

SKRIPSI

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOL DAUN
PARE HUTAN (*Momordica balsamina*) DENGAN METODE
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**



**PROGRAM STUDI S1 FARMASI FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
MATARAM
TAHUN 2022/2023**

LEMBAR PENGESAHAN DOSEN PEMBIMBING

PROPOSAL SKRIPSI

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOL DAUN
PARE HUTAN (*Momordica balsamina*) DENGAN METODE
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

Oleh :

PUTRI HIDAYANI
NIM. 2019E1C042

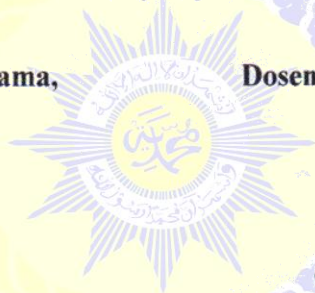
Menyetujui,

Dosen Pembimbing Pertama,

Dosen Pembimbing Kedua,



(apt. Yuli Fitriana, M.Farm)
NIDN. 0822078202



(apt. Abdul Rahman W, M.Farm)
NIDN. 0817038601


**PROPOSAL SKRIPSI INI TELAH DISEMINARKAN DAN DIUJI OLEH
TIM PENGUJI PADA HARI, TANGGAL BULAN TAHUN**

OLEH

DEWAN PENGUJI

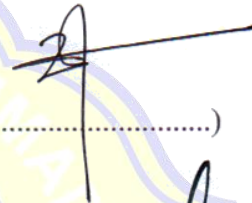
Ketua Tim Penguji

apt. Yuli Fitriana, M.Farm
NIDN. 0822078202

(.....)


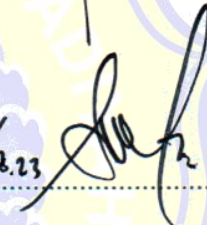
Penguji I

apt. Dzun Haryadi Ittigo, M.Sc
NIDN.0822088101


(.....)


Penguji II

apt. Abdul Rahman Wahid, M.Farm
NIDN. 0817038601

(.....)
16/8.23


Mengetahui,
Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Mataram
Dekan,


(apt. Nurul Qiyaam, M. Farm. Klin)
NIDN. 0827108402

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Saya, yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Putri Hidayani
Tempat, tanggal lahir : Sekongkang Atas, 15 Desember 2000
NIM : 2019E1C042
Program Studi : S1 Farmasi
Fakultas : Fakultas Ilmu Kesehatan
Judul Skripsi : PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK
ETANOL DAUN PARE HUTAN (*Momordica balsamina*)
DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Dengan ini saya menyatakan yang sebenarnya:

1. Bahwa naskah skripsi ini benar-benar orisinal dan baru, dibuat oleh saya sendiri;
2. Bahwa saya tidak menjiplak karya ilmiah milik orang lain;
3. Bahwa naskah ini sepengetahuan saya belum ada yang membuat atau telah dipublikasikan atau pernah ditulis dan/atau diterbitkan oleh orang lain;
4. Bahwa setiap pendapat orang lain yang saya kutip, selalu saya cantumkan sumber kutipan dan daftar pustaka.

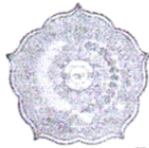
Apabila pernyataan saya tidak benar dan dikemudian hari ternyata ada pihak lain yang mengklaim sebagai tulisannya yang saya jiplak, maka saya akan bertanggungjawabkan sendiri tanpa melibatkan dosen pembimbing dan/atau Program Studi S1 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram dan saya bersedia menerima sanksi akademis berupa dicabutnya predikat kelulusan/gelar kesarjanaannya.

Mataram, 21 Agustus 2023

Yang membuat pernyataan,



Putri Hidayani
NIM. 2019E1C042



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PENELITIAN DAN
PENGEMBANGAN PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
UPT. PERPUSTAKAAN H. LALU MUDJITAHID UMMAT

Jl. K.H.A. Dahlan No.1 Telp.(0370)633723 Fax. (0370) 641906 Kotak Pos No. 108 Mataram
Website : <http://www.lib.ummat.ac.id> E-mail : perpustakaan@ummat.ac.id

SURAT PERNYATAAN BEBAS
PLAGIARISME

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Mataram, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Putri Hidayani
NIM : 2019E1C042
Tempat/Tgl Lahir : Sekongkang Atas, 15 -12- 2000
Program Studi : SI - Farmasi
Fakultas : Ilmu Kesehatan
No. Hp : 082339558182
Email : hidayaniputri2000@gmail.com

Dengan ini menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Skripsi/KTI/Tesis* saya yang berjudul :

PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOL
DAUN PARE HUTAN (*Momordica balsamina*) DENGAN METODE
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Bebas dari Plagiarisme dan bukan hasil karya orang lain. 46%

Apabila dikemudian hari ditemukan seluruh atau sebagian dari Skripsi/KTI/Tesis* tersebut terdapat indikasi plagiarisme atau bagian dari karya ilmiah milih orang lain, kecuali yang secara tertulis disitasi dan disebutkan sumber secara lengkap dalam daftar pustaka, saya bersedia menerima sanksi akademik dan/atau sanksi hukum sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Muhammadiyah Mataram.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya tanpa ada paksaan dari siapapun dan untuk dipergunakan sebagai mana mestinya.

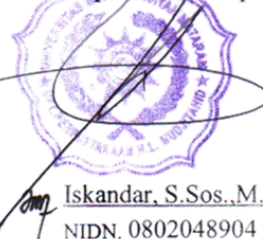
Mataram, 18 Agustus 2023

Penulis



Putri Hidayani
NIM. 2019E1C042

Mengetahui,
Kepala UPT Perpustakaan UMMAT



Iskandar, S.Sos.,M.A.
NIDN. 0802048904

*pilih salah satu yang sesuai



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PENELITIAN DAN
PENGEMBANGAN PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
UPT. PERPUSTAKAAN H. LALU MUDJITAHID UMMAT

Jl. K.H.A. Dahlan No.1 Telp.(0370)633723 Fax. (0370) 641906 Kotak Pos No. 108 Mataram
Website : <http://www.lib.ummat.ac.id> E-mail : perpustakaan@ummat.ac.id

SURAT PERNYATAAN PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Mataram, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Putri Hidayani
NIM : 2019E1C042
Tempat/Tgl Lahir : Sekongkang Atas, 15-12-2000
Program Studi : S1 - Farmasi
Fakultas : Ilmu Kesehatan
No. Hp/Email : 082339558182
Jenis Penelitian : Skripsi KTI Tesis

Menyatakan bahwa demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada UPT Perpustakaan Universitas Muhammadiyah Mataram hak menyimpan, mengalih-media/format, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (*database*), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Repository atau media lain untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama *tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta* atas karya ilmiah saya berjudul:

PETETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOL DAUN
PARE HUTAN (*Momordica balsamina*) DENGAN METODE
SPEKTROFOTOMETRI UV - VIS

Pernyataan ini saya buat dengan sungguh-sungguh. Apabila dikemudian hari terbukti ada pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah ini menjadi tanggungjawab saya pribadi.
Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya tanpa ada unsur paksaan dari pihak manapun.

Mataram, 18 Agustus 2023
Penulis



Putri Hidayani
NIM. 2019E1C042

Mengetahui,
Kepala UPT, Perpustakaan UMMAT



Iskandar, S.Sos., M.A.
NIDN. 0802048904

MOTTO

**Terus Percaya, Yang Terbatas Itu Kita Bukan Allah, Minta Semuanya
Kepada Allah Tak Ada Yang Mustahil, Karena Allah Selalu Mengabulkan
Do'a Kita Lewat Cara Yang Tak Pernah Kita Duga.**



KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil'alamiin Puji syukur atas kehadiran Allah SWT, atas segala rahmat dan karunia-Nya yang tak terhitung sehingga penulis diberikan hikmat untuk dapat menyelesaikan penyusunan skripsi dengan judul “Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Pare Hutan (*Momordica balsamina*) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis” yang merupakan salah satu persyaratan untuk menyelesaikan studi pada Program Studi S1 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.

Sholawat serta salam juga tidak lupa penulis haturkan kepada Nabi Muhammad SAW, keluarga dan para sahabat serta orang-orang yang mengikutinya. Penulis menyadari bahwa selama proposal ini dibuat banyak kendala yang dihadapi, namun penulisan proposal ini dapat diselsaikan karena tidak lepas dari do'a, bantuan, bimbingan, semangat, dan dukungan dari Ibu/Bapak, saudara dan teman-teman. Maka dalam kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu penyusunan proposal ini, terutama :

1. Ibu Apt. Nurul Qiyaam M.Farm. Klin. selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram.
2. Ibu Cahaya Indah Lestari, M.Keb selaku Wakil Dekan I Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Matram.
3. Bapak Apt. Abdul Rahman Wahid, M.Farm selaku Wakil Dekan II Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Matram, serta selaku

pembimbing II yang dengan sabar mengarahkan serta membantu penulis dalam penelitian dan penyusunan proposal skripsi ini.

4. Ibu Apt. Baiq Leny Nopitasari, M.Farm selaku Ketua Kaprodi S1 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Matram.
5. Ibu Apt. Yuli Fitriana M.Farm selaku pembimbing I yang dengan sabar mengarahkan serta membantu penulis dalam penelitian dan penyusunan proposal skripsi ini.
6. Bapak Apt. Dzun Haryadi Ittiqo, M.Sc. selaku penguji yang telah memberikan saran dan masukan dalam penelitian dan penyusunan proposal skripsi ini.
7. Bapak/ibu Dosen S1 Farmasi atas bimbingan kesabran, motivasi selama perkuliahan.
8. Kedua orang tua tercinta dan saudara-saudara yang atas segala dukungan baik dari segi materi, moral maupun spiritual yang telah diberikan kepada saya sehingga proposal skripsi ini dapat saya selsaikan dengan baik.
9. Teman-teman S1 Farmasi yang telah memberikan banyak dukungan dan bantuan dalam proposal skripsi ini.

Semoga Allah SWT memberikan balasan atas bantuan dan dukungannya. Penulis menyadari bahwa proposal skripsi ini jauh dari kata sempurna, maka saran dan kritik sangat dibutuhkan guna menyempurnakan proposal skripsi ini. Penulis berharap proposal ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Mataram, 20 Desember 2022

Penulis

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
FAKULTAS ILMU KESEHATAN PROGRAM STUDI S1 FARMASI
TAHUN 2023

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOL DAUN
PARE HUTAN (*Momordica balsamina*) DENGAN METODE
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

PUTRI HIDAYANI, 2023

Pembimbing : (I) Apt. Yuli Fitriana, M.Farm., (II) Apt. Abdul Rahman Wahid,
M.Farm., (III) Apt. Dzun Haryadi Ittiqo, M.Sc

ABSTRAK

Daun Pare hutan (*Momordica balsamina*) merupakan tanaman yang dapat berkhasiat bagi Kesehatan karena memiliki senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kadar flavonoid total dari ekstrak etanol daun pare hutan dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Sampel diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental analitik dengan sampel yang digunakan yaitu daun pare hutan yang berasal dari desa sekongkang bawah, kecamatan sekongkang. Penentuan kadar flavonoid diawali dengan uji kualitatif kemudian kadar flavonoid diukur menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Hasil uji kualitatif menunjukkan ekstrak etanol daun pare hutan positif mengandung flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid dan berdasarkan hasil uji kuantitatif menggunakan Spektrofotometri UV-Vis penetapan kadar flavonoid total pada ekstrak etanol daun pare hutan yang dibaca pada panjang gelombang maksimum $\lambda_{maks} = 415 \text{ nm}$. Konsentrasi ekstrak etanol daun pare hutan yang digunakan adalah 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm. Dimana hasil pada konsentrasi masing-masing adalah 108,1 mg QE/g, 153,5 mg QE/g, dan 217,1 mg QE/g. Kesimpulan dari penelitian ini adalah kadar flavonoid tertinggi diperoleh pada konsentrasi 100 ppm yaitu 217,1 mg QE/g sedangkan kadar flavonoid terendah terdapat pada konsentrasi 60 pmm yaitu 108,1 mg QE/g. Dan hasil analisis data menggunakan uji One Way ANOVA pada masing-masing konsentrasi membuktikan perbedaan yang signifikan ($p=0,000$).

Kata Kunci : Daun Pare Hutan, Flavonoid Total, Spektrofotometri UV-Vis.

**UNIVERSITY OF MUHAMMADIYAH MATARAM
FACULTY OF HEALTH SCIENCES, PHARMACY PROGRAM, 2023**

**DETERMINATION OF TOTAL FLAVONOID CONTENT IN ETHANOL
EXTRACT OF WILD BITTER GOURD LEAVES (*Momordica balsamina*)
USING UV-VIS SPECTROPHOTOMETRY METHOD**

PUTRI HIDAYANI, 2023

*Supervisors: (I) Apt. Yuli Fitriana, M.Farm., (II) Apt. Abdul Rahman Wahid,
M.Farm., (III) Apt. Dzun Haryadi Ittiqo, M.Sc*

ABSTRACT

*Wild bitter gourd leaves (*Momordica Balsamina*) are plants that have potential health benefits due to the presence of secondary metabolites such as flavonoids, saponins, tannins, and alkaloids. This research aims to analyze the total flavonoid content in the ethanol extract of wild bitter gourd leaves using UV-VIS spectrophotometry method. The samples were extracted using the maceration method with 96% ethanol as the solvent. This study employed an experimental design, with the samples obtained from wild bitter gourd leaves collected from the lower regions of Sekongkang village, Sekongkang sub-district. The determination of flavonoid content began with a qualitative test, followed by quantitative measurement using UV-VIS spectrophotometry. The qualitative test confirmed the presence of flavonoids, saponins, tannins, and alkaloids in the ethanol extract of wild bitter gourd leaves. The quantitative analysis, performed using UV-VIS spectrophotometry, established the total flavonoid content in the ethanol extract with a maximum wavelength (λ_{max}) of 415 nm. The concentrations of the ethanol extract used were 60 ppm, 80 ppm, and 100 ppm, where the results at each concentration are 108.1 mg QE/g, 153.5 mg QE/g, and 217.1 mg QE/g. The conclusion of this research is that the highest flavonoid content is obtained at a concentration of 100 ppm, which is 217.1 mg QE/g, while the lowest flavonoid content is found at a concentration of 60 ppm, which is 108.1 mg QE/g. Furthermore, the data analysis utilizing One Way ANOVA for each concentration demonstrated a significant difference ($p=0.000$).*

Keywords: *Wild Bitter Gourd Leaves, Total Flavonoids, UV-VIS Spectrophotometry.*



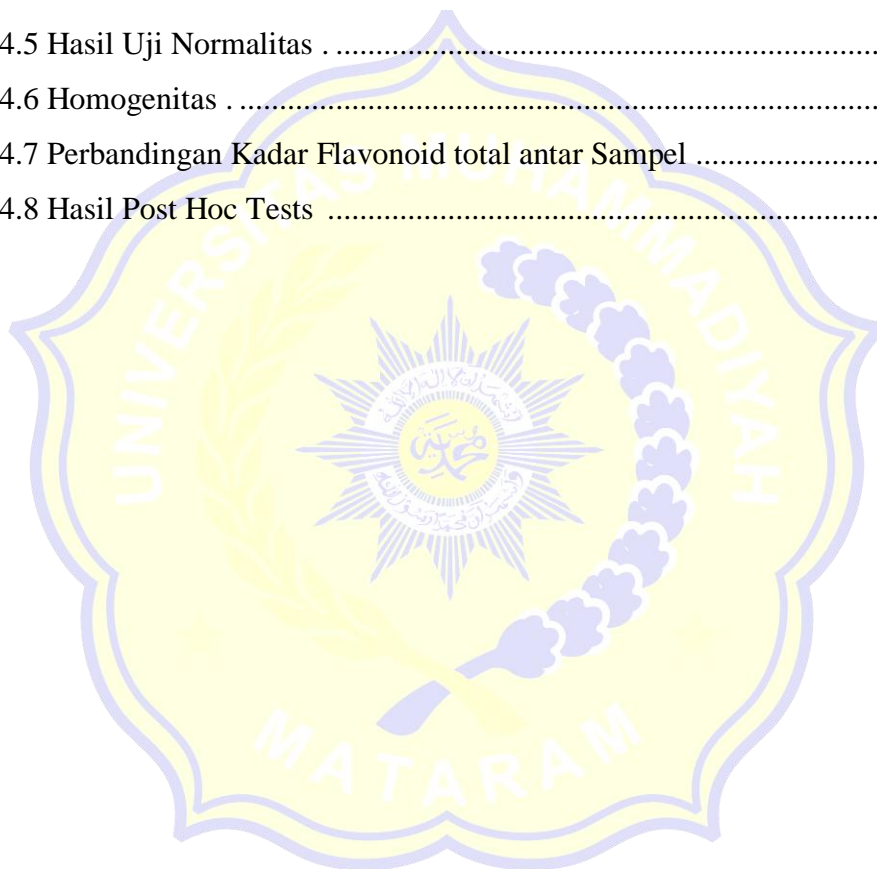
DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN DOSEN PEMBIMBING	ii
HALAMAN PENGESAHAN DOSEN PENGUJI	iii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN	iv
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI.....	v
SURAT PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	vi
MOTTO	vii
KATA PENGANTAR	viii
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Manfaat	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tinjauan Teori	5
2.1.1 Tanaman Pare (<i>Momordica balsamina</i>)	5
2.1.2 Klasifikasi Pare (<i>Momordica balsamina</i>).....	6
2.1.3 Morfologi Pare (<i>Momordica balsamina</i>).....	6
2.1.4 Kandungan Metabolit Skunder Dan Khasiat	7
2.2 Ekstraksi	8
2.3 Ekstraksi Metode Maserasi	9
2.4 Flavonoid	10
2.5 Spektrovotometri UV-Vis.....	12
2.6 Keaslian Penelitian	13
2.7 Kerangka Teori.....	16

2.8 Kerangka Konsep	17
2.9 Hipotesis	17
BAB III METODE PENELITIAN	18
3.1 Desain Penelitian	18
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	18
3.3 Variabel Penelitian	18
3.4 Definisi Operasional	18
3.5 Sampel Penelitian	19
3.6 Alat dan Bahan Penelitian	20
3.6.1 Alat	20
3.6.2 Bahan	20
3.7 Metode Pengumpulan Data	20
3.7.1 Pengambilan Sampel	20
3.7.2 Pembuatan Simplisia	20
3.7.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Tumbuhan Pare Hutan	21
3.7.4 Skrining Fitokimia	21
3.7.5 Analisis Kualitatif Senyawa Flavonoid	23
3.8 Metode Analisis Data	24
BAB IV PEMBAHASAN	26
4.1 Preparasi Dan Ekstrak Sampel	26
4.2 Analisis Kualitatif Ekstrak Etanol Daun Pare Hutan	29
4.3 Analisis Kuantitatif Ekstrak Etanol Daun Pare Hutan Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis	32
4.4 Keterbatasan	39
BAB V PENUTUP	40
5.1 Kesimpulan	40
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Table 2.1 Klasifikasi Metode Ekstraksi	9
Table 2.2 Keaslian Penelitian	13
Tabel 4.1 Rendemen Ekstrak Etanol Daun Pare Hutan	28
Tabel 4.2 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Pare Hutan	29
Tabel 4.3 Hasil Pengukuran Absorbansi Larutan Standar Kuersetin Pada PanjangGelombang 415 nm	34
Tabel 4.4. Hasil Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Pare Hutan	36
Tabel 4.5 Hasil Uji Normalitas	37
Tabel 4.6 Homogenitas	37
Tabel 4.7 Perbandingan Kadar Flavonoid total antar Sampel	37
Tabel 4.8 Hasil Post Hoc Tests	37



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun Pare Hutan (<i>Momordica balsamina</i>)	6
Gambar 2.2 Struktur Dasar Flavonoid	11
Gambar 2.3 Kerangka Teori	16
Gambar 2.4 Kerangka Konsep	17
Gambar 4.1 Panjang Gelombang Maksimum Kuarsetin	33
Gambar 4.2 Hasil Kurva Baku Linear.....	35



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia menjadi salah satu negara dengan keanekaragaman hayati jenis tumbuhan obat yang amat tinggi, terhitung sekitar 80% dari seluruh spesies tanaman yang memiliki khasiat obat di dunia. Secara khusus, terdapat 940 dari sekitar 30.000 spesies tumbuhan yang sudah digunakan sebagai bahan pengobatan (Zohriah *et al.*, 2020). Tidak hanya keanekaragaman hayati, Indonesia juga memiliki banyak keanekaragaman suku dan budaya. Menurut Sensus Penduduk Badan Pusat Statistik (BPS) tahun 2010 menyebutkan bahwa ada 1.331 suku yang tersebar di Indonesia (Badan Pusat Statistik, 2015). Setiap suku mempunyai kearifan lokalnya masing-masing, termasuk pemanfaatan tanaman sebagai ramuan untuk pengobatan pada masyarakat. Salah satu sukunya adalah suku Sumbawa yang ada di Nusa Tenggara Barat.

Masyarakat Suku Sumbawa, Provinsi Nusa Tenggara Barat sampai saat ini masih menggunakan tanaman obat di dalam kehidupan sehari-hari. Hal ini sebagian karena alasan tradisi yang diturunkan dari generasi ke generasi, dan sebagian masyarakat telah membuktikan sendiri khasiat berbagai macam jenis tanaman dalam pengobatan (Zohriah *et al.*, 2020). Diantara tanaman yang berkhasiat sebagai obat adalah tanaman pare hutan (*Momordica balsamina*) (Momordica and Albumin, 2021).

Pare Hutan merupakan tanaman pemanjat liar bersulur yang sudah banyak digunakan sebagai obat tradisional dan bahan pangan. Tanaman ini

mempunyai spektrum yang umum dari nilai obat dan gizi (Haryana *et al.*, 2018). Semua bagian tumbuhan bisa digunakan untuk bahan obat, misalnya buahnya bisa dimanfaatkan untuk penurun gula darah, tonikum, penurun demam (antipiretik), obat nafsu makan dan juga obat cacing. Bijinya dapat dimanfaatkan sebagai obat cacing dan obat luka, dan daunnya dapat dimanfaatkan untuk obat cacing, penyubur ASI, batuk, demam, melahirkan (nifas), kencing bernanah dan malaria (Taufan, 2020).

Berdasarkan penelitian (Momordica and Albumin, 2021) Kandungan senyawa hasil skrining fitokimia yang terkandung dalam ekstrak daun pare hutan (*Momordica balsamina*) terdiri dari kelompok senyawa tanin, steroid, fenolik, alkaloid, flavonoid, dan saponin.

Salah satu sumber senyawa flavonoid yang memiliki potensi sebagai antioksidan, antimikroba, antijamur, dan antivirus adalah daun pare (Souda *et al.*, 2018). Flavonoid memiliki banyak manfaat bagi organisme dan sangat bermacam-macam. Hal ini menjelaskan mengapa tanaman yang mempunyai kandungan senyawa flavonoid dimanfaatkan saat pengobatan tradisional (Azizah and Wati, 2018).

Salah satu golongan senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan didalam jaringan tumbuhan adalah flavonoid (Salmia, 2016). Flavonoid juga termasuk dalam salah satu metabolit sekunder terpenting pada tanaman karena mampu mencegah reaksi oksidasi dan memiliki efek reduksi. Flavonoid akan menyumbangkan satu elektron yang kemudian

bergabung dengan radikal bebas yang mengakibatkan flavonoid dapat bertindak sebagai antioksidan (Haerin dkk., 2016).

Umunya klasifikasi flavonoid terdiri dari flavon, flavonol, flavanol, flavanone, ansotianidin, dan kalkon. Pengelompokan jenis flavonoid ini dilandaskan dari perbedaan struktur substitusi flavonoid, dan perbedaan ini menyebabkan terjadinya efek farmakologi yang bermacam-macam. Aktivitas farmakologi pada flavonoid diantaranya meliputi antiinflamasi, antioksidan, antidiabetes, dan antibakteri (Alfaridz, 2018). Dan menjaga tanaman dari tekanan lingkungan, memiliki efek antimikroba, dan melindungi dari paparan radiasi UV (Panche et al., 2016). Dari masa ke masa hingga tahun 2011, lebih dari 9.000 flavonoid telah diidentifikasi dan telah dimanfaatkan sebagai suplemen kesehatan (Wang et al., 2018).

Konsentrasi senyawa flavonoid pada suatu ekstrak dapat dihitung dengan metode Spektrofotometer UV-Vis yaitu dengan menghitung nilai serapan dari sampel (Mukhriani dkk, 2015). Analisa kuantitatif dari Spektrofotometri dikerjakan berlandaskan Hukum Lambert-Beer yaitu jumlah radiasi sinar yang diserap atau diteruskan adalah konsentrasi zat dalam larutan (Neldawati dkk, 2013).

Berdasarkan penjelasan latar belakang diatas, peneliti tertarik untuk melaksanakan penelitian terkait kandungan total flavonoid pada ekstrak etanol daun pare hutan (*Momordica balsamina*) dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis.

1.2 Rumusan Masalah

1. Senyawa metabolit skunder apa sajakah yang terkandung didalam ekstrak etanol daun pare hutan?
2. Berapakah kadar flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak etanol daun pare hutan dan bagaimana hasil data analisis statistiknya?

1.3 Tujuan

1. Untuk melihat apakah didalam ekstrak etanol daun pare hutan terdapat kandungan senyawa flavonoid.
2. Untuk mengetahui kadar total flavonoid yang terdapat dalam ekstrak daun pare hutan.

1.4 Manfaat

Manfaat pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Untuk Masyarakat

Manfaat penelitian ini adalah sebagai sumber informasi untuk masyarakat terkait bagian tanaman yang bisa digunakan menjadi bahan obat tradisional.

- Untuk Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan terkait kandungan flavonoid total pada bagian tumbuhan pare hutan dan juga dapat menjadi referensi untuk peneliti selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Teori

2.1.1 Tanaman Pare (*Momordica balsamina*)

Tanaman Pare termasuk dalam kelompok bangsa *Cucurbitaceae*, Pare Hutan jenis ini adalah pare yang tumbuh liar, buahnya kecil dan rasanya yang pahit (Oktofiani, et al., 2021). Tanaman ini tersebar luas di daerah iklim tropis dan tumbuh baik di dataran rendah. Dapat juga ditemukan tumbuh di tanah terlantar, rawa-rawa, dan juga dapat dibudidayakan dan ditanam di pekarangan dengan dirambatkan di pagar untuk diambil buah dan daunnya. Tanaman ini tidak membutuhkan banyak sinar matahari sehingga dapat hidup dengan baik di tempat yang terlindungi (Suriyawati, 2018). Tanaman pare hutan dapat diperbanyak dari bijinya.

Terdapat tiga macam tumbuhan pare diantaranya pare gajah, pare kodok dan pare hutan. Pare gajah mempunyai daging buah yang tebal, berwarna hijau muda keputihan, berukuran besar dan panjang, serta memiliki rasa yang tidak begitu pahit. Pare kodok buahnya berbentuk bulat pendek, rasanya pahit. Pare hutan adalah pare yang dapat berkembang secara liar dengan buah kecil dan rasanya yang pahit. (Cahyadi, 2009).

Tanaman pare memiliki nama yang berbeda-beda di beberapa daerah di antaranya, paria (Bugis Makassar); pare pahit, Paria, pare, pepareh (Jawa); Paya, paria, truwuk, paita, paliak, pariak, pania, pepule (Nusa Tenggara);

Poya, pudu, pentu, paria belenggede, palia (Sulawesi); pepare, kambeh, paria (Sumatra) (Kusuma, 2012).

2.1.2 Klasifikasi Pare (*Momordica balsamina*)

Tanaman pare diklasifikasikan sebagai berikut (Bhartathi *et al.*, 2011):

Kerajaan : *Plantae*
Divisi : *Magnoliopyta*
Kelas : *Magnoliopsida*
Bangsa : *Cucurbitales*
Keluarga : *Cucurbitaceae*
Marga : *Momordica*
Jenis : *Momordica balsamina*



Gambar 2.1. Daun Pare Hutan (*Momordica balsamina*)

2.1.3 Morfologi Pare (*Momordica balsamina*)

Menurut morfologi, tanaman pare mempunyai batang berstruktur tidak berkayu, berwarna hijau, beralur lima dan permukaan batang tegak. Tanaman pare mempunyai panjang batang kurang lebih 2-5 meter dan mempunyai banyak cabang, tanaman muda dengan rambut lebat, yang akan menghilang setelah tua. Akar tumbuhan pare merupakan akar tunggang dengan bentuk

mengerucut dan bercabang banyak. Akar tanaman pare berwarna putih kekuningan (Maghfoer dkk, 2019).

Pare merupakan tumbuhan berdaun tunggal, panjang tangkai 1,5-5,3 cm, berseling, elips, rasio daun terbagi 5- 7, pangkal daun berbentuk jantung dengan panjang sekitar 3,5-8,5 cm, dan lebar 2,5-6 cm berwarna hijau tua. Tumbuhan pare memiliki bunga bertipe tunggal, dan setiap pohon mempunyai dua jenis kelamin yaitu bunga jantan dan betina. Tangkai bunga jantan panjangnya sekitar 2-5,5 cm, sedangkan bunga betina memiliki panjang 1-10 cm. Kelopak berbentuk lonceng dan mahkota berwarna kuning (Iswanto, 2022). Bentuk buah pare jenis ini berukuran kecil, berwarna hijau dan bergerigi. Selain itu, terdapat biji pipih dengan alur tidak beraturan dan biji yang keras berwarna coklat kekuningan, yang dimana akan dibutuhkan untuk memperbanyak tanaman pare (Naldi, 2022).

2.1.4 Kandungan Metabolit Skunder dan Khasiat

Menurut (Evaluation and Southern, 2018) hasil Skrining fitokimia buah menunjukkan adanya asam lemak, karbohidrat, tanin, flavonoid, sterol, saponin dan alkaloid. Pada pemeriksaan fitokimia ekstrak metanol daun pare hutan (*Momordica balsamina* Linn.) memiliki senyawa steroid, alkaloid, flavonoid dan fenolik (Momordica and Albumin, 2021). Di Indonesia, buah Pare tidak hanya dikenal sebagai sayuran, tetapi juga secara tradisional dimanfaatkan sebagai obat pencahar dahak, obat demam dan perangsang nafsu makan. Selain itu, daun pare digunakan untuk meredakan haid, sebagai obat luka bakar, sebagai obat penyakit kulit dan obat cacingan (Hernawati, 2011).

Manfaat lain menurut berbagai penelitian melaporkan bahwa ekstrak tanaman *M. balsamina* memiliki aktivitas antivirus, antiinflamasi, anti diare, antiseptik, antimikroba, antidiabetes dan anti-plasmodial dan digunakan dalam pengobatan tradisional Afrika (Souda *et al.*, 2018).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pelepasan senyawa dari simplisia menggunakan pelarut yang sesuai (Nofita *et al.*, 2021). Ekstraksi bertujuan untuk menarik kandungan kimia pada bahan alam baik dari tumbuhan, hewan, dan organisme laut dengan memakai pelarut tertentu. Metode ekstraksi didasarkan pada kemampuan pelarut untuk menyerap senyawa terlarut keluar dari dalam sel karena terdapat perbedaan antara tekanan didalam dengan di luar sel. Cara ini berlanjut hingga bahan aktif di dalam dan di luar sel seimbang (Asdar, 2022).

Ekstraksi dapat dikatakan sempurna karena dipengaruhi oleh pemilihan metode dan pelarut yang tepat (Maharani *et al.*, 2021). Efektivitas ekstraksi suatu metabolit sekunder sangat dipengaruhi oleh kelarutannya dalam suatu pelarut. Hal ini sama dengan prinsip *like dissolve like* yaitu suatu senyawa akan terlarut pada pelarut yang memiliki sifat kepolaran yang sama (Verdiana, Widarta and Permana, 2018).

Ektrak yang di pengaruhi oleh rendemen diakibatkan oleh beberapa faktor diantaranya metode ekstraksi yang dipakai. Metode ekstraksi terdiri dari ekstraksi dingin meliputi maserasi dan perkolasi. adapun ekstraksi panas meliputi sokhletasi dan refluks, (Metode and Dan, 2020). Deskripsi masing – masing metode di tunjukkan pada table 2.1

Tabel 2.1 Klasifikasi metode ekstraksi (Aktivitas *et al.*, 2017).

Metode Ekstraksi	Teknik	Deskripsi
Cara Dingin	Meserasi	Ekstraksi simplisia dengan pelarut (polar/nonpolar) didiamkan selama 18-36 jam, diaduk pada suhu ruang.
	Perkolasi	Ekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut yang selalu baru, sehingga terjadi penyarian lengkap pada suhu kamar.
Cara Panas	Reflux	Ekstraksi mempercepat reaksi menggunakan pemanasan dan tidak akan mengurangi jumlah zat yang ada dan akan berjalan lancar jika pemanasannya tetap.
	Soxhletasi	Soxhletasi simplisia menggunakan pelarut baru dan filtrasi berulang.
Dipercepat	Ultrasonik	Ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonic pada frekuensi 16 - 20 KHz.

2.3 Ekstraksi Metode Maserasi

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Maserasi adalah metode ekstraksi simplisia secara sederhana yang menggunakan pelarut pada suhu ruangan (kamar) dengan pengocokan atau pengadukan berulang kali yang memiliki tujuan untuk menyerap zat-zat berkhasiat yang tahan terhadap pemanasan maupun tidak tahan terhadap pemanasan. Secara teknologi, maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang prinsipnya adalah untuk mencapai kesetimbangan konsentrasi (Depkes RI, 2000).

Proses ekstraksi maserasi dikerjakan dengan merendam sampel ekstrak dalam pelarut yang sesuai pada suhu ruangan (kamar). Ekstrak sampel direndam selama 3-5 hari dengan pengadukan berulang untuk mempercepat

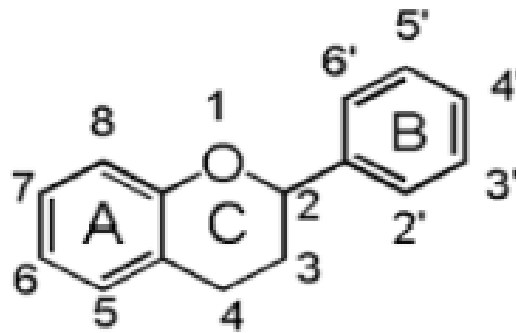
proses pelarutan analit (Leba, 2017) dan untuk menghomogenkan konsentrasi larutan di luar serbuk simplisia, sehingga dipertahankan derajat perbedaan konsentrasi yang rendah didalam dan di luar sel. Metode maserasi banyak digunakan dalam penelitian karena cara pengolahan dan peralatan yang dipakai sederhana dan mudah didapat (Ditjen POM, 1986). Selain itu, maserasi juga dapat dipakai untuk analit yang tahan panas dan tidak tahan panas (Leba, 2017).

Kelebihan ekstraksi menggunakan metode maserasi adalah kemudahan pengolahan dan peralatan yang dipakai sederhana, sedangkan kerugiannya adalah prosesnya yang lama, kebutuhan pelarut yang tinggi, dan ekstraksi yang kurang baik. Selama maserasi (untuk ekstrak cair) serbuk halus atau kasar tanaman obat yang bersentuhan dengan pelarut disimpan dalam wadah kedap udara selama jangka waktu tertentu dengan pengadukan yang sering, hingga zat tertentu dapat larut. Metode ini paling efektif dipakai untuk senyawa yang termolabil (Tiwari et al., 2011).

2.4 Flavonoid

Flavonoid adalah kelompok polifenol yang larut dalam air dan mempunyai unsur C₁₅ yang terdiri dari dua kelompok aromatik yang dihubungkan oleh jembatan karbon (C₆-C₃-C₆). Flavonoid dikelompokkan menjadi flavanone, flavon, flavonol, flavanol, katekin, kalkon dan antosianin. Pembagian golongan flavonoid didasarkan pada struktur kimia dan biosintesis yang dihasilkan (Alfaridz dan riezki, 2018). Flavonoid umumnya didapatkan berkaitan dengan gula membentuk glikosida, yang menyebabkan senyawa ini

lebih mudah larut dalam pelarut polar, seperti etanol dan metanol. Beberapa flavonoid yang kurang polar (isoflavon, flavanon, dan flavonol) dapat diekstraksi dengan pelarut polaritas rendah, seperti kloroform dan eter (Hanani, 2015).



Gambar 2.2. Struktur Dasar Flavonoid (Kautsar, 2022)

Senyawa flavonoid dapat ditemukan pada seluruh bagian tanaman, seperti akar buah, daun, bunga, biji, kulit, kayu, nektar dan tepung sari (Zuraida dkk., 2017). Flavonoid pada tanaman digunakan untuk melindungi dari tekanan lingkungan (stress) dan radiasi UV, untuk mengatur perkembangan tanaman dan menarik penyerbukan serangga (Vidak, 2015). Pada manusia, flavonoid berperan sebagai alat pacu jantung, diuretik, menurunkan gula darah, dan sebagai antijamur, memiliki fungsi sebagai antibakteri, antitumor, antiinflamasi, antialergi, dan antiosteoporosis. Flavonoid juga dapat mencegah penyakit kardiovaskular dengan mengurangi tingkat oksidasi LDL yang diinduksi oleh flavonoid pada penyakit jantung, sehingga mencegah pembuatan sel busa dan kehancuran lipid (Zulviyati, 2015).

2.5 Spektrofotometri UV-VIS

Spektrofotometri UV-VIS adalah salah satu alat yang paling umum digunakan untuk menganalisis atau menemukan kadar senyawa seperti flavonoid berdasarkan serapan cahaya (A. Irwan, 2019). Secara umum, spektrofotometri merupakan teknik analisa yang dikerjakan untuk memperoleh pengukuran absorbansi molekul atau atom pada panjang gelombang tertentu (Ganjar dan Rohman, 2013).

Spektrofotometri UV-Vis secara umum dapat diterapkan pada radiasi dengan panjang gelombang antara 200-800 nm (Anderson et al, 2004). Cahaya ultraviolet dekat berada pada rentang panjang gelombang 200-400 nm, dan cahaya tampak berada pada rentang panjang gelombang 400-800 nm (Yadav, 2005).

Metode dalam spektrofotometer adalah cahaya inframerah dipancarkan melalui sampel, ditransfer ke monokromator, dan dideteksi oleh detektor yang tersambung ke komputer. Hasil analisis dibaca oleh komputer dan ditampilkan dalam bentuk spektrum. Hal ini dapat dibaca dari penjelasan analisis struktur kimia sampel yang diteliti dan bentuk ikatan molekul serta gugus fungsi (Sari, 2011).

Spektrofotometer UV-Vis dapat dipakai untuk menentukan sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Secara umum, sampel harus dilarutkan kembali menjadi suatu larutan bening. Untuk sampel yang berbentuk larutan, beberapa persyaratan pelarut yang digunakan antara lain (Tati Suhartati, 2013): 1. Sampel harus benar-benar dilarutkan dengan sempurna 2. Pelarut yang

digunakan tidak memiliki ikatan rangkap terkonjugasi dalam struktur molekulnya dan tidak berwarna (sampel tidak dapat menyerap cahaya yang digunakan oleh sampel) 3. Tidak ada hubungan dengan molekul senyawa yang dianalisis 4. Kemurnian tinggi.

Pada umumnya bagian spektrofotometer hanya terdiri dari sumber radiasi, monokromator, tempat sampel (kuvet), dan detektor yang umumnya disambungkan dengan printer atau komputer (Tukadi, 2016).

Prinsip operasi spektrofotometer didasarkan pada hukum Lambert-Beer, dimana seberkas cahaya dengan panjang gelombang tertentu melewati suatu larutan menyebabkan cahaya sebagian diteruskan dan sebagian diserap dalam larutan. Analit yang dapat dianalisis dengan spektrofotometer cahaya tampak yaitu analit yang memiliki warna atau dapat diwarnai. Analit berwarna adalah analit yang memiliki kemampuan untuk menarik cahaya secara alami, sedangkan yang dibuat berwarna adalah analit yang tidak memiliki warna sehingga perlu direaksikan dengan zat tertentu untuk membuat senyawa yang menarik cahaya pada panjang gelombang tertentu (Warono & Syamsudin, 2013).

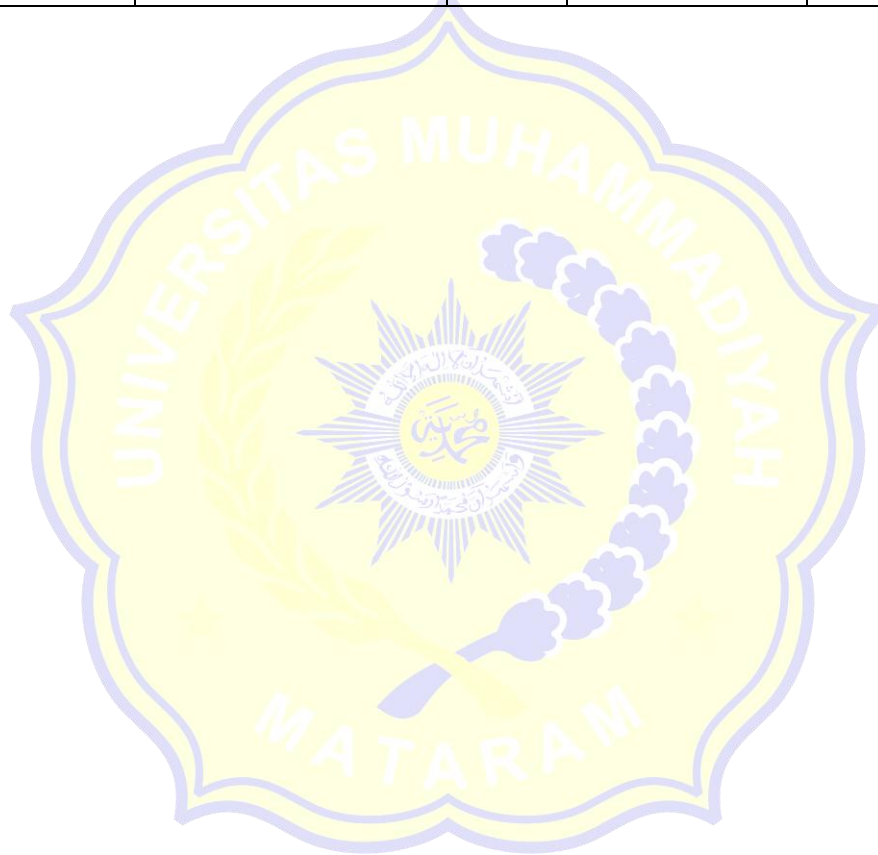
2.6 Keaslian Penelitian

Tabel 2.2 Keaslian Penelitian

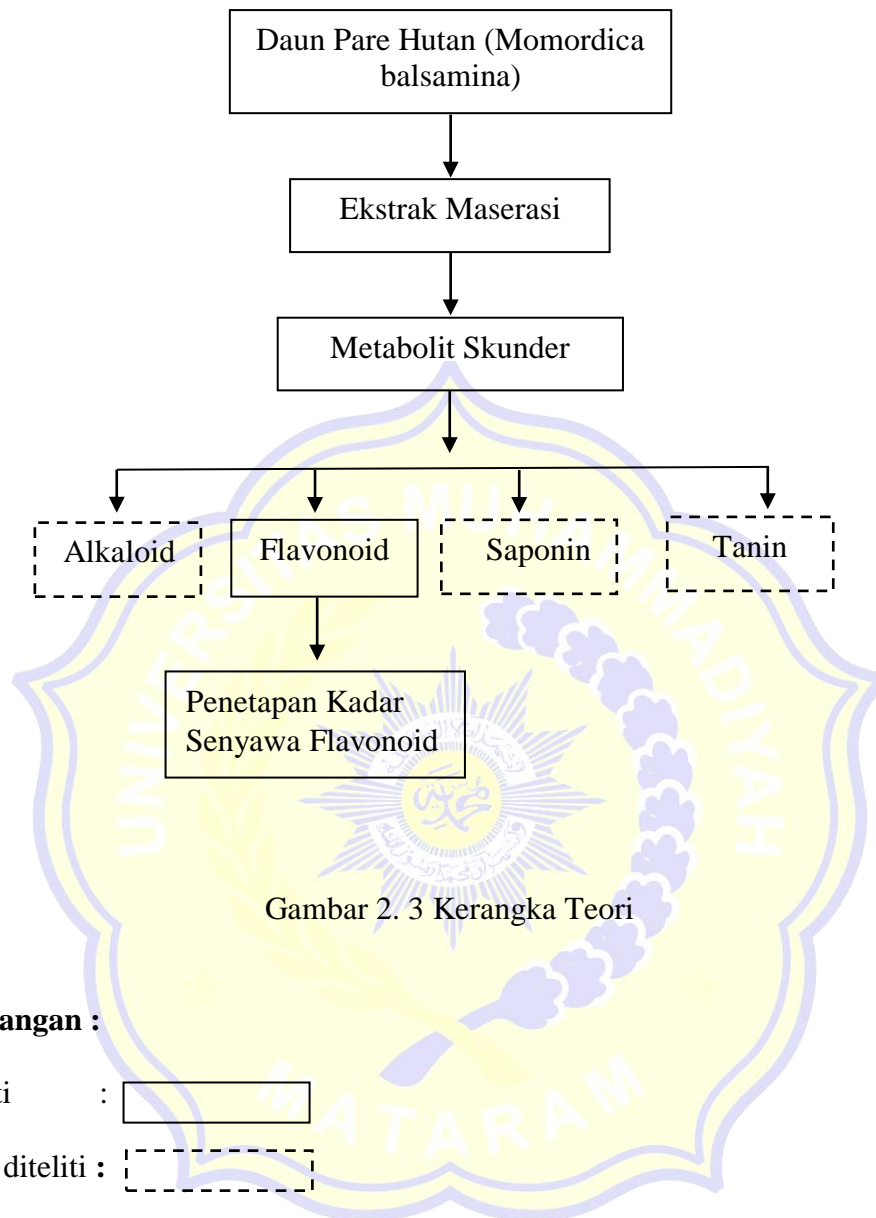
Penulis	Judul	Tahun	Metode dan Hasil	Perbedaan Penelitian
(Agustin, H. M., 2022)	Penetapan Kadar Flavonoid Total Rebusan Dan Seduhan Daun Insulin (Smallanthus sonchifolius) Dengan Metode	2022	Penetapan kadar dikerjakan dengan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 431,5	Penelitian ini menggunakan daun dan buah tanaman peria hutan dengan menggunakan metode

	Spektrofotometri UV-Vis		nm dan waktu kerja 33 menit. Baku pembanding yang dipakai dalam penelitian ini adalah kuersetin. Hasil penetapan kadar flavonoid total dengan cara direbus adalah $13,35 \pm 0,014$ mgQE/100 ml dengan %KV 0,10% dan untuk seduhan $16,02 \pm 0,001$ mgQE/100 ml dengan %KV 0,04% sehingga metode ekstraksi flavonoid yang paling maksimal adalah seduhan.	ekstraksi UAE.
(Kumalasari, Nazir and Putra, 2018)	Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 70% Daun Bawang Dayak (Eleutherine Palmifolia L.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS	2018	menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 420 nm ekstrak etanol daun bawang dayak memiliki senyawa flavonoid dengan kadar sebesar $34,08 \% \pm 0,0007$.	Penelitian ini menggunakan daun dan buah tanaman peria hutan dengan menggunakan metode ekstraksi UAE.
(Elfasyari, T.Y., 2020)	Penetapan Kadar Flavonoid Total Pada Beberapa Bagian Tanaman Kepel (Stelecocharpus burahol Hook F. & Th)	2020	Kadar flavonoid total ditetapkan menggunakan metode spektrofotometri visible dengan metode sokletasi dengan etanol 96%. Hasil ANOVA menyatakan bahwa kadar flavonoid total dalam ekstrak	Penelitian ini menggunakan daun dan buah tanaman peria hutan dengan metode ekstraksi UAE menggunakan spektrofotometri UV-VIS.

			<p>etanol daun yang muda, daun tua dan biji berturut-turut adalah $(3,32 \pm 0,12)$; $(4,82 \pm 0,08)$, dan $(0,25 \pm 0,01)\%$</p> <p>b/b. kesimpulan hasil flavonoid total yang paling banyak terdapat pada ekstrak etanol daun tua.</p>	
--	--	--	---	--



2.7 Kerangka Teori



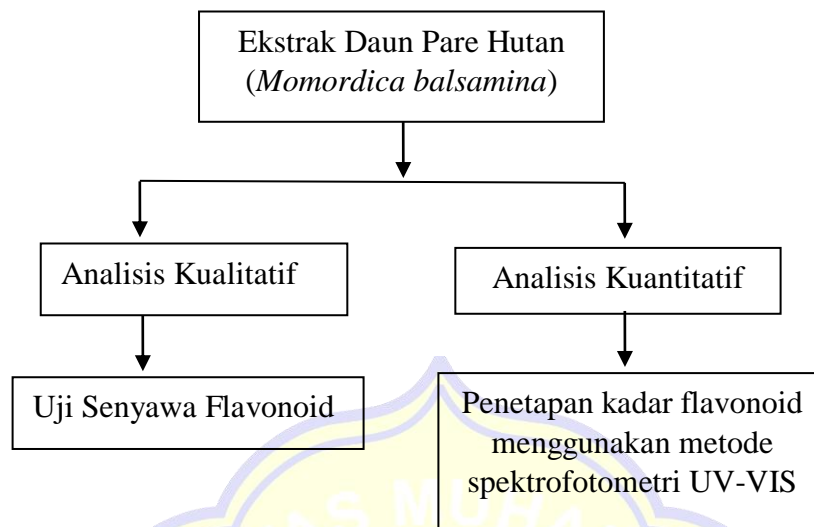
Gambar 2. 3 Kerangka Teori

Keterangan :

Diteliti :

Tidak diteliti :

2.8 Kerangka Konsep



Gambar 2.4 Kerangka Konsep

2.9 Hipotesis

Kesimpulan sementara dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Ekstrak etanol daun pare hutan (*Momordica balsamina*) mengandung senyawa metabolit sekunder positif berupa alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin.
2. Ekstrak etanol daun pare hutan (*Momordica balsamina*) memiliki kandungan kadar flavonoid yang baik, diukur dengan spektrofotometri UV-Vis.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini bersifat *Eksperimental Laboratorium* dimana objek penelitiannya adalah ekstrak daun Pare Hutan yang diperoleh dengan metode ekstraksi maserasi, kemudian dilakukan analisis kuantitatif untuk mengetahui kadar total flavonoid pada ekstrak daun pare hutan dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret sampai bulan Juni 2023, bertempat di Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram dan di Laboratorium Terpadu Universitas Islam Negeri Mataram.

3.3 Variabel Penelitian

- a. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi ekstrak etanol daun pare hutan.
- b. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hasil kadar flavonoid total ekstrak daun pare hutan.
- c. Variabel Terkendali dalam penelitian ini adalah metode ekstrak, suhu, kriteria sampel, dan penyimpanan ekstrak.

3.4 Definisi Operasional

- 1) Tanaman pare hutan yang dipakai pada penelitian ini adalah bagian daun pare hutan yang didapatkan dari wilayah desa Sekongkang Bawah

Kecamatan Sekongkang Kabupaten Sumbawa Barat. Kemudian dikeringkan dan dihaluskan hingga menjadi serbuk simplisia.

- 2) Ekstrak daun pare hutan diperoleh dari hasil ekstrak yang dibuat dengan mengekstrak bahan aktif dari simplisia kering menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi, kemudian pelarutnya diuapkan dan didapatkan ekstrak kental.
- 3) Flavonoid adalah salah satu senyawa metabolit sekunder yang ada pada daun tanaman pare hutan yang akan diteliti kadar totalnya.
- 4) Penetapan kadar merupakan konsentrasi analit dari daun tumbuhan pare hutan yang diukur menggunakan Spektrofotometri UV-Vis, dan nilai absorbansi dihitung dengan rumus persamaan linear ($y = bx+a$). Untuk mengetahui kadar total flavonoid.

3.5 Sampel Penelitian

Sampel yang dimanfaatkan pada penelitian ini yaitu daun pare hutan sebanyak 1 kg berwarna hijau, segar, tidak berlubang dan diambil secara acak dengan posisinya yang terletak di bagian tengah sampai pangkal percabangan, sebanyak 2-6 daun. Sampel daun pare hutan diambil dari lahan kosong Desa Sekongkang Bawah, Kecamatan Sekongkang, Kabupaten Sumbawa Barat. Metode pemilihan sampel adalah Random Sampling, yaitu pengambilan sampel yang homogen mempunyai karakteristik dan mempunyai kemungkinan terambil yang berbeda tetapi pada satu daerah.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat

Timbangan Analitik, Spektrofotometer, Gelas Ukur 50 ml, Gelas Beker, Kuvet, Labu Ukur 10 ml, Erlenmeyer 150 ml, Batang Pengaduk, Kertas Saring, Corong Pisah, Oven, Tabung Reaksi, Rak Tabung Reaksi, Pipet Tetes, Pipet Volum, Toples Maserasi, Belender, Gunting, Spatula, Cawan Porselin, *Magnetic sterrier*, Kertas Label, Ayakan 40 mesh, *Rotary evaporator*, dan Aluminium Foil.

3.6.2 Bahan

Simplisia Daun Pare Hutan (*Momordica balsamina*), Etanol 96%, Aquades, Aluminium (III) Klorida ($AlCl_3$) 10%, Larutan Standar Kuarsetin, Etanol p.a, Asam Klorida (HCl), Serbuk Magnesium, Asam Asetat.

3.7 Metode Pengumpulan Data

3.7.1 Pengambilan Sampel

Sampel daun pare hutan diambil dari lahan kosong Desa Sekongkang Bawah, Kec. Sekongkang, Kab. Sumbawa Barat, Prov. Nusa Tenggara Barat. Sampel daun pare hutan yang diambil merupakan sampel daun tanaman yang segar (tidak layu) sebanyak 1 kg.

3.7.2 Pembuatan Simplisia

Daun pare hutan yang telah dikumpulkan, dicuci menggunakan air mengalir untuk membersihkan kotoran, dan kemudian ditiriskan. Lalu dikeringkan selama 10 hari dengan cara di angin-anginkan pada suhu kamar

(ruang). Setelah itu, sampel yang telah kering dihaluskan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan 40 mesh hingga didapatkan serbuk halus.

3.7.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Tumbuhan Pare Hutan

Serbuk halus daun pare hutan yang telah ditimbang, dimasukkan ke dalam bejana maserasi, kemudian ditambahkan pelarut etanol 96% sampai simplisia terendam. Selanjutnya bejana maserasi yang berisi larutan ditutup menggunakan aluminium foil. Lalu dimeserasi selama 2 hari ditempat gelap sambil diaduk sesekali agar larutan homogen. Kemudian larutan ekstrak hasil maserasi disaring untuk memisahkan filtrat dan residu. Residu hasil penyaringan dilakukan remaserasi dengan etanol 96% dengan jumlah yang sama. Filtrat hasil maserasi dan remaserasi disatukan menjadi satu untuk selanjutnya dipisahkan menggunakan evaporator pada suhu 40°C hingga pelarut menguap dan ekstrak menjadi lebih kental (Nengsih *et al.*, 2022). Kemudian dilakukan perhitungan rendemen dengan rumus :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat serbuk simplisia}} \times 100\%$$

3.7.4 Skrining Fitokimia

a) Uji Flavonoid

Diambil sebanyak 4 ml ekstrak dimasukkan air panas secukupnya, setelah itu direbus dalam waktu 5 menit dan disaring. Kemudian 0,05 mg serbuk Mg dan 5 tetes HCl pekat ditambahkan ke dalam filtrat, dikocok kuat-kuat. Uji positif dapat dilihat dengan

terjadinya warna merah, jingga atau kuning (Cahyaningsih Erna, Sandhi K Putu Era, 2019).

b) Uji Alkaloid

Masukkan ekstrak pekat sebanyak 2 ml ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 3-5 tetes prekasi dragendrof, hasil positif terdapat alkaloid jika adanya endapan jingga atau coklat (Wahid and Safwan, 2020).

c) Uji Saponin

Analisis saponin dikerjakan dengan cara mengambil 4 ml ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi setelah itu tambahkan 10 ml aquades yang sudah dipanaskan kemudian dinginkan, selanjutnya dikocok kuat-kuat kurang lebih 10 detik. Data menunjukkan hasil positif terdapat saponin apabila terjadinya buih yang konstan setinggi 1-10 cm selama 10 menit dan busa tidak hilang setelah penambahan 2 tetes HCl 2 N, buih tidak hilang (Wahid and Safwan, 2020).

d) Uji Tanin

Untuk mendeteksi tanin, 4 mL ekstrak diambil, ditambahkan 3-5 tetes larutan FeCl_3 10%. Jika warnanya biru tua atau hitam kehijauan menandakan adanya tanin (Wahid and Safwan, 2020).

3.7.5 Analisis Kuantitatif Senyawa Flavonoid

a. Preparasi Larutan Baku Kuersetin 1000 ppm

Larutan baku kuersetin (1000 ppm) dibuat dengan cara menimbang 0,025 g kuersetin kemudian larutkan dengan etanol p.a dalam labu ukur 25 ml hingga tanda batas, hingga konsentrasi menjadi 1000 ppm (Suharyanto and Hayati, 2021).

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Dibuat larutan dengan konsentrasi 60 ppm dengan cara dipipet 0,6 ml dari larutan baku kuersetin 1000 ppm dan ditambahkan etanol p.a kedalam labu 10 ml tambahkan sampai tanda batas. Larutan diambil sebanyak 1 mL, kemudian tambahkan 3 ml etanol p.a, 0,2 ml AlCl₃, 0,2 ml CH₃COOH, dan 5,6 ml aquades. selanjutnya kocok sampai homogen. Pembacaan dilakukan pada rentang panjang gelombang 300-600 nm (Pratiwi, 2020).

c. Penentuan Kurva Baku Kuersetin

Larutan seri kadar dibuat menggunakan baku standar kuersetin dengan konsentrasi 1000 ppm. Kemudian dibuat seri kadar dalam labu ukur 10 ml, larutan di pipet sebanyak 0,2 ml, 0,4 ml, 0,6 ml, 0,8 ml, dan 1 ml (20,40, 60, 80, dan 100 ppm) lalu ditambahkan etanol p.a hingga 10 ml. kemudian di pipet sebanyak 1 mL larutan seri kadar dari masing-masing konsentrasi ditambah 3 ml etanol p.a, dan direaksikan dengan 0,2 ml AlCl₃, 0,2 ml CH₃COOH dan 5,6 ml aquades ke dalam masing-masing konsentrasi, dikocok sampai

homogen. Larutan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit kemudian serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Pratiwi, 2020).

d. Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun dan Buah Pare Hutan

Sampel ditimbang sebanyak 0,025 g dan dilarutkan dalam 25 ml etanol p.a hingga konsentrasi yang diperoleh larutan ekstrak adalah 1000 ppm. Larutan ekstrak 1000 ppm dipipet sebanyak 1 ml ditambah 3 ml etanol p.a, 0,2 ml $AlCl_3$, 0,2 ml CH_3COOH , 5,6 ml aquades, larutan dikocok hingga homogen, kemudian diinkubasi selama waktu 30 menit pada suhu kamar dan dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh. Pembacaan absorbansi sampel dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali (Pratiwi, 2020).

3.8 Metode Analisis Data

Kadar total flavonoid dapat dihitung berdasarkan persamaan regresi linear dengan kurva kalibrasi dari data yang diperoleh saat absorbansi larutan pembanding kuersetin menggunakan alat spektrofotometer. Data absorbansi yang diperoleh dari penetapan kadar dimasukkan kedalam persamaan regresi linear dengan $y =$ nilai absorbansi, $x =$ kadar dalam ppm (mg/L). Hasil dinyatakan dengan menggunakan kesetaraan larutan standar flavonoid menggunakan baku pembanding kuersetin sehingga hasil dinyatakan dengan Quersyeyine Equivalent (QE) adalah jumlah kesetaraan milligram rutin dalam

mililiter sampel (Agustin, H.M. 2020). Penentuan Kadar flavonoid dapat dihitung dengan rumus persamaan regresi linear:

$$y = bx + a$$

Keterangan: **y** = Nilai Absorbansi

x = Kadar Flavonoid

a = Intercept (Perpotongan garis)

b = Slope (Kemiringan)

