

**ANALISIS KADAR FLAVONOID EKSTRAK ETANOL HERBA BAYAM
DURI (*Amaranthus Spinatus L.*) BERDASARKAN PERBEDAAN METODE
EKSTRAKSI**

SKRIPSI

Oleh :

**NURGINA VIDYA PUTRI
066119162**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2023**

**ANALISIS KADAR FLAVONOID EKSTRAK ETANOL HERBA BAYAM
DURI (*Amaranthus Spinosis L.*) BERDASARKAN PERBEDAAN METODE
EKSTRAKSI**

SKRIPSI

**Skripsi Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Pada Program Studi Farmasi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Pakuan**

Oleh :

**NURGINA VIDYA PUTRI
066119162**



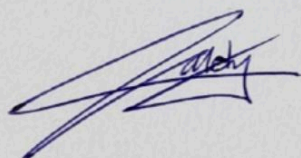
**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2023**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Analisis Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Herba Bayam Duri (*Amaranthus Spinosus L.*) Berdasarkan Perbedaan Metode Ekstraksi
Nama : Nurgina Vidya Putri
NPM : 066119162
Program Studi : Farmasi

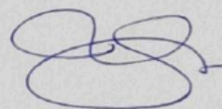
Skripsi ini telah disetujui dan disahkan
Bogor, Agustus 2023

Pembimbing Pendamping



Zaldy Rusli, M.Farm.

Pembimbing Utama



Yulianita, M.Farm.

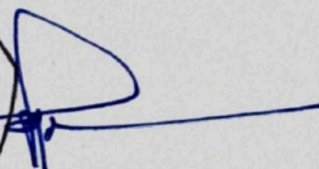
Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi



apt. Dra. Ike Yulia Wiendarlina, M.Farm.

Dekan FMIPA-UNPAK



Asep Denih, S.Kom., M.Sc., PH.D.

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah karya tulis yang dikerjakan sendiri dan tidak pernah dipublikasikan atau digunakan untuk mendapat gelar sarjana di perguruan tinggi atau lembaga lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya. Apabila dikemudian hari terdapat gugatan, penulis bersedia dikenakan sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Bogor, 18 Agustus 2023



Nurgina Vidya Putri

**Surat Perlimpahan Skripsi, Sumber Informasi, Serta Kekayaan Intelektual
kepada Universitas Pakuan**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Nurgina Vidya Putri
NPM : 066119162
Judul Skripsi : Analisis Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Herba Bayam Duri
(*Amaranthus Spinusus L.*) Berdasarkan Perbedaan Metode
Ekstraksi

Dengan ini saya menyatakan bahwa Skripsi diatas adalah benar hasil karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun.

Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun yang tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka dibagian akhir skripsi ini. Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Universitas Pakuan.

Bogor, 18 Agustus 2023



Nurgina Vidya Putri

066119162

HALAMAN PERSEMBAHAN



Hai orang-orang beriman apabila dikatakan kepadamu: "Berlapang-lapanglah dalam majelis", maka lapangkanlah niscaya Allah akan memberi kelapangan untukmu. Dan apabila dikatakan: "Berdirilah kamu", maka berdirilah, niscaya Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antarmu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat. Dan Allah Maha Mengetahui apa yang kamu kerjakan." (QS. Al-Mujadalah ayat: 11).

Alhamdulillah hirobbil alamain. Puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT, serta junjungan besar kita Nabi Muhammad SAW. Janganlah berputus asa jika menghadapi kesulitan, karena setiap tetesan air hujan yang jernih berasal dari awan yang gelap. Skripsi ini saya persembahkan kepada semua orang yang saya cintai dan sayangi.

-Keluarga dan teman-teman-

Skripsi ini dipersembahkan kepada keluarga tercinta : bapak, mamak, mas rian, mbak mel, mas andre, mbak sintya, dan mas surya. Serta keluarga besar saya para sepupu, paklek, bulek, ponakan, dan keluarga sambung lainnya. Yang turut membantu dalam memenuhi kebutuhan materi, rohani, motivasi dan doa kepada saya selama mengerjakan skripsi ini. Skripsi ini juga saya persembahkan kepada teman-teman saya sipa, razif, eli, melisa, ayu, nazwa, rikzan, fina, imeh, winda dan teman-teman kelas EF yang selalu mendukung, mendoakan dan membantu saya selama penelitian dan pengerjaan skripsi ini. Tanpa kalian saya hanyalah mahasiswi yang merantau ke negeri orang dan tidak tau apa-apa. Terima kasih banyak saya ucapkan kepada semua orang yang sangat berjasa dalam pengerjaan skripsi ini, mohon maaf sebesar-besarnya jikalau saya banyak salah dan menyusahkan kalian. Dibalik semua itu saya tetap menyayangi dan mencintai kalian semua.

-Dosen Pembimbing-

Skripsi ini saya persembahkan kepada ibu Yulianita, M.Farm dan Bapak Zaldy Rusli, M.Farm. Selaku pembimbing skripsi saya. Terima kasih banyak saya ucapkan kepada bapak dan ibu yang telah membimbing saya dari proses pengambilan judul hingga saya mendapat gelar sarjana. Terima kasih atas ilmu, nasihat dan saran yang telah diberikan kepada saya, serta terima kasih sudah mendengar keluh kesah saya dan membantu dalam menyelesaikan masalah selama pengerjaan skripsi ini. Para dosen pembimbing saya merupakan dosen terbaik yang pernah saya temui selama hidup saya dan tidak akan pernah terlupakan,

Skripsi ini saya persembahkan – Nurgina Vidya Putri

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Penulis Nurgina Vidya Putri, lahir pada 08 Mei 2001 di kota Mataram, Pulau Lombok, Provinsi Nusa Tenggara Barat. Merupakan anak terakhir dari 4 saudara, 3 saudara laki-laki dan saya sendiri. Penulis memulai pendidikan dari TK Islam, kemudian lanjut ke sekolah dasar SD 03 Mataram. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang sekolah menengah pertama yaitu SMP 06 Mataram dan berlanjut ke sekolah menengah atas yaitu SMA 07 Mataram. Pada masa SMA penulis masuk kedalam organisasi mahasiswa yang dikenal dengan OSIS dan menjabat sebagai bendahara inti, selain itu penulis juga mengikuti ekstrakurikuler LCC 4 pilar berbangsa bernegara dan mewakili kota Mataram untuk lomba cerdas cermat serta meraih juara 3 antar kota di provinsi NTB. Pada tahun 2019, penulis melanjutkan pendidikan ke perguruan tinggi swasta dan lulus serta terdaftar sebagai mahasiswa Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan, Bogor dan dinyatakan lulus dari universitas pada tanggal 10 Agustus 2023. Selama menjadi mahasiswa perguruan tinggi Universitas Pakuan, penulis pernah bergabung kedalam himpunan mahasiswa farmasi dan mengikuti beberapa kegiatan dari organisasi tersebut. Salah satu kegiatannya yaitu PLOT (*Pharmacy Leadership and Organization Training*) dan menjabat sebagai kakak pembimbing dan koor kerohanian. Penulis menyelesaikan program sarjana pada tahun akademik 2023.

Akhir kata dari penulis mengucapkan puji syukur dan terima kasih sebesar-besarnya dalam menyelesaikan tugas akhir untuk meraih gelar sarjana dengan skripsi yang berjudul “**Analisis Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Herba Bayam Duri (*Amaranthus Spinosa L.*) Berdasarkan Perbedaan Metode Ekstraksi**”. Dibawah bimbingan ibu Yulianita, M.Farm dan bapak Zaldy Rusli, M.Farm

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur kehadiran Allah SWT dipanjatkan atas limpahan rahmat, karunia dan anugerah dari-Nya. Sholawat dan salam tidak lupa senantiasa kita curahkan kepada junjungan besar kita Nabi Muhammad SAW. Melalui kesempatan ini penulis sangat bersyukur karena dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Analisis Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Herba Bayam duri (*Amaranthus Spinosa* L.) Berdasarkan Perbedaan Metode Ekstraksi**”

Penulisan skripsi ini dilakukan dengan tujuan untuk memenuhi salah satu syarat kelulusan dalam meraih gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) di Universitas Pakuan. Penulisan skripsi ini, tidak terlepas dari bantuan, saran dan bimbingan dari berbagai pihak. Maka dari itu, melalui kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada pihak yang membantu :

1. Ibu Yulianita, M.Farm selaku Pembimbing Utama dan Bapak Zaldy Rusli, M.Farm selaku Pembimbing Pendamping
2. Ketua Program Studi dan seluruh staf dan karyawan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan
3. Kedua orangtua, ketiga kakak dan seluruh keluarga besar penulis yang telah memberi banyak dukungan serta doa restunya
4. Teman-teman serta sahabat penulis yang telah banyak membantu dan mendukung penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dan semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Bogor, 18 Agustus 2023

(Nurgina vidya putri)

RINGKASAN

NURGINA VIDYA PUTRI. 066119162. 2023. **Analisis Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Herba Bayam Duri (*Amaranthus Spinossus L.*) Berdasarkan Perbedaan Metode Ekstraksi**

Pembimbing : Yulianita dan Zaldy Rusli

Herba bayam duri (*Amaranthus Spinossus L.*) merupakan salah satu jenis tanaman liar yang memiliki banyak manfaat dalam bidang kesehatan. Herba bayam duri diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid. Kandungan flavonoid pada tanaman ini memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, analgesik dan lain sebagainya. Untuk mengambil senyawa flavonoid di dalam tumbuhan, dapat menggunakan metode ekstraksi. Pada penelitian ini digunakan 4 jenis metode ekstraksi.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan metode ekstraksi terbaik dalam menghasilkan kadar flavonoid tertinggi pada ekstrak etanol bayam duri (*Amaranthus Spinossus L.*). Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode ekstraksi konvensional dan modern. Metode ekstraksi konvensional yang digunakan yaitu refluks dan maserasi. Metode ekstraksi modern yang digunakan yaitu MAE dan UAE. Pada pengujian kuantitatif yaitu penetapan kadar flavonoid digunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

Berdasarkan hasil penelitian, metode ekstraksi yang paling baik dalam mengekstrak senyawa flavonoid pada herba bayam duri (*Amaranthus Spinossus L.*) adalah metode ekstraksi refluks yang menghasilkan kadar sebesar 18,37 mg QE/g dan diikuti oleh metode ekstraksi maserasi yang menghasilkan kadar sebesar 14,92 mg QE/g. sedangkan pada metode ekstraksi MAE memperoleh kadar sebesar 13,24 mg QE/g dan metode UAE memperoleh kadar sebesar 12,48 mg QE/g

Kata Kunci : Herba Bayam Duri (*Amaranthus Spinossus L.*), Flavonoid, Refluks, Maserasi, MAE, UAE

SUMMARY

NURGINA VIDYA PUTRI. 066119162. 2023. **Analysis of Ethanol Extracts Flavonoid Content of Thorn Spinach Herbs (*Amaranthus Spinusus L.*) Based on Differences in Extraction Methods.**

Mentor : Yulianita dan Zaldy Rusli

Thorn spinach herb (*Amaranthus Spinusus L.*) is a type of wild plant that has many health benefits. This plant contains secondary metabolites in the form of flavonoids. Flavonoids have activities as antioxidants, antibacterial, anti-inflammatory, analgesic, and so on. An extraction method is needed to extract flavonoid compounds in plants. In this research used 4 types of extraction methods.

This study aims to determine the best extraction method to produce the highest levels of flavonoids in ethanol extract of thorn spinach herb (*Amaranthus Spinusus L.*). The extraction methods used in this study were reflux, maceration, MAE, and UAE methods. The quantitative test used in determining the levels of these flavonoids is the UV-Vis spectrophotometric method.

Based on the research results, the best extraction method in extracting flavonoid compounds in thorn spinach herb (*Amaranthus Spinusus L.*) was a reflux extraction method that produced content of 18,37 mg QE/g and was followed by the maceration extraction method which resulted in a content of 14,92 mg QE/g. Whereas the MAE extraction method obtained a content of 13,24 mg QE/g and the UAE method obtained a content of 12,48 mg QE/g.

Keywords: Thorn Spinach Herb (*Amaranthus Spinusus L.*), Flavonoid, Reflux, Maceration, MAE, UAE

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	i
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS	ii
SURAT PERLIMPAHAN SKRIPSI	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	v
KATA PENGANTAR	vi
RINGKASAN	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Hipotesis.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Bayam Duri	4
2.1.1 Deskripsi dan Klasifikasi	4
2.1.2 Morfologi	5
2.1.3 Kandungan Metabolit Sekunder	6
2.1.4 Manfaat Sebagai Obat.....	6
2.2 Metode Ekstraksi.....	7
2.2.1 Deskripsi	7
2.2.2 Pelarut	8
2.2.3 Jenis-jenis Metode Ekstraksi	9
2.2.3.1 Maserasi.....	9

2.2.3.2	Refluks.....	9
2.2.3.3	MAE (<i>Microwave Assisted Extraction</i>)	10
2.2.3.4	UAE (<i>Ultrasound Assisted Extraction</i>).....	11
2.3	Flavonoid	11
2.4	Kuersetin	13
2.5	Spektrofotometri UV-Vis.....	14
BAB III	METODE KERJA.....	15
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian	15
3.2	Alat dan Bahan	15
3.2.1	Alat	15
3.2.2	Bahan.....	15
3.3	Metode Kerja Penelitian.....	15
3.3.1	Determinasi Tanaman Bayam Duri	15
3.3.2	Pembuatan Serbuk Simplisia.....	16
3.3.3	Ekstraksi Metode Maserasi.....	16
3.3.4	Ekstraksi Metode Refluks.....	17
3.3.5	Ekstraksi Metode MAE (<i>Microwave Assisted Extraction</i>)	17
3.3.6	Ekstraksi Metode UAE (<i>Ultrasound Assisted Extraction</i>).....	18
3.4	Penetapan Kadar Flavonoid	18
3.4.1	Preparasi Larutan	18
3.4.1.1	Preparasi Larutan Standar Induk Kuersetin.....	18
3.4.1.2	Preparasi Larutan Na Asetat 1 M	18
3.4.1.3	Preparasi Larutan AlCl ₃ 10%	19
3.4.1.4	Preparasi Larutan Sampel.....	19
3.4.1.5	Preparasi Larutan Blanko	19
3.4.2	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin.....	19
3.4.3	Penentuan Waktu Inkubasi.....	19
3.4.4	Penetapan Kurva Kalibrasi.....	20

3.4.5	Pengukuran Kadar Flavonoid Ekstrak	20
3.5	Skrining Fitokimia	21
3.5.1	Uji Flavonoid	21
3.5.2	Uji Alkaloid.....	21
3.5.3	Uji Tanin	21
3.5.4	Uji Terpenoid dan Steroid.....	21
3.5.5	Uji Saponin	22
3.6	Pengujian Mutu Simplisia dan Ekstrak Bayam Duri	22
3.6.1	Uji Organoleptik.....	22
3.6.2	Uji Kadar Air.....	22
3.6.3	Uji Kadar Abu	23
3.7	Analisis Data	23
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1	Determinasi Tanaman	24
4.2	Karakteristik Simplisia dan Herba Bayam Duri	24
4.3	Ekstrak Kental dan Rendemen Herba Bayam Duri.....	25
4.4	Hasil Analisis Kadar Flavonoid Variasi Metode Ekstraksi.....	28
4.4.1	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	28
4.4.2	Penentuan Waktu Inkubasi Optimum	29
4.4.3	Kurva Standar Kuersetin.....	30
4.4.4	Hasil Penetapan Kadar Flavonoid	31
4.4.5	Evaluasi Metode Ekstraksi Berdasarkan Rendemen dan Kadar Flavonoid	33
4.5	Skrining Fitokimia Serbuk dan Ekstrak	36
4.6	Hasil Penetapan Kadar Air dan Kadar Abu	38
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	40
	DAFTAR PUSTAKA	41
	LAMPIRAN.....	46

DAFTAR GAMBAR

1. Bayam Duri	5
2. Struktur Flavonoid.....	12
3. Struktur Kuersetin	13
4. Serbuk Simplisia Herba Bayam Duri	25
5. Grafik Panjang Gelombang Maksimum.....	28
6. Grafik Waktu Inkubasi Optimum	29
7. Kurva Standar Kuersetin	30
8. Grafik Korelasi Rendemen dan Kadar Flavonoid.....	33

DAFTAR TABEL

1. Rendemen Ekstrak Herba Bayam Duri Variasi Metode Ekstraksi	26
2. Rata-Rata Kadar Flavonoid Perbedaan Metode Ekstraksi	32
3. Korelasi Rata-Rata Rendemen dengan Kadar Flavonoid.....	33
4. Hasil Skrining Fitokimia Metode Ekstraksi Refluks	36
5. Rata-Rata Kadar Air Metode Ekstraksi Refluks	38
6. Rata-Rata Kadar Abu Metode Ekstraksi Refluks.....	39

DAFTAR LAMPIRAN

1. Alur Penelitian	47
2. Determinasi Tanaman	48
3. Metode Ekstraksi.....	49
4. Ekstrak Kental Variasi Metode Ekstraksi	50
5. Rendemen Ekstrak dan Serbuk	50
6. Pembuatan Peraksi	52
7. Pembuatan Induk Kuersetin dan Deret Standar Kuersetin.....	52
8. Faktor Pengenceran.....	53
9. Panjang Gelombang Max Kuersetin	54
10. Waktu Inkubasi	54
11. Deret Standar Kuersetin	54
12. Perhitungan Kadar Flavonoid.....	55
13. Skrining Fitokimia Herba Bayam Duri	57
14. Uji Kadar Air Serbuk Simplisia dan Ekstrak	58
15. Uji Kadar Abu Serbuk Simplisia dan Ekstrak.....	59
16. Analisis Data	61

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bayam duri adalah tanaman liar yang termasuk ke dalam genus *Amaranthus* dan family *Amaranthaceae*. Walaupun termasuk dalam spesies bayam, tetapi bayam duri tidak untuk dikonsumsi sehari-hari melainkan dimanfaatkan sebagai pengobatan tradisional beberapa penyakit tertentu. Bayam duri mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, glikosida, steroid, terpenoid, saponin dan tannin. Berdasarkan penelitian Rjeibi *et al.* (2018) kandungan flavonoid dan senyawa bioaktif lainnya pada bayam duri dapat menurunkan efek nyeri pada tikus albino Swiss dan dapat bersifat sebagai analgesik. Selain itu, bayam duri juga dapat bersifat sebagai antioksidan dan antibakteri. Manfaat pengobatan bayam duri diperoleh dari senyawa kimia yang terkandung di dalamnya yakni senyawa flavonoid (Keintjem & Hendrawan, 2019).

Flavonoid termasuk ke dalam senyawa polifenol yang banyak terkandung dalam tumbuhan hijau. Flavonoid diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan sebesar 14,66 mg/mL. Selain itu, flavonoid juga dapat berfungsi sebagai antibakteri yang memiliki zona hambat besar terhadap bakteri gram positif (Dewi dkk., 2018). Kandungan flavonoid pada ekstrak etanol bayam duri dengan konsentrasi 10, 20, 40, dan 80% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Djindadi dkk., 2020). Didukung oleh penelitian Manik dan Hertiani (2014) flavonoid memiliki aktivitas sebagai antibakteri, dimana aktivitas tersebut dipengaruhi oleh kandungan flavonoid total yang menunjukkan semakin besar kandungan flavonoid totalnya, semakin tinggi pula aktivitas antibakterinya. Flavonoid tersebar hampir diseluruh bagian tumbuhan, baik itu daun, batang, akar maupun bunganya. Untuk mengambil suatu senyawa flavonoid dari tumbuhan, dapat menggunakan metode ekstraksi.

Metode ekstraksi flavonoid memiliki berbagai macam jenis, diantaranya yaitu maserasi dan refluks yang merupakan metode ekstraksi konvensional serta MAE (*Microwave Assisted Extraction*) dan UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) yang merupakan metode ekstraksi modern. Metode MAE merupakan cara ekstraksi dengan menggunakan gelombang elektromagnetik sedangkan metode UAE merupakan cara ekstraksi dengan menggunakan gelombang ultrasonik. Berdasarkan penelitian Novi dkk., (2020), kadar flavonoid tertinggi pada ekstrak etanol daun iler (*Plectranthus scutellarioides*) terdapat pada metode ekstraksi MAE sebesar 0.7506% dan UAE sebesar 0.6252%. Sedangkan pada metode ekstraksi refluks memperoleh kadar sebesar 0,453% dan metode maserasi memperoleh kadar flavonoid sebesar 0,415%. Dari hasil perolehan kadar pada penelitian tersebut menunjukkan bahwa metode ekstraksi yang berbeda akan menghasilkan kadar flavonoid yang berbeda. Faktor yang mempengaruhi perbedaan jumlah kadar suatu senyawa pada proses ekstraksi yakni ukuran bahan, waktu, suhu, gelombang dan jenis pelarut yang digunakan (Maslukhah dkk., 2016). Dalam mengekstraksi senyawa flavonoid diperlukan suatu pelarut yang sesuai, dimana pelarut tersebut berfungsi sebagai pembawa senyawa flavonoid.

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%, karena etanol 70% merupakan pelarut yang bersifat polar. Senyawa yang akan diekstraksi adalah flavonoid yang juga bersifat polar sehingga akan mudah larut dalam etanol. Etanol 70% memiliki kelebihan yaitu dapat menarik banyak senyawa aktif yang akan diekstrak, memiliki titik didih yang rendah sehingga tidak memerlukan panas yang lebih pada saat proses pemekatan, dan merupakan pelarut yang tergolong aman karena toksisitasnya rendah (Hasanah dan Novian, 2020).

Berdasarkan uraian dari penelitian tersebut, dapat dikatakan bahwa variasi metode ekstraksi mempengaruhi jumlah kadar flavonoid dalam suatu tumbuhan. Metode ekstraksi modern MAE dan UAE memiliki keunggulan, yaitu waktu ekstraksi yang lebih cepat dan dapat menghasilkan rendemen serta kadar flavonoid paling tinggi dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional. Sedangkan metode ekstraksi konvensional maserasi dan refluks menggunakan alat yang sederhana, tetapi waktu

ekstraksinya memerlukan waktu yang cukup lama. Maka dari itu, peneliti ingin melakukan penelitian analisis kadar flavonoid ekstrak etanol bayam duri (*Amaranthus Spinossus L.*) berdasarkan variasi metode ekstraksi dengan harapan dapat menemukan metode ekstraksi terbaik dalam analisis kadar flavonoid pada suatu tumbuhan.

1.2 Tujuan Penelitian

Menentukan metode ekstraksi terbaik dalam menghasilkan kadar flavonoid tertinggi pada ekstrak etanol bayam duri (*Amaranthus Spinossus L.*)

1.3 Hipotesis

Perbedaan metode ekstraksi antara ekstraksi konvensional dan ekstraksi modern mempengaruhi jumlah kadar flavonoid pada ekstrak etanol bayam duri (*Amaranthus Spinossus L.*)

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bayam duri

2.1.1 Deskripsi dan klasifikasi

Bayam adalah jenis tanaman hijau yang sering digunakan sebagai sayur untuk dimakan sehari-hari. Bayam termasuk ke dalam *family Amaranthacea* yang mudah di temukan di Indonesia. Berdasarkan sejarah, tanaman ini berasal dari Persia kuno dan Amerika, yang kemudian menyebar ke seluruh penjuru dunia termasuk di Indonesia. Bayam masuk ke Indonesia bersamaan dengan lalu lintas perdagangan sayur pada zaman dahulu sekitar tahun 1900-an. Bayam terkenal akan kandungan zat besinya yang tinggi selain itu, bayam juga kaya akan nutrisi lainnya yang baik untuk kesehatan tubuh (Nuramadani dan Susanti, 2022).

Bayam dapat tumbuh di dataran tinggi maupun rendah, dapat tumbuh liar maupun dibudidaya oleh masyarakat. Tanaman ini memiliki beberapa jenis varietas. Jenis bayam yang biasa dibudidaya dan dikonsumsi sehari-hari oleh masyarakat adalah bayam cabut (*Amaranthus Viridis*), bayam tahun (*Amaranthus Hybridus*) dan bayam merah (*Amaranthus Tricolor*). Sedangkan spesies bayam yang tumbuh liar dan biasanya tidak dikonsumsi tetapi dimanfaatkan sebagai obat yaitu bayam itik atau tanah (*Amaranthus Blitum*) dan bayam duri (*Amaranthus Spinusus L.*) (Nuramadani dan Susanti, 2022).

Bayam duri adalah spesies bayam liar dan merupakan gulma semusim berdaun lebar, tumbuh liar di tepi jalan, tanah kosong perkebunan, atau pada tanah dengan ketinggian 1.400 meter diatas permukaan laut. Klasifikasi bayam bayam duri yaitu berasal dari *Kingdom Plantae*, *Sub Kingdom Tracheobionta*, Super Divisi *Spermatophyta*, Divisi *Magnoliophyta*, Kelas *Magnoliopsida*, Sub Kelas *Hemamelidae*, Ordo *Caryophyllales*, *Family Amaranthaceae*, Genus *Amaranthus* dan Spesies *Amaranthus Spinusus L.* (Barus, 2003).

2.1.2 Morfologi

Ciri-ciri bayam duri (*Amaranthus Spinosus L.*) ini adalah memiliki daun lebar dan oval dengan panjang antara 1,5-6,0 cm dengan lebar antara 0,5-3,2 cm berwarna hijau tua, batang sedikit berbulu, berbentuk bulat dan panjang, berwarna kemerahan, lunak dan jika ditekan akan sedikit berair. Batang bayam duri dapat tumbuh hingga 1 meter di atas permukaan tanah (Barus, 2003).

Tanaman bayam duri memiliki bunga yang tumbuh tepat ditengah-tengah antara batang atau daun. Bunga dari bayam duri memiliki warna hijau dan berkelamin tunggal. Untuk bunga kelamin jantan, kumpulan bunganya membentuk bulir sedangkan untuk bunga kelamin betina, kumpulan bunganya berbentuk bulat yang menempel tepat pada ketiak batang. Biji tanaman ini memiliki bentuk bulat dengan ukuran yang kecil dan berwarna hitam. Pada bagian akarnya, tanaman bayam duri ini memiliki sistem perakaran tunggang. Berikut contoh gambarnya :



Gambar 1 : Bayam Duri

Tanaman bayam duri dapat tumbuh dengan baik pada tanah yang subur dan terbuka dengan pH tanah berkisar pada PH 6-7 dan mendapat sinar matahari yang cukup dengan suhu udara antara 25°C - 35°C. Tanaman bayam duri termasuk ke dalam tanaman liar, sehingga jenis tanaman ini memiliki toleransi yang cukup besar terhadap perubahan iklim atau lingkungan tempatnya tumbuh. Bayam duri juga bisa tetap tumbuh subur pada tanah yang tandus atau tanah liat (Nazaruddin, 1994).

2.1.3 Kandungan metabolit sekunder

Dalam bayam duri terkandung beberapa senyawa kimia yang berkhasiat dalam kesehatan tubuh, yakni zat besi, vitamin A, thiamin, riboflamin, kalsium, kalium, magnesium, peridoksin, mangan, vitamin C, E, dan K, serat spinasterol hentriakontan, tanin, nitrat, kalsium oksalat, amarantin, rutin, garam fosfat, zat, dan piroksin B6. Selain itu bayam duri juga dilaporkan memiliki fungsi sebagai sumber serat, sumber protein, fosfor, Zn dan vitamin E (Kusmiati, 2017).

Tanaman bayam duri juga mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, yang memiliki fungsi sebagai antioksidan, antihistamin, antiinflamasi, antimalaria, analgesik, imunomodulator, antibakteri, dan agen antikanker. Dimana pada golongan senyawa fenolik dalam bayam duri seperti asam galat, asam kafeat, rutin, asam ferulat dan kuersertin mempunyai struktur yang berperan untuk menangkap radikal bebas penyebab suatu penyakit (Denanath, 2009).

2.1.4 Manfaat sebagai obat

Berdasarkan penelitian Rr.Sulistyaningsih dkk., (2016) daun bayam duri terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Daun bayam duri juga mempunyai efektivitas antiinflamasi pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) (Fauzia dkk., 2017). Ekstrak etanol daun bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) mempunyai aktivitas antiradikal bebas atau antioksidan dan antibakteri, yang diuji dengan metode DPPH dan nilai IC_{50} sebesar 76,66 $\mu\text{g/ml}$ (Kusmiati dkk., 2017). Selain itu, bayam duri juga memiliki khasiat sebagai penurun panas (antipiretik), peluruh kencing (diuretik), peluruh dahak (ekspektoran), penawar racun (Antitoksin), menghilangkan bengkak, dan pembersih darah. Berdasarkan penelitian Shahra (2019) menyatakan dosis infusa daun bayam duri 2mg/20g BB (Dosis I), 4mg/20g BB (Dosis II), 8mg/20g BB (Dosis III) memiliki aktivitas antidepresan terhadap mencit. Efek antidepresan tersebut diperoleh dari flavonoid jenis kuersetin yang terkandung di dalam daun bayam duri.

2.2 Metode Ekstraksi

2.2.1 Deskripsi

Ekstraksi merupakan metode pemisahan suatu senyawa dari tumbuhan atau hewan dengan menggunakan pelarut tertentu. Metode ini dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh suatu senyawa yang sudah terpisah dari tanaman asalnya, sehingga diperoleh senyawa murni berupa zat aktif obat. Ekstraksi senyawa obat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya yaitu jenis pelarut, suhu, sifat bahan atau senyawa, ukuran partikel, gelombang, PH, konsentrasi pelarut, dan polaritas. (Maslukhah dkk., 2016).

Jenis pelarut, sifat bahan dan polaritas akan mempengaruhi keberhasilan dalam proses ekstraksi suatu senyawa. Suatu senyawa kimia akan mudah larut dalam pelarut yang sejenis mengikuti prinsip kelarutan yaitu *like dissolve like*, yang artinya pelarut polar akan mudah melarutkan senyawa polar begitupun sebaliknya, pelarut non polar akan mudah melarutkan senyawa non polar. Suhu juga mempengaruhi kecepatan ekstraksi, dimana suhu panas akan melonggarkan jaringan sehingga mempercepat proses difusi sel dan panarikan senyawa metabolit sekunder ke dalam pelarutnya. Ukuran partikel bahan yang akan diekstrak mempengaruhi kecepatan difusi sel antara pelarut dengan senyawa zat aktifnya. Semakin kecil ukuran partikel, maka akan mudah proses difusi sel dan ekstraksi tidak memakan waktu lama. Tetapi jika ukuran partikelnya besar, maka proses difusinya akan sulit dan akan memakan waktu yang cukup lama. Faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi lainnya yaitu pengadukan pada saat ekstraksi dilakukan. Pengadukan pada bahan yang diekstraksi akan meningkatkan kemampuan difusi sel, sehingga proses perpindahan metabolit sekunder ke pelarutnya akan berlangsung dengan cepat. Metode ekstraksi bahan alam dibagi menjadi 2 jenis, yaitu metode ekstraksi konvensional dan modern (Maslukhah dkk., 2016).

Metode ekstraksi konvensional adalah metode ekstraksi tradisional dan sederhana, dimana proses ekstraksinya menggunakan alat yang sederhana. Ekstraksi ini mudah

dilakukan tetapi membutuhkan waktu yang cukup lama dalam mengekstrak sehingga dapat berpotensi merusak senyawa yang akan di ekstraksi, contohnya yaitu maserasi dan refluks. Metode ekstraksi non konvensional atau modern adalah jenis pengembangan dari ekstraksi konvensional, yang dibuat dengan tujuan untuk mempercepat, mempermudah dan memaksimalkan proses ekstraksi. Metode ekstraksi ini prosesnya cukup mudah dilakukan, hemat biaya, cepat, dan tidak merusak senyawa zat aktif yang akan diekstrak. Ekstraksi modern umumnya menggunakan energi panas untuk mempercepat proses ekstraksinya. Contoh dari metode ini adalah *Microwave Assisted Extraction* (MAE) dan *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) (Mukhriani, 2014).

2.2.2 Pelarut

Pelarut adalah senyawa yang digunakan untuk melarutkan suatu zat kimia tanpa mengalami perubahan kimia. Pelarut umumnya berbentuk cairan, tetapi ada juga pelarut yang berbentuk padat, gas, atau fluida superkritis. Pada penelitian ini, jenis pelarut yang digunakan adalah pelarut organik yaitu etanol dengan konsentrasi 70%. Etanol adalah pelarut yang bersifat polar, mudah ditemukan, murah, tidak toksik, memiliki sifat antimikroba, mudah larut pada beberapa senyawa zat aktif serta aman bagi tubuh manusia. Etanol merupakan pelarut yang umum digunakan dalam mengekstraksi suatu zat, sehingga sering disebut sebagai pelarut universal (Hasanah dan Novian, 2020).

Alasan pemilihan etanol sebagai pelarut untuk melarutkan senyawa flavonoid dalam tumbuhan daun bayam duri adalah karena sifat polar dari etanol. Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar, sehingga akan mudah larut juga dengan pelarut polar seperti etanol, mengikuti prinsip kelarutan yakni *like dissolve like* yang artinya pelarut polar melarutkan senyawa polar, demikian juga sebaliknya. (Hasanah dan Novian, 2020).

2.2.3 Jenis-jenis Metode Ekstraksi

2.2.3.1 Maserasi

Maserasi merupakan teknik ekstraksi tradisional yang dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam suatu pelarut selama beberapa hari pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya. Metode ini pengaplikasiannya mudah, menggunakan alat sederhana, murah, menghindari rusaknya senyawa yang bersifat termolabil dan tidak memerlukan energi panas. Kekurangannya, yakni proses ekstraksinya cukup lama, membutuhkan penyari yang banyak, ekstrak harus tetap di aduk tiap 6 jam atau tiap 12 jam dan alat yang digunakan harus tidak mengoksidasi senyawa yang akan diekstrak (Mukhriani, 2014).

Maserasi merupakan jenis ekstraksi dingin, sehingga metode ini cocok untuk mengekstraksi senyawa yang tidak tahan panas seperti flavonoid. Prinsip kerjanya yaitu penyarian zat aktif yang dilakukan dengan perendaman serbuk simplisia dalam suatu pelarut selama kurang lebih 3-5 hari. Selama proses perendaman, pelarut akan masuk ke dalam dinding sel, kemudian isi dari sel tersebut akan larut ke dalam pelarutnya karena terdapat perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dan di luar sel. Setelah itu, larutan dengan konsentrasi lebih tinggi akan terdesak keluar dan tergantikan oleh pelarut dengan konsentrasi rendah, peristiwa ini disebut proses difusi sel. Proses difusi sel ini akan terus terulang hingga terjadi keseimbangan konsentrasi di dalam sel maupun di luar sel. Selain perendaman, maserasi juga membutuhkan pengadukan tiap 6 jam atau 12 jam yang bertujuan untuk mempercepat difusi sel. Selama proses maserasi dilakukan, wadah tempat ekstrak tidak boleh terkena cahaya dan harus berbahan kaca agar tidak teroksidasi oleh ekstrak (Agustina dkk., 2018).

2.2.3.2 Refluks

Refluks merupakan jenis ekstraksi konvensional yang memerlukan alat khusus dan energi panas dalam pengaplikasiannya. Prinsip kerja metode ini yaitu, serbuk simplisia akan dilarutkan bersama dengan cairan penyarinya lalu dimasukkan ke dalam alat refluks kemudian alat dinyalakan, maka akan terjadi penguapan dan pengembunan

pelarut oleh kondensor. Energi panas yang mengalir ekstrak akan mencapai temperatur titik didih pelarut, lalu pelarut menguap dan uapnya akan terkondensasi kembali (mengembun) menjadi cairan lalu turun kembali ke labu alas bulat, proses ini akan terjadi secara berkelanjutan (*continue*), selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang relatif konstan karena adanya pendingin balik. Ekstraksi refluks biasanya memakan waktu sekitar 2–7 jam. Kelebihan metode ini adalah waktu ekstraksinya singkat dibandingkan maserasi, proses difusi sel berlangsung secara terus menerus karena bantuan suhu panas dan dingin, serta alat yang digunakan sederhana dan murah sehingga metode ini tergolong efektif dan efisien (Susanty,2016).

2.2.3.3 MAE (*Microwave Assisted Extraction*)

Microwave Assisted Extraction adalah metode ekstraksi modern yang memanfaatkan gelombang elektromagnetik dengan jarak panjang gelombang yaitu antara 1 mm - 1 m dan jarak frekuensi antara 300 MHz - 300 GHz. Gelombang elektromagnetik tersebut bersifat seperti magnet yang memiliki 2 ion kutub (positif dan negatif). Prinsip kerja metode ini didasarkan pada efek gelombang elektromagnetik (mikro) pada molekul material yang sedang di ekstraksi. Gelombang elektromagnetik menyebabkan interaksi dipol antara simplisia dengan pelarut sehingga menghasilkan suatu gesekan, dimana gesekan tersebut akan menaikkan suhu dan tekanan pada pelarut dan simplisia sehingga menciptakan energi panas. Dengan kata lain gelombang elektromagnetik akan bertransformasi menjadi energi panas. Transformasi yang terjadi dalam dua mekanisme, yaitu konduksi ionik dan rotasi dipol, yang terjadi di dalam pelarut dan di dalam simplisianya. Keuntungan ekstraksi MAE adalah proses ekstraksi berlangsung dengan cepat, prosesnya mudah, hemat biaya dan rendemen yang diperoleh tinggi. Sedangkan kekurangannya yaitu, diperlukan proses lanjutan seperti sentrifugasi untuk memisahkan residu padat yang dihasilkan dan efisiensi metode ini akan menjadi sangat rendah ketika senyawa target dan media pelarutnya bukan berupa senyawa polar atau senyawa volatil (Zahar dkk., 2021).

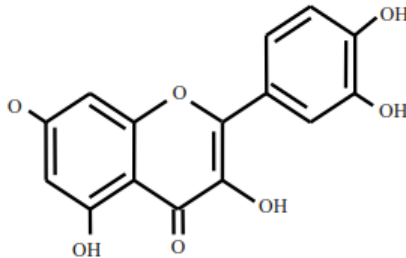
2.2.3.4 UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*)

Ultrasonic Assisted Extraction adalah jenis ekstraksi modern yang memanfaatkan gelombang ultrasonik untuk mengekstraksi suatu senyawa. Gelombang ultrasonik adalah gelombang mekanik longitudinal yang tidak dapat didengar oleh telinga manusia karena frekuensinya sangat tinggi (frekuensi 20.000 Hz) dan dapat merambat dalam medium padat, cair, dan gas. Frekuensi yang diasosiasikan dengan gelombang ultrasonik yang diaplikasikan pada perangkat elektronik dihasilkan oleh getaran elastis dari sebuah kristal kuarsa yang diinduksikan oleh *resonans* dengan suatu medan listrik bolak-balik yang dipakaikan (efek *piezoelektric*). Faktor yang mempengaruhi metode ini adalah intensitas amplitudo, ukuran partikel, jenis pelarut, pH media ekstraksi, waktu dan temperatur. Prinsip kerja metode ini yaitu ketika ekstrak disonikasi, gelombang ultrasonik akan memecah dinding sel lalu melepaskan isi sel ke media ekstraksi atau pelarut. Metode ini memanfaatkan efek kavitasi yaitu pembentukan, pertumbuhan dan pemecahan *microbubble* (gelembung mikro) sehingga akan melepaskan sejumlah energi. Pada penelitian ini digunakan ekstraksi UAE dengan teknik *ultrasonic bath*, yaitu teknik perambatan energi dengan menggunakan cairan sebagai media perambatan yang akan meningkatkan intensitas perpindahan energi sehingga proses ekstraksi lebih maksimal. Kelebihan penggunaan metode ini adalah dapat meningkatkan penetrasi dari cairan menuju dinding sel, laju perpindahan zat ke pelarut lebih cepat, meningkatkan hasil ekstraksi, penggunaan suhu yang rendah, dan waktu yang singkat (Marlina Kristina dkk., 2022).

2.3 Flavonoid

Flavonoid adalah salah satu senyawa metabolit sekunder yang biasanya terkandung di dalam jaringan tumbuhan hijau. Flavonoid termasuk ke dalam golongan fenolik yang tersusun atas 15 atom karbon dan memiliki struktur kimia C₆-C₃-C₆. Kerangka struktur flavonoid terdiri dari satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berbentuk heterosiklik yang mengandung oksigen. Flavonoid termasuk ke dalam senyawa polar karena dalam struktur kimianya memiliki gugus

hidroksil (-OH) sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, air butanol, aseton dan lain sebagainya (Bustanul dan Sanusi, 2018).



Gambar 2 : Struktur Flavonoid

(Sumber : Redha, 2010)

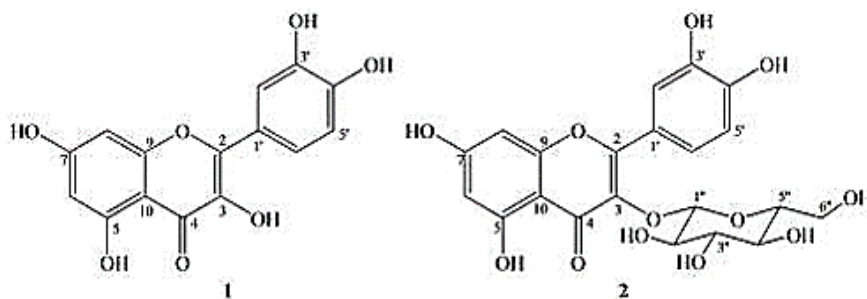
Flavonoid dapat ditemukan pada tanaman, yang memproduksi pigmen berwarna kuning, merah, oranye, biru, dan warna ungu dari buah, bunga, dan daun suatu tumbuhan. Flavonoid termasuk dalam *family* polifenol yang larut dalam air. Kegunaan flavonoid dalam bidang farmasi yaitu dapat mengurangi kekakuan dan permeabilitas kapiler, sebagai senyawa antiinflamasi, antialergi dan hepatoprotektor, antispasmodik, dapat menurunkan kadar kolesterol serum, sebagai agen diuretik, antibakteri, antifungi, antivirus, antitumor, dapat menghambat beberapa macam enzim, berperan sebagai antioksidan dan imunomodulator (Khoirunnisa dan Sumiwi, 2019).

Manfaat flavonoid untuk kesehatan tubuh yaitu flavonoid sebagai antioksidan bekerja dengan mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menetralkan efek toksik dari radikal bebas. Flavonoid juga dapat memperlancar sirkulasi darah dengan bekerja sebagai antikolesterol dan juga dapat berperan sebagai agen antiinflamasi, serta berperan sebagai zat pengkelat logam yang akan menurunkan aktivitas katalitik dari logam Cu dan Fe sehingga akan mengurangi terbentuknya radikal *OH dan secara otomatis akan menurunkan proses kerusakan DNA dan proses peroksidasi lemak (PUFA) (Akhlaghi, 2009).

2.4 Kuersetin

Kuersetin merupakan salah satu golongan flavonoid berupa flavonol dan bersifat polar. Kuersetin berwarna kuning dan termasuk kedalam *subclass* flavonol dengan struktur cincin dan konfigurasi aglyconnya dari kelompok hidroksil yang bermanfaat sebagai antioksidan serta menunjukkan kemampuan dalam mencegah oksidasi *low-density lipoprotein* (LDL) dengan cara menangkal radikal bebas dan ion-ion transisi sehingga kuersetin dapat mencegah beberapa penyakit tertentu, seperti kanker, aterosklerosis, dan peradangan kronis (Bustanul dan Sanusi, 2018).

Dalam penentuan kadar flavonoid, kuersetin biasanya digunakan sebagai larutan pembanding karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang strukturnya mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 sehingga dapat membentuk kompleks warna dengan $AlCl_3$. Struktur kuersetin hampir menyerupai flavonoid pada umumnya sehingga senyawa ini dijadikan sebagai pembanding. Cara mengukur kadar flavonoid yaitu dengan mengukur panjang gelombangnya terlebih dahulu pada alat spektrofotometri Uv-Vis. Hasil pengukuran panjang gelombang ini nanti dibandingkan dengan panjang gelombang kuersetin sebagai acuan dari kadar flavonoid tersebut. Panjang gelombang maximum standar larutan kuersetin adalah sekitar 435 nm (Desmiaty, 2009).



Gambar 3 : Struktur Kuersetin

(Sumber : Horizon *et al.* 2015)

2.5 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode analisis kimia yang digunakan dalam pengukuran absorbansi (serapan) suatu senyawa atau sampel uji. Alat yang digunakan pada metode ini adalah spektrofotometer yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer merupakan alat yang menghasilkan sinar spektrum dengan panjang gelombang tertentu. Panjang gelombang tiap senyawa berbeda dan tergantung dari sampel apa yang digunakan. Sedangkan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang diserap. Metode spektrofotometri ini dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif suatu sampel uji dengan menggunakan sumber radiasi elektromagnetik UV (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm). Prinsip kerja metode spektrofotometri adalah ketika cahaya (monokromatik maupun campuran) melewati sampel, maka sebagian dari cahaya yang masuk akan dipantulkan, tetapi sebagian cahayanya akan diserap oleh sampel tersebut, dan sisanya akan diteruskan. Nilai yang akan keluar dari cahaya yang diteruskan tadi adalah nilai serapannya atau nilai absorbansinya. Penentuan kadar senyawa yang diuji berdasarkan nilai absorbansi yang dihasilkan. Pengukuran absorbansi ini didasarkan pada hukum *lambert beer* yang menyatakan bahwa nilai absorbansi cahaya dari sampel akan berbanding lurus dengan konsentrasi sampel tersebut (Yanlinastuti dan Fatimah, 2016).

Nilai absorbansi yang diperoleh dari hasil pengukuran larutan standar kuersetin akan digambarkan dengan persamaan regresi linier dengan rumus :

$$y = bx + a$$

y = absorbansi

a = konstanta

x = konsentrasi

b = kemiringan (slope)

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai bulan Mei tahun 2023 di Laboratorium Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan, Kota Bogor, Jawa Barat.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat refluks (*Jaluba Perkasa*), Blender, Bulp (*D&N Germany*), Cawan uap (*RRC*), Krus (*RRC*), Labu alas bulat (*Scott Duran*), Maserator, Mesh 40 (*ABM*), Microwave (*Samsung*), Oven (*Memmert*), Penangas air (*Maspion S-302*), Peralatan kaca (*Pyrex*), Pipet volume (*Pyrex Iwaki*), Rotary Evaporator (*IKA HB-10*), Spektrofotometri Uv-Vis (*Jasco V-730*), Tanur (*Daihan Scientific Furnace*), Timbangan analitik (*Lab Pro DT224C*), Ultrasonic bath (*Branson 2800*), dan Waterbath.

3.2.2 Bahan

Alumunium Clorida (Merck), Aquadest, Asam asetat anhidrat (Merck), Asam sulfat (Merck), Etanol (Absolute Merck - Supelco), Feri Clorida (Absolute Merck - Supelco), Asam Clorida (Merck), Kloroform (Merck), Kuersetin (Sigma), Natrium Asetat (Brataco), Pereaksi Bouchardat, Pereaksi Dragendorff, Pereaksi Mayer, Serbuk mg (Merck) dan Simplisia dan ekstrak etanol bayam duri (*Amaranthus Spinousus L.*)

3.3 Metode Kerja Penelitian

3.3.1 Determinasi Tanaman Bayam Duri

Determinasi tanaman merupakan tahap awal penelitian yang meliputi family, ordo, genus, spesies maupun taksonomi suatu tanaman.

3.3.2 Pembuatan Serbuk Simplisia

Pengumpulan bahan baku simplisia bayam duri dilakukan di kebun Cikabayan IPB dengan mengambil herba segarnya. Diperoleh herba segarnya sebanyak 7,9 kg. Setelah bahan baku terkumpul, dilakukan sortasi basah yaitu dengan mencuci tanaman dengan air mengalir. Lalu tanaman yang sudah bersih dikeringkan dengan menggunakan oven. Setelah itu, dilakukan sortasi kering dengan membuang bagian yang tidak diperlukan dalam tanaman. Simplisia yang sudah di sortasi kering ditimbang terlebih dahulu, baru setelah itu diserbukkan dengan menggunakan blender. Serbuk simplisia bayam duri diayak dengan menggunakan mesh 40, setelah itu serbuk ditimbang dan dihitung rendemennya (Suharyanto dan Hayati, 2021).

$$\% \text{Rendemen Simplisia} : \frac{\text{Berat Serbuk Simplisia (Berat Akhir)}}{\text{Berat Tanaman (Berat awal)}} \times 100\%$$

3.3.3 Ekstraksi Metode Maserasi

Ekstraksi maserasi dilakukan dengan 3x pengulangan, dimana tiap pengulangan dilakukan dengan prosedur sebagai berikut. Perbandingan antara ekstrak dan pelarut yaitu 1:10, serbuk simplisia bayam duri ditimbang sebanyak 80 gram lalu dimasukkan ke dalam botol coklat. Setelah itu ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 800 ml dan dihomogenkan. Ekstrak direndam selama 1x24 jam dengan terus melakukan pengadukan ekstrak tiap 6 jam sekali. Setelah itu ekstrak di enap tuangkan selama 24 jam, lalu disaring dengan kertas penyaring untuk memisahkan filtrat dengan ampasnya. Ampasnya di remaserasi kembali sebanyak 2 kali perlakuan dengan pelarut baru. Setelah itu masing-masing filtrat di pekatkan dengan *rotary evaporator* sampai memperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental dapat disimpan pada wadah tertutup rapat dan terlindung dari cahaya (Aminah dkk., 2017). Ekstrak Hasil ekstrak kental dihitung %rendemennya dengan rumus:

$$\% \text{Rendemen Ekstrak} : \frac{\text{Berat Ekstrak Kental (Berat Akhir)}}{\text{Berat Serbuk Simplisia (Berat awal)}} \times 100\%$$

3.3.4 Ekstraksi Metode Refluks

Ekstraksi refluks dilakukan dengan 3x pengulangan, dimana tiap pengulangan dilakukan dengan prosedur sebagai berikut. Perbandingan antara ekstrak dan pelarut yaitu 1:10, langkah pertama yaitu dengan menimbang serbuk simplisia bayam duri sebanyak 80 gram, lalu dimasukkan ke dalam labu alas bulat. Setelah itu ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 800 ml. Ekstrak dihomogenkan dan diekstraksi selama 2 jam pada suhu 50°C. Setelah itu ekstrak di enap tuangkan selama 24 jam lalu ekstrak disaring dengan kertas penyaring untuk memisahkan filtrat dengan ampasnya. Ampasnya di ekstraksi kembali sebanyak 2 kali perlakuan dengan pelarut baru. Setelah itu masing-masing filtrat di pekatkan dengan *rotary evaporator* sampai memperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental dapat disimpan pada wadah tertutup rapat dan terlindung dari cahaya. Masing-masing hasil ekstrak kental dihitung %rendemennya (Susanty, 2016).

3.3.5 Ekstraksi Metode MAE (*Microwave Assisted Extraction*)

Ekstraksi MAE dilakukan dengan 3x pengulangan, dimana tiap pengulangan dilakukan dengan prosedur sebagai berikut. Perbandingan antara ekstrak dan pelarut yaitu 1:10, langkah pertama yaitu dengan menimbang serbuk simplisia bayam duri sebanyak 80 gram. Lalu, serbuk simplisia dimasukkan ke dalam erlenmayer dan ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 800 ml. Selanjutnya, ekstrak dimasukkan ke dalam *microwave* dengan daya sebesar 800 watt dan diekstraksi selama 6 menit. Radiasi *micro* dimatikan tiap 2 menit agar tidak terjadi perluapan atau pendidihan pada ekstrak. Setelah selesai mengekstraksi, ekstrak di enap tuangkan selama 24 jam lalu filtrat disaring dengan kertas saring untuk memisahkan filtrat dengan ampasnya. Ampasnya di ekstraksi kembali sebanyak 2 kali perlakuan dengan pelarut baru. Setelah itu masing-masing filtrat di pekatkan dengan *rotary evaporator* sampai memperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental dapat disimpan pada wadah tertutup rapat dan terlindung dari cahaya. Masing-masing hasil ekstrak kental dihitung %rendemennya (Quan,2006).

3.3.6 Ekstraksi Metode UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*)

Ekstraksi UAE dilakukan dengan 3x pengulangan, dimana tiap pengulangan dilakukan dengan prosedur sebagai berikut. Perbandingan antara ekstrak dan pelarut yaitu 1:10, langkah pertama yaitu dengan menimbang serbuk simplisia bayam duri sebanyak 80 gram. Lalu, serbuk simplisia dimasukkan ke dalam erlenmayer dan ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 800 ml. Setelah itu, ekstrak disonikasi dengan *ultrasonic bath* dengan frekuensi 40 kHz selama 30 menit. Setelah ekstrak disonikasi, ekstrak didiamkan selama 30 menit. Setelah itu ekstrak di enap tuangkan selama 24 jam, lalu filtrat disaring untuk memisahkan filtrat dengan ampasnya. Ampasnya di ekstraksi kembali sebanyak 2 kali perlakuan dengan pelarut baru. Setelah itu masing-masing filtrat di pekatkan dengan *rotary evaporator* sampai memperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental dapat disimpan pada wadah tertutup rapat dan terlindung dari cahaya. Masing-masing hasil ekstrak kental dihitung %rendemennya (Sasongko dkk., 2017).

3.4 Penetapan Kadar Flavonoid

3.4.1 Preparasi Larutan

3.4.1.1 Preparasi Larutan Standar Induk Kuersetin

Sebanyak 25 mg kuersetin ditimbang, lalu dilarutkan ke dalam 25 ml etanol pa, diperoleh larutan standar baku kuersetin dengan konsentrasi 1000 ppm. Dipipet 1 ml larutan standar baku kuersetin 1000 ppm, dilarutkan dengan etanol pa sebanyak 10 ml diperoleh larutan standar baku kuersetin dengan konsentrasi 100 ppm (Kumalasari dkk., 2018).

3.4.1.2 Preparasi Larutan Na Asetat 1 M

Sebanyak 8,2 gram Natrium asetat ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml lalu dilarutkan dengan aquadest hingga tanda batas dan dihomogenkan (Permadi dkk., 2018).

3.4.1.3 Preparasi Larutan AlCl_3 10%

Sebanyak 10 gram aluminium klorida ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, lalu dilarutkan dengan aquadest hingga tanda batas dan dihomogenkan (Permadi dkk., 2018).

3.4.1.4 Preparasi Larutan Sampel

Sebanyak 25 mg ekstrak etanol bayam duri ditimbang, lalu dilarutkan dengan 25 ml etanol pa diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm (Kumalasari dkk., 2018).

3.4.1.5 Preparasi Larutan Blanko

Sebanyak 3 ml etanol pa dipipet, lalu dimasukkan ke dalam vial 10 ml, kemudian dipipet sebanyak 0,1 ml AlCl_3 dan 0,1 ml Na Asetat. Lalu add aquadest hingga tanda batas dan dihomogenkan.

3.4.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{max}) Kuersetin

Penentuan panjang gelombang maximum dilakukan dengan larutan uji kuersetin menggunakan metode running pada range gelombang 400-500 nm. Larutan uji dibuat dengan memipet sebanyak 0,5 ml larutan standar kuersetin 100 ppm, ditambahkan 3 ml etanol pa, 0,1 ml AlCl_3 , 0,1 ml Na asetat 1M, dan add aquadest hingga 10 ml. Kemudian diukur panjang gelombang maksimumnya pada range 400-500 nm (Aminah, 2017).

3.4.3 Penentuan Waktu Inkubasi

Operating time atau waktu inkubasi ditentukan dengan menggunakan larutan uji yang sama seperti penentuan panjang gelombang maksimum, yaitu dengan memipet sebanyak 0,5 ml larutan standar kuersetin 100 ppm, ditambahkan 3 ml etanol pa, 0,1 ml AlCl_3 , 0,1 ml Na asetat 1M, dan add aquadest hingga 10 ml. Kemudian larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang max dengan interval waktu 10 menit hingga diperoleh absorbansi yang stabil, waktu inkubasi dilakukan selama ± 60 menit. (Rahayu dkk., 2021).

3.4.4 Penetapan Kurva Kalibrasi Kuersetin

Analisis kadar kuersetin dilakukan dengan menggunakan kurva kalibrasi. Dipipet larutan kuersetin konsentrasi 100 ppm masing-masing sebanyak 0.2 ml, 0.4 ml, 0.6 ml, 0,8 ml dan 1 ml lalu dimasukkan ke dalam vial 10 ml. Setelah itu, ditambahkan 3 ml etanol pa, 0,1 ml Na Asetat 1 M, 0,1 ml $AlCl_3$ lalu add aquadest hingga 10 ml. Maka diperoleh konsentrasi larutan baku standar kuersetin 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm. Setelah itu, masing-masing absorbansi pada setiap konsentrasi di plot ke dalam kurva kalibrasi untuk memperoleh persamaannya dengan menggunakan persamaan rumus : $y = bx + a$ (Kumalasari dkk., 2018).

3.4.5 Pengukuran Kadar Flavonoid Ekstrak

Sebanyak 5 ml larutan ekstrak dari konsentrasi 1000 ppm dipipet, kemudian dimasukkan ke dalam vial 10 ml, lalu ditambahkan 3 ml etanol pa, 0,1 ml $AlCl_3$ 10%, 0,1 ml Na asetat 1M, lalu add aquadest hingga tanda batas. Dihomogenkan, lalu larutan diinkubasi berdasarkan hasil penentuan waktu inkubasi optimum. Setelah diinkubasi, larutan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 434 nm. Pengukuran kadar flavonoid dilakukan sebanyak 3x (triplo). Hasil absorbansi setiap larutan sampel digunakan untuk menghitung kadar flavonoid yang terkandung pada setiap sampel dengan menggunakan rumus :

- $C = \frac{Abs-a}{b}$ (mg/L)

- Kadar Flavonoid (mg QE/g) = $\frac{C \times Volume\ Awal \times Fp}{W\ sampel}$

Keterangan :

Abs	= Absorbansi masing-masing larutan uji
a	= Intercept
b	= Slope
C	= Konsentrasi Larutan Standar (ppm)
Volume Awal	= Volume ekstrak setelah ditimbang (L)
Fp	= Faktor pengenceran
W sampel	= Bobot Sampel (g) (Kumalasari dkk., 2018).

3.5 Skringing Fitokimia

3.5.1 Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 gram serbuk simplisia dan ekstrak bayam duri (*Amaranthus Spinusus L.*) ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan HCl pekat dan 0,1 gram serbuk mg. Panaskan selama 15 menit di penangas air dan diamati perubahannya. Apabila terbentuk warna merah atau warna kuning, menandakan sampel tersebut positif mengandung flavonoid (Muthmainnah, 2017).

3.5.2 Uji Alkaloid

Sebanyak 2 gram serbuk simplisia dan ekstrak bayam duri (*Amaranthus Spinusus L.*) ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditetesi sebanyak 5 ml HCl 2N dan dipanaskan lalu dinginkan. Diambil masing-masing 1 ml sampel lalu dipisahkan ke dalam 3 tabung reaksi. Pada masing-masing tabung reaksi ditetesi 3 jenis pereaksi, yakni pada tabung I ditetesi dengan pereaksi mayer. Hasil positif alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih atau kuning. Pada tabung II ditetesi pereaksi bouchardat. Hasil positif alkaloid ditandai dengan terbentuk endapan coklat. Pada tabung III ditetesi pereaksi dragendorff, hasil positif alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan jingga (Muthmainnah, 2017).

3.5.3 Uji Tanin

Sebanyak 0,5 gram serbuk simplisia dan ekstrak bayam duri (*Amaranthus Spinusus L.*) ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 10 ml air panas dan didihkan selama 5 menit. Diambil filtrat lalu ditambahkan FeCl₃ sebanyak 3-4 tetes. Hasil positif tannin ditandai dengan terbentuknya biru hitam atau hijau hitam (Muthmainnah, 2017).

3.5.4 Uji Terpenoid dan Steroid

Sebanyak 0,5 gram serbuk simplisia dan ekstrak bayam duri (*Amaranthus Spinusus L.*) ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, tambahkan 2

ml kloroform, 10 tetes asam asetat anhidrat, dan 3 tetes asam sulfat lalu dikocok. Diamkan sebentar, setelah Hasil positif terpenoid ditandai dengan terbentuknya warna merah atau kuning sedangkan hasil positif steroid ditandai dengan terbentuknya warna hijau (Muthmainnah, 2017).

3.5.5 Uji Saponin

Sebanyak 0,5 gram serbuk simplisia dan ekstrak bayam duri (*Amaranthus Spinusus L.*) ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml air panas lalu dinginkan. Kocok kuat selama 10 detik, apabila terbentuk busa atau buih setinggi 1-10 cm dan busa tidak berkurang selama 10 menit, artinya sampel positif mengandung saponin (Muthmainnah,2017).

3.6 Pengujian Mutu Simplisia dan Ekstrak Bayam Duri

3.6.1 Uji Organoleptik

Pengujian organoleptik merupakan salah satu uji mutu simplisia dan ekstrak yakni pengujian yang melibatkan panca indra manusia. Uji organoleptik dilakukan dengan mengamati bau, bentuk, teksktur, warna, dan rasa dari simplisia dan ekstrak bayam duri (*Amaranthus Spinusus L.*) (Susiwi, 2009).

3.6.2 Uji Kadar Air

Pengujian kadar air dilakukan pada serbuk simplisia dan ekstrak kental dari bayam duri (*Amaranthus Spinusus L.*). Berdasarkan penelitian Fitri dan Anita (2019), uji kadar air dilakukan dengan menggunakan metode gravimetri, yaitu dengan menimbang sebanyak 1 gram simplisia dan ekstrak. Lalu diletakkan ke dalam cawan uap yang sudah di panaskan selama 10 menit dan sudah diketahui bobot kosong cawan uap. Dimasukkan simplisia dan ekstrak ke dalam oven pada suhu 105°C selama 5 jam. Dinginkan terlebih dahulu selama 15 menit lalu ditimbang hingga bobot konstan. Dilakukan pengulangan sebanyak 2x dengan perlakuan yang sama. Adapun rumus perhitungan kadar air sebagai berikut:

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{(\text{Bobot sebelum dioven}) (g) - (\text{Bobot konstan})(g)}{\text{Bobot simplisia} (g)} \times 100\%$$

3.6.3 Uji Kadar Abu

Pengujian kadar abu dilakukan pada serbuk simplisia dan ekstrak kental dari bayam duri (*Amaranthus Spinusus L.*). Berdasarkan penelitian Fitri dan Anita (2019), uji kadar abu dilakukan dengan dengan menimbang sebanyak 1 gram simplisia dan ekstrak. Lalu diletakkan ke dalam cawan uap yang sudah di panaskan selama 10 menit dan sudah diketahui bobot kosong cawan uap. Dimasukkan simplisia dan ekstrak ke dalam krus lalu panaskan didalam tanur pada suhu 600°C selama 5 jam. Dipijar perlahan hingga arang habis lalu didinginkan dan timbang hingga bobot konstan serta dihitung kadar abunya. Dilakukan pengulangan sebanyak 2x dengan perlakuan yang sama. Adapun rumus perhitungan kadar abu sebagai berikut:

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{(\text{Bobot krus} + \text{Bobot Abu})(g) - (\text{Bobot krus kosong})}{\text{Bobot simplisia (g)}} \times 100\%$$

3.7 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan jumlah kadar flavonoid berdasarkan variasi metode ekstraksi antara ekstraksi konvensional dan ekstraksi modern. Analisis perbedaan jumlah kadar flavonoid pada ekstrak etanol bayam duri dilakukan dengan menggunakan *software* SPSS yakni uji *Anova*. Sebelum melakukan uji *Anova*, dilakukan uji Normalitas dan Homogenitas Variasi terlebih dahulu. Jika data terdistribusi normal, yakni menunjukkan nilai signifikansi kadar flavonoid <0,05 maka dapat dilanjutkan dengan uji *Anova*. Nilai tersebut menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar flavonoid yang diekstraksi dengan variasi metode ekstraksi. Apabila terdapat pengaruh antar perlakuan terhadap variasi metode ekstraksi, dilanjutkan dengan uji Duncan (Amelinda dkk., 2018).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman herba bayam duri dilaksanakan di Pusat Studi Biofarmaka Tropika (Trop BRC) LPPM-IPB, Kawasan STP IPB Taman Kencana. Jalan Taman Kencana No. 3 Bogor 16128. Determinasi tanaman ini dilakukan untuk validasi kebenaran tanaman yang digunakan pada penelitian ini, serta untuk menghindari kesalahan penggunaan sampel (Klau & Hesturini, 2021). Hasil determinasi tanaman yang diperoleh dari kebun Cikabayan IPB sudah sesuai dengan sampel penelitian, yaitu herba bayam duri (*Amaranthus Spinusus L.*) yang termasuk kedalam *Family Amaranthaceae*, suku *Asteraceae* dan Genus *Amaranthus*. Data determinasi dapat dilihat pada lampiran 2.

4.2 Karakteristik Simplisia Herba Bayam Duri

Simplisia herba bayam duri diperoleh dari bahan segar sebanyak 7,9 kg dan mendapatkan serbuk simplisia sebesar 1,112 kg. Dari hasil perhitungan rendemen simplisia, diperoleh rendemen sebesar 14,076%. Ciri-ciri serbuk simplisia herba bayam duri yakni berwarna hijau pucat, memiliki bau khas, tekstur agak kasar, rasa sedikit asam dan sepat. Hasil serbuk simplisia tersebut sudah sesuai dengan literatur Farmakope Herbal Edisi II (2017) yang menyatakan bahwa simplisia bayam duri memiliki warna hijau kehitaman, berbau khas dan rasa sedikit asam. Terdapat perbedaan warna dari literatur dengan hasil yang didapatkan. Hal itu terjadi karena pada literatur hanya menyatakan pemerian daun bayam duri saja, sedangkan sampel yang digunakan pada penelitian ini menggunakan herba bayam duri. Hasil tersebut didapatkan dengan uji organoleptik, dimana pengujian ini dilakukan dengan menggunakan panca indra manusia. Serbuk simplisia herba bayam duri dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Serbuk Simplisia Herba Bayam Duri

4.3 Ekstrak Kental dan Rendemen Herba Bayam Duri

Pada penelitian ini dilakukan beberapa metode ekstraksi, yang meliputi ekstraksi konvensional dan ekstraksi modern. Metode ekstraksi konvensional menggunakan metode maserasi dan refluks. Sedangkan jenis ekstraksi modern yaitu UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) dan MAE (*Microwave Assisted Extraction*). Perbedaan metode yang digunakan pada penelitian ini bertujuan untuk mencari jenis ekstraksi paling tepat dalam menghasilkan kadar flavonoid tertinggi pada herba bayam duri (*Amaranthus Spinusus L.*). Hasil ekstrak yang diperoleh memiliki warna hijau kehitaman, tekstur kental, berbau khas, rasa sedikit asam dan sepat. Hasil tersebut sudah sesuai dengan pemerian identitas ekstrak dalam Farmakope Herbal Edisi II (2017) yang menyatakan bahwa pemerian ekstrak bayam duri memiliki warna hijau kehitaman, bau khas, tekstur kental dan rasa sedikit asam. Hasil ekstrak kental dapat dilihat pada lampiran 4.

Kemudian, dilakukan perhitungan rendemen yang bertujuan untuk mengetahui seberapa banyak ekstrak yang didapatkan selama proses ekstraksi. Rendemen merupakan perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan jumlah simplisia yang digunakan. Menurut Hasnaeni dkk., (2019) rendemen dan senyawa aktif yang terkandung dalam sampel berbanding lurus, dimana semakin banyak

rendemen yang dihasilkan, maka semakin banyak kandungan senyawa aktifnya. Hasil rendemen ekstrak etanol herba bayam duri dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen Ekstrak Herba Bayam Duri Variasi Metode Ekstraksi

Metode Ekstraksi	Rendemen Ekstrak Rata-Rata (%) \pm SD
Maserasi	17,31 ^b \pm 0,09
Refluks	16,19 ^a \pm 0,44
UAE	18,25 ^c \pm 0,35
MAE	16,63 ^b \pm 0,18

Ekstraksi merupakan proses penarikan senyawa yang terkandung didalam suatu tumbuhan dengan menggunakan pelarut tertentu. Pelarut tersebut harus sesuai dengan tingkat kepolaran senyawa yang akan diekstraksi. Pada penelitian ini pelarut yang digunakan dalam mengekstraksi senyawa flavonoid adalah etanol 70%. Flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar, sehingga sangat cocok diekstraksi dengan etanol karena sama-sama bersifat polar. Berdasarkan tabel 1, dapat dilihat bahwa metode ekstraksi maserasi, refluks dan MAE (*Microwave Assisted Extraction*) memiliki rendemen yang tidak jauh berbeda sedangkan perolehan rendemen tertinggi terdapat pada metode ekstraksi UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) dengan persentase rendemen dan standar deviasi 18,25% \pm 0,35. Persentase rendemen dari ke-4 jenis metode ekstraksi tersebut sudah memenuhi syarat yang tertera dalam Farmakope Herbal Edisi II (2017) yakni memiliki rendemen tidak kurang dari 9,7%. Dari hasil simpangan yang diperoleh, menunjukkan tingkat keterulangan yang baik. Artinya homogenitas bahan baku yang digunakan baik, serta metode ekstraksi yang digunakan dapat di replikasi. Tetapi, hasil tersebut belum dapat memperlihatkan homogenitas kandungan senyawa dalam ekstrak. Berdasarkan hasil uji ANOVA, diperoleh nilai sig <0,05

yang artinya terdapat perbedaan nyata pada tiap jenis metode ekstraksi atau variasi metode ekstraksi mempengaruhi jumlah rendemen yang dihasilkan.

Persentase rendemen dari metode ekstraksi UAE dan Maserasi lebih tinggi daripada metode ekstraksi MAE dan Refluks. Hal itu terjadi karena dipengaruhi oleh beberapa faktor. Faktor yang mempengaruhi tingginya rendemen yang dihasilkan dari metode UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) yaitu intensitas amplitudo dengan frekuensi 40 kHz dan dibantu oleh pemanasan pada suhu 40°C. Selain itu, ekstraksi UAE juga dapat meningkatkan penetrasi dari cairan menuju dinding sel, laju perpindahan zat ke pelarut lebih cepat, meningkatkan hasil ekstraksi, penggunaan suhu yang rendah, dan waktu yang singkat (Marlina Kristina dkk.,2022). Faktor yang mempengaruhi persentase rendemen pada metode maserasi yaitu waktu dan pengadukan. Semakin lama waktu ekstraksi, maka semakin lama juga kontak antara pelarut dan simplisia. Sehingga rendemen yang dihasilkan juga akan banyak. Proses pengadukan juga akan mempengaruhi rendemen yang dihasilkan, dimana ketika sampel di aduk maka akan mempercepat proses difusi sel antara simplisia dengan pelarutnya (Agustina dkk., 2018).

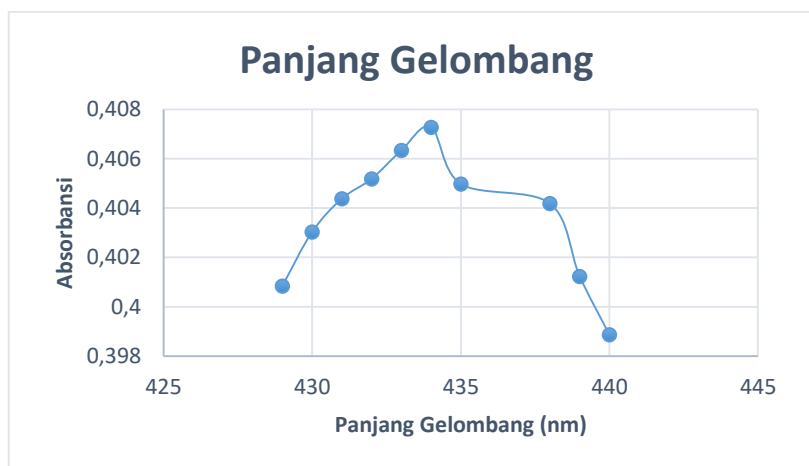
Rendemen yang dihasilkan dari metode ekstraksi MAE (*Microwave Assisted Extraction*) lebih tinggi daripada metode refluks. Hal itu terjadi karena pada metode MAE dipengaruhi oleh faktor suhu dan gelombang mikro. Gelombang mikro tersebut akan menyebabkan interaksi dipol antara simplisia dengan pelarut, sehingga menyebabkan kenaikan suhu dan tekanan pada pelarut maka terjadilah difusi sel. Pada metode ekstraksi refluks dipengaruhi oleh faktor suhu dan waktu, dimana pada metode ini menggunakan suhu panas dan dingin dengan waktu ekstraksi selama 2 jam. Suhu panas berfungsi untuk mempercepat ekstraksi dengan menguapkan pelarut lalu pelarut akan didinginkan menggunakan kondensor dan mengembun kembali, sehingga jumlah pelarut akan relatif konstan karena adanya pendingin balik (Susanty dan Bachmid, 2016).

4.4 Hasil Analisis Kadar Flavonoid Variasi Metode Ekstraksi

4.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penetapan kadar flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Metode ini merupakan instrument analisis kimia yang digunakan dalam pengukuran absorbansi (serapan) suatu senyawa atau sampel uji. Alat ini terdiri dari spektrometer yang dapat menghasilkan sinar spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer, yang dapat mengukur intensitas cahaya yang diserap (Yanlinastuti dan Fatimah, 2016).

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan spektrofotometri UV-Vis, yang bertujuan untuk mengetahui daerah serapan maksimal dari larutan baku standar kuersetin dengan pereaksi $AlCl_3$. Pada penelitian ini range panjang gelombang yang digunakan adalah 400-500 nm. Berikut grafik panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada Gambar 5.

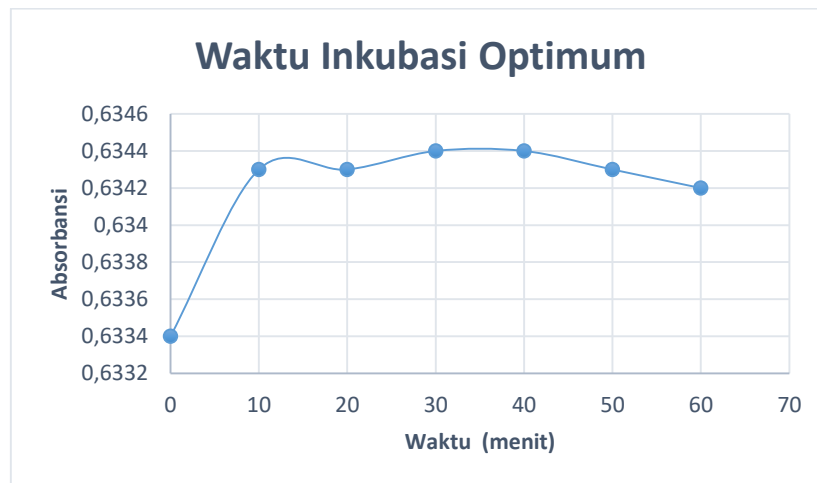


Gambar 5. Grafik Panjang Gelombang Maksimum

Berdasarkan grafik tersebut, dapat terlihat bahwa panjang gelombang maksimum yang diperoleh terdapat pada absorbansi tertinggi 0,4072 yang berada pada range 434 nm. Hasil tersebut mendekati range panjang gelombang maksimum dalam penelitian Aminah (2017) yang memperoleh panjang gelombang 435 nm. Data penentuan panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada lampiran 11.

4.4.2 Penentuan Waktu Inkubasi Optimum

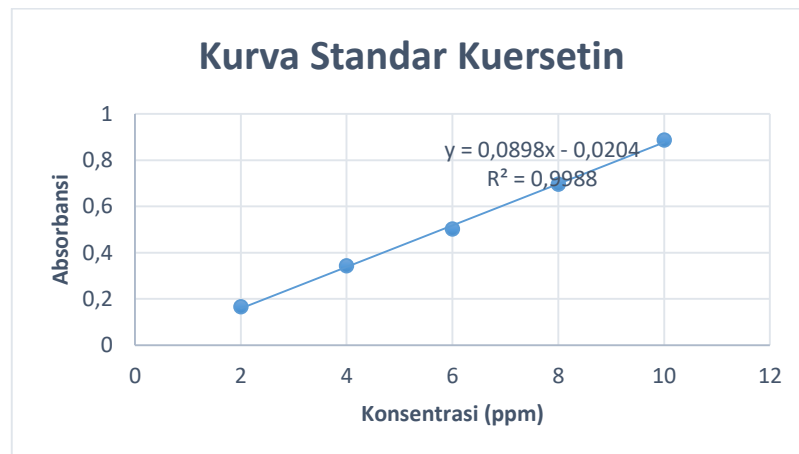
Penentuan waktu inkubasi optimum atau *operating time* dapat dilakukan dengan mengukur absorbansi standar kuersetin pada panjang gelombang maksimum yang sebelumnya sudah didapatkan, yakni panjang gelombang 434 nm. Tujuan dilakukan penentuan waktu inkubasi optimum yaitu untuk mencari waktu reaksi yang paling stabil atau waktu yang dibutuhkan dalam menghasilkan absorbansi yang stabil. Pada penelitian ini, pengukuran waktu inkubasi optimum dilakukan dengan menghitung absorbansinya tiap 10 menit selama ± 60 menit. Hasil pengukuran waktu inkubasi optimum yaitu terdapat pada menit ke-30. Hasil tersebut sudah sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Suharyanto dan Prima (2020) yang menyatakan bahwa nilai absorbansi yang stabil dimulai dari menit ke-30. Penentuan waktu inkubasi ini penting untuk dilakukan, karena senyawa yang akan diukur absorbansinya merupakan senyawa kompleks antara kuersetin dan $AlCl_3$, dimana senyawa tersebut membutuhkan waktu agar dapat membentuk suatu absorbansi yang stabil. Grafik waktu inkubasi optimum dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik Waktu Inkubasi Optimum

4.4.3 Kurva Standar Kuersetin

Pada analisis kadar flavonoid ekstrak etanol herba bayam duri, digunakan kuersetin sebagai standar atau larutan pembanding karena kuersetin termasuk kedalam senyawa flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 sehingga dapat membentuk kompleks warna dengan $AlCl_3$. Struktur kuersetin hampir menyerupai flavonoid, sehingga dapat digunakan sebagai larutan standar pada penetapan kadar flavonoid. Pada penelitian ini, konsentrasi larutan standar kuersetin diambil dari konsentrasi 100 ppm lalu dibuat deret konsentrasi standarnya yang dimulai dari konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm. Tujuan dibuat deret konsentrasi kuersetin yaitu karena dalam penentuan kadar flavonoid ini menggunakan metode persamaan kurva baku, dimana persamaan tersebut menunjukkan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasinya. Berikut grafik kurva standar kuersetin dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Kurva Standar Kuersetin

Berdasarkan grafik tersebut terlihat bahwa hasil pengukuran standar kuersetin menunjukkan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi yang berbanding lurus, semakin tinggi konsentrasinya maka semakin besar absorbansi yang

diperoleh. Hasil pengukuran tersebut memperoleh persamaan regresi linear yaitu $y = 0,0898x - 0,0204$ dengan nilai R^2 sebesar 0,9988. Nilai R menunjukkan korelasi hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi yang dihasilkan. Syarat nilai korelasi yang baik yaitu nilai R sama dengan 1 atau mendekati 1 (Aminah, 2017).

4.4.4 Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Variasi Metode Ekstraksi

Penetapan kadar flavonoid ekstrak etanol herba bayam duri dilakukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 434 nm dan waktu inkubasi selama 30 menit. Digunakan kuersetin sebagai standarnya dan memperoleh nilai persamaan regresi linear $y = 0,0898x - 0,0204$ dengan nilai R^2 sebesar 0,9988. Persamaan regresi linear ini akan digunakan dalam perhitungan kadar flavonoid yang menunjukkan nilai konsentrasi kadarnya. Dalam penetapan kadar flavonoid ini digunakan metode kolorimetri, yakni metode yang menggunakan senyawa $AlCl_3$ sehingga akan membentuk senyawa kompleks antara $AlCl_3$ dengan gugus keto (C-4) dan gugus hidroksi (C3 atau C-5) pada senyawa flavon atau flavonol. Terbentuknya senyawa kompleks ini akan menyebabkan terjadinya efek batokromik atau pergeseran panjang gelombang ke arah visible (tampak) yang ditandai dengan perubahan warna sampel yang menjadi lebih kuning ketika direaksikan dengan $AlCl_3$ (Suharyanto dan Prima, 2020). Dalam analisis kadar flavonoid ekstrak etanol herba bayam duri juga menggunakan senyawa natrium asetat yang berfungsi sebagai pereaksi geser, pendeteksi adanya gugus 7-OH dan juga dapat mempertahankan panjang gelombang pada daerah visible (tampak) (Suwartini dkk, 2020).

Pada penelitian ini dilakukan analisis kadar flavonoid berdasarkan perbedaan metode ekstraksi. Jenis Metode Ekstraksi yang digunakan antara lain yaitu maserasi, refluks, MAE (*Microwave Assisted Extraction*) dan UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*). Diantara ke-4 jenis metode tersebut, dua diantaranya merupakan metode ekstraksi konvensional, sedangkan 2 lainnya merupakan

metode ekstraksi modern. Berdasarkan penelitian Utami dkk, (2020) menyatakan bahwa metode ekstraksi MAE dan UAE memperoleh persentase kadar flavonoid daun iler lebih tinggi dibandingkan dengan metode ekstraksi maserasi dan refluks. Sedangkan pada penelitian ini kadar flavonoid tertinggi diperoleh dari metode ekstraksi refluks yang diikuti oleh metode maserasi. Kadar flavonoid ekstrak etanol bayam duri (*Amaranthus Spinusus L.*) dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Kadar Flavonoid Herba Bayam Duri Perbedaan Metode Ekstraksi

Metode Ekstraksi	Rata-rata Kadar Flavonoid (mg QE/gram) dan SD
Maserasi	14,92 ^b ± 0,11
Refluks	18,37 ^c ± 0,47
MAE	13,24 ^a ± 0,78
UAE	12,48 ^a ± 0,60

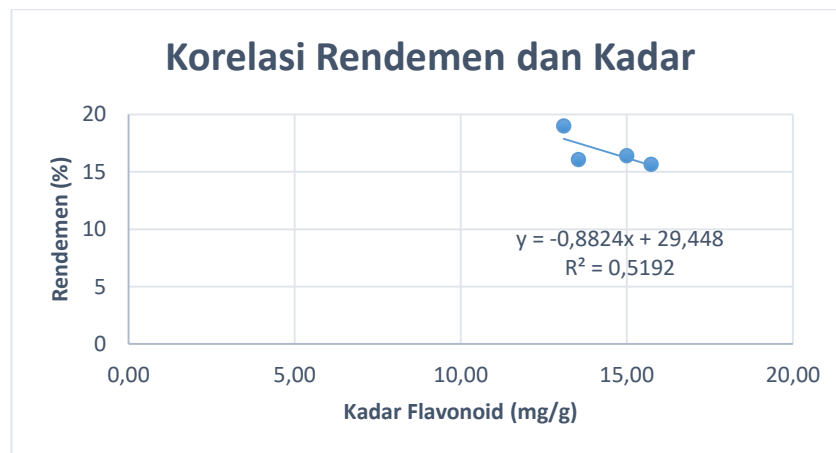
Berdasarkan data tabel diatas, menunjukkan bahwa jenis metode ekstraksi konvensional yaitu refluks memiliki jumlah kadar flavonoid tertinggi yaitu sebesar 18,37 mg QE/g dengan nilai SD ± 0,47. Diikuti oleh ekstraksi maserasi yang memperoleh kadar flavonoid sebesar 14,92 mg QE/g dengan nilai SD ± 0,11. Sedangkan untuk jenis metode ekstraksi modern yakni MAE memperoleh kadar flavonoid sebesar 13,24 mg QE/g dengan nilai SD ± 0,78 dan diikuti oleh ekstraksi UAE yang memperoleh kadar flavonoid sebesar 12,48 mg QE/g dengan nilai SD ± 0,60. Dari hasil tersebut, terlihat bahwa perbedaan metode ekstraksi dapat menghasilkan kadar flavonoid yang berbeda. Perbedaan jumlah kadar tersebut dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu bahan, waktu ekstraksi, gelombang, dan suhu ekstraksi. (Maslukhah dkk., 2016).

4.4.5 Evaluasi Metode Ekstraksi Berdasarkan Rendemen dan Kadar Flavonoid

Apabila dilihat dari persentase rendemen yang dihasilkan dan dibandingkan dengan jumlah kadar flavonoid, diperoleh korelasi antara rendemen dan kadar flavonoid berdasarkan variasi metode ekstraksi. Berikut data rendemen ekstrak dengan kadar flavonoid dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 8.

Tabel 3. Korelasi Rendemen dengan Kadar Flavonoid Herba Bayam Duri

Metode Ekstraksi	Rendemen (%) \pm SD	Kadar Flavonoid (mg QE/g) \pm SD
Maserasi	17,31 ^b \pm 0,09	14,92 ^b \pm 0,11
Refluks	16,19 ^a \pm 0,44	18,37 ^c \pm 0,47
MAE	16,63 ^b \pm 0,18	13,24 ^a \pm 0,78
UAE	18,25 ^c \pm 0,35	12,48 ^a \pm 0,60



Gambar 8. Grafik Korelasi Rendemen dan Kadar Flavonoid

Dari hasil grafik tersebut, didapatkan nilai R^2 yaitu 0,5192 sehingga dapat disimpulkan bahwa korelasi antara rendemen dengan kadar flavonoid lemah. Nilai korelasi yang baik yaitu nilai R^2 mendekati 1, artinya hubungan antara rendemen dengan kadar flavonoidnya kuat. Tetapi berdasarkan hasil penelitian menunjukkan korelasi antara dua variabel tersebut lemah, sehingga dapat dikatakan bahwa

persentase jumlah rendemen ekstrak tidak berpengaruh terhadap jumlah kadar flavonoid yang dihasilkan. Karena jumlah rendemen yang tinggi belum tentu banyak mengekstrak senyawa flavonoid, tetapi mengekstrak senyawa lainnya seperti saponin, tannin, steroid atau alkaloid.

Berdasarkan hasil penelitian, refluks merupakan metode paling optimal dalam mengekstrak senyawa flavonoid dan diikuti oleh metode maserasi. Apabila dilihat dari hasil analisis statistik dengan SPSS, hasil perolehan kadar flavonoid pada kedua metode tersebut tidak berbeda nyata, sehingga dapat disimpulkan bahwa metode konvensional lebih baik dalam menarik senyawa flavonoid pada herba bayam duri. Sedangkan pada metode ekstraksi modern, yakni UAE dan MAE kurang optimal dalam menarik senyawa flavonoid pada herba bayam duri. Tetapi baik dalam menarik senyawa lain yang terkandung didalamnya. Hal itu dapat terlihat dari jumlah rendemen yang dihasilkan, dimana pada metode UAE dan MAE memperoleh rendemen yang tinggi tetapi kadar flavonoidnya rendah.

Dari hasil perolehan data pada penelitian ini, kadar flavonoid tertinggi yang diperoleh dari metode refluks dapat disebabkan karena proses penyariannya melibatkan energi panas sehingga dapat mempercepat proses ekstraksi. Energi panas juga dapat meningkatkan kemampuan pelarut dalam mengekstraksi senyawa, karena panas dapat melonggarkan jaringan simplisia sehingga membantu mempercepat pecahnya dinding sel, dan proses ekstraksi menjadi lebih maksimal. Selain itu, metode ini juga dibantu oleh suhu dingin yang berfungsi untuk mengembunkan kembali pelarut yang menguap. Proses ekstraksi refluks terjadi secara berkelanjutan dan juga melibatkan suhu panas dan dingin, hal itu dapat menyebabkan banyak senyawa flavonoid yang terekstraksi. Selain refluks, metode maserasi juga memperoleh kadar flavonoid yang tinggi. Hal itu bisa saja terjadi karena waktu ekstraksinya yang lama, serta proses penyariannya yang melibatkan pengocokan dan pengadukan, dimana proses ini akan mempercepat pecahnya dinding sel dan dapat meratakan pelarut dalam bahan, sehingga flavonoid dapat tersari dengan baik (Riskiyani, Dkk., 2020).

Kadar flavonoid yang didapatkan dari metode ekstraksi MAE dan UAE lebih kecil daripada metode refluks dan maserasi bisa saja terjadi dikarenakan ketika proses ekstraksi MAE, suhunya terlalu panas sehingga flavonoid yang terkandung didalamnya rusak. Pada ekstraksi UAE, kadar yang didapatkan juga lebih kecil bisa saja terjadi karena waktu ekstraksinya yang terlalu lama sehingga mempengaruhi jumlah kadar flavonoidnya. Faktor suhu dan waktu ekstraksi sangat penting dalam menghasilkan kadar flavonoid yang baik. Semakin tinggi suhu yang digunakan, semakin menurun jumlah kadar flavonoid yang didapatkan.

Flavonoid bersifat tidak tahan panas, dimana senyawa ini akan rusak pada suhu diatas 60°C (Yuliantari dkk.,2017). Selain itu, berdasarkan penelitian Sasongko dkk.,(2017) total senyawa yang di dapat akan semakin menurun seiring dengan meningkatnya waktu ekstraksi pada metode UAE, karena metode ini dipengaruhi oleh waktu. Peningkatan waktu ekstraksi UAE dapat meningkatkan suhu pada larutan, sehingga akan mempercepat proses oksidasi senyawa dan memperoleh kadar yang rendah. Selain itu, paparan gelombang ultrasonik yang terlalu lama dapat menyebabkan kerusakan struktur zat yang diekstrak (Marlina Kristina, 2022). Waktu penyarian yang terlalu lama atau terlalu singkat juga dapat mempengaruhi sifat fisik maupun kimia dari senyawa yang diekstrak. Dimana waktu yang terlalu singkat menyebabkan penyarian senyawa yang tidak optimum sehingga sampel tidak terekstraksi sempurna. Begitupun sebaliknya, waktu ekstraksi yang terlalu lama mengakibatkan ekstrak terhidrolisis atau kerusakan senyawa yang diekstrak (Kojic *et al.*, 2011).

Berdasarkan analisis statistik dengan SPSS 24, pengujian normalitas dan homogenitas, menunjukkan data yang terdistribusi normal dan homogen, ditandai dengan nilai signifikansi $\leq 0,05$. Selanjutnya dilakukan uji *One Way Anova* menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata antara variasi metode ekstraksi terhadap jumlah kadar flavonoidnya yang ditandai dengan nilai signifikansi $< 0,05$. Kemudian, dilakukan uji Duncan dan ternyata terdapat pengaruh dan perbedaan nyata pada masing-masing jenis metode ekstraksi, dimana refluks tidak berbeda

nyata dengan maserasi, tetapi berbeda nyata dengan MAE dan UAE. Sehingga dapat disimpulkan metode yang paling baik dalam menghasilkan kadar flavonoid tertinggi terdapat pada metode ekstraksi refluks, diikuti metode maserasi, MAE dan UAE.

4.5 Skrining Fitokimia Serbuk dan Ekstrak Herba Bayam Duri

Skrining fitokimia dilakukan pada serbuk dan ekstrak herba bayam duri. Pengujian ini dilakukan setelah penetapan kadar flavonoid dengan menggunakan ekstrak yang memperoleh kadar flavonoid paling tinggi, yaitu pada ekstrak dengan metode refluks. Pengujian ini dilakukan dengan tujuan untuk menentukan kembali senyawa metabolit sekunder yang tertarik bersama pelarut selama proses ekstraksi. Ternyata, selain flavonoid terkandung beberapa senyawa metabolit sekunder lainnya, yaitu alkaloid, tannin, steroid dan saponin. Pada penelitian ini dilakukan identifikasi senyawa flavonoid, alkaloid, tannin, terpenoid atau steroid dan saponin pada serbuk dan ekstrak kental herba bayam duri. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 4 dan Lampiran 15.

Tabel 4. Hasil Skrining Fitokimia Metode Ekstraksi Refluks

Parameter Uji	Serbuk Simplisia	Ekstrak Kental
Flavonoid	+	+
Alkaloid	+	+
Tanin	+	+
Steroid	+	+
Saponin	+	+

Keterangan : (+) Positif/Terdapat Kandungan Senyawa

Berdasarkan hasil analisis fitokimia yang dilakukan pada serbuk dan ekstrak etanol herba bayam duri positif mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tannin, steroid dan saponin. Hasil skrining fitokimia tersebut sesuai dengan penelitian

Priatna, (2016) yang menyatakan bahwa simplisia bayam duri mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tannin, steroid dan saponin. Analisis fitokimia herba bayam duri positif mengandung flavonoid pada serbuk menghasilkan warna kuning atau kuning pekat, sedangkan pada ekstrak menghasilkan warna merah bata. Pengujian ini bersifat kimiawi, dimana pereaksi magnesium berfungsi sebagai pereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid, sedangkan HCl berfungsi untuk mempercepat reaksi yang akan mengakibatkan terjadinya reaksi redoks (reduksi oksidasi) antara logam Mg dengan senyawa flavonoidnya sehingga terbentuk warna merah bata.

Analisis alkaloid herba bayam duri dilakukan menggunakan 3 pereaksi, yakni pereaksi mayer, bouchardat dan dragendorff. Hasil analisis fitokimia herba bayam duri positif mengandung alkaloid terdapat pada pereaksi bouchardat yang menghasilkan endapan coklat. Endapan coklat terbentuk karena adanya ikatan kovalen yang terkoordinasi antara ion logam K^+ dengan alkaloid. Sehingga reaksi ini membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Herba bayam duri juga positif mengandung tannin yang ditandai dengan terbentuknya warna dan endapan hijau kehitaman. Warna dan endapan tersebut terbentuk karena senyawa tannin yang bersifat polar akan bereaksi dengan $FeCl_3$ dan membentuk senyawa kompleks trisianoferitrikaliumFerri (III) (Sulistyarini dkk.,2019).

Herba bayam duri positif mengandung steroid, yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau tua. Terbentuknya warna hijau tua terjadi karena reaksi asetilasi gugus $-OH$ pada steroid yang direaksikan dengan asam asetat anhidrat dan asam sulfat. Asam asetat anhidrat akan membentuk turunan asetil, sedangkan asam sulfat akan menghidrolisis air yang bereaksi dengan turunan asetil tersebut sehingga membentuk warna hijau tua. Selain itu, herba bayam duri juga mengandung saponin, yang ditandai dengan terbentuknya busa dan busa tersebut bertahan hingga 10 menit. Saponin merupakan senyawa yang memiliki sifat hidrofilik dan hidrofobik serta dapat menurunkan tegangan permukaan pada air. Sehingga ketika sampel dilarutkan dengan air dan dikocok, maka gugus hidrofili

akan berikatan dengan air sedangkan gugus hidrofob akan berikatan dengan udara maka akan terbentuk buih atau busa (Sulistyarini dkk.,2019).

4.6 Hasil Penetapan Kadar Air dan Kadar Abu Herba Bayam Duri

Penetapan kadar air dan kadar abu dilakukan pada ekstrak yang memperoleh kadar flavonoid paling tinggi, yaitu pada ekstrak dengan metode ekstraksi refluks. Sehingga pengujian ini dilakukan setelah penentuan kadar flavonoid. Penetapan kadar air pada serbuk dan ekstrak herba bayam duri bertujuan untuk mengetahui dan menentukan batasan maksimal kadar air dalam suatu simplisia maupun ekstrak. Pengujian ini merupakan parameter kualitas mutu suatu sampel, karena air itu memiliki sifat yang mudah untuk ditumbuhi mikroba yang dapat merusak kandungan senyawa dalam sampel (Depkes RI, 2000).

Hasil penetapan kadar air pada serbuk simplisia herba bayam duri sudah memenuhi persyaratan kadar air secara umum, yaitu tidak lebih dari 10% (Depkes RI, 2000). Penetapan kadar air untuk ekstrak etanol herba bayam duri juga telah memenuhi syarat yang tertera pada Farmakope Herba edisi II (2017) yang menyatakan bahwa jumlah kadar air ekstrak etanol bayam duri tidak lebih dari 10,6%. Data penetapan kadar air serbuk simplisia dan ekstrak etanol herba bayam duri dapat dilihat pada tabel 5 dan lampiran 6.

Tabel 5. Rata-Rata Kadar Air Metode Ekstraksi Refluks

Perlakuan	Rata-Rata Kadar Air dan SD (%)	Syarat (%)
Serbuk Simplisia	7,72 ± 0,59	<10
Ekstrak Kental	5,27 ± 0,49	<10,6

Kemudian, dilakukan penetapan kadar abu pada serbuk simplisia dan ekstrak herba bayam duri yang bertujuan untuk mengetahui jumlah mineral yang terkandung dalam sampel. Menurut Febriani dkk, (2015) kadar abu adalah hasil residu yang tersisa atau tertinggal dalam sampel uji yang sebelumnya sudah mengalami proses pemijaran dalam tanur pada suhu 600°C. Kandungan abu itu sendiri berisi mineral atau senyawa anorganik yang tidak dapat terbakar ketika dipijar. Proses pemijaran dalam tanur hanya akan menghilangkan senyawa organiknya saja, dan menyisakan mineral atau komponen anorganiknya. Hasil persentase kadar abu serbuk simplisia dan ekstrak herba bayam duri telah memenuhi syarat yang tertera dalam Farmakope Herba edisi II (2017), data kadar abu serbuk simplisia dan ekstrak etanol herba bayam duri dapat dilihat pada tabel 6 lampiran 7.

Tabel 6. Rata-Rata Kadar Abu Metode Ekstraksi Refluks

Perlakuan	Rata-Rata Kadar Abu dan SD (%)	Syarat
Serbuk Simplisia	5,28 ± 0,43	<9,1%
Ekstrak Kental	6,80 ± 0,16	<8,5%

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Pada penelitian ini, metode ekstraksi terbaik dalam menghasilkan kadar flavonoid tertinggi pada ekstrak etanol herba bayam duri (*Amaranthus Spinusus L.*) terdapat pada metode ekstraksi konvensional refluks dengan kadar flavonoid sebesar 18,37 mg QE/g dengan nilai SD \pm 0,47 dan maserasi dengan kadar flavonoid sebesar 14,92 mg QE/g dengan nilai SD \pm 0,11 diikuti oleh metode ekstraksi modern MAE dengan kadar flavonoid sebesar 13,24 mg QE/g dengan nilai SD \pm 0,78 dan metode UAE dengan kadar sebesar 12,48 mg QE/g dengan nilai SD \pm 0,60.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang analisis senyawa lain yang terkandung dalam herba bayam duri guna menambah pemanfaatan herba bayam duri sebagai bahan obat alami

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, E., Andiarna, F., Lusiana, N., Purnamasari, R., & Hadi, M. I. (2018). Identifikasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Daun Jambu Air (*Syzygium aqueum*) dengan Perbandingan Beberapa Pelarut pada Metode Maserasi. *Biotropic : The Journal of Tropical Biology*, 2(2), 108–118.
- Akhlaghi M. and Brian Bandy. (2009). Mechanisms of flavonoid protection against myocardial ischemia–reperfusion injury. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 46 : 309–17.
- Amelinda, E., Widarta, I. W. R., & Darmayanti, L. P. T. (2018). Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 7(4), 165.
- Aminah, Tomayahu, N., & Abidin, Z. (2017). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea americana Mill.*) dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2), 226–230.
- Barus Emanuel. (2003). Pengendalian Gulma di Perkebunan. Penerbit Karnisius. Yogyakarta.
- Bustanul A, Sanusi I. (2018). Struktur, Bioaktivitas dan Antioksidan Flavonoid. Jurusan Kimia, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas. *Jurnal Zarah, Vol. 6 No. 1, Halaman 21-29*
- Desmiaty, Y., J. Ratnawati, & P. Andini. (2009). Penentuan Jumlah Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Buah Merah (*Pandanus conoideus Lamk.*) Secara Kolorimetri Komplementer. Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Departemen Kesehatan RI, 2000, Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Cetakan Pertama, 3-11, 17-19, Dikjen POM, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Dewi, S. R., Argo, B. D., & Ulya, N. (2018). Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*). *Jurnal Rona Teknik Pertanian*, 11(1), 1–10.
- Djindadi, I. T., Tulandi, S. S., Mongi, J., & Palandi, R. R. (2020). Aktivitas Antibakteri Daun Bayam Duri (*Amaranthus spinosus Linn*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Majalah Info Sains*, 1(2), 22–29.

- Fauzia, R., R., & Zuniarto., A., A. (2017). Uji Efektivitas Antiinflamasi Suspensi Ekstrak Daun Bayam Duri (*Amaranthus spinosus* L.) Terhadap Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Karagenan. *Journal of Holistic and Health Sciences Vol.1, No.2*.
- Febriani, D., Mulyati D., & Rismawati E. (2015). Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn). *Prosiding Penelitian SPESIA Unisba*, 475–480.
- Fitri & Anita, H. N. (2019). karakterisasi dan skrining fitokimia simplisia daun selutu puku Tab. *Paper Knowledge . Toward a Media History of Documents*, 4(1), 49–58.
- Hasanah, N., & Novian, D. R. (2020). Analisis Ekstrak Etanol Buah Labu Kuning (*Cucurbita Moschata* D.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 9(1), 54–59.
- Hasnaeni, Wisdawati, Suriati U. (2019). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara Blanco*). *Galenika Journal of Pharmacy*, 5 (2): 175 – 182
- Horizon, Pujiastuti, B., Kurnia, D., Sumiarsa, D., Supratman, U., & Shiono, Y. (2015). Kuersetin dan Kuersetin-3-O-Glukosida dari Kulit Batang Sonneratia Alba (*Lythraceae*). *Jurnal Kimia VALENSI*, 1(1), 33–38.
- Kementerian Kesehatan RI. 2017. Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Keintjem, J., & Hendrawan, S. (2019). Uji Fitokimia, Aktivitas Antibakteri dan Aktivitas Antioksidan Batang Bayam Duri. *Tarumanagara Medical Journal*, 2(1), 84–87.
- Khoirunnisa, I., & Sumiwi, S. A. (2019). Review Artikel: Peran Flavonoid Pada Berbagai Aktifitas Farmakologi. *Jurnal Farmaka*, 17(2), 131–142.
- Klau, M. H. C., & Hesturini, R. J. (2021). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* (Burm F) Lindau) Terhadap Daya Analgetik Dan Gambaran Makroskopis Lambung Mencit. *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*, 4(1), 6–12.
- Kumalasari, E., Nazir, M. A., & Putra, A. M. P. (2018). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 70% Daun Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.) dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 1(2), 201–209.
- Kusmiati., Rachmatiah, T., & Angliana Pertiwi, A. (2017). Pengujian Ekstrak Aseton Daun Bayam (*Amaranthus sp*) sebagai Senyawa Antiradikal DPPH ,

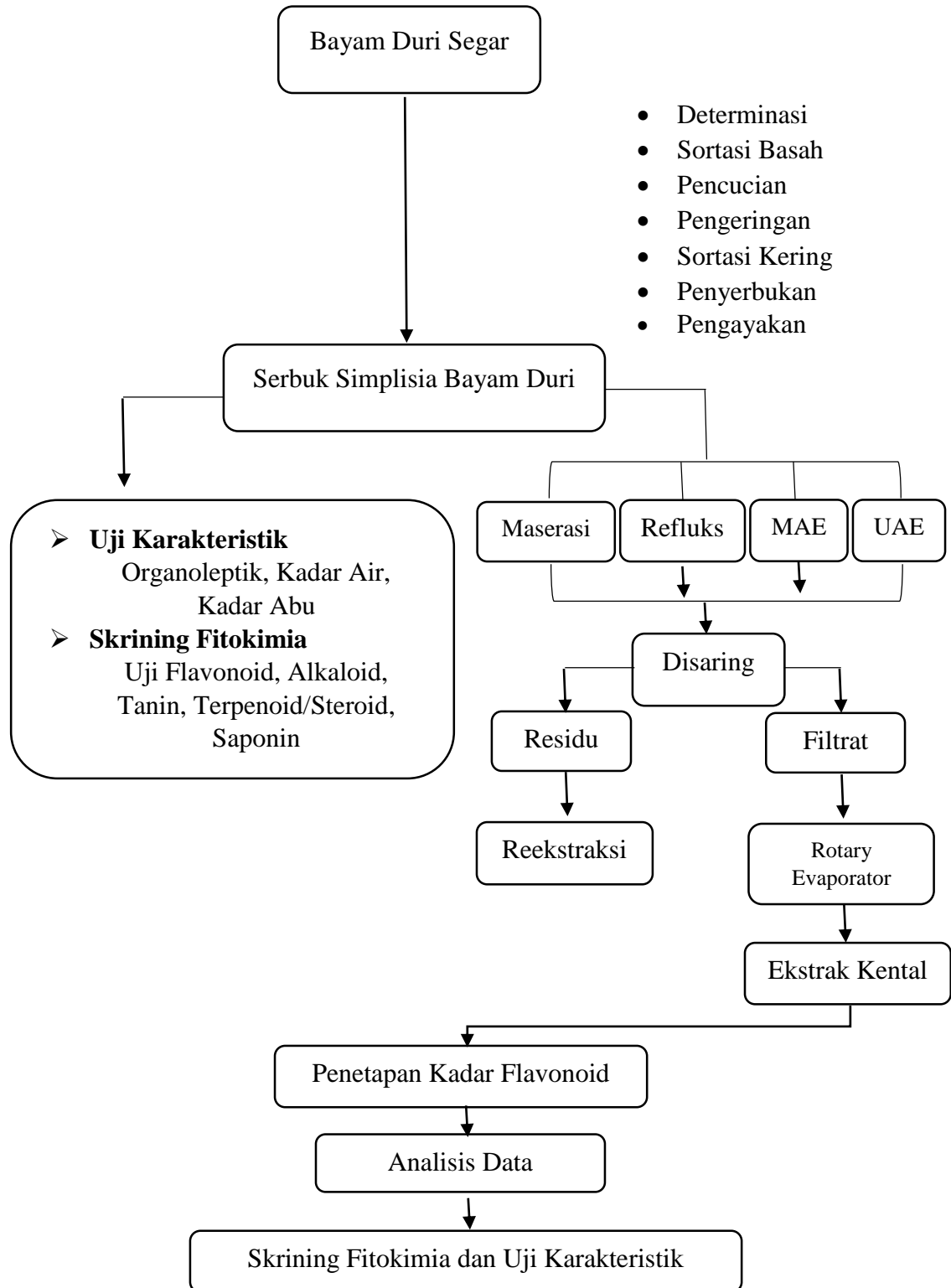
Antibakteri dan Identifikasi Senyawa Aktif dengan KG SM. *Institut Sains Dan Teknologi Nasional*, 138–147.

- Kojić, A., Planinić, M., Tomas, S., Jokić, S., Mujić, I., Bilić, M., & Velić, D. (2011). Effect of extraction conditions on the extractability of phenolic compounds from lyophilised fig fruits (*ficus carica l.*). *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, *61*(3), 195–199.
- Manik, D. F., Hertiani, T., & Anshory, H. (2014). Analisis Korelasi Antara Kadar Flavonoid dengan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fralso Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Khazanah*, *6*(2), 1-11
- Kristina, M., C. V., Ari Yusasrini, N. L., & Yusa, N. M. (2022). Pengaruh Waktu Ekstraksi Dengan Menggunakan Metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Duwet (*Syzygium cumini*). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, *11*(1), 13.
- Masluhah, L, Y., Widyaningsih, D, T., Waziroh, E., Wijayanti, N., Sriherfyna, H, F. (2016) Faktor Pengaruh Ekstraksi Cincau Hitam (*Mesona Palustris BL*) Skala Pilot Plant : Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, *4*(1), 245-252
- Mugia, K., Yuliawati, M. K., & Sadiyah, E. R. (2016). Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Srigading (*Nyctanthes arbor- tristis L .*) The Effect of Different Methods of Extraction on Total Flavonoid Content of Srigading: Magnoliophyta : Magnoliops. *Prosiding Farmasi Spesia Unisba*, *2*(2), 503–508.
- Mukhriani. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. Volume VII (2)
- Muthmainnah. (2017). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum L.*) dengan Metode Uji Warna. *13*(2), 1–14.
- Nazaruddin. (1994). Budidaya dan Pengaturan Panen Sayuran Dataran Rendah. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Nuramadani, U., Susanti, Pipi. (2022). Upaya Pemberdayaan Ekonomi Masyarakat Melalui Pengolahan Tanaman Bayam yang Tumbuh di Sekitar Perkarangan di Kelurahan Padang Jati. *Journal Of Community Services*. *3*(1), 16-23
- Permadi, A., Sutanto, S., & Wardatun, S. (2018). Perbandingan metode ekstraksi bertingkat dan tidak bertingkat terhadap flavonoid total herba ciplukan

- (*Physalis angulata L.*) secara kolorimetri. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Farmasi*, 1(1).
- Quan, P. T., Hang, T. V., Ha, N. H., De, N. X., & Tuyen, T. N. (2006). Microwave assisted extraction of polyphenols from fresh tea shoot. *Science & Technology Development*, 9 (8): 69-75
- Rahayu, S., Vifta, R. L., & Susilo, J. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria Ternatea L.*) dari Kabupaten Lombok Utara dan Wonosobo Menggunakan Metode FRAP. *Generics: Journal of Research in Pharmacy*, 1(2), 1–9.
- Redha, A. (2010). Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *Jurnal Berlin*, 9(2), 196–202.
- Riskiyan, T., Nurcahyo, H., & Febriyanti, R. (2020). Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi terhadap Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea Indica L.*). *Ejournal Poltek Tegal*, 7(1), 1–6.
- Rjeibi, I., Ben Saad, A., Sdayria, J., Feriani, A., Ncib, S., Allagui, M. S., Hfaiedh, N., & Souid, S. (2019). HPLC–DAD identification of polyphenols from ethyl acetate extract of *Amaranthus spinosus* leaves and determination of their antioxidant and antinociceptive effects. *Inflammopharmacology*, 27(5), 975–984.
- Rr. Sulistyaningsih, Firmansyah, Ami Tjitraresmi. (2016). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Bayam Duri (*Amaranthus spinosus L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode Difusi Agar. *Jurnal Farmaka Volume 14 Nomor 1*
- Sari, B., L., & Saptari, T. (2020). Optimasi Metode Microwave-Assisted Extraction (MAE) untuk Menentukan Kadar Flavonoid Total Alga Coklat *Padina australis*. *Jurnal Penelitian Kimia*, 16(1), 37–48.
- Sasongko, A., Nugroho, R. W., Setiawan, C. E., Utami, I. W., & Pusfitasari, M. D. (2017). Penentuan Total Fenol Ekstrak Umbi Bawang Dayak Hasil Ekstraksi Dengan Metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) dan *Ultrasonic-Microwave Assisted Extraction* (UMAE). *JST (Jurnal Sains Terapan)*, 3(2).
- Shahra FK, (2019). Uji Aktivitas Antidepresan Infusa Daun Baya Duri (*Amaranthus spinosus L.*) Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*). Karya Tulis Ilmiah. Poltekkes Kemenkes Bandung Jurusan Farmasi.
- Suharyanto, S., & Hayati, T. N. (2021). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Buah Gambas (*Luffa acutangula(L.) Roxb.*) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(1), 82–88.

- Suharyanto, & Prima, D. A. N. (2020). Penetapan Kadar Flavonoid Total pada Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas L.*) yang Berpotensi Sebagai Hepatoprotektor dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 4(2), 110–119.
- Sulistyarini, I., Sari, D. A., & Wicaksono, T. A. (2019). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 56–62.
- Susanty, & Bachmid, F. (2016). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays L.*). *Jurnal Konversi*, 5(2), 87.
- Susiwi, S. (2009). Penilaian Organoleptik. *Handout*. Pendidikan Kimia. Universitas Pendidikan Indonesia.
- Suwartini, L. Yanti, N. Efrinalia, W. (2021). Optimasi Kondisi Pengujian Senyawa Flavonoid Total di dalam Ekstrak Tanaman Sebagai Pengayaan Bahan Ajar Praktikum Makromolekul dan Hasil Alam di Laboratorium Kimia Organik. *Jurnal Penelitian Sains 23 (1) 2021: 28-35*
- Utami., N., F., Suhendar, U., Sutanto, D., & Nurdayanty, S. M. (2020). Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi Pada Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Iler (*Plectranthus scutellarioides*). *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(1), 76–83.
- Yanlinastuti, & Fatimah, S. (2016). Pengaruh Konsentrasi Pelarut untuk Menentukan Kadar Zirkonium dalam Paduan U-Zr dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *PIN Pengelolaan Instalasi Nuklir*, 9(17), 22–33.
- Yuliantari, N. W. A., Widarta, I. W. R., & Permana, I. D. G. M. (2017). Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Menggunakan Ultrasonik The Influence of Time and Temperature on Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Sirsak Leaf (*Annona mur.* *Media Ilmiah Teknologi Pangan*, 4(1), 35–42.
- Zahar, N. A., Hanun, N. Z., Yulistiani, F., & Heriyanto. (2021). Studi Literatur Implementasi Metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) untuk Ekstraksi Fenol dengan Pelarut Etanol. *Fluida*, 14(2), 80–87

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian

Lampiran 2. Determinasi Tanaman



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET, DAN TEKNOLOGI
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
 LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

Pusat Studi Biofarmaka Tropika (Trop BRC)
 Gedung CRC Lantai 2
 Kawasan STP IPB Taman Kencana
 Jl. Taman Kencana No. 3 Bogor 16128
 Telepon (0251) 8373561
 Facsimile (0251) 8347525
 bfarmaka@gmail.com biofarmaka.ipb.ac.id

Nomor : 123/TT3.L.P13/TA.00.03/M/B/2023
 Lampiran : -
 Perihal : Sampel Simplisia

Bogor, 17 Maret 2023

Kepada Yth.
 Nurgina Vidya Putri (066119162)
 Program Studi Farmasi
 Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
 Universitas Pakuan

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan surat mengenai sampel bayam duri dari Unit Konservasi Budidaya Biofarmaka (UKBB) Pusat Studi Biofarmaka Tropika LPPM IPB, adalah sebagai berikut:

No. Koleksi	Nama Tanaman	Nama latin	Suku
BMK0517032023	Bayam Duri	<i>Amaranthus spinosus</i> L.	Asteraceae

Demikian, semoga bermanfaat bagi saudara.

Pusat Studi Biofarmaka Tropika LPPM-IPB
 Kepala,

Prof. Dr. Irmanida Batubara, SSi, MSi
 NIP. 197508072005 01 2 001

Lampiran 3. Metode Ekstraksi

1.



2.



3.



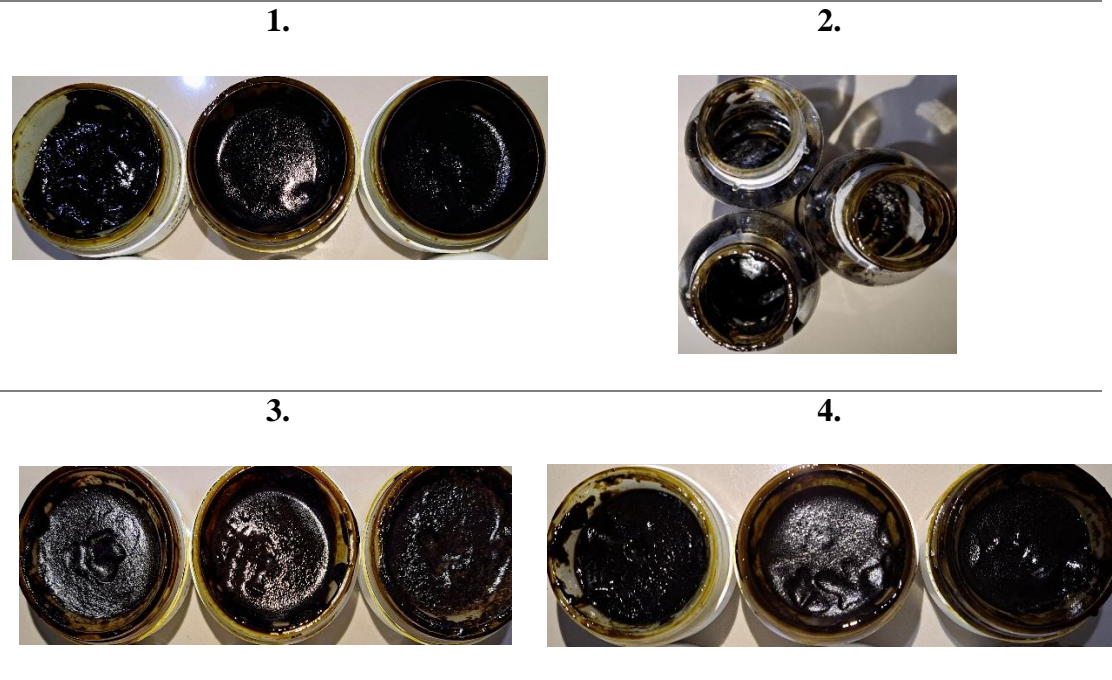
4.



Keterangan :

1. Maserasi
2. Refluks
3. MAE (*Microwave Assisted Extraction*)
4. UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*)

Lampiran 4. Ekstrak Kental Variasi Metode Ekstraksi



Keterangan :

1. Maserasi
2. Refluks
3. MAE (*Microwave Assisted Extraction*)
4. UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*)

Lampiran 5. Rendemen Ekstrak dan Serbuk

❖ Rendemen Serbuk Simplisia

Simplisia Segar (kg)	Serbuk Simplisia (kg)	%Rendemen
7,9	1.112	14,076%

$$- \text{Rendemen Simplisia (\%)} = \frac{\text{Berat Serbuk Simplisia (Berat Akhir)}}{\text{Berat Tanaman Segar (Berat Awal)}} \times 100\%$$

- Diketahui :
- Berat Serbuk Simplisia = 1.112 kg
- Berat Tanaman Segar = 7,9 kg
- Rendemen Simplisia (%) = $\frac{1.112 \text{ kg}}{7,9 \text{ kg}} \times 100\%$
= 14,0759%

❖ Rendemen Ekstrak

Syarat : Tidak kurang dari 9,7% (Farmakope Herbal II, 2017)

Metode Ekstraksi	Ulangan	Serbuk Simplisia (g)	Ekstrak Kental (g)	%Rendemen	Rata-Rata ± SD (%)
Maserasi	1	80	13,8	17,2%	17,31 ± 0,09
	2	80	13,9	17,3%	
Refluks	1	80	13,2	16,5%	16,19 ± 0,44
	2	80	12,7	15,87%	
MAE	1	80	13,2	16,5%	16,63 ± 0,18
	2	80	13,4	16,7%	
UAE	1	80	14,4	18%	18,25 ± 0,35
	2	80	14,8	18,5%	

$$\text{Rendemen Ekstrak (\%)} = \frac{\text{Berat Ekstrak Kental (Berat Akhir)}}{\text{Berat Serbuk Simplisia (Berat Awal)}} \times 100\%$$

- Maserasi 1 = $\frac{13,8 \text{ gram}}{80 \text{ gram}} \times 100\% = 17,25\%$
- Maserasi 2 = $\frac{13,9 \text{ gram}}{80 \text{ gram}} \times 100\% = 17,375\%$
- Refluks 1 = $\frac{13,2 \text{ gram}}{80 \text{ gram}} \times 100\% = 16,5\%$
- Refluks 2 = $\frac{12,7 \text{ gram}}{80 \text{ gram}} \times 100\% = 15,875\%$
- MAE 1 = $\frac{13,2 \text{ gram}}{80 \text{ gram}} \times 100\% = 16,5\%$
- MAE 2 = $\frac{13,4 \text{ gram}}{80 \text{ gram}} \times 100\% = 16,75\%$

- UAE 1 $= \frac{14,4 \text{ gram}}{80 \text{ gram}} \times 100\% = 18\%$
- UAE 2 $= \frac{14,8 \text{ gram}}{80 \text{ gram}} \times 100\% = 18,5\%$

Lampiran 6. Pembuatan Peraksi

1. Pembuatan konsentrasi pereaksi AlCl₃

Konsentrasi AlCl₃ yang dibutuhkan yaitu 10%

$$\text{AlCl}_3 \text{ 10\%} = \frac{10 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$$

Aluminium klorida yang ditimbang sebanyak 10 gram dan dilarutkan menggunakan pelarut 100 mL.

2. Pembuatan Pereaksi Natrium asetat

Molaritas Natrium asetat : 1 M

Mr Natrium asetat : 82,03 g/mol

Volume : 100 mL

$$M = \frac{m}{Mr} \times \frac{1000}{V \text{ (mL)}}$$

$$1 \text{ M} = \frac{m}{82,03 \text{ g/mol}} \times \frac{1000}{100 \text{ mL}}$$

$$m \times 1000 = 1 \text{ M} \times 82,03 \text{ g/mol} \times 100 \text{ mL}$$

$$m = \frac{1 \text{ M} \times 82,03 \text{ g/mol} \times 100 \text{ mL}}{1000} = \frac{8203}{1000} \rightarrow 8,203 \text{ gram}$$

Lampiran 7. Pembuatan Induk Kuersetin dan Deret Standar Kuersetin

- Pembuatan larutan induk Kuersetin 1000 ppm

$$\begin{aligned} \text{Kuersetin 1000 ppm} &= \frac{25 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} \\ &= \frac{25 \text{ mg}}{0,025 \text{ L}} \rightarrow 1000 \text{ ppm} \end{aligned}$$

- Pengenceran larutan induk 1000 ppm menjadi 100 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} = 1 \text{ mL}$$

- **Pembuatan Deret Standar kuersetin**

Pembuatan deret standar kuersetin pada konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 100 ppm dibuat dengan cara dipipet dari larutan induk kuersetin 100 ppm.

a. 2 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ppm} &= 10 \text{ ml} \times 2 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ ml} \times 2 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = \mathbf{0,2 \text{ ml}} \end{aligned}$$

b. 4 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ppm} &= 10 \text{ ml} \times 4 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ ml} \times 4 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = \mathbf{0,4 \text{ ml}} \end{aligned}$$

c. 6 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ppm} &= 10 \text{ ml} \times 6 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ ml} \times 6 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = \mathbf{0,6 \text{ ml}} \end{aligned}$$

d. 8 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ppm} &= 10 \text{ ml} \times 8 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ ml} \times 8 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = \mathbf{0,8 \text{ ml}} \end{aligned}$$

e. 10 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ppm} &= 10 \text{ ml} \times 100 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ ml} \times 100 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} = \mathbf{1 \text{ ml}} \end{aligned}$$

Lampiran 8. Faktor Pengenceran

$$\begin{aligned} F_p &= \frac{V_2 (\text{Volume akhir})}{V_1 (\text{Volume awal})} \\ &= \frac{25 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} = \mathbf{5 \text{ mL}} \end{aligned}$$

Lampiran 9. Panjang Gelombang Max Kuersetin

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
429	0,400843
430	0,403026
431	0,404378
432	0,405180
433	0,406332
434	0,407277
435	0,404979
438	0,404182
439	0,401232
440	0,398861

Lampiran 10. Waktu Inkubasi

Sampel	Waktu (Menit)	Absorbansi
1.	0	0,6334
2.	10	0,6343
3.	20	0,6343
4.	30	0,6344
5.	40	0,6344
6.	50	0,6343
7.	60	0,6342

Lampiran 11. Deret Standar Kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
2 ppm	0,1649
4 ppm	0,3427
6 ppm	0,5019
8 ppm	0,6957
10 ppm	0,8862

Lampiran 12. Perhitungan Kadar Flavonoid

Metode Ekstraksi	Ulangan	Abs	C (mg/L)	Bobot Ekstrak (gram)	Kadar Flavonoid (mgQE/gram)	Rata-rata Kadar Flavonoid (mgQE/gram)
Maserasi I	1	0,2497	3,0077	0,0251	14,978	14,845
	2	0,2449	2,9543	0,0251	14,712	
Maserasi II	1	0,2605	3,1280	0,0266	14,699	15,003
	2	0,2721	3,2572	0,0266	15,306	
Refluks I	1	0,3086	3,6636	0,0259	17,681	18,695
	2	0,3463	4,0835	0,0259	19,708	
Refluks II	1	0,3067	3,6425	0,0258	17,647	18,036
	2	0,3211	3,8028	0,0258	18,424	
MAE I	1	0,2134	2,6035	0,0255	12,762	12,685
	2	0,2106	2,5723	0,0255	12,609	
MAE II	1	0,2260	2,7438	0,0255	13,450	13,785
	2	0,2383	2,8808	0,0255	14,121	
UAE I	1	0,1943	2,3908	0,0251	11,906	12,059
	2	0,1998	2,4521	0,0251	12,211	
UAE II	1	0,2110	2,5768	0,0251	12,832	12,907
	2	0,2137	2,6069	0,0251	12,982	

Rata-Rata Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Bayam duri :

- Refluks = 18,37 mg QE/g
- Maserasi = 14,92 mg QE/g
- MAE = 13,24 mg QE/g
- UAE = 12,48 mg QE/g

- PERHITUNGAN KONSENTRASI PPM (mg/L)

Diketahui :

$$y = bx + a \quad a = -0,0204$$

$$y = 0,0898x - 0,0204 \quad b = 0,0898$$

$$R^2 = 0,9988$$

➤ **Konsentrasi :**

$$C = \frac{abs-a}{b} \text{ (mg/L)}$$

- **Refluks 1**

$$\text{Ulangan 1} = \frac{0,2664 - (-0,0204)}{0,0898} = 3,1937 \text{ mg/L}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{0,3086 - (-0,0204)}{0,0898} = 3,6636 \text{ mg/L}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{0,3463 - (-0,0204)}{0,0898} = 4,0835 \text{ mg/L}$$

- **Refluks 2**

$$\text{Ulangan 1} = \frac{0,3067 - (-0,0204)}{0,0898} = 3,6425 \text{ mg/L}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{0,3211 - (-0,0204)}{0,0898} = 3,8028 \text{ mg/L}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{0,2606 - (-0,0204)}{0,0898} = 3,1291 \text{ mg/L}$$

➤ **Kadar Flavonoid**

$$\text{Kadar Flavonoid (mg QE/g)} = \frac{C \times \text{Volume Awal} \times Fp}{W \text{ sampel}}$$

Diketahui :

$$\text{Volume Awal} = 25 \text{ ml} \rightarrow 0,025 \text{ L}$$

$$\text{Faktor Pengenceran} = \frac{25 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} = 5 \text{ (mg/L)}$$

- **Refluks 1**

$$\text{Ulangan 1} = \frac{3,1937 \text{ (mg/L)} \times 0,025 \text{ (L)} \times 5}{0,0259 \text{ (g)}} = 15,413 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{3,6636 \text{ (mg/L)} \times 0,025 \text{ (L)} \times 5}{0,0259 \text{ (g)}} = 17,681 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{4,0835 \text{ (mg/L)} \times 0,025 \text{ (L)} \times 5}{0,0259 \text{ (g)}} = 19,708 \text{ mg QE/g}$$




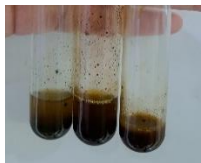



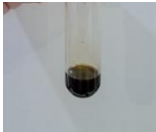
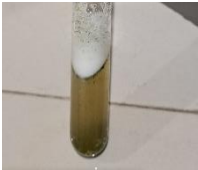

- **Refluks 2**

$$\text{Ulangan 1} = \frac{3,6425 \text{ (mg/L)} \times 0,025 \text{ (L)} \times 5}{0,0258 \text{ (g)}} = 17,647 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{3,8028 \text{ (mg/L)} \times 0,025 \text{ (L)} \times 5}{0,0258 \text{ (g)}} = 18,424 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{3,1291 \text{ (mg/L)} \times 0,025 \text{ (L)} \times 5}{0,0258 \text{ (g)}} = 15,160 \text{ mg QE/g}$$

Lampiran 13. Skrining Fitokimia Herba Bayam Duri

Jenis Senyawa	Serbuk Simplisia	Ekstrak Etanol	Keterangan
Flavonoid			+
			Mayer -
Alkaloid			Bouchardat +
			Dragendorf -
Tannin			+
Steroid			+
Saponin			+

Lampiran 14. Uji Kadar Air Serbuk Simplisia dan Ekstrak

Syarat :

Serbuk Simplisia = Tidak lebih dari 10%

Ekstrak = Tidak lebih dari 10,6%

Perlakuan	Ulangan ke-	Bobot (g)	Cawan Kosong (g)	Cawan + isi (g)	Berat Akhir (g)	Kadar (%)	Rata-Rata dan SD (%)
Serbuk Simplisia	1	1,0117	51,6987	52,7104	52,6582	8,362	7,72 ± 0,59
					52,6271		
					52,6258		
	2	1,0292	52,7342	53,7634	53,7446	7,627	
					53,6866		
					53,6849		
3	1,0128	49,6735	50,6863	50,6473	7,187		
				50,6146			
				50,6135			
Ekstrak	1	1,0111	48,5621	49,5732	49,5351	4,786	5,27 ± 0,49
					49,5269		
					49,5248		
	2	1,0225	49,6732	50,6957	50,6423	5,770	
					50,6378		
					50,6367		
3	1,0164	52,5785	53,5949	53,5731	5,283		
				53,5428			
				53,5412			

❖ **Kadar Air Simplisia :**

$$\% \text{Kadar Air} = \frac{(\text{Bobot sebelum dioven})(g) - (\text{Bobot Konstan})(g)}{\text{Bobot Simplisia (g)}} \times 100\%$$

- Ulangan 1 = $\frac{(52,7104) - (52,6258)}{1,0117} \times 100\% = 8,362\%$
- Ulangan 2 = $\frac{(53,7634) - (53,6849)}{1,0292} \times 100\% = 7,627\%$
- Ulangan 3 = $\frac{(50,6863) - (50,6135)}{1,0128} \times 100\% = 7,187\%$

❖ **Kadar Air Ekstrak :**

- Ulangan 1 = $\frac{(49,5732) - (49,5248)}{1,0111} \times 100\% = 4,786\%$
- Ulangan 2 = $\frac{(50,6957) - (50,6367)}{1,0225} \times 100\% = 5,770\%$
- Ulangan 3 = $\frac{(53,5949) - (53,5412)}{1,0164} \times 100\% = 5,283\%$

Lampiran 15. Uji Kadar Abu Serbuk Simplisia dan Ekstrak**Syarat :**

Serbuk Simplisia = Tidak lebih dari 9,1%

Ekstrak = Tidak lebih dari 8,5%

Perlakuan	Ulangan	Bobot (g)	Krus Kosong (g)	Krus + isi (g)	Berat Akhir (g)	Kadar (%)	Rata-Rata dan SD (%)
Serbuk Simplisia	1	1,0115	36,3316	37,3431	36,4384	5,289	5,28 ± 0,43
					36,3873		
	2	1,0126	38,4372	39,4498	36,3851	5,708	
					38,4924		
					38,5921		
					38,4905		

					36,5512		
	3	1,0112	36,4213	37,4325	36,4718	4,845	
					36,4703		
					39,5633		
	1	1,0552	39,4715	40,5267	39,5435	6,624	
					39,5414		
					38,8539		
Ekstrak	2	1,0115	38,7621	39,7736	38,8328	6,821	6,80 ±
					38,8311		0,16
					40,3076		
	3	1,0251	40,2198	41,2449	40,2925	6,955	
					40,2911		

❖ **Kadar Abu Simplisia :**

$$\% \text{Kadar Abu} = \frac{(\text{Bobot Krus} + \text{Bobot Abu}) (g) - (\text{Bobot Krus Kosong}) (g)}{\text{Bobot Simplisia} (g)} \times 100\%$$

- Ulangan 1 = $\frac{(36,3851) - (36,3316)}{1,0115} \times 100\% = 5,289\%$
- Ulangan 2 = $\frac{(38,4905) - (38,4327)}{1,0126} \times 100\% = 5,708\%$
- Ulangan 3 = $\frac{(36,4703) - (36,4213)}{1,0112} \times 100\% = 4,845\%$

❖ **Kadar Abu Ekstrak Kental :**

- Ulangan 1 = $\frac{(39,5414) - (39,4715)}{1,0552} \times 100\% = 6,624\%$
- Ulangan 2 = $\frac{(38,8311) - (38,7621)}{1,0115} \times 100\% = 6,821\%$
- Ulangan 3 = $\frac{(40,2911) - (40,2198)}{1,0251} \times 100\% = 6,955\%$

Lampiran 16. Analisis Data

- **Rendemen Ekstrak**

ANOVA

Persentase

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.984	3	1.661	16.823	.010
Within Groups	.395	4	.099		
Total	5.379	7			

Persentase

Duncan^a

Rendemen	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Refluks	2	16.150		
MAE	2	16.600	16.600	
Maserasi	2		17.250	
UAE	2			18.250
Sig.		.225	.107	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2,000.

- **Kadar Ekstrak**

Test of Homogeneity of Variances

Kadar

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.707	3	12	.218

Tests of Normality

Ekstraksi	Statistic	Kolmogorov-Smirnov ^a		Shapiro-Wilk			
		df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
Kadar	Refluks	.261	4	.	.850	4	.226
	Maserasi	.271	4	.	.871	4	.302
	MAE	.252	4	.	.920	4	.536
	UAE	.254	4	.	.913	4	.500

a. Lilliefors Significance Correction

ANOVA

Kadar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	82.130	3	27.377	62.463	.000
Within Groups	5.259	12	.438		
Total	87.390	15			

Kadar

Duncan^a

Ekstraksi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
UAE	4	12.48275		
MAE	4	13.23550		
Maserasi	4		14.92375	
Refluks	4			18.36500
Sig.		.134	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.