharmascience*, 3(1).
- Juárez-Rojop, I. E., Tovilla-Zárate, C. A., Aguilar-Domínguez, D. E., Fuente, L. F. R.-d. l., Lobato-García, C. E., Blé-Castillo, J. L., López-Meraz, L., Díaz-Zagoya, J. C., & Bermúdez-Ocaña, D. Y. (2014). Phytochemical screening and hypoglycemic activity of *Carica papaya* leaf in streptozotocin-induced diabetic rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24(3), 341-347.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bjp.2014.07.012>
- Lien, G. T. K., Van, D. T. T., Cuong, D. H., Yen, P. H., Tai, B. H., & Kiem, P. V. (2019). A New Phenolic Constituent From *Carica papaya* Flowers and Its Tyrosinase Inhibitory Activity. *Natural Product Communications*, 14(7), 1934578X19850987.
<https://doi.org/10.1177/1934578X19850987>
- Manurung, H., Kustiawan, W., Kusuma, I., & Marjenah, M. (2017). Total flavonoid content and antioxidant activity of tabat Barito (*Ficus deltoidea* Jack) on different plant organs and ages. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 5, 120-125.
- Mariana, L., Andayani, Y., & Erin, R. G. (2013). Analisis Senyawa Flavonoid Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Daun Keluwih (*Artocarpus camansi*) Universitas Mataram].
- Markham, K. R. (1988). Cara mengidentifikasi flavonoid. In K. Padmawinata & S. Niksolihin (Eds.): ITB.
- Nga, V., Trang, N., Tuyet, N., Phung, N., Ngo, T. T. D., & Nguyen-Thi-Hoai, T. (2020). Ethanol extract of male *Carica papaya* flowers demonstrated non-toxic against MCF-7, HEP-G2, HELA, NCI-H460 cancer cell lines. *Vietnam Journal of Chemistry*, 58, 86-91.
<https://doi.org/10.1002/vjch.2019000142>
- Ningsih, G., Utami, S. R., & Nugrahani, R. A. (2015). Pengaruh Lamanya Waktu Ekstraksi Remaserasi Kulit Buah Durian Terhadap Rendemen Saponin Dan Aplikasinya Sebagai Zat Aktif Anti Jamur. *Jurnal Konversi Universitas Muhammadiyah Jakarta*, 4(1).
<https://doi.org/10.24853/konversi.4.1.%p>
- Nugroho, A., Heryani, H., Choi, J. S., & Park, H.-J. (2017). Identification and quantification of flavonoids in *Carica papaya* leaf and peroxynitrite-scavenging activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(3), 208-213.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.12.009>
- Nwaehujor, C. O., Ode, J. O., Ekwere, M. R., & Udegbumam, R. I. (2014). Anti-fertility effects of fractions from *Carica papaya* (Pawpaw) Linn. methanol root extract in male Wistar rats. *Arabian Journal of Chemistry*.
- Pongoh, A. F., Queljoe, E., & Rotinslu, H. (2020). Uji Antidiabetik Ekstrak Etanol Bunga Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Aloksan. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*, 9(1).
<https://doi.org/https://doi.org/10.35799/pha.9.2020.27423>

- Rastuti, U., & Purwati. (2012). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kalba (*Albizia falcataria*) dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekundernya. *Molekul*, 7(1), 33-42.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.20884/1.jm.2012.7.1.104>
- Riwanti, P., Izazih, F., & Amaliyah, A. (2020). Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50,70 dan 96% Sargassum Polycystum dari Madura. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 2(2), 82-95. <https://doi.org/10.36932/jpcam.v2i2.1>
- Sa'adah, H., & Nurhasnawati, H. (2017). Perbandingan Pelarut Etanol dan Air pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr) menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), 149-153.
<https://doi.org/https://doi.org/10.51352/jim.v1i2.27>
- Sembiring, E., Sangi, M. S., & Suryanto, E. (2016). Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi dari Biji Jagung (*Zea mays* L.). *Chemistry Progress*, 9(1), 16-24.
<https://doi.org/https://doi.org/10.35799/cp.9.1.2016.13908>
- Snyder, L. R., Kirkland, J. J., & Dolan, J. W. (2009). *Introduction to Modern Liquid Chromatography* 3 ed., John Wiley and Sons Inc
- Tay, Z. H., & Chong, K. P. (2016). The potential of papaya leaf extract in controlling *Ganoderma boninense*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 36(1), 012027.
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/36/1/012027>
- Yuslianti, E. R., Bachtiar, B. M., Suniarti, D. F., & Afifah, B. S. (2016). Standardisasi Farmasitikal Bahan Alam Menuju Fitofarmaka Untuk Pengembangan Obat Tradisional Indonesia. *Dentika Dental Journal*, 19(2), 179-185.
- Zuhrotun Nisa, F., Astuti, M., Murdiati, A., & Mubarika Haryana, S. (2017). Anti-proliferation and Apoptosis Induction of Aqueous Leaf Extract of *Carica papaya* L. on Human Breast Cancer Cells MCF-7. *Pak J Biol Sci*, 20(1), 36-41. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2017.36.41>