

**IDENTIFIKASI SENYAWA KIMIA DAN PENETAPAN KADAR
FLAVONOID EKSTRAK DAUN PANDAN WANGI (*Pandanus
amaryllifolius* Robx) DENGAN METODE LC-MS/MS DAN
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

SKRIPSI

**Oleh:
WASKY HERDIANSYAH
066115223**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2022**

**IDENTIFIKASI SENYAWA KIMIA DAN PENETAPAN KADAR
FLAVONOID EKSTRAK DAUN PANDAN WANGI (*Pandanus
amaryllifolius* Robx) DENGAN METODE LC-MS/MS DAN
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

SKRIPSI

**Skripsi Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) Pada Program Studi Farmasi
Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Pakuan**

**Oleh:
WASKY HERDIANSYAH
066115223**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Tugas Akhir : Identifikasi Senyawa Kimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Robx) Dengan Metode LC-MS/MS Dan Spektrofotometri UV-Vis

Nama : Wasky Herdiansyah

NPM : 066115223

Program Studi : Farmasi

**Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui
Bogor, Agustus 2022**

Pembimbing II

Pembimbing I

Yulianita, M.Farm.

Dr. Sutanto, M.Si.

Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi

Dekan FMIPA-UNPAK

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

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

SURAT 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, Agustus 2022

Wasky Herdiansyah

SURAT PERNYATAAN PELIMPAHAN SKRIPSI

SUMBER INFORMASAI DAN KEKAYAAN INTELEKTUAL KEPADA UNIVERSITAS PAKUAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Wasky Herdiansyah

NPM : 066115223

Judul Skripsi : Identifikasi Senyawa Kimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid
Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Robx)
Dengan Metode LC-MS/MS Dan Spektrofotometri UV-Vis

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi di atas adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun.

Sumber informasi yang bersalah atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain yang 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, Agustus 2022

Wasky Herdiansyah

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah puji syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan Rahmat serta kasih sayang Nya sehingga skripsi ini dapat selesai dikerjakan dan Shalawat serta salam semoga selalu tercurah kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW.

Terima kasih kepada kedua orang tua dan keluarga saya yang telah memberikan dukungan baik berupa doa maupun materi. Karya sederhana ini saya berikan untuk kalian dan semoga kalian diberikan kesehatan, ampunan, keselamatan di dunia maupun di akhirat kelak. amin ya Robal alamin.

Terima kasih kepada Ketua Program Studi Farmasi Ibu apt. Dra. Ike Yulia Wiendarlina, M.Farm. atas kesempatan dan penyemangat sehingga membangkitkan rasa berjuang untuk menyelesaikan tugas akhir saya. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan rahmat dan nikmat sehat selalu.

Terima kasih kepada kedua dosen pembimbing saya Bapak Dr. Sutanto, M.Si. dan Ibu Yulianita, M.Farm. yang telah memberikan arahan dan bimbinganya semoga mereka senantiasa dalam lindungan Allah SWT.

Terima kasih kepada Staf TU Prodi Farmasi Mas Arif, Mas Fadil, Mas Yori, dan Teh Nur yang bersedia turut membantu dalam pemberkasan Serta Staf Laboran Kak Gilang, Teh Ana dan Teh Susi yang telah bersikap kooperatif dalam membimbing penggunaan alat dan ketersediaan bahan ketika penelitian. Semoga lelah kalian menjadi berkah.

Terima kasih kepada rekan rekan saya Saulisa, Anggita, Rizky, Kak Aldin, Kak Ana, Mas Wahiyu, Alif, Dhimas, Tyo, Yudha, Fitri, Ida, Raka, dan anak kelas EF, Grup Klasik, Grup Laskar, Grup CIA, serta Kelompok Mahasiswa Kantin Pojok yang telah menemani dalam proses penyelesaian tugas akhir dan menimba ilmu di Universitas Pakuan.

Terima kasih kepada semua pihak yang terlibat dan membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Wasky Herdiansyah, lahir di Bogor, 15 Juni 1997, adalah putra ketiga dari pasangan Bapak Nana dan Ibu Epon. Penulis memulai pendidikan formalnya pada tahun 2003 di SD Negeri Leuwiliang 1 dan lulus pada tahun 2009. Penulis kemudian melanjutkan pendidikan tingkat menengah di SMP Negeri 1 Leuwiliang sampai tahun 2012 dan masuk ke SMA Negeri 1 Leuwiliang hingga lulus tahun 2015. Pada tahun yang sama, penulis memilih untuk melanjutkan pendidikan tingkat sarjana S1 di Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan Bogor dan dinyatakan lulus pada 5 Agustus 2022. Penulis menyelesaikan tugas akhir sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi, berjudul **“IDENTIFIKASI SENYAWA KIMIA DAN PENETAPAN KADAR FLAVONOID EKSTRAK DAUN PANDAN WANGI (*Pandanus amaryllifolius* Robx) DENGAN METODE LC-MS/MS DAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS”**

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji serta syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT. yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **Identifikasi Senyawa Kimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Robx) Dengan Metode LC-MS/MS Dan Spektrofotometri UV-Vis**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi di Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan.

Pada proses penulisan dan penyusunan skripsi ini banyak bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Sutanto, M.Si. selaku Pembimbing Utama dan Yulianita, M.Farm. selaku Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam pelaksanaan penulisan usulan penelitian ini.
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan.
3. Seluruh Dosen dan Staf Karyawan Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan.
4. Mamah, Papah, Kakak, dan Keluarga tercinta yang telah memberikan do'a dan semangat serta dukungan baik moril maupun materil.
5. Teman-teman mahasiswa Farmasi khususnya angkatan 2015, terima kasih atas bantuan, dukungan, doa, dan perhatiannya.

Besar harapan penulis semoga skripsi ini dapat diterima dan mendapatkan perhatian dalam kritik, saran, dan arahan yang membangun agar penulis dapat melakukan perbaikan serta bermanfaat.

Bogor, Agustus 2022

Wasky Herdiansyah

RINGKASAN

Wasky Herdiansyah. 066115223. 2022. **Identifikasi Senyawa Kimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Robx) Dengan Metode LC-MS/MS Dan Spektrofotometri UV-Vis.** Pembimbing: Sutanto Dan Yulianita.

Daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Robx) merupakan tanaman yang sering digunakan untuk bahan tambahan rasa dan wewangian pada makanan dan minuman.

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa kimia pada puncak kromatogram sampel pandan wangi dengan metode LC-MS/MS (*Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry*) dan penetapan kadar flavonoid ekstrak daun pandan wangi dengan metode Spektrofotometri UV-Vis. Ekstraksi yang digunakan yaitu maserasi dilanjutkan identifikasi senyawa kimia dengan menggunakan LC-MS/MS dan Penetapan kadar flavonoid dengan metode kolorimetri $AlCl_3$ dengan alat spektrofotometri UV-Vis.

Hasil identifikasi senyawa kimia dengan waktu retensi 0-9 menit yang dihasilkan oleh 4 puncak dengan kesesuaian lebih dari 90% yaitu N-(2,3-Dimethoxybenzyl)-1-methoxy-2-propanamine ethanedioate (1:1) pada waktu retensi (RT) 1,769 menit 99,95%, Kaempferol pada waktu retensi (RT) 5,046 menit 99,20%, N-isopentylmethanesulfinamide pada waktu retensi (RT) 6,586 menit 99,92%, dan (-)-codeine pada waktu retensi (RT) 0 7,774 menit 99,97%. dan Kadar flavonoid terkandung dalam ekstrak daun pandan wangi sebesar $14,2697 \pm 0,6085$ mgQE/g pada sampel.

Kata kunci: daun pandan wangi, flavonoid, lc-ms/ms, spektrofotometri uv-vis.

SUMMARY

Wasky Herdiansyah. 066115223. 2022. **Identification Of Chemical Coumpounds And Determination Of Flavonoid Content Of *Pandanus amaryllifolius* Extract Using The LC-MS/MS Method And UV-Vis Spectrophotometry.** Advisor: Sutanto And Yulianita.

Pandanus amaryllifolius is a plant that is often used to add flavor and fragrance to food and drinks.

This study aims to identify the chemical compounds at the top of the chromatogram of *Pandanus amaryllifolius* using the LC-MS/MS (*Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry*) method and to determine the flavonoid content of the *Pandanus amaryllifolius* extract using the UV-Vis Spectrophotometry method. The extraction procedure used was maceration followed by identification of chemical compounds using LC-MS/MS and determination of flavonoid levels using AlCl₃ colorimetric method with UV-Vis spectrophotometry.

The results obtained were chemical compounds with a retention time of 0-9 minutes identified at 4 peaks with a suitability of more than 90%, namely N-(2,3-Dimethoxybenzyl)-1-methoxy-2-propanamine ethanedioate (1:1) at retention time (RT) 1,769 minutes with 99,95%, kaempferol at retention time (RT) 5,046 minutes with 99,20%, N-isopentylmethanesulfonamide at retention time (RT) 6,586 minutes with 99,92%, and (-)-codeine at retention time (RT) 0 7,774 minutes with 99,97% and levels of flavonoids contained in the extract *Pandanus amaryllifolius* of 14,2697±0,6085 mgQE/g in the sample.

Keyword: *pandanus amaryllifolius*, flvonoid, lc-ms/ms, uv-vis spectrophotometry.

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	i
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS.....	ii
SURAT PERNYATAAN PELIMPAHAN SKRIPSI.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iv
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	v
KATA PENGANTAR.....	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	viii
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.....	2
1.3 Hipotesis	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1 Daun Pandan Wangi.....	3
2.2 Simplisia.....	4
2.3 Ekstrak.....	4
2.4 Maserasi.....	5
2.5 Flavonoid.....	5
2.6 LC-MS/MS.....	6
2.7 Spektrofotometri UV-Vis	8
2.8 Analisis Kadar Senyawa Flavonoid	9
BAB III BAHAN DAN METODE	10
3.1 Waktu Dan Tempat Penelitian	10
3.2 Alat Dan Bahan	10

3.3 Pengumpulan Bahan Dan Determinasi.....	10
3.4 Pembuatan Serbuk Simplisia.....	10
3.5 Pembuatan Ekstrak.....	11
3.6 Uji Karakteristik Serbuk Simplisia Dan Ekstrak.....	11
3.6.1 Penetapan Kadar Air	11
3.6.2 Penetapan Kadar Abu.....	11
3.6.3 Perhitungan Kadar Air dan Kadar Abu	11
3.7 Identifikasi Senyawa	12
3.7.1 Identifikasi Flavonoid Dengan uji warna Pereaksi <i>Shinod</i>	12
3.7.2 Identifikasi Senyawa Dengan LC-MS/MS.....	12
3.8 Penetapan Kadar Flavonoid (Chang <i>et al</i> , 2002)	12
3.8.1 Pembuatan Larutan Alumunium Klorida ($AlCl_3$) 10%	12
3.8.2 Pembuatan Larutan Natrium Asetat (CH_3COONa) 1 M.....	13
3.8.3 Pembuatan Larutan Blanko	13
3.8.4 Pembuatan Larutan Standar Induk Kuersetin.....	13
3.8.5 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin.....	13
3.8.6 Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Kuersetin.....	13
3.8.7 Pembuatan Kurva Kalibrasi Standar Kuersetin.....	13
3.8.8 Penentuan Kadar Flavonoid	14
3.8.9 Perhitungan Kadar Flavonoid.....	14
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	15
4.1 Hasil Identifikasi Determinasi Tumbuhan	15
4.2 Hasil Pembuatan Serbuk Simplisia dan Ekstrak	15
4.3 Hasil Karakteristik Serbuk simplisia dan ekstrak.....	16
4.3.1 Hasil Kadar Air Serbuk Simplisia Dan ekstrak.....	16
4.3.2 Hasil Kadar Abu Serbuk Simplisia Dan Ekstrak.....	16
4.4 Hasil Identifikasi Senyawa	17
4.4.1 Identifikasi Flavonoid Dengan Uji Fitokimia (<i>Shinod</i>).....	17
4.4.2 Hasil Identifikasi Dengan LC-MS/MS.....	17
4.5 Hasil Penetapan Kadar Flavonoid	20
4.5.1 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin	20

4.5.2 Penetapan Waktu Inkubasi Optimum Kuersetin	20
4.5.3 Penetapan Kurva Standar Kuersetin.....	21
4.5.4 Hasil Penetapan Kadar Flavonoid	21
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	23
5.1 Kesimpulan.....	23
5.2 Saran	23
DAFTAR PUSTAKA	24
LAMPIRAN.....	29

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Daun Pandan Wangi	3
2. Skema LC-MS/MS (Sari, 2021)	8
3. (A) Daun Pandan Wangi Dan (B) Serbuk Daun Pandan Wangi	15
4. Proses Pengentalan Ekstrak Daun Pandan Wangi	16
5. Hasil Uji Fitokimia Dengan Pereaksi Shinod.	17
6. Kromatogram Blanko Dan Ekstrak Daun Pandan Wangi.....	18
7. Kromatogram Ekstrak Daun Pandan Wangi.....	18
8. Grafik Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin.....	20
9. Grafik Waktu Inkubasi Optimum Kuersetin.....	20
10. Grafik Kurva Standar Kuersetin	21

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Senyawa Kimia Pada Puncak Yang Teridentifikasi (<i>Masslynx</i>).....	19
2. Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Pandan Wangi	22

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alur Bagan Penelitian	30
2. Surat Hasil Determinasi	31
3. Perhitungan Rendemen	32
4. Perhitungan Kadar Air Dan Kadar Abu	33
5. Identifikasi LC-MS/MS (<i>Masslynx</i>)	35
6. Penentuan Kuersetin	38
7. Penetapan Kadar Flavonoid	39

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Di Indonesia daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Robx) merupakan tanaman yang sering digunakan untuk bahan tambahan rasa dan wewangian pada makanan dan minuman. Berdasarkan tempat tumbuhnya daun pandan wangi mudah untuk ditemukan di pekarangan rumah atau di kebun. Oleh karena itu, daun pandan wangi menjadi hal daya tarik untuk dimanfaatkan sebagai bahan alam penelitian. Penelitian pada bidang kimia farmasi merupakan salah satu yang perlu dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia dan mengetahui kadar senyawa kimia yang terkandung dalam daun pandan wangi.

Pada penelitian Quyen (2020) hasil dari skrining fitokimia menyatakan bahwa ekstrak daun pandan wangi memiliki kandungan yang meliputi alkaloid, flavonoid, terpenoid, kumarin, saponin, dan gula pereduksi. Hasil ini menunjukkan adanya senyawa metabolik sekunder yang paling berharga dalam daun pandan wangi. Flavonoid merupakan senyawa yang dimiliki setiap tumbuhan. Flavonoid juga merupakan senyawa kimia organik yang dihasilkan secara alami oleh tumbuhan. Berdasarkan penelitian Garcia (2009) flavonoid dapat mencegah radikal bebas dengan mengurangi risiko penyakit pada manusia termasuk degenerasi, kardiovaskular, atau kanker serta memiliki kemampuan untuk meningkatkan sistem kekebalan pada manusia, sekaligus membantu mengurangi glukosa darah dan lipid.

Berdasarkan penjelasan diatas perlu dilakukan identifikasi senyawa kimia dan penetapan kadar flavonoid pada daun pandan wangi yang diekstrakan terlebih dahulu dengan metode maserasi menggunakan pelarut yaitu etanol 70%. Penggunaan etanol 70% sebagai pelarut disampaikan pada penelitian (Riwanti, 2020) bahwa pada ekstrak *Sargassum polycystum* etanol 70% sebesar 0,1300% mendapatkan kadar flavonoid tertinggi dibandingkan etanol 50% sebesar 0,0539% dan etanol 96% sebesar 0,1180%. selanjutnya dilakukan identifikasi senyawa kimia pandan wangi menggunakan metode LC-MS/MS untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung pada daun pandan wangi. Selain itu untuk penetapan kadar

flavonoid dengan analisis kolorimetri Chang dengan metode Spektrofotometri UV-Vis untuk mengetahui kadar pandan wangi.

1.2 Tujuan Penelitian

1. Identifikasi senyawa kimia pada puncak kromatogram sampel pandan wangi dengan metode LC-MS/MS.
2. Penetapan kadar flavonoid ekstrak daun pandan wangi dengan metode Spektrofotometri UV-Vis.

1.3 Hipotesis

1. Kandungan senyawa kimia dalam pandan wangi dapat diidentifikasi menggunakan LC-MS/MS.
2. Diperoleh kadar flavonoid dalam pandan wangi Spektrofotometri UV-Vis.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Pandan Wangi

Pandan wangi adalah tumbuhan monokotil dengan damili pandanceae, memiliki aroma yang khas. Pandan wangi merupakan tumbuhan berupa perdu dan rendah, tingginya sekitar 2 meter. Batangnya menjalar, pada pangkal keluar berupa akar. Daun berwarna hijau kekuningan, diujung daun berduri kecil, kalau diremas daun ini berbau wangi. Daun tunggal, duduk, dengan pangkal memeluk batang, tersusun berbaris tiga dalam garis spiral. Helai daun berbentuk pita, tipis, licin, ujung runcing, tepi rata, bertulang sejajar, panjang 40 - 80 cm, lebar 3 - 5 cm, berduri tempel pada ibu tulang daun permukaan bawah bagian ujung-ujungnya, warna hijau dan berbau wangi. Beberapa varietas memiliki tepi daun yang bergerigi (Dalimartha, 2009). Seperti pada gambar 1.



Gambar 1. Daun Pandan Wangi

Pandan wangi memiliki khasiat dan fungsi. Fungsinya yaitu sebagai rempah-rempah, bahan penyedap, pewangi dan pemberi warna hijau pada masakan dan bahan baku pembuatan minyak wangi. Selain itu pandan wangi memiliki khasiat yang digunakan sebagai obat tradisional untuk mencegah rambut rontok, menghitamkan rambut, menghilangkan ketombe, mengobati lemah saraf, tidak nafsu makan, rematik, sakit disertai gelisah. Daun pandan mempunyai kandungan kimia antara lain alkaloida, saponin, flavonoida, tanin, polifenol, dan zat warna. Pandan wangi merupakan salah satu tanaman yang potensial untuk menghasilkan minyak atsiri (Rohmawati, 1995).

2.2 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat, belum mengalami pengolahan apapun juga kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang dikeringkan (Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, 2000). Berdasarkan sumbernya simplisia dibedakan menjadi tiga, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman, atau eksudat tanaman. Eksudat adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan atau bagian hewan berupa zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan adalah simplisia yang berupa bahan-bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

2.3 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2000).

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Depkes, RI, 2000). Ekstraksi dilakukan untuk menyari zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Zat-zat aktif terdapat di dalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya (Harborne, 1987).

2.4 Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakkan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (DepKes RI, 2000). Pelarut yang digunakan yaitu etanol.

Etanol merupakan pelarut yang mudah ditemukan dan banyak digunakan untuk mengekstrak komponen polar suatu bahan alam. Pelarut etanol dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid (Widarta, 2017).

Remaserasi merupakan metode ekstraksi yang terjadi pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya. Pelarut kedua ditambahkan sebanyak penambahan pelarut pertama (Depkes, 2000).

2.5 Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok polifenol dan diklasifikasikan berdasarkan struktur kimia serta biosintesisnya (Seleem *et al.*, 2017). Struktur dasar flavonoid terdiri dari dua gugus aromatik yang digabungkan oleh jembatan karbon (C6-C3-C6) (Uzel *et al.*, 2005). Flavonoid diklasifikasikan sebagai flavon, flavanone, flavonol, katekin, flavanol, kalkon dan antosianin (Panche *et al.*, 2016). Pembagian kelompok flavonoid didasarkan pada perbedaan struktur terutama pada substitusi karbon pada gugus aromatic sentral dengan beragamnya aktivitas farmakologi yang ditimbulkan (Wang *et al.*, 2018).

Flavon merupakan flavonoid yang sering ditemukan pada daun, buah dan bunga dalam bentuk glukosida. Beberapa contoh senyawa flavon adalah : apigenin, luteolin, luteolin-7-glukosida, akatekin, dan baicalin (Cushnie dan Lamb, 2005). Flavonol merupakan flavonoid dengan gugus keton. Senyawa flavonol diantaranya adalah kuersetin, mirisetin, fisetin, galangin, morin, rutin, dan robinetin (Cushnie dan Lamb, 2005). Flavanon merupakan flavonoid yang paling banyak terdapat pada famili Compositae, Leguminosae dan Rutaceae. Senyawa itu terdapat pada akar, batang, bunga, buah, biji, dan rizoma (Brodowska, 2017). Flavanol atau disebut

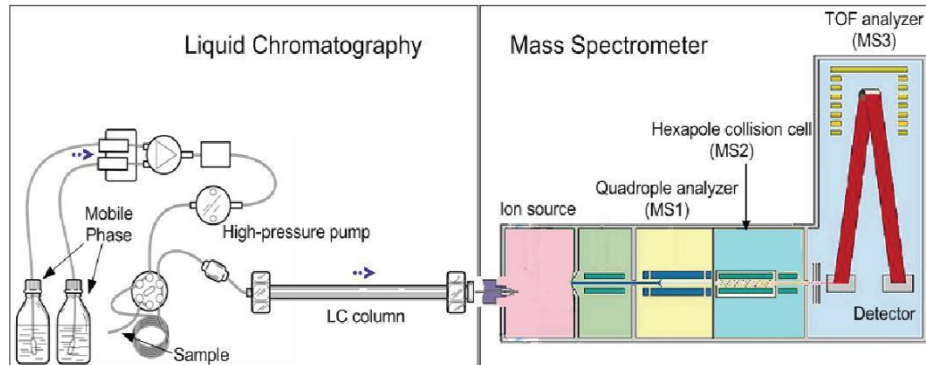
juga katekin, merupakan derivat dari flavanone dengan penambahan gugus hidroksi. Perbedaan yang mencolok yaitu tidak adanya ikatan rangkap pada posisi 2 dan 3 serta gugus hidroksi yang selalu menempel di posisi 3 pada cincin C (Panche *et al.*, 2016). Antosianidin merupakan pigmen yang bertanggung jawab terhadap warna pada tumbuhan. Antosianidin ini banyak ditemukan pada kakao, sereal, kacang-kacangan, madu, teh dan beri-berian (Brodowska, 2017; Panche *et al.*, 2016). Kalkon merupakan flavonoid yang unik karena dibedakan dengan tidak adanya cincin aromatik yang merupakan basis rangka dari flavonoid itu sendiri. Senyawa kalkon diantaranya adalah phloridzin, arbutin, phloretin, dan chlarconaringenin (Panche *et al.*, 2016).

2.6 LC-MS/MS

Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) atau Kromatografi cair kinerja ultra tinggi-tandem spektrometri massa (KCKUT-SM/SM) adalah teknik analisis kombinasi dari kromatografi cair sebagai pemisah komponen-komponen analit dalam sampel, dengan spektrometri massa sebagai detektor. Merupakan teknik analisis kualitatif dan kuantitatif yang efektif dengan berbagai aplikasi. Prinsip Tandem Spektrometri Massa didasarkan pada penggunaan dua spektrometer massa bersama-sama untuk menganalisis campuran sampel. Metode ini menggunakan dua penganalisis massa yang disusun secara berurutan di antara keduanya. Penganalisis massa digunakan untuk memilih rasio massa terhadap muatan (m/z) tertentu. Penganalisis massa pertama menganalisa rasio m/z dari ion induk, kemudian ion induk bertabrakan dengan molekul gas dan terfragmentasi menjadi ion yang lebih kecil dan diperoleh rasio m/z pada penganalisa masa kedua sebagai ion produk. Spektrometri pada dasarnya terdiri dari 3 bagian utama yaitu sumber ion, analisator massa, dan detektor yang dioperasikan dalam tekanan tinggi. Ada berbagai macam teknik pengionisasi, penggunaannya tergantung pada fase dari sampel (padat, cair, atau gas) dan efisiensi berbagai mekanisme ionisasi untuk senyawa yang tidak diketahui. Sumber pengion adalah bagian dari spektrometer massa yang mengionisasi bahan-bahan yang akan dianalisis. Ruang ionisasi biasanya juga diisi dengan gas nebulator sehingga analit

yang sebelumnya berupa cairan akan diubah menjadi molekul gas bermuatan. Molekul gas bermuatan tersebut akan bergerak menuju penganalisis massa. Dalam LC-MS/MS sumber pengion yang digunakan adalah fase padat (MALDI) dan fase cair (ESI, APCI, dan APPI) Salah satu teknik yang sering digunakan dalam sampel biologis cair dan padat yaitu ESI (Elektro spray ionzation). Ionisasi dengan ESI melalui 3 tahap; produksi tetesan bermuatan, pengurangan ukuran tetesan bermuatan dan fase gas pembentukan ion. Tahap pertama, analit bersama dengan eluen dari Kromatografi cair dipompa masuk menuju kapiler. Di dalam kapiler terdapat anoda (kutub negatif) pada Taylor cone dan katoda (kutub positif) pada kapiler. Kutub ini berfungsi agar muatan yang berkumpul pada Taylor cone adalah muatan positif sehingga nantinya saat terjadi penyempitan dan terbentuk droplet (tetesan) tidak bergabung menjadi tetesan yang lebih besar lagi. Didalam kapiler yang sangat sempit dan bertegangan tinggi akan terjadi nebulasi, analit berinteraksi dengan lapisan permukaan pelarut menghasilkan tetesan bermuatan positif/negatif. Tahap kedua, tetesan bermuatan ini akan mengalami pengurangan ukuran karena menguapnya pelarut, meningkatnya kerapatan muatan pada partikel sehingga meningkatkan tegangan permukaan dan tetesan akan pecah menjadi tetesan-tetesan lebih kecil (a. Analit dengan satu muatan dan beberapa muatan (analit ion), b. Satu analit bersama solven yang diliputi muatan positif, c. Beberapa analit bersama beberapa solven diliputi beberapa analit). Tahap terakhir, analit ion akan masuk ke dalam cone dimana di sisi kiri dan kanannya sudah mengalir gas nitrogen, gas ini berfungsi agar analit yang terbentuk stabil dan tidak terganggu oleh gas oksigen. Tetesan tersebut ditransfer melalui lubang kapiler penganalisis massa (Harmita *et al.*, 2019). Spektrometri massa tandem menggunakan perpaduan 2 analisator massa, sebagai contoh yaitu Q-TOF yang merupakan perpaduan antara Quadrupole dengan Time of Flight. Keunggulan Q-TOF adalah menghasilkan polaisotopy yang konsisten, jarak kelimpahan yang luas mulai dari molekul kecil hingga molekul besar sehingga dapat memberikan pengukuran massa monoisotop yang akurat, serta dapat memberikan akuisisi spektra yang cepat dengan transmisi tinggi tanpa menurunkan kualitas resolusi massa yang tinggi sehingga dapat digunakan untuk

konfirmasi senyawa target dan identifikasi senyawa yang belum diketahui (Zhang, 2015).



Gambar 2. Skema LC-MS/MS (Sari, 2021)

Keuntungan LC-MS/MS tidak lepas dari keunggulan tandem spektrometri massa yang memiliki selektivitas yang tinggi karena mampu mengenali dua sifat fisik analit yang dianalisa, yaitu rasio m/z dari ion induk dan ion produk. Penggabungan dengan kromatografi cair mampu mengidentifikasi analit dengan tepat berdasarkan waktu retensi sehingga dapat meningkatkan spesifitas. Sensitivitas dari tandem spektrometri massa yang menunjukkan fleksibilitas dalam mengembangkan analisa senyawa baru atau biomarker, karena mampu menghasilkan batas deteksi yang lebih rendah dibandingkan metode lain. Manfaat LC-MS/MS lainnya adalah kemampuan untuk melakukan analisis multikomponen secara simultan; mengidentifikasi dan mengukur beberapa analitik yang dianalisa secara bersamaan. Kemampuan menganalisa multikomponen dapat menurunkan biaya terutama dalam proses preparasi sampel (Harmita *et al.*, 2019).

2.7 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Spektrum UV-Vis mempunyai bentuk yang lebar dan hanya sedikit informasi tentang struktur yang bisa didapatkan dari spektrum ini. Tetapi spektrum UV-Vis sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif (Dachriyanus, 2014).

2.8 Analisis Kadar Senyawa Flavonoid

Analisis kadar flavonoid menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi $AlCl_3$, dimana prinsip dari metode kolorimetri adalah $AlCl_3$ membentuk kompleks asam yang stabil dengan C-4 gugus keto, lalu dengan C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol. Selain itu $AlCl_3$ juga membentuk kompleks asam yang labil dengan gugus ortodihidroksil pada cincin A atau B dari flavonoid, sehingga akan mempunyai nilai serapan yang dapat dianalisis dengan menggunakan Spektrofotometri UV-VIS (Katja, 2009).

BAB III BAHAN DAN METODE

3.1 Waktu Dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan Maret 2022 bertempat di Laboratorium Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan, Bogor Dan Pusat Laboratorium Forensik Polri, Sentul, Bogor.

3.2 Alat Dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain timbangan analitik, ayakan mesh 40, botol coklat, cawan, kain batis, krus, tanur, oven, spektrofotometri UV-Vis, alat-alat gelas, *rotary evaporator*, pipet tetes, mikro pipet, kertas saring, dan LC-MS/MS.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah simplisia kering daun pandan wangi, etanol 70%, akuades, metanol pro analis (pa), serbuk AlCl_3 , serbuk CH_3COONa , dan serbuk kuersetin.

3.3 Pengumpulan Bahan Dan Determinasi

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pandan wangi yang didapatkan dari daerah Leuwiliang, Kabupaten Bogor. Selanjutnya determinasi diidentifikasi di Herbarium Bogoriense Bidang Botani Pusat riset Biologi-BRIN Cibinong.

3.4 Pembuatan Serbuk Simplisia

Daun pandan wangi yang sudah dikumpulkan disortasi basah dan dicuci pada air mengalir. Daun yang sudah dicuci dan bebas air pencucian lalu dipotong ± 2 cm. selanjutnya daun dikeringkan selama 7 hari dalam oven dengan suhu 40°C . Daun yang sudah kering disortasi lalu diserbukan menggunakan *glinder* dan diayak menggunakan mesh 40, kemudian serbuk simplisia ditimbang dan dimasukkan kedalam wadah yang bersih dan kering. Dihitung rendemen simplisia.

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot simplisia yang diperoleh}}{\text{Bobot awal}} \times 100\%$$

3.5 Pembuatan Ekstrak

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Penggunaan serbuk simplisia dengan pelarut menggunakan perbandingan 1:10. Maserasi dilakukan 3 kali pengulangan dengan serbuk simplisia digunakan sebanyak masing-masing sebanyak 100 gram lalu dimasukkan ke dalam botol coklat kemudian ditambahkan etanol 70% sebanyak 1 liter dibagi 3 (400 mL, 300 mL, dan 300 mL) untuk dilakukan remaserasi, selanjutnya dalam 24 jam dilakukan pengocokan setiap 6 jam sekali selama 5 menit kemudian didiamkan. Ekstraksi disaring setiap jam ke 24, 48, dan 72. Ekstrak cair yang dihasilkan selanjutnya diendapkan 1 malam dan didekantasi.

3.6 Uji Karakteristik Serbuk Simplisia Dan Ekstrak

3.6.1 Penetapan Kadar Air

Kurs kosong yang sudah dipreparasi (dipanaskan) lalu didinginkan selanjutnya ditara, dimasukkan sampel sebanyak 2 gram kemudian dipijarkan tanpa tutup kurs dalam oven pada suhu 105°C selama 6 jam, didinginkan dalam desikator tanpa tutup kurs, lalu ditimbang. Pengeringan dilanjutkan dan ditimbang dengan jarak 1 jam sampai penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0.25%.

3.6.2 Penetapan Kadar Abu

Kurs kosong yang sudah dipreparasi (dipanaskan) lalu didinginkan selanjutnya ditara, dimasukkan sampel sebanyak 2 gram kemudian dipijarkan tanpa tutup kurs dalam tanur pada suhu 600°C selama 7 jam, didinginkan dalam desikator tanpa tutup kurs, lalu ditimbang.

3.6.3 Perhitungan Kadar Air dan Kadar Abu

Diketahui: W1=bobot kurs+sampel sebelum pemanasan, W2=bobot kurs+sampel sesudah pemanasan, W3=bobot sampel

$$\% \text{Kadar air/abu} = \frac{W1 - W2}{W3} \times 100\%$$

3.7 Identifikasi Senyawa

3.7.1 Identifikasi Flavonoid Dengan uji warna Pereaksi *Shinod*

Dimasukkan sejumlah sampel ke dalam cawan lalu ditambahkan 2-3 tetes etanol, kemudian ditambahkan 0.1 gram serbuk Magnesium (Mg) dan beberapa tetes Asam Klorida (HCl) 5 M. Warna merah hingga lembayung yang ditimbulkan menandakan adanya senyawa flavonon, flavonol, flavonolol dan dihidroflavonol (Hanani, 2015).

3.7.2 Identifikasi Senyawa Dengan LC-MS/MS

Identifikasi senyawa kimia dilakukan menggunakan LC-MS/MS dengan pengaturan LC Sistem *Ultra Performance Chromatography* (UPLC), Kolom C18 (1,8 μ 2,1x100 mm) HSS, temperatur kolom 50°C, temperaturkompartmen autosampler 25°C, fase gerak 5 mm amonium format dalam air (fase A) dan 0,05% amonium format dalam asetonotril (fase B), laju alir diatur selama 23 menit dengan kelajuan 0,2 mL/min, selanjutnya volume diinjeksikan 5 μ l.

Spektrometer massa diatur teknik pengionisasi menggunakan ESI (*Electrospray Ionization*), mode positif, analisis massa 50-1200 m/z, temperatur 100°C, temperatur desolvasi 350°C, tekanan energi rendah 4 volt, dan tekanan energi tinggi 25-60 volt.

Diidentifikasi menggunakan perangkat lunak *masslynx* versi 4.1 didapatkan kromatogram dan waktu retensi (RT) dapat dilihat massa ion dan formula kimia serta kesesuaian formula. Selanjutnya didapatkan penamaan senyawa kimia dan strukturnya dengan menggunakan *website chemspider*, *pubchem*, dan *massbank* dengan cara mengurangi 1 atom H pada rumus molekul terlebih dahulu karena molekul akan terprotonasi dengan 1 atom H dalam proses ionisasi ESI positif.

3.8 Penetapan Kadar Flavonoid (Chang *et al*, 2002)

3.8.1 Pembuatan Larutan Alumunium Klorida (AlCl₃) 10%

Alumunium klorida ditimbang 5 gram dimasukan kedalam labu ukur 50 mL dilarutkan dengan akuades sampai tanda batas lalu dihomogenkan.

3.8.2 Pembuatan Larutan Natrium Asetat (CH_3COONa) 1 M

Natrium asetat ditimbang 4,1 gram dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL kemudian dilarutkan dengan akuades sampai tanda batas lalu dihomogenkan.

3.8.3 Pembuatan Larutan Blanko

dimasukan Larutan blanko terdiri dari campuran methanol p.a 3 mL, aluminium klorida 10% 0.1 mL, dan natrium asetat 1 M 0.1 mL dalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan akuades hingga tanda batas.

3.8.4 Pembuatan Larutan Standar Induk Kuersetin

Larutan standar kuersetin dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm. Kuersetin 0,1 g dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL lalu ditambahkan metanol p.a hingga tanda batas. Diencerkan menjadi 100 ppm dengan dipipet 1 mL kuersetin 1000 ppm dilarutkan metanol p.a ke dalam labu ukur 100 mL.

3.8.5 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Larutan kuersetin konsentrasi 100 ppm dipipet sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam labu 10 mL, kemudian ditambahkan 3 mL metanol p.a, 0,1 mL aluminium klorida 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M dan akuades sampai tanda batas, dikocok sampai homogen lalu diinkubasi selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400-500 nm.

3.8.6 Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Kuersetin

Larutan standar kuersetin 100 ppm dipipet 1 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan methanol p.a 3 mL, aluminium klorida 10% 0.1 mL, natrium asetat 1 M 0.1 mL lalu ditambahkan akuades sampai tanda batas. Selanjutnya diukur serapan diukur pada panjang gelombang maksimum setiap menit 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 serta ditentukan waktu optimum di mana waktu inkubasi yang memberikan serapan yang cukup stabil.

3.8.7 Pembuatan Kurva Kalibrasi Standar Kuersetin

Dipipet larutan kuersetin 1000 ppm dengan masing masing 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu diencerkan dengan metanol p.a sampai tanda batas hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 0, 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm. Dipipet masing-masing larutan sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, tambahkan 3 mL metanol p.a, lalu tambahkan 0,1 mL

aluminium klorida 10% lalu tambahkan 0,1 mL natrium asetat 1 M dan akuades hingga tanda batas (konsentrasi menjadi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm). Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar dengan waktu optimum. Dicatat serapan pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh kemudian diplot terhadap konsentrasi untuk memperoleh kurva dengan persamaan linier $y=bx+a$ (Krisyanella, 2013).

3.8.8 Penentuan Kadar Flavonoid

Sampel ditimbang sebanyak 0,01 gram dilarutkan dengan metanol 10 mL dan dihomogenkan. Selanjutnya dipipet 1 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL ditambahkan methanol p.a 3 mL, aluminium klorida 10% 0.1 mL, dan natrium asetat 1 M 0.1 mL lalu ditambahkan akuades sampai tanda batas 10 mL serta dihomogenkan. Larutan sampel diinkubasi selama waktu optimum dan diukur serapan pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh. Dilakukan 3 kali pengulangan.

3.8.9 Perhitungan Kadar Flavonoid

Persamaan regresi linier hasil dari kurva kalibrasi untuk menentukan konsentrasi larutan uji dengan meamsukan absorbansi sampel sebagai nilai y dengan persamaan: $y = bx + a \rightarrow x = (y - a)/b$ di mana y =absorbansi, x =konsentrasi, dan perumusan pada excel a =intersept, b =slope.

Setelah nilai x (konsentrasi larutan uji atau ppm) didapatkan selanjutnya dihitung kadar senyawa flavonoid dengan menggunakan rumus:

$$\text{kadar Flavonoid}(mgQE/g \text{ pada sampel}) = \frac{V (mL) \times X(mg/ml) \times FP}{\text{Bobot Sampel}}$$

Keterangan V = Volume yang melarutkan sampel, X = Konsentrasi sampel, dan FP = Faktor Pengenceran. Kadar flavonoid yang diperoleh dinyatakan dalam mg ekivalen quersetin tiap gram sampel (mgQE/g sampel) (Quyén *et al*, 2020).

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Identifikasi Determinasi Tumbuhan

Determinasi tumbuhan diidentifikasi di Herbarium Bogoriense, Bidang Botani Pusat Riset Biologi-BRIN Cibinong. Berdasarkan surat Nomor B-206/V/DI.05.07/10/2021 perihal Hasil identifikasi/determinasi tumbuhan, menunjukkan bahwa daun pandan wangi merupakan dari jenis *Pandanus amaryllifolius* Roxb dan termasuk ke dalam suku *Pandanaceae*. Surat hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 2.

4.2 Hasil Pembuatan Serbuk Simplisia dan Ekstrak

Bahan simplisia yang digunakan adalah pandan wangi yang diperoleh di Leuwiliang, Kabupaten Bogor, Jawa Barat. Pembuatan simplisia dilakukan dengan menimbang daun pandan wangi segar yang telah dicuci dan dirajang sebanyak 2000 gram, lalu dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 40°C selama 7 hari. Daun pandan wangi yang sudah kering dihaluskan menggunakan *glinder*, selanjutnya diayak dengan ayakan berukuran mesh 40. Didapatkan serbuk simplisia sebanyak 324 gram dan menghasilkan rendemen sebesar 16,2%. Data perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 3.



Gambar 3. (A) Daun Pandan Wangi Dan (B) Serbuk Daun Pandan Wangi

Sebanyak 100 gram serbuk simplisia daun pandan wangi ditimbang untuk dimaserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 1 liter dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Diperoleh ekstrak cair lalu dipekatkan terlebih dahulu

menggunakan *rotary evaporator*, selanjutnya dikentalkan dengan penangas air dengan suhu 40°C. Pembuatan ekstrak kental menghasilkan rendemen $8,3956 \pm 0,2449\%$. Data perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 3.



Gambar 4. Proses Pengentalan Ekstrak Daun Pandan Wangi

4.3 Hasil Karakteristik Serbuk simplisia dan ekstrak

4.3.1 Hasil Kadar Air Serbuk Simplisia Dan ekstrak

Pengujian kadar air dilakukan dengan cara gravimetri atau pengeringan menggunakan oven pada suhu 105°C. Pengujian kadar air dimaksudkan untuk mengetahui kandungan air pada sampel yang berhubungan dengan kemurnian dan kontaminasi. Hasil kadar air pada serbuk simplisia didapatkan sebesar $6,7654 \pm 0,7867\%$, hasil tersebut sudah memenuhi syarat umum yaitu tidak lebih dari 10% (DepKes RI, 1995). Sedangkan untuk kadar air pada ekstrak didapatkan $8,176 \pm 0,3042\%$, hasil tersebut sudah memenuhi syarat yaitu tidak kurang dari 6% (Depkes RI, 1989). Data perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 4.

4.3.2 Hasil Kadar Abu Serbuk Simplisia Dan Ekstrak

Pengujian kadar abu menggunakan tanur pada suhu 600°C. Pengujian kadar abu dimaksudkan untuk memberikan batas nilai maksimal kandungan zat anorganik yang masih boleh terkandung dalam sampel. komposisi dari bahan pangan atau tanaman adalah air dan bahan organik, sedangkan sisanya adalah unsur mineral. Unsur mineral dikenal sebagai zat anorganik atau abu. Dalam proses pembakaran bahan-bahan organik terbakar sedangkan bahan anorganiknya tidak, sisa yang terbakar merupakan abu (Depkes RI, 2000). Hasil kadar abu pada serbuk simplisia didapatkan sebesar $3,0733 \pm 0,6971\%$, lalu hasil kadar pada ekstrak didapatkan sebesar $4,5008 \pm 0,4145\%$, hasil tersebut sudah memenuhi syarat yaitu tidak lebih dari 9% (Depkes RI, 1989). Data perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 4.

4.4 Hasil Identifikasi Senyawa

4.4.1 Identifikasi Flavonoid Dengan Uji Fitokimia (*Shinod*)

Identifikasi uji warna dilakukan untuk memastikan kandungan flavonoid secara sederhana. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa ekstrak daun pandan wangi memiliki menunjukkan hasil positif. Di mana uji flavonoid ini antara magnesium dan asam klorida pekat akan direaksikan sehingga terbentuk produk magnesium klorida dan H_2 . Selanjutnya magnesium klorida akan mengalami reaksi redoks sehingga terjadi pemisahan antara magnesium dan 2 klorida. dihasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga. Hasil uji warna tersebut sesuai dengan hasil uji fitokimia pada penelitian sebelumnya (Wijyantini, 2018). Dapat dilihat pada Gambar 5.

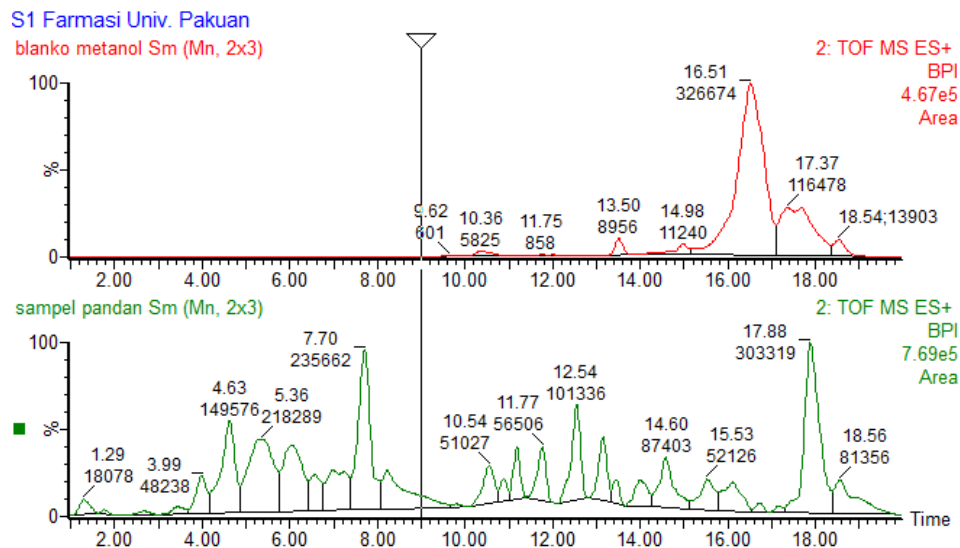


Gambar 5. Hasil Uji Fitokimia Dengan Pereaksi Shinod

4.4.2 Hasil Identifikasi Dengan LC-MS/MS

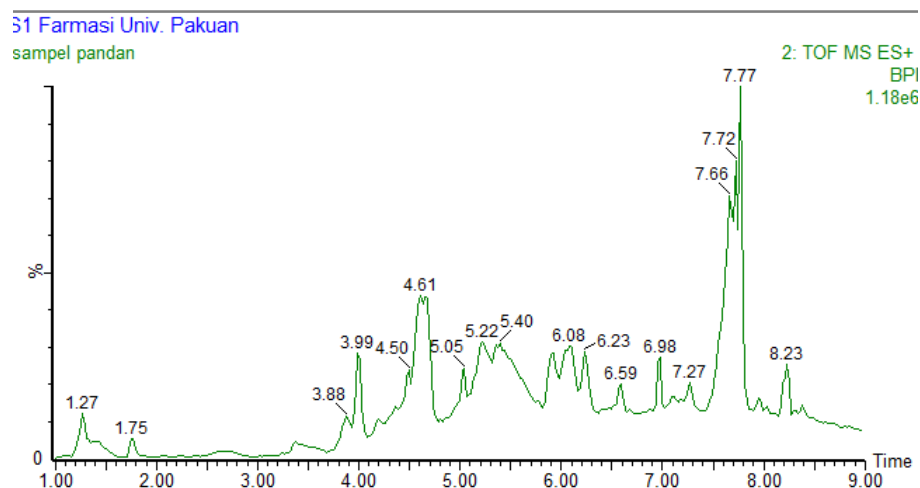
Identifikasi dilakukan menggunakan LC-MS/MS di Pusat Laboratorium Forensik (PUSLABFOR) POLRI dan menggunakan perangkat lunak *Masslynx* versi 4.1 untuk mengolah hasil data kromatogram dan spektra agar dapat mengetahui massa senyawa dan mengetahui rumus molekul dari senyawa-senyawa yang telah ditemukan.

Nama senyawa dicari berdasarkan rumus molekul yang telah diketahui melalui *website chemspider, pubchems, dan massbank*. Dilakukukan pencarian dengan memasukan rumus molekul lalu mengurangi 1 atom H terlebih dahulu karena molekul akan terprotonasi dengan 1 atom H dalam proses ionisasi ESI positif. Maka dapat diketahui nama senyawa dari rumus molekul yang ditemukan.



Gambar 6. Kromatogram Blanko Dan Ekstrak Daun Pandan Wangi

Pada tahapan ini dilakukan perbandingan data antara kromatogram blanko terhadap kromatogram sampel ekstrak daun pandan wangi. Dapat dilihat pada gambar 6 bahwa pada waktu retensi (RT) 10-20 menit terdapat kromatogram dominan adalah blanko sedangkan pada waktu retensi (RT) 0-9 menit terdapat kromatogram yang terdeteksi dimiliki oleh sampel ekstrak daun pandan wangi. Hal tersebut dilakukan agar dapat mendapatkan data pada kromatogram secara spesifik untuk diidentifikasi khusus pada kromatogram sampel.

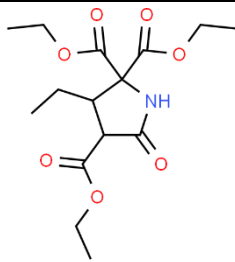
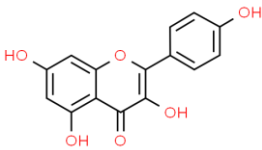
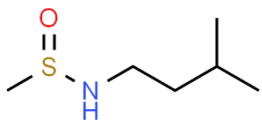
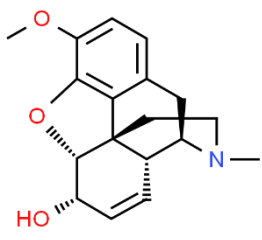


Gambar 7. Kromatogram Ekstrak Daun Pandan Wangi

Berdasarkan hasil kromatogram diatas hasil dari pemisahan data kromatogram blanko terhadap kromatogram sampel ekstrak daun pandan wangi teridentifikasi senyawa kimia dengan waktu retensi 0-9 menit yang dihasilkan oleh 4 puncak

dengan kesesuaian lebih dari 90% yaitu Triethyl 3-ethyl-5-oxo 2,2,4-pyrrolidinetricarboxylate pada waktu retensi (RT) 1,769 menit 99,95%, Kaempferol pada waktu retensi (RT) 5,046 menit 99,20%, N-isopentylmethanesulfinamide pada waktu retensi (RT) 6,586 menit 99,92%, dan (-)-codeine pada waktu retensi (RT) 7,774 menit 99,97%. Kesesuaian yang terdapat pada setiap data merupakan kemungkinan yang teridentifikasi oleh *Masslynx* dan bukan menunjukkan kadar atau kuantitas yang terkandung dalam sampel.

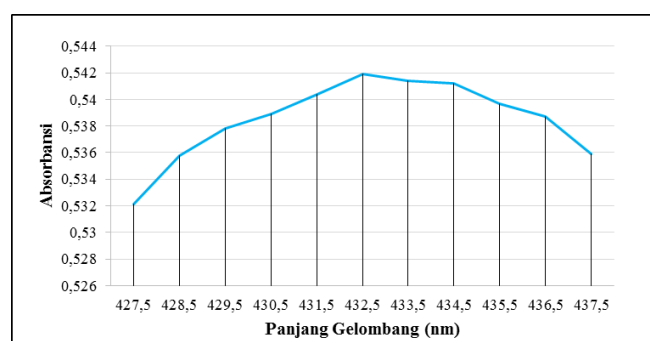
Tabel 1. Senyawa Kimia Pada Puncak Yang Teridentifikasi (*Masslynx*)

No	Waktu Retensi (RT)	Formula	Struktur Kimia	Nama Senyawa	Kesesuaian (%)
1	1,769	$C_{15}H_{24}NO_7$		Triethyl 3-ethyl-5-oxo 2,2,4- pyrrolidinetricarboxylate	99,95
2	5,046	$C_{15}H_{11}O_6$		Kaempferol	99,20
3	6,586	$C_6H_{16}NOS$		N- isopentylmethanesulfinami de	99,92
4	7,774	$C_{18}H_{22}NO_3$		Codeine	99,97

4.5 Hasil Penetapan Kadar Flavonoid

4.5.1 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

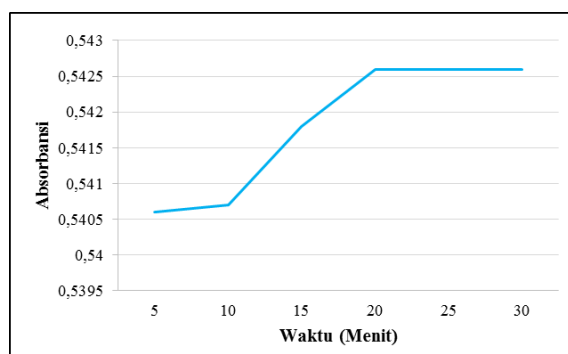
Dilakukan penetapan panjang gelombang maksimum agar mengetahui daerah serapan yang dihasilkan berupa absorbansi dari larutan baku kuersetin diukur spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 400-500 nm dalam 10 ppm lalu setelah didapatkan titik panjang gelombang maksimum rentang diperkecil menjadi 420-440 nm hal ini dimaksudkan agar memperjelas presisi grafik pada penetapan panjang gelombang maksimum. Hasil running menunjukkan panjang gelombang maksimum yang dihasilkan adalah 432,5 nm dengan nilai absorbansi 0,5419. Panjang gelombang maksimum tersebut yang digunakan untuk mengukur serapan dari sampel ekstrak. Hasil data panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada Lampiran 6.



Gambar 8. Grafik Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

4.5.2 Penetapan Waktu Inkubasi Optimum Kuersetin

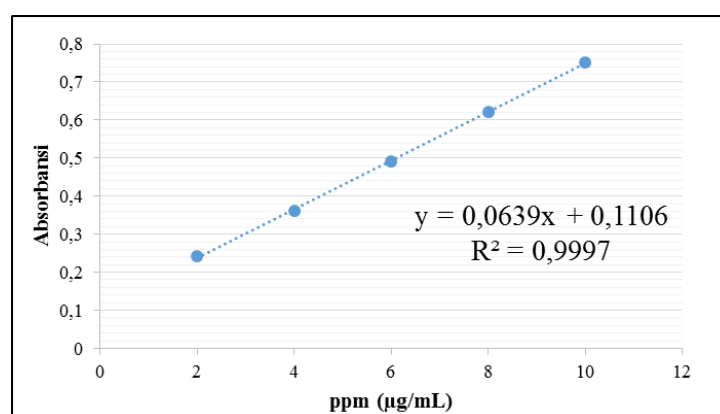
Didapatkan waktu inkubasi optimum yaitu pada menit ke 20, hal tersebut menyatakan bahwa waktu 20 menit menunjukkan waktu dengan nilai absorbansi yang stabil. Hasil data waktu inkubasi optimum dapat dilihat pada Lampiran 6.



Gambar 9. Grafik Waktu Inkubasi Optimum Kuersetin

4.5.3 Penetapan Kurva Standar Kuersetin

Pembuatan kurva standar kuersetin ditentukan untuk menghasilkan persamaan regresi linear suatu konsentrasi sampel (x) dengan nilai absorbansi (y). Kuersetin digunakan sebagai standar karena kandungannya bersifat murni, stabil dan merupakan senyawa kelompok flavonoid terbesar. Kuersetin dibuat kedalam beberapa deret konsentrasi yaitu 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm sehingga didapat persamaan $y = bx + a \rightarrow y = 0,0639x + 0,1106$ dengan nilai $R^2 = 0,9997$. Nilai R^2 menunjukkan korelasi antar konsentrasi sampel dengan absorbansi. Semakin mendekati nilai 1 maka korelasi semakin kuat sehingga nilai $R^2 = 0,9997$ dapat digunakan untuk analisis berikutnya. Hasil data kurva standar kuersetin dapat dilihat pada Lampiran 6.



Gambar 10. Grafik Kurva Standar Kuersetin

4.5.4 Hasil Penetapan Kadar Flavonoid

Penetapan kadar flavonoid menggunakan metode kolorimetri yang mengacu pada prosedur Chang, (2002). Penentuan kadar flavonoid pada sampel nilai absorbansi yang diperoleh dimasukkan ke dalam persamaan regresi linear standar kuersetin dan kadar flavonoid dinyatakan dalam mg ekuivalen kuersetin tiap gram sampel (mgQE/g sampel) (Quyên *et al*, 2020).

Tabel 2. Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Pandan Wangi

Peng- ulangan	Bobot Sampel (g)	Kadar Flavonoid (mgQE/g)	Rata-rata Flavonoid (mgQE/g)	SD	Flavonoid \pm SD (mgQE/g)
1	0,0124	14,9655			14,2697
2	0,0119	13,8363	14,2697	0,6085	\pm SD
3	0,0133	14,0074			0,6085

Berdasarkan tabel diatas diperoleh kadar flavonoid sebanyak $14,2697 \pm 0,6085$ mgQE/g pada sampel estrak daun pandan wangi, hasil yang diperoleh sedikit berbeda dengan hasil penelitian yang telah dilakukan Quyen *et al* (2020) yaitu $11,79 \pm 0,44$ mgQE/g pada sampel. Hal ini dapat terjadi karena perbedaan lokasi tumbuh, suhu iklim, dan perlakuan pada suhu yang digunakan pada saat pengeringan. Diketahui bahwa pada penelitian Purwanti (2018) menyatakan faktor pengeringan dapat mempengaruhi aktivitas senyawa kimia. Hasil data perhitungan dapat dilihat pada lampiran 7.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Teridentifikasi senyawa kimia dengan waktu retensi 0-9 menit yang dihasilkan oleh 4 puncak dengan kesesuaian lebih dari 90% yaitu N-(2,3-Dimethoxybenzyl)-1-methoxy-2-propanamine ethanedioate (1:1) pada waktu retensi (RT) 1,769 menit 99,95%, Kaempferol pada waktu retensi (RT) 5,046 menit 99,20%, N-isopentylmethanesulfinamide pada waktu retensi (RT) 6,586 menit 99,92%, dan Codeine pada waktu retensi (RT) 7,774 menit 99,97%.
2. Kadar flavonoid terkandung dalam ekstrak daun pandan wangi sebesar $14,2697 \pm 0,6085$ mgQE/g pada sampel.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian dengan perbedaan kandungan pada usia daun muda dan daun tua pandan wangi.
2. Perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan metode ekstraksi lain.
3. Perlu dilakukan penetapan kadar fenol daun pandan wangi.

DAFTAR PUSTAKA

- Anief, M. (1999). *Ilmu Meracik Obat Teori dan Praktik*, Cetakan Ketujuh. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Halaman 168-169.
- Arisandi dan Andriani. 2008. *Khasiat Berbagai Tanaman Untuk Pengobatan*. Eksa Media. Jakarta.
- Carbonaro, M., et.al. 2005. *Absorption of Quercetin and Rutin in Rat Small Intestine*. *Annals Nutrition and Metabolism* 2005;49:178-182(DOI:10.1159/000086882)
- Cutter, E. (1989). *Plant Anatomy: Experiment and Interpretation Part 2 Organs*. London: The English Language Book Society and Edward Arnold (Publishers) Ltd.
- Dachriyanus. 2014. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi. Universitas Andalas. Kemenkes RI, 2013. *Farmakope Herbal Indonesia, Edisi 1*. Jakarta. Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan.
- Dalimartha S. 2009. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 1*. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1989. *Materia Medika Indonesia Volume V*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia Volume VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

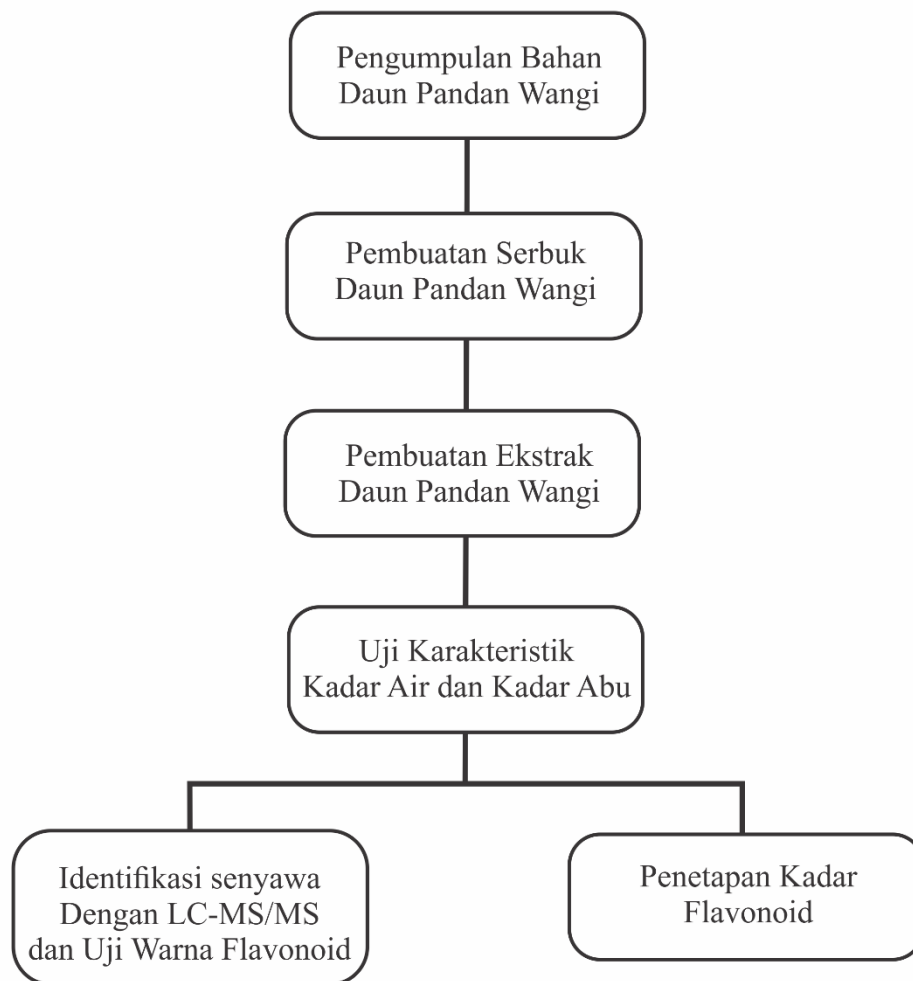
- Fawwaz, M., Muliadi, D.S., Muflihunna, A. 2017. *Kedelai Hitam (Glycine Soja) Terhidrolisis sebagai Sumber Flavonoid Total. Jurnal Fitofarmaka Indonesi.* 4 (1): 194-198.
- García-Lafuente, A., Guillamón, E., Villares, A., Rostagno, M. A., & Martínez, J. A. (2009). *Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease.* *Inflammation research*, 58(9), 537-552.
- Ghasemzadeh, A., & Jaafar, H. Z. (2013). *Profiling of phenolic compounds and their antioxidant and anticancer activities in pandan (Pandanus amaryllifolius Roxb.) extracts from different locations of Malaysia.* *BMC complementary and alternative medicine*, 13(1), 1-9.
- Grebe SK, Singh RJ. *LC-MS/MS in the Clinical Laboratory – Where to From Here? The Clinical Biochemist Reviews.* 2011;32(1):5-31.
- Hanani, E. 2015. *Analisis Fitokimia.* Jakarta: EGC.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia. Padmawinata K dan Soediro I*, penerjemah. Bandung: Penerbit ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods.*
- Karimi, E., Jaafar, H. Z., & Ahmad, S. (2011). *Phytochemical analysis and antimicrobial activities of methanolic extracts of leaf, stem and root from different varieties of Labisa pumila Benth.* *Molecules*, 16(6), 4438-4450.
- Kim EJ, Kwon J, Park SH, Park C, Seo YB, Shin HK, Kim HK, Lee KS, Choi SY, Ryu DH, Hwang GS. 2011. *Metabolite profiling of Angelica gigas from different geographical origin using 1H NMR and UPLC-MS analyses.* *J Agric Food Chem* 59: 8806-8815.
- Krisyanella., Susilawati, N., Rivai, H. 2013. *Pembuatan dan Karakteristik Serta Penentuan Kadar Flavonoid dari Ekstraksi Kering Herba Meniran (Phyllanthus Niruri L.). Jurnal Farmasi Higea.* 5 (1): 23-26.
- Kumar, S. and Pandey, A. 2013. *Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. The Scientific World Journal,* 2013.
- Kurniawati, N. (2010). *Sehat dan Cantik Alami Berkat Khasiat Bumbu Dapur.* Bandung: Penerbit Qanita. Halaman 17.
- Lee MS, Kerns EH. 1999. *LC/MS application in drug development.* *Mass Spectrometry Reviews* 18: 187-279.

- Markham KR. 1988. *Techniques of Flavonoid Identification*. London: Academic Pr.
- Mahipal. 2018. *Kebijakan Pengelolaan Keanekaragaman Hayati*. Jurnal Cendekia Ihya Vol.1 No.1, Oktober 2018, ISSN 2623-0453 (media-CD), halaman 22-32.
- Margaretha M., dkk. 2018. *Analisis Komponen Kimia Pada Berbagai Tingkat Perkembangan Daun Benalu Langsung (Dendrophthoe Pentandra (L.) Miq.) Menggunakan Metode Kromatografi Gas*. Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT Vol. 7 No. 4 NOVEMBER 2018 ISSN 2302 – 2493
- Nurdayanti, S.M. 2017. *Penetapan Kadar Flavonoid Dari Ekstrak Etanol 70% Daun Iler (Plectranthus scutellariorides (L.) R.BR.) Dengan Berbagai Metode Ekstraksi. [Skripsi]*. Program Studi Farmasi. FMIPA. Universitas Pakuan.
- Park, S. J., Myoung, H., Kim, Y. Y., Paeng, J. Y., Park, J. W., Kim, M. J., & Hong, S. M. (2008). *Anticancer effects of genistein, green tea catechins, and cordycepin on oral squamous cell carcinoma*. *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 34(1), 1-10.
- Permatasari, V., Nurhasnawati, H., Sa'adah, H. 2017. *Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (Eleuutherine palmifolia (L.) Merr) Dengan Metode Spektrofotometri*. Jurnal Borneo Journal of Pharmascientech, 1 (1): 1-9.
- Purwanti, Nera, Umilia dkk. 2018. *Pengaruh Cara Pengeringan Simplisia Daun Pandan (Pandanus amaryllifolius) Terhadap Aktivitas Penangkal Radikal Bebas Dpph (2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL)*. Borneo: Universitas Tanjung.
- Pietta, P. 2000. *Flavonoids as antioxidants*. J. Nat. Prod, 63, p.1035–1042.
- Quyên, N. T. C., Quyên, N. T. N., Nhan, L. T. H., & Toan, T. Q. 2020. *Antioxidant activity, total phenolics and flavonoids contents of Pandanus amaryllifolius (Roxb.)*. In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering (Vol. 991, No. 1, p. 012019). IOP Publishing.
- Richardson, A. D., Dugan, S. P., Berlyn, G. P. 2002. *An Evaluation of Noninvasive Methods to Estimate Foliar Chlorophyll Content*. USA. Jurnal Phytologist 153 (1) : 185-194

- Riwanti, P., Izazih, F., & Amaliyah, A. (2020). *Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50, 70 dan 96% Sargassum polycystum dari Madura*. Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika (J-PhAM), 2(2), 82-95.
- Rohmawati E. 1995. *Skrining Kandungan Kimia Daun Pandan serta Isolasi dan Identifikasi Alkaloidnya*. Dalam Rina M. dan Endang P.A. 2012. *Potensi Daun Pandan (Pandanus amaryllifolius) dan Mangkokan (Notophanax scutellarium) Sebagai Repelen Nyamuk Aedes Albopictus*. ASPIRATOR 4(2), 2012:85-91
- Sri, Vicka Rizki. 2019. *Penetapan Kadar Fenol Dan Flavonoid Fraksi Etil Asetat Dan Fraksi Air Ekstrak Etanol 96% Daun Teh Hijau (Camellia sinensis (L.) Kuntze) Dengan Spektrofotometri Uv-Vis*. Bogor: Universitas Pakuan.
- Sutedjo. (1989). *Fotosintesis Tumbuhan*. Bandung: Rineka Cipta.
- Theodoridis G, Helen GG, Wilson ID. 2008. *LC-MS-based methodology for global metabolite profiling in metabonomics/metabolomics*. Trends in Anal Chem 27: 251-260.
- Tjitrosoepomo, G. 2002. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. UGM Press, Yogyakarta. Halaman 54-55.
- Upadhyay, A. K., Chacko, A. R., Gandhimathi, A., Ghosh, P., Harini, K., Joseph, A. P., ... & Sowdhamini, R. (2015). *Genome sequencing of herb Tulsi (Ocimum tenuiflorum) unravels key genes behind its strong medicinal properties*. BMC plant biology, 15(1), 1-20.
- Venkatachalam, U., & Muthukrishnan, S. (2012). *Free radical scavenging activity of ethanolic extract of Desmodium gangeticum*. Journal of Acute medicine, 2(2), 36-42.
- Voigt, R. 1994. *Buku Pengantar Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Soedini, N. Edisi V. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press.
- Wayan, S. 2004. *Pemanfaatan Obat Penurun Panas oleh Masyarakat Angkah, Tabanan Bali*. Dalam Prosiding Seminar Nasional XXV Tumbuhan Obat Indonesia. Pokjanas: Tawangmangu.
- Winarno, F.G dan Kristiono L. 2016. *Green Tea and White Tea*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.

- Winarti, W., Djamil, R., Yuniasari, I. 2007. *Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Fraksi n-Butanol Taraxacume officinale*, Astrea. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 5 (2): 59-66.
- Wiraguma, I.G.N.P., Wartini, N.M., dan Yoga, G.S. 2015. *Pengaruh metode dan lama curing terhadap karakteristik daun pandan wangi (Pandanus amaryllifolius Roxb.)*, Jurnal Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayama.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Bagan Penelitian

Lampiran 2. Surat Hasil Determinasi



ORGANISASI RISET ILMU PENGETAHUAN HAYATI Kantor Pusat Riset Biologi

Jl. Raya Jakarta-Bogor Km. 46, Cibinong, Kabupaten Bogor, Jawa Barat 16911
Telepon/wa: 08118610183 | email: organisasirisetiph@brin.go.id
<https://www.brin.go.id>

Cibinong, 11 Oktober 2021

Nomor : B-206/V/DI.05.07/10/2021
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). **Wasky Herdiansyah**
NPM : 066115223
Universitas Pakuan
Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Riset Biologi-BRIN Cibinong, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1.	Daun Pandan wangi	<i>Pandanus amaryllifolius</i> Roxb. ex. Lindl	Pandanaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Kantor Pusat Riset Biologi-BRIN

 Anang Setiawan Achmadi, S.KH., M.Sc.
 NIP. 197810262005021003

Lampiran 3. Perhitungan Rendemen

$$\%Rendemen = \frac{\text{Bobot Hasil}}{\text{Bobot Awal}} \times 100\%$$

Serbuk simplisia

Bobot daun (g)	Bobot serbuk (g)	Rendemen (%)
2000	324	16,2

Diketahui:

Bobot hasil= Bobot serbuk (g)

Bobot awal= Bobot daun (g)

Perhitungan

$$\%Rendemen = \frac{324g}{2000g} \times 100\% = 16,2\%$$

Ekstrak

Sampel	Bobot simplisia (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen ekstrak (%)	Rata-rata rendemen (%)	Standar Deviasi (SD)	Ekstrak ± SD
1	100	8,4256	8,4256	8,3956	0,2449	8,3956
2	100	8,6243	8,6243			± SD
3	100	8,1371	8,1371			0,2449

Perhitungan

$$\%Rendemen 1 = \frac{8,4256g}{100g} \times 100\% = 8,4256\%$$

$$\%Rendemen 2 = \frac{8,6243g}{100g} \times 100\% = 8,46243\%$$

$$\%Rendemen 3 = \frac{8,1371g}{100g} \times 100\% = 8,1371\%$$

$$\%Rata - rata = \frac{8,4256 + 8,46243 + 8,1371}{3} = \frac{25,187}{3} = 8,3956\%$$

Lampiran 4. Perhitungan Kadar Air Dan Kadar Abu

$$\%Kadar\ air/abu = \frac{W1 - W2}{W3} \times 100\%$$

Diketahui:

W1=bobot kurs+sampel sebelum pemanasan

W2=bobot kurs+sampel sesudah pemanasan

W3=bobot sampel

KADAR AIR

Sampel	Peng- ulangan	Sampel W3 (g)	Kurs (g)	Sampel + Kurs W1 (g)	Hasil pemanasan		Selisih (%)	Kadar Air (%)	Rata-rata Kadar air (%)	SD	Kadar Air ±SD (%)
					6 Jam W2 (g)	(+) 1 Jam					
Serbuk	1	2,0514	35,5037	37,5551	37,6449	37,4049	0,0024	7,3218	6,7654	0,7867	6,7654 ±SD 0,7867
	2	2,0341	33,9778	36,0119	36,1156	35,8856	0,0023	6,2091			
Ekstrak	1	2,0173	37,2459	39,2632	39,2918	39,0918	0,0019	8,4965	8,1761	0,3042	8,1761 ±SD 0,3042
	2	2,0035	34,9049	36,9084	36,9603	36,7503	0,0021	7,8911			
	3	2,0072	33,6886	35,6958	35,7224	35,5324	0,0021	8,1406			

Kadar Air Serbuk Simplisia

$$\%Kadar\ air = \frac{37,5551 - 37,4049}{2,0514} \times 100\% = 7,3218\%$$

$$\%Kadar\ air = \frac{36,0119 - 35,8856}{2,0341} \times 100\% = 6,2091\%$$

$$\%Rata - rata = \frac{7,3218 + 6,2091}{2} = 6,7654\%$$

Kadar Air Ekstrak

$$\%Kadar\ air = \frac{39,2632 - 39,0918}{2,0173} \times 100\% = 8,7699\%$$

$$\%Kadar\ air = \frac{36,9084 - 36,7503}{2,0035} \times 100\% = 7,8911\%$$

$$\%Kadar\ air = \frac{35,6958 - 35,5324}{2,0072} \times 100\% = 8,1406\%$$

$$\%Rata - rata = \frac{8,7699 + 7,8911 + 8,1406}{3} = 8,176\%$$

KADAR ABU

Sampel	Peng-ulangan	Sampel W3 (g)	Kurs (g)	Sampel + kurs W1 (g)	Pemanasan tanur 7 Jam W2 (g)	Kadar Abu (%)	Rata-rata Kadar abu (%)	SD	Kadar abu ± SD (%)
Serbuk	1	2,0573	34,5037	36,561	36,4853	3,6795	4,1724	0,6971	4,1724 ± SD 0,6971
	2	2,0641	33,9778	36,0419	35,9456	4,6654			
Ekstrak	1	2,0596	36,4281	38,4877	38,3874	4,8698	4,5008	0,4145	4,5008 ± SD 0,4145
	2	2,0235	31,1623	33,1858	33,1038	4,0523			
	3	2,0369	37,2459	39,2828	39,1895	4,5804			

Kadar Abu Serbuk Simplisia

$$\%Kadar\ abu = \frac{36,561 - 36,4853}{2,0573} \times 100\% = 3,6795\%$$

$$\%Kadar\ abu = \frac{36,0419 - 35,9456}{2,0641} \times 100\% = 4,6654\%$$

$$\%Rata - rata = \frac{3,6795 + 4,6654}{2} = 4,1725\%$$

Kadar Abu Ekstrak

$$\%Kadar\ abu = \frac{38,4877 - 38,3874}{2,0596} \times 100\% = 4,8698\%$$

$$\%Kadar\ abu = \frac{33,1858 - 33,1038}{2,0235} \times 100\% = 4,0523\%$$

$$\%Kadar\ abu = \frac{39,2828 - 39,1895}{2,0369} \times 100\% = 4,5804\%$$

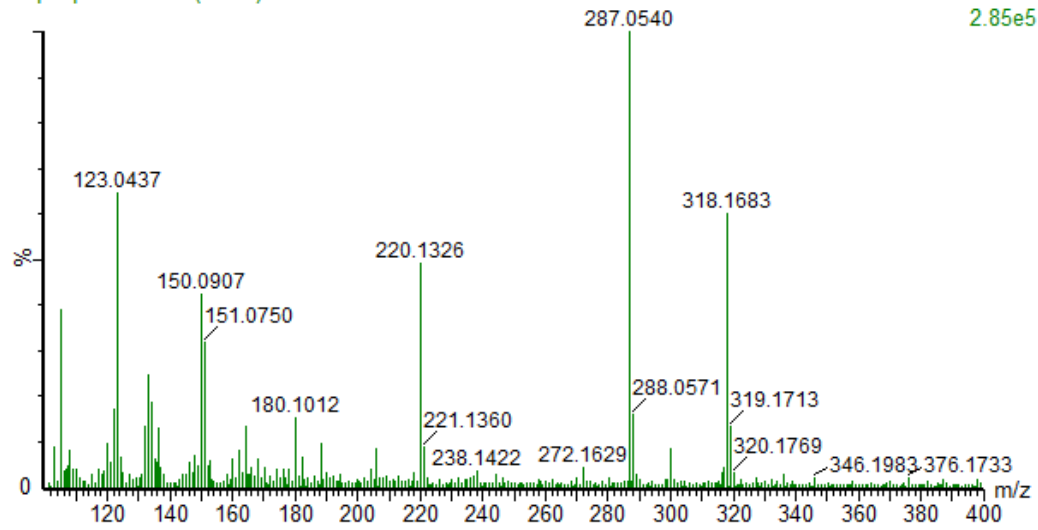
$$\%Rata - rata = \frac{4,8698 + 4,0523 + 4,5804}{3} = 4,5008\%$$

Lampiran 5. Identifikasi LC-MS/MS (*Masslynx*)

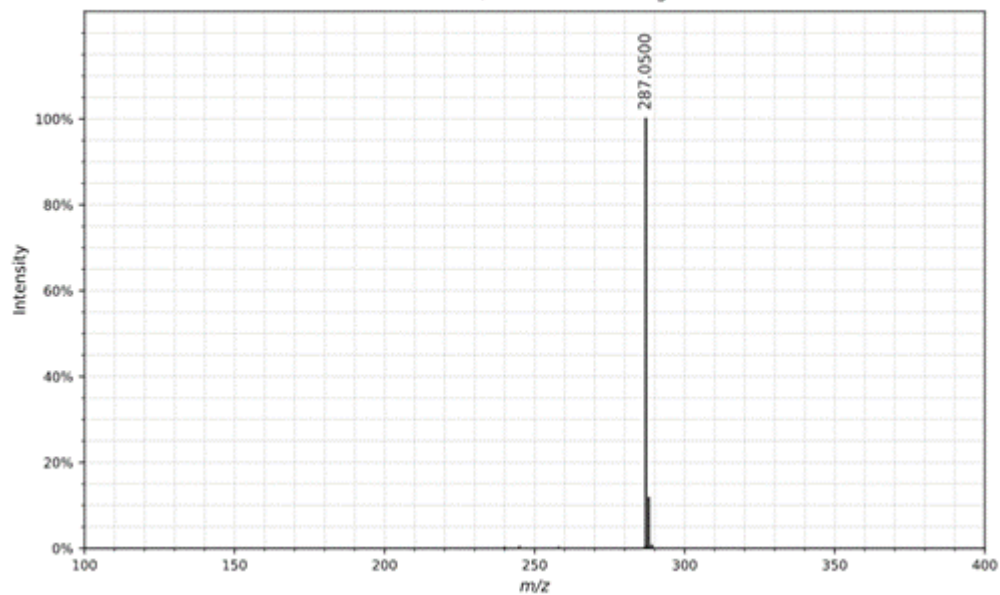
Pernyataan Kaempferol Sebagai Flavonoid

S1 Farmasi Univ. Pakuan
sampel pandan 229 (5.046)

2: TOF MS ES+
2.85e5



mzspec:MASSBANK::accession:PB005702
Precursor m/z: 287.0550 Charge: 0



<https://metabolomics->

[usi.ucsd.edu/spectrum/?usi=mzspec:MASSBANK::accession:PB005702](https://metabolomics-usi.ucsd.edu/spectrum/?usi=mzspec:MASSBANK::accession:PB005702)

<https://massbank.eu/MassBank/RecordDisplay?id=PB005702>

Accession ID	PB005702
Authors	Heinz T, Institute of Plant Biochemistry, Halle, Germany
Instrument	micrOTOF-Q
Instrument Type	LC-ESI-QTOF
MS Level	MS2
Ionization Mode	POSITIVE
Ionization	ESI
Collision Energy	10 eV
Precursor Adduct	[M+H] ⁺
Top 5 Peaks	287.05 999 288.053 116 289.056 5 244.932 1 239.992 0
SPLASH	splash10-000i-0090000000-f944cca39630d68ec835

Source : MassBank Europe

Record Name : Kaempferol

URL : <https://massbank.eu/MassBank/Result.jsp?inchikey=IYRMWMYZSQPJKC-UHFFFAOYSA-N>

Description : MassBank Europe (MassBank.EU) was created in 2011 as an open access database of mass spectra of emerging substances to support identification of unknown substances within the NORMAN Network (<https://www.norman-network.com/>). MassBank.EU is the partner project of MassBank.JP, hosted at the Helmholtz Centre for Environmental Research (UFZ) Leipzig and jointly maintained by UFZ, LCSB (University of Luxembourg) and IPB Halle.

License URL : <https://github.com/MassBank/MassBank-web/blob/master/LICENSE>

Lampiran 6. Penentuan Kuersetin

Panjang Gelombang Maksimum →

Panjang Gelombang	Absorbansi
427,5	0,5321
428,5	0,5358
429,5	0,5378
430,5	0,5389
431,5	0,5404
432,5	0,5419
433,5	0,5414
434,5	0,5412
435,5	0,5397
436,5	0,5387
437,5	0,5359

Waktu Inkubasi Optimum →

Waktu Menit	Absorbansi
5	0,5406
10	0,5407
15	0,5418
20	0,5426
25	0,5426
30	0,5426

Kurva Kalibrasi Optimum →

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Rata-rata Absorbansi
2	0,2437	0,2429
	0,242	
	0,243	
4	0,3627	0,3619
	0,3619	
	0,3612	
6	0,4916	0,4916
	0,4917	
	0,4915	
8	0,6227	0,6224
	0,6219	
	0,6228	
10	0,7516	0,752
	0,7523	
	0,7522	

Lampiran 7. Penetapan Kadar Flavonoid

Pengulangan	Bobot Sampel (g)	Pengulangan	Absorbansi	nilai x ppm ($\mu\text{g/mL}$)	konversi x ppm (mg/mL)	Kadar Flavonoid (mgQE/g)	Rata-rata Flavonoid (mgQE/g)	Rata-rata Flavonoid (mgQE/g)	SD	Flavonoid \pm SD (mgQE/g)
1	0,0124	1	0,2292	1,8568	0,001857	14,9741	14,9655	14,2697	0,6085	14,2697 \pm SD 0,6085
		2	0,2294	1,8599	0,00186	14,9991				
		3	0,2288	1,8505	0,001851	14,9233				
2	0,0119	1	0,2156	1,6439	0,001644	13,8142	13,8363	14,2697	0,6085	14,2697 \pm SD 0,6085
		2	0,216	1,6502	0,00165	13,8672				
		3	0,2157	1,6455	0,001646	13,8277				
3	0,0133	1	0,23	1,8693	0,001869	14,0548	14,0074	14,2697	0,6085	14,2697 \pm SD 0,6085
		2	0,2287	1,8489	0,001849	13,9015				
		3	0,2301	1,8708	0,001871	14,0661				

Diketahui:

$$y = bx + a \rightarrow bx = y - a \rightarrow x = \frac{y - a}{b} \rightarrow x = \frac{y - 0,1106}{0,0639}$$

Perhitungan konsentrasi sampel 1

$$\text{Pengulangan 1, } x = \frac{0,2292 - 0,1106}{0,0639} = 1,8568 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Pengulangan 2, } x = \frac{0,2294 - 0,1106}{0,0639} = 1,8599 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Pengulangan 3, } x = \frac{0,2288 - 0,1106}{0,0639} = 1,8505 \mu\text{g/mL}$$

Perhitungan konsentrasi sampel 2

$$\text{Pengulangan 1, } x = \frac{0,2156 - 0,1106}{0,0639} = 1,6439 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Pengulangan 2, } x = \frac{0,216 - 0,1106}{0,0639} = 1,6502 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Pengulangan 3, } x = \frac{0,2157 - 0,1106}{0,0639} = 1,6455 \mu\text{g/mL}$$

Perhitungan konsentrasi sampel 3

$$\text{Pengulangan 1, } x = \frac{0,23 - 0,1106}{0,0639} = 1,8693 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Pengulangan 2, } x = \frac{0,2287 - 0,1106}{0,0639} = 1,8489 \mu\text{g/mL}$$

$$\text{Pengulangan 3, } x = \frac{0,2301 - 0,1106}{0,0639} = 1,8708 \mu\text{g/mL}$$

Perhitungan Faktor Pengenceran

$$FP = \frac{\text{Larutan Induk}}{\text{Larutan yang dipipet dari larutan Induk}} = \frac{10 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} = 10$$

Perhitungan Kadar Flavonoid**Diketahui:**

$$\text{kadar Flavonoid(mgQE/g ekstrak)} = \frac{V(\text{mL}) \times X(\text{mg/ml}) \times FP}{\text{Bobot Sampel(g)}}$$

$$V = 10 \text{ mL}$$

$$X = \text{Hasil perhitungan absorpsi dan nilai regresi } x = \frac{y-a}{b}$$

$$FP = 10$$

$$\text{Bobot sampel} = \pm 0,01 \text{ gram}$$

Perhitungan sampel 1

$$\text{Pengulangan 1} = \frac{10 \times 0,00857 \times 10}{0,0124\text{g}} = 14,9741 \text{ mgQE/g sampel}$$

$$\text{Pengulangan 2} = \frac{10 \times 0,00186 \times 10}{0,0124\text{g}} = 14,9991 \text{ mgQE/g sampel}$$

$$\text{Pengulangan 3} = \frac{10 \times 0,001851 \times 10}{0,0124\text{g}} = 14,9233 \text{ mgQE/g sampel}$$

$$\% \text{Rata - rata} = \frac{14,9741 + 14,9991 + 14,9233}{3} = 14,9655 \text{ mgQE/g sampel}$$

Perhitungan sampel 2

$$\text{Pengulangan 1} = \frac{10 \times 0,001644 \times 10}{0,0119\text{g}} = 13,8142 \text{ mgQE/g sampel}$$

$$\text{Pengulangan 2} = \frac{10 \times 0,00165 \times 10}{0,0119\text{g}} = 13,8672 \text{ mgQE/g sampel}$$

$$\text{Pengulangan 3} = \frac{10 \times 0,001646 \times 10}{0,0119\text{g}} = 13,8277 \text{ mgQE/g sampel}$$

$$\% \text{Rata - rata} = \frac{13,8142 + 13,8672 + 13,8277}{3} = 13,8363 \text{ mgQE/g samepl}$$

Perhitungan sampel 3

$$\text{Pengulangan 1} = \frac{10 \times 0,001869 \times 10}{0,01339\text{g}} = 14,0548 \text{ mgQE/g sampel}$$

$$\text{Pengulangan 2} = \frac{10 \times 0,001849 \times 10}{0,01339\text{g}} = 13,9015 \text{ mgQE/g sampel}$$

$$\text{Pengulangan 3} = \frac{10 \times 0,001871 \times 10}{0,01339\text{g}} = 14,0661 \text{ mgQE/g sampel}$$

$$\% \text{Rata - rata} = \frac{14,0548 + 13,9015 + 14,0661}{3} = 14,0074 \text{ mgQE/g sampel}$$