

**ANALISIS KADAR FLAVONOID DAN TANIN PADA EKSTRAK  
TUNGGAL DAN KOMBINASI DARI BUAH CABE JAWA, DAUN  
MANGGA DAN BUAH LEMON**

**SKRIPSI**

**Oleh:**  
**JIHAN MAHARANI**  
**066120186**



**PROGRAM STUDI FARMASI**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**UNIVERSITAS PAKUAN**  
**BOGOR**  
**2024**

**ANALISIS KADAR FLAVONOID DAN TANIN PADA EKSTRAK  
TUNGGAL DAN KOMBINASI DARI BUAH CABE JAWA, DAUN  
MANGGA DAN BUAH LEMON**

**SKRIPSI**

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

**Oleh:**

**JIHAN MAHARANI**

**066120186**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS PAKUAN  
BOGOR  
2024**

## HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Analisis Kadar Flavonoid dan Tanin Pada Ekstrak Tunggal dan Kombinasi Dari Buah Cabe Jawa, Daun Mangga dan Buah Lemon

Nama : Jihan Maharani

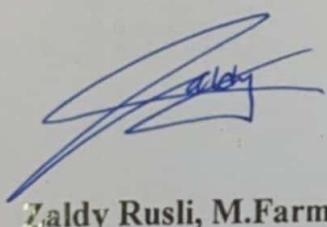
NPM : 066120186

Program Studi : Farmasi

Skripsi ini telah disetujui dan disahkan

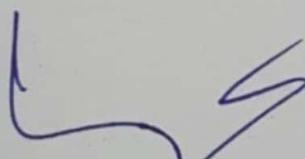
Bogor, Agustus 2024

Pembimbing Pendamping



Zaldy Rusli, M.Farm.

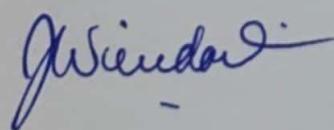
Pembimbing Utama



Dr. apt. Lusi Agus Setiani, M.Farm.

Mengetahui

Ketua Program Studi Farmasi



apt. Dra. Ike Yulia W., 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 diperguruan 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 2024



Jihan Maharani

**SURAT PELIMPAHAN SKRIPSI**  
**PERNYATAAN MENGENAI TUGAS AKHIR DAN SUMBER INFORMASI**  
**SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Nama : Jihan Maharani

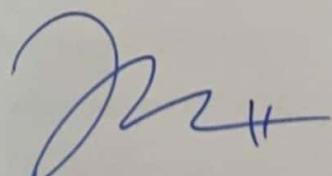
NPM : 066120186

Judul Skripsi : Analisis Kadar Flavonoid dan Tanin Pada Ekstrak Tunggal  
dan Kombinasi dari Buah Cabe Jawa, Daun Mangga dan  
Buah Lemon

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

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

Bogor, Agustus 2024



Jihan Maharani

## **HALAMAN PERSEMBAHAN**

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh, Alhamdulillah segala puji bagi Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, juga shalawat serta salam selalu tercurah kepada Nabi Muhammad SAW, berkat rahmat, ridho dan hidayah-Nya skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Skripsi ini penulis persembahkan kepada:

1. Papa dan mama tercinta, kepada kedua orang tersayang yang memberikan cinta serta sayangnya kepada anak sulungnya dari tiga bersaudara. Terima kasih kepada cinta pertama saya, yaitu Bapak Sarno yang selalu memberikan motivasi dan selalu meyakinkan putri sulungnya untuk melanjutkan pendidikan farmasi serta membentuk putrinya menjadi pribadi yang tangguh. Terima kasih kepada wanita tercinta saya, Ibu Retno Tursilowati yang selalu memberikan perhatian, kasih sayang yang sangat tulus kepada putri sulungnya. Papa dan mama adalah manusia yang sangat berarti dalam hidup saya, yang telah melakukan segala pengorbanan apapun untuk kebahagiaan saya.
2. Adik-adikku tersayang, kepada dua wanita yang selalu menghibur saat dirumah. Terima kasih kepada Redina Rahmadianti adikku yang paling sabar, lembut, perhatian, dan suka ngambek. Terima kasih kepada Naswa Ramadhani adikku yang paling lucu, perhatian, sabar dan jahil. Kakak sangat bersyukur memiliki saudara seperti kalian yang bisa membuat suasana ramai saat dirumah. Terima kasih atas kasih dan cinta kalian kepada kakak, semoga Allah SWT selalu mengabulkan doa dan harapan kalian untuk membanggakan papa dan mama.
3. Pembimbing terbaikku, kepada ibu Dr. apt. Lusi Agus Setiani, M.Farm. dan bapak Zaldy Rusli, M.Farm. Terima kasih atas bimbingan dan ilmu yang telah diberikan Ibu dan Bapak dalam menyelesaikan skripsi ini. Terima kasih sudah meluangkan waktu disela kesibukan ibu dan bapak. Semoga ibu dan bapak selalu dalam lindungan Allah SWT serta senantiasa sehat selalu.
4. Teman seperjuanganku, kepada Hikma Fadhila yang selalu menemani saya dalam setiap proses penyusunan skripsi ini dalam suka maupun duka. Terima

kasih sudah sabar, memberikan motivasi dan selalu membagi ilmu-ilmu dalam perkuliahan dan penelitian. Terima kasih atas hal- hal baik yang telah diberikan kepada saya dari semester satu hingga semester delapan. Semoga Allah melancarkan dan mempermudah segala proses kita, dalam melanjutkan profesi Apoteker dan dunia pekerjaan.

5. Teman-temanku tersayang, kepada Juniar, Alfia, Sofiyanti, Pramudita, Fadhilah, Shelly, Mutiara, Salma, Naziah, Dinda, Fatin, Emi, Caca, Riska, Rere, Santa dan teman-teman kelas F lainnya. Terimakasih telah memberikan dukungan, solusi, candaan dan bantuan tulus dari kalian dari keluh kesah saya. Terima kasih kepada Muhammad Rafiyudha Koesno, yang selalu sabar menemani dan selalu membantu dengan tulus dalam proses penyusunan skripsi ini. Terima kasih kepada Dyne yang selama ini telah memberikan dukungan dalam proses penyusunan skripsi ini. Terimakasih atas segala hal baik, rasa gembira, suka maupun duka yang selalu kalian bagi dan hadapi. Semoga Allah SWT selalu memberikan kalian kebahagiaan dan kesuksesan.
6. Diriku sendiri, kepada Jihan Maharani orang yang selalu kuat. Terima kasih jihan selalu memberikan ruang untuk beristirahat ketika sedang lelah. Terima kasih telah sabar dan selalu belajar menjadi pribadi yang lebih baik. Jangan pernah merasa gagal dan takut Allah selalu membersamaimu.

## RIWAYAT HIDUP



**JIHAN MAHARANI** Lahir di Jakarta, 03 Juni 2002. Penulis adalah putri pertama dari tiga bersaudara yang terlahir dari pasangan Bapak Sarno dan Ibu Retno Tursilowati. Penulis memulai pendidikan formalnya di Sekolah Dasar Negeri Bojonggede 01, Kabupaten Bogor dan lulus pada tahun 2014, dilanjut dengan pendidikan tingkat menengah pertama di Sekolah Menengah Pertama Negeri Cibinong 02, Kabupaten Bogor dan lulus pada tahun 2017, kemudian dilanjut dengan pendidikan di Sekolah Menengah Kejuruan Kesehatan Logos, Kabupaten Bogor dan lulus pada tahun 2020. Semenjak tahun 2020 penulis terdaftar sebagai mahasiswi Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan, Kabupaten Bogor. Selama perkuliahan, penulis aktif mengikuti organisasi dan kepanitiaan program kerja sebagai sekretaris di Himpunan Mahasiswa Farmasi (HIMAFAR) 2022-2023 dan pernah menjadi asisten dosen mata kuliah Farmasi Fisika. Pada bulan Mei 2024 penulis telah menyelesaikan penelitian di bidang Kimia dengan judul “Analisis Kadar Flavonoid dan Tanin Pada Ekstrak Tunggal dan Kombinasi dari Buah Cabe Jawa, Daun Mangga dan Buah Lemon”.

## KATA PENGANTAR

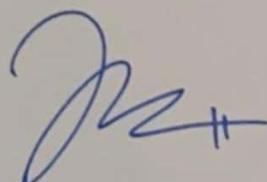
Segala puji serta syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul **“Analisis Kadar Flavonoid dan Tanin Pada Ekstrak Tunggal Dan Kombinasi Dari Buah Cabe Jawa, Daun Mangga Dan Buah Lemon”**. Penyusunan skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi di Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan, Bogor.

Penulis menyadari bahwa dalam proses penulisan dan penyusunan skripsi ini, penulis memperoleh bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak, maka penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. apt. Lusi Agus Setiani, M.Farm. selaku Pembimbing Utama dan Zaldy Rusli M.Farm. selaku Pembimbing Pendamping.
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan Ketua Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan.
3. Seluruh staf dosen dan karyawan di lingkungan Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan.
4. Kedua orang tua, keluarga, dan teman-teman tercinta.

Penulis menyadari skripsi ini masih terdapat kekurangan, untuk itu penulis menerima kritik dan saran untuk perbaikan di masa datang, serta penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak khususnya dalam bidang kimia farmasi.

Bogor, Agustus 2024



Penulis

## RINGKASAN

JIHAN MAHARANI. 066120186. 2024. ANALISIS KADAR FLAVONOID DAN TANIN PADA EKSTRAK TUNGGAL DAN KOMBINASI DARI BUAH CABE JAWA, DAUN MANGGA DAN BUAH LEMON. Dibawah Bimbingan: Lusi Agus Setiani dan Zaldy Rusli

---

---

Buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl), daun mangga arumanis (*Mangifera indica* L.), dan sari buah lemon (*Citrus limon* L.) memiliki banyak kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, alkaloid, steroid, triterpenoid dan tanin. Terutama senyawa flavonoid dan tanin, tidak banyak diketahui oleh banyak orang senyawa flavonoid dan tanin dalam tumbuhan dapat menurunkan tekanan darah (antihipertensi).

Flavonoid memiliki afinitas terhadap protein target yaitu *angiotensin-converting enzyme* (ACE), sedangkan tanin menghambat stress oksidatif serta mengurangi tekanan arteri pumonalis. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kadar flavonoid dan tanin pada ekstrak buah cabe jawa, daun mangga arumanis, sari buah lemon serta kombinasi dari ketiga tanaman. Analisis kadar flavonoid dengan metode Chang dan kadar tanin dengan modifikasi dari metode Amorim menggunakan spektrofotometer UV-Visible.

Hasil analisis kadar flavonoid pada ekstrak buah cabe jawa, ekstrak daun mangga arumanis, serbuk sari buah lemon dan kombinasi ketiga ekstrak diperoleh secara berturut-turut adalah  $44,38 \pm 0,5020$  mg QE/g;  $130,04 \pm 0,6772$  mg QE/g;  $38,43 \pm 0,1671$  mg QE/g dan  $148,51 \pm 0,2616$  mg QE/g. Hasil analisis kadar tanin pada ekstrak buah cabe jawa, ekstrak daun mangga arumanis, serbuk sari buah lemon dan kombinasi ekstrak diperoleh secara berturut-turut adalah  $1,36 \pm 0,0321$  mg GAE/g;  $2,25 \pm 0,0274$  mg GAE/g;  $0,87 \pm 0,0043$  mg GAE/g dan  $2,61 \pm 0,0182$  mg GAE/g. Pada kadar flavonoid dan kadar tanin ekstrak buah cabe jawa, ekstrak daun mangga arumanis, serbuk sari perasan lemon dan kombinasi ketiga ekstrak terdapat perbedaan signifikan.

**Kata Kunci:** Cabe Jawa, Mangga Arumanis, Lemon, Flavonoid, Tanin, Spektrofotometri UV-VIS

## SUMMARY

JIHAN MAHARANI. 066120186. **2024. ANALYSIS OF FLAVONOID AND TANIN CONTENTS IN SINGLE AND COMBINATION EXTRACTS FROM *Piper retrofractum* Vahl, *Mangifera indica* L., AND *Citrus limon* L.** Supported by: Lusi Agus Setiani and Zaldy Rusli

---

---

*Piper retrofractum* Vahl, *Mangifera indica* L., and *Citrus limon* L. contain many secondary metabolites such as flavonoids, saponins, alkaloids, steroids, triterpenoids and tannins. Especially flavonoid and tannin compounds, not many people know that flavonoid and tannin compounds in plants can lower blood pressure (antihypertension).

Flavonoids have an affinity for the target protein, namely angiotensin-converting enzyme (ACE), while tannins inhibit oxidative stress and reduce pulmonary artery pressure. This research aims to analyze the levels of flavonoids and tannins in Javanese chili fruit extract, arumanis mango leaves, lemon juice and a combination of the three plants. Analysis of flavonoid levels using the Chang method and tannin levels with a modification of the Amorim method using a UV-Visible spectrophotometer.

The results of analysis of flavonoid levels in *Piper retrofractum* Vahl, *Mangifera indica* L., *Citrus limon* L. and a combination of the three extracts obtained respectively  $44.38 \pm 0.5020$  mg QE/g;  $130.04 \pm 0.6772$  mg QE/g;  $38.43 \pm 0.1671$  mg QE/g and  $148.51 \pm 0.2616$  mg QE/g. The results of analysis of tannin levels in *Piper retrofractum* Vahl, *Mangifera indica* L., *Citrus limon* L. and a combination of extracts were obtained respectively at  $1.36 \pm 0.0321$  mg GAE/g;  $2.25 \pm 0.0274$  mg GAE/g;  $0.87 \pm 0.0043$  mg GAE/g and  $2.61 \pm 0.0182$  mg GAE/g. There were significant differences in the flavonoid and tannin levels of *Piper retrofractum* Vahl, *Mangifera indica* L., *Citrus limon* L. and the combination of the three extracts.

**Keywords:** *Piper retrofractum* Vahl, *Mangifera indica* L., *Citrus limon* L., Flavonoids, Tannins, UV-VIS Spectrophotometry

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>i</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS .....</b>	<b>ii</b>
<b>SURAT PELIMPAHAN SKRIPSI.....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>RIWAYAT HIDUP .....</b>	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>vii</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>viii</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR RUMUS.....</b>	<b>xviii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan .....	2
1.3 Hipotesis .....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
2.1 Cabe Jawa ( <i>Piper retrofractum</i> Vahl) .....	4
2.1.1 Deskripsi .....	4
2.1.2 Kandungan dan Khasiat .....	4
2.2 Mangga Arumanis ( <i>Mangifera indica</i> L.).....	5
2.2.1 Deskripsi .....	5
2.2.2 Kandungan dan Khasiat .....	5
2.3 Lemon ( <i>Citrus limon</i> L.).....	6
2.3.1 Deskripsi .....	6
2.3.2 Kandungan dan Khasiat .....	6
2.4 Flavonoid .....	7
2.5 Tanin .....	8

2.6 Ekstraksi .....	9
2.7 Metode <i>Freeze Dry</i> .....	9
2.8 Spektrofotometri UV-Vis.....	9
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>11</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	11
3.2 Alat dan Bahan .....	11
3.2.1 Alat.....	11
3.2.2 Bahan.....	11
3.3 Metode Penelitian .....	11
3.3.1 Pengumpulan Bahan Baku .....	11
3.3.2 Determinasi Tanaman.....	12
3.3.3 Pembuatan Serbuk Buah Cabe Jawa dan Daun Mangga .....	12
3.3.3.1 Pembuatan Simplisia .....	12
3.3.3.2 Pembuatan Ekstrak .....	12
3.3.4 Pembuatan Serbuk Kering Sari Buah Lemon .....	13
3.4 Skrining Fitokimia.....	13
3.4.1 Uji Flavonoid .....	13
3.4.2 Uji Tanin Terkondensasi.....	13
3.4.3 Uji Tanin Terhidrolisis.....	13
3.5 Pengujian Mutu Simplisia dan Ekstrak .....	14
3.5.1 Uji Organoleptik.....	14
3.5.2 Uji Kadar Air.....	14
3.5.3 Uji Kadar Abu .....	14
3.6 Penetapan Kadar Flavonoid.....	15
3.6.1 Pembuatan Larutan.....	15
3.6.1.1 Pembuatan Larutan Standar Induk Kuersetin.....	15
3.6.1.2 Pembuatan Larutan Na Asetat 1 M .....	15
3.6.1.3 Pembuatan Larutan AlCl <sub>3</sub> 10 % .....	15
3.6.1.4 Pembuatan Larutan Blanko .....	15
3.6.1.5 Pembuatan Larutan Induk Sampel Tunggal .....	15
3.6.1.6 Pembuatan Larutan Induk Sampel Kombinasi.....	16
3.6.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum .....	16

3.6.3 Penentuan Waktu Inkubasi Optimum.....	16
3.6.4 Pembuatan Kurva Kalibrasi .....	16
3.6.5 Pengukuran Kadar Flavonoid.....	17
3.7 Penetapan Kadar Tanin .....	17
3.7.1 Pembuatan Larutan.....	17
3.7.1.1 Pembuatan Larutan Jenuh Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 7,5% .....	17
3.7.1.2 Pembuatan Larutan Follin Ciocalteu 1:10.....	18
3.7.1.3 Pembuatan Larutan Gelatin 1%.....	18
3.7.1.4 Pembuatan Larutan Blanko .....	18
3.7.1.5 Pembuatan Larutan Standar Induk Asam Galat .....	18
3.7.1.6 Pembuatan Larutan Sampel Tunggal.....	18
3.7.1.7 Pembuatan Larutan Sampel Kombinasi .....	18
3.7.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum .....	19
3.7.3 Penentuan Waktu Inkubasi Optimum.....	19
3.7.4 Pembuatan Kurva Deret Standar Asam Galat .....	19
3.7.5 Perhitungan Kadar Tanin.....	19
3.7.5.1 Prinsip Analisis .....	19
3.7.5.2 Analisis Polifenol .....	21
3.7.5.3 Analisis Polifenol Non Tanin .....	22
3.7.5.4 Analisis Larutan Kontrol Uji Gelatin .....	23
3.8 Analisis Data .....	23
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>24</b>
4.1 Determinasi Tanaman .....	24
4.2 Pembuatan Simplisia dan Ekstrak .....	24
4.2.1 Uji Organoleptik Simplisia .....	26
4.2.2 Uji Organoleptik Ekstrak .....	26
4.3 Uji Fitokimia Ekstrak .....	27
4.4 Uji Kadar Air Simplisia dan Ekstrak .....	28
4.5 Uji Kadar Abu Simplisia dan Ekstrak .....	29
4.6 Penetapan Kadar Flavonoid.....	30
4.6.1 Panjang Gelombang Maksimum .....	30
4.6.2 Waktu inkubasi Optimum .....	30

4.6.3 Kurva Kalibrasi Kuersetin.....	31
4.6.4 Hasil Kadar Flavonoid .....	32
4.6.5 Hasil Analisis Data .....	34
4.7 Penetapan Kadar Tanin .....	34
4.7.1 Panjang Gelombang maksimum .....	34
4.7.2 Waktu Inkubasi Optimum .....	35
4.7.3 Kurva Kalibrasi Asam Galat .....	36
4.7.4 Hasil Kadar Tanin.....	37
4.7.5 Hasil Analisis Data .....	39
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>41</b>
5.1 Kesimpulan.....	41
5.2 Saran. ....	41
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>42</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>51</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
<b>Gambar 1.</b> Buah Cabe Jawa.....	4
<b>Gambar 2.</b> Daun Mangga Arumanis .....	5
<b>Gambar 3.</b> Buah Lemon.....	6
<b>Gambar 4.</b> Struktur Flavonoid.....	7
<b>Gambar 5.</b> Struktur Tanin .....	8
<b>Gambar 6.</b> Serbuk Simplisia .....	26
<b>Gambar 7.</b> Ekstrak Kering.....	27
<b>Gambar 8.</b> Grafik Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin.....	30
<b>Gambar 9.</b> Grafik Waktu Inkubasi Optimum Kuersetin .....	31
<b>Gambar 10.</b> Grafik Kurva Kalibrasi Kuersetin.....	32
<b>Gambar 11.</b> Grafik Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat.....	35
<b>Gambar 12.</b> Grafik Waktu Inkubasi Optimum Asam Galat.....	36
<b>Gambar 13.</b> Grafik Kurva Kalibrasi Asam Galat .....	37

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
<b>Tabel 1.</b> Hasil Uji Fitokimia Ekstrak .....	28
<b>Tabel 2.</b> Hasil Kadar Flavonoid.....	33
<b>Tabel 3.</b> Hasil Kadar Tanin .....	39

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
<b>Lampiran 1.</b> Alur Penelitian .....	51
<b>Lampiran 2.</b> Surat Determinasi Cabe Jawa .....	52
<b>Lampiran 3.</b> Surat Determinasi Daun Mangga Arumanis .....	53
<b>Lampiran 4.</b> Surat Determinasi Lemon .....	54
<b>Lampiran 5.</b> Hasil Rendemen Serbuk Simplicia dan Ekstrak Kering .....	55
<b>Lampiran 6.</b> Hasil Kadar Air Simplicia dan Ekstrak .....	56
<b>Lampiran 7.</b> Hasil Kadar Abu Simplicia dan Ekstrak .....	59
<b>Lampiran 8.</b> Perhitungan Preparasi $\text{AlCl}_3$ 10% .....	62
<b>Lampiran 9.</b> Perhitungan Natrium Asetat.....	62
<b>Lampiran 10.</b> Perhitungan Larutan Standar Induk Kuersetin 1000 ppm .....	62
<b>Lampiran 11.</b> Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin .....	63
<b>Lampiran 12.</b> Waktu Inkubasi Optimum Kuersetin .....	64
<b>Lampiran 13.</b> Perhitungan Deret Standar Kuersetin .....	65
<b>Lampiran 14.</b> Kurva Kalibrasi Kuersetin .....	66
<b>Lampiran 15.</b> Perhitungan Kadar Flavonoid .....	67
<b>Lampiran 16.</b> Perhitungan Larutan $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 7,5% .....	68
<b>Lampiran 17.</b> Perhitungan Pengenceran Follin Ciocalteu 1:10.....	68
<b>Lampiran 18.</b> Perhitungan Gelatin 1% .....	68
<b>Lampiran 19.</b> Perhitungan Pembuatan Larutan Standar Induk Asam Galat.....	68
<b>Lampiran 20.</b> Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat.....	69
<b>Lampiran 21.</b> Waktu Inkubasi Optimum Asam Galat .....	70
<b>Lampiran 22.</b> Perhitungan Deret Standar Asam Galat .....	71
<b>Lampiran 23.</b> Kurva Kalibrasi Asam Galat.....	72
<b>Lampiran 24.</b> Perhitungan Konsentrasi Polifenol Total .....	73
<b>Lampiran 25.</b> Perhitungan Konsentrasi Polifenol Non Tanin .....	74
<b>Lampiran 26.</b> Perhitungan Konsentrasi Larutan Uji Gelatin.....	75
<b>Lampiran 27.</b> Perhitungan Konsentrasi Tanin .....	76
<b>Lampiran 28.</b> Uji Fitokimia.....	77

<b>Lampiran 29.</b> Hasil Analisis SPSS .....	78
---	----

## DAFTAR RUMUS

Rumus	Halaman
<b>Rumus 1.</b> Rendemen Simplisia .....	12
<b>Rumus 2.</b> Rendemen Ekstrak .....	13
<b>Rumus 3.</b> Kadar Air .....	14
<b>Rumus 4.</b> Kadar Abu .....	14
<b>Rumus 5.</b> Konsentrasi Flavonoid .....	17
<b>Rumus 6.</b> Kadar Flavonoid .....	17
<b>Rumus 7.</b> Konsentrasi Tanin .....	21
<b>Rumus 8.</b> Kadar Tanin.....	21
<b>Rumus 9.</b> Konsentrasi Polifenol .....	22
<b>Rumus 10.</b> Konsentrasi Polifenol Tanin.....	22
<b>Rumus 11.</b> Konsentrasi Gelatin.....	23

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Semakin populernya istilah *back to nature*, semakin mendorong pemanfaatan herbal yang berefek terhadap kesehatan serta semakin banyaknya kajian atau studi terkait herbal oleh para ilmuwan. Tanaman herbal memiliki senyawa metabolit sekunder yang bermanfaat untuk mencegah, menyembuhkan penyakit, melakukan fungsi biologis tertentu (Kumontoy dkk., 2023). Metabolit sekunder tanaman berfungsi sebagai komponen pemandu dalam pencarian dan pengembangan obat baru. Saat pengujian fitokimia secara kualitatif, ekstrak tumbuhan dapat menunjukkan senyawa aktif yang mungkin memiliki efek toksik atau efek terapi. Inilah sebabnya mengapa uji fitokimia kualitatif dan kuantitatif sangat penting untuk proses ini (Khafid dkk., 2023).

Secara tradisional seluruh bagian dari tanaman cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) digunakan untuk pengobatan (Salleh & Ahmad, 2020). Dalam penelitian, buah cabe jawa berkhasiat sebagai antihipertensi akibat adanya plak aterosklerosis, mekanisme buah kerja cabe jawa yaitu menghambat aktivitas enzim lipase sehingga menghambat penyerapan lemak pada tubuh (Dewi, 2021).

Daun mangga memiliki aktivitas farmakologi sebagai antioksidan, antikanker, antimikroba, kardioprotektif dan antihipertensi (Mehmood *et al.*, 2023). Tanaman mangga telah terkenal lebih dari 4.000 tahun yang lalu di negara India, sebagai pengobatan ayurveda dengan menggunakan berbagai bagian tanamannya salah satunya yaitu daun mangga (Swaroop *et al.*, 2018).

Buah lemon memiliki banyak manfaat farmakologi, termasuk sifat antimikroba, antikanker, antioksidan, dan antiinflamasi (Shiyan dkk., 2022). Perasan air lemon juga dapat digunakan untuk mengobati hipertensi, pada penelitian Susilawati & Kasron, (2019) menyatakan bahwa jus lemon dapat menurunkan tekanan darah dengan penurunan sistolik pada lansia.

Skrining fitokimia buah cabe jawa positif mengandung alkaloid, tanin, flavonoid, steroid, dan triterpenoid. Berdasarkan penelitian kuantitatif, ekstrak etanol buah cabe jawa memiliki kadar flavonoid total diperoleh 47,83 mg QE/g (Syafitri dkk., 2023). Menurut Robiyanto dkk., (2018), ekstrak etanol daun mangga arumanis positif mengandung tanin, flavonoid, terpenoid, fenol, saponin dan alkaloid. Berdasarkan penelitian kuantitatif, ekstrak daun mangga arumanis memiliki kadar flavonoid total diperoleh 129,95 mg QE/g (Aji dkk., 2023). Serta air perasan jeruk lemon juga mengandung banyak senyawa bioaktif antara lain flavonoid, tanin, alkaloid, saponin dan asam sitrat (Izza & Rahayu, 2018). Berdasarkan penelitian kuantitatif, sari buah lemon memiliki kadar flavonoid total diperoleh sebesar  $38,42 \pm 0,448$  mg QE/100 ml perasan (Pravita & Dhurhania, 2023).

Atas dasar kesamaan kandungan metabolit sekunder pada buah cabe jawa, daun mangga, dan sari buah lemon terutama flavonoid dan tanin yang diyakini berkhasiat sebagai antihipertensi, peneliti menganalisis kadar senyawa flavonoid dengan metode Chang dan tanin dengan modifikasi metode dari Amorim menggunakan ekstraksi infusional sebagai keterbaruan dari penelitian ini dari ekstrak tunggal serta kombinasi ekstrak dari ketiga tanaman tersebut. Peneliti berharap ketiga tanaman tersebut dengan kombinasinya dapat dibuktikan kadar flavonoid dan tanin secara kuantitatif, yang memiliki khasiat sebagai pengobatan. Analisis kadar tanin dan flavonoid diuji menggunakan alat spektrofotometer UV-Visible.

## 1.2 Tujuan

1. Menganalisis kadar flavonoid ekstrak buah cabe jawa, ekstrak daun mangga arumanis, serbuk sari perasan lemon dan kombinasi ketiga ekstrak.
2. Menganalisis kadar tanin ekstrak buah cabe jawa, ekstrak daun mangga arumanis, serbuk sari perasan lemon dan kombinasi ketiga ekstrak.
3. Menentukan adanya perbedaan signifikan antara kadar flavonoid dan kadar tanin ekstrak buah cabe jawa, ekstrak daun mangga arumanis, serbuk sari perasan lemon dan kombinasi ketiga ekstrak.

### 1.3 Hipotesis

1. Ekstrak tunggal buah cabe jawa, daun mangga arumanis dan serbuk sari buah lemon serta kombinasi dari ketiga ekstrak memiliki kandungan flavonoid.
2. Ekstrak tunggal buah cabe jawa, daun mangga arumanis dan serbuk sari buah lemon serta kombinasi dari ketiga ekstrak memiliki kandungan tanin.
3. Pada kadar flavonoid dan kadar tanin ekstrak buah cabe jawa, ekstrak daun mangga arumanis, serbuk sari perasan lemon dan kombinasi ketiga ekstrak terdapat perbedaan signifikan.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl)**

##### **2.1.1 Deskripsi**

Menurut Salleh dan Ahmad (2020), tumbuhan cabe jawa termasuk ke dalam keluarga *piperaceae* yang tumbuh di daerah tropis khususnya Indonesia. Tanaman cabe jawa yang merambat dapat tumbuh hingga panjang batang 12 meter di sekitar pohon besar (Shethi *et al.*, 2019). Buah cabe jawa mempunyai berbagai bentuk dan ukuran, mulai dari bulat panjang hingga silindris dengan ujung yang sempit, dengan warna yang bervariasi dan mendominasi merah cerah. Biji buahnya berdiameter 2-3 mm. Pada proses penyerbukan menyebabkan perubahan warna secara bertahap; buahnya mula-mula berwarna kuning gading, kemudian berubah menjadi hijau-cokelat tua, dan akhirnya berubah menjadi merah jika sudah matang (BPOM RI, 2010).



**Gambar 1.** Buah Cabe Jawa

##### **2.1.2 Kandungan dan Khasiat**

Menurut hasil penelitian Syafitri dkk (2023) buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, tanin, flavonoid, steroid, dan triterpenoid. Cabe jawa mempunyai potensi yang dapat digunakan sebagai obat untuk menurunkan demam, mengurangi rasa nyeri, menurunkan kadar asam urat (Fitriani *et al.*, 2018) dan dapat meningkatkan imunitas (Roseno *et al.*, 2019). Cabe Jawa memiliki kandungan alkaloid utama

yaitu senyawa piperin yang memiliki beberapa khasiat diantaranya sebagai antimikroba, antiinflamasi dan antikanker (Hikmawanti dkk., 2021). Pada penelitian lainnya, buah cabe jawa berkhasiat sebagai antihipertensi dengan menghambat aktivitas enzim lipase sehingga menghambat penyerapan lemak pada tubuh (Dewi, 2021).

## 2.2 Mangga Arumanis (*Mangifera indica L.*)

### 2.2.1 Deskripsi

*Mangifera indica L.* adalah buah tropikal yang berasal dari Asia dan sudah tumbuh sekitar 4000 tahun dan sekarang dapat ditemukan di semua negara tropis, termasuk Indonesia (Shah *et al.*, 2010). Mangga merupakan salah satu jenis buah yang mempunyai sumber vitamin dan mineral yang banyak terdapat di indonesia (Kabiru *et al.*, 2013). Daun mangga memiliki struktur daun sangat lebat yang berbentuk lonjong, memanjang dengan ujung yang meruncing. Ukuran daunnya sekitar 27 x 9 cm. Daun mangga ini memiliki permukaan daun yang berombak serta memiliki tangkai daun berkisar antara 4,5 cm (Ichsan & Wijaya, 2014).



**Gambar 2.** Daun Mangga Arumanis

### 2.2.2 Kandungan dan Khasiat

Hasil skrining fitokimia dari ekstrak metanol daun mangga yaitu flavonoid, alkaloid, steroid, terpenoid, polifenol, tanin dan saponin (Ningsih, 2017). Kandungan khas yang dimiliki tanaman mangga yakni mangiferin. Mangiferin yakni kandungan senyawa aktif yang termasuk dalam golongan flavonoid. Mangiferin diekstraksi dari tanaman mangga dengan konsentrasi tertinggi yakni berasal dari bagian daun mangga. Bagian daun mangga adalah bagian yang disinyalir mengandung senyawa aktif lebih banyak dibandingkan senyawa lainnya (Namita & Mukesh, 2012). Daun pada tanaman mangga mengandung manfaat,

diantaranya antara lain penyembuhan luka, bisul, diare, dan disentri (Parvez, 2016), selain itu sebagai antioksidan, antikanker, antidiabetik, antimikroba, gastroprotektif, kardioprotectif dan antihipertensi (Mehmood *et al.*, 2023)..

### 2.3 Lemon (*Citrus limon* L.)

#### 2.3.1 Deskripsi

Lemon merupakan kelompok buah jeruk yang mempunyai rasa sangat asam. Jeruk lemon memiliki nama ilmiah (*Citrus limon* L.). Pohon jeruk lemon memiliki batang berduri, daun hijau dan lonjong, bunga berbentuk oval. Buah lemon berukuran 7-12 cm dan berbentuk bulat telur dengan ujung yang runcing pada salah satu ujungnya. Daging buahnya berbulir, berwarna kuning pucat, terdapat sekitar 8-10 segmen (Ridho, 2020).



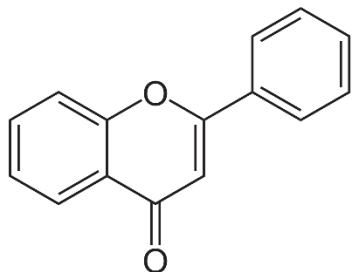
**Gambar 3.** Buah Lemon

#### 2.3.2 Kandungan dan Khasiat

Jeruk lemon (*Citrus limon* L.) mengandung asam sitrat yang menghasilkan rasa asam dan juga mengandung karbohidrat, lemak, protein, vitamin dan kaya akan sumber vitamin C. Unsur-unsur seperti kalsium, magnesium, kalium, dan seng serta sejumlah senyawa fitokimia seperti tanin dan flavonoid terkandung dalam jeruk lemon (Pakaya dkk., 2021). Lemon memiliki banyak khasiat pada tubuh karena memiliki aktivitas farmakologi yang bermacam-macam yaitu antikanker, antioksidan, antiinflamasi, antimicrobial, selain itu lemon memiliki efek pada sistem kardiovaskular yaitu menurunkan tekanan darah tinggi (Klimek-szczykutowicz *et al.*, 2020).

## 2.4 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder golongan polifenol, yang tersebar luas pada tumbuhan. Flavonoid dianggap sebagai komponen yang sangat diperlukan dalam berbagai aplikasi *nutraceutical*, farmasi, obat-obatan, kosmetik dan lainnya (Karak, 2019). Struktur dasarnya terdiri dari cincin C6-C3-C6 dengan pola substitusi berbeda untuk menghasilkan serangkaian subkelas senyawa dan korelasi antara struktur kimia dan bioaktivitas (Wang dkk., 2018).



**Gambar 4.** Struktur Flavonoid

**Sumber:** (Wang dkk., 2018)

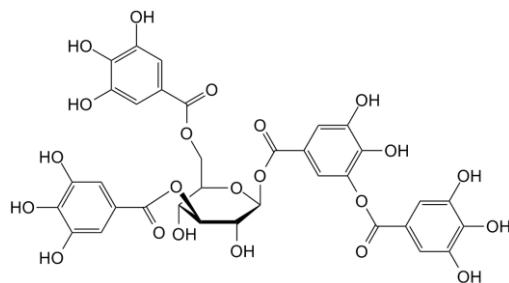
Berdasarkan struktur flavonoidnya, dapat diklasifikasikan menjadi enam kelas utama, flavan-3-ols, flavon, flavonol, flavanon, isoflavon, dan antosianin (Samec *et al.*, 2021). Flavonoid diyakini memiliki berbagai efek bioaktif termasuk anti-virus, anti-inflamasi, kardioprotektif, anti-diabetes, anti-kanker, anti-penuaan dan lain-lain (Wang dkk., 2018). Kuersetin yang merupakan zat aktif golongan flavonoid memiliki afinitas terhadap protein target yaitu *angiotensin-converting enzyme* (ACE), sebagai antihipertensi (Utari dkk., 2021) dan mengurangi stress oksidatif serta meningkatkan relaksasi endotel pembuluh darah (Devi dkk., 2023).

Flavonoid alami dapat diekstraksi dan digunakan dalam industri makanan sebagai pengganti senyawa sintetis untuk meningkatkan kualitas makanan. Dalam beberapa tahun terakhir, pembatasan penggunaan beberapa antioksidan sintetik, seperti butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), dan propyl gallate, meningkatkan minat terhadap flavonoid alami karena kemampuannya menghambat oksidatif degradasi lipid, meningkatkan kualitas dan nilai gizi makanan, dan mengurangi toksisitas (Ruiz *et al.*, 2017), karena flavonoid adalah senyawa alami dengan toksisitas rendah, sangat tersedia, dan murah,

peningkatan penggunaannya sebagai bahan tambahan makanan sebagai pengganti bahan pengawet sintetik akan berkontribusi terhadap keberlanjutan industri makanan.

## 2.5 Tanin

Tanin merupakan senyawa golongan polifenol yang sering ditemui pada tumbuhan. Berat molekulnya berkisar antara 500 hingga 20.000 Da (Fabbrini dkk., 2022). Tanin alami memiliki sifat yang sederhana, larut dalam pelarut polar seperti air, etanol, dan metanol, tetapi sukar larut dalam pelarut non-polar seperti petroleum eter, benzena, eter, dan kloroform. Selain itu, tanin menjadi sangat larut jika dilarutkan dalam air panas (Motta *et al.*, 2020).



**Gambar 5.** Struktur Tanin

**Sumber:** (Das dkk., 2020)

Pengelompokan tanin dibagi menjadi dua macam yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis yaitu polimer gallic dan ellagic acid yang berikatan ester dengan sebuah molekul gula, sedangkan tanin terkondensasi yaitu polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon-karbon berupa catechin dan gallocatechin (Patra & Saxena, 2011). Tanin berkhasiat sebagai antihipertensi dengan menghambat stress oksidatif serta mengurangi tekanan arteri pumonalis (Aimaier *et al.*, 2023).

Metode analisis tanin meliputi pengujian yang melibatkan pengikatan dan pengendapan protein (Schofield *et al.*, 2001). Tanin memiliki gugus hidroksil fenolik yang banyak menyebabkan pembentukan kompleks dengan protein (Hagerman *et al.*, 1998). Prinsip analisis senyawa tanin apabila direaksikan dengan gelatin menghasilkan endapan pada larutan, menunjukkan tanin menggumpalkan protein dari gelatin. Hal ini disebabkan karena sifat tanin dapat mengendapkan

protein, semua tanin menimbulkan endapan sedikit atau banyak jika ditambahkan dengan gelatin (yang termasuk protein alami) (Fajrina dkk., 2016).

## 2.6 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses penyarian zat aktif dari bagian tanaman obat yang bertujuan untuk menarik kandungan kimia yang terdapat dalam bagian tanaman obat tersebut (Marjoni, 2016). Menurut Chairunnisa dkk (2019), faktor-faktor yang memengaruhi ekstraksi adalah waktu, temperatur, jenis pelarut, perbandingan bahan dengan pelarut dan ukuran partikel. Metode ekstraksi yang digunakan dapat memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kualitas dan kuantitas kandungan kimia yang diekstraksi dari tanaman. Pemilihan jenis ekstraksi yang tepat dapat meningkatkan jumlah metabolit sekunder pada ekstrak yang diperoleh (Verawati dkk., 2020).

Proses ekstraksi yang diketahui sangat beragam yaitu dengan cara dingin dan cara panas. Ekstraksi cara dingin terdiri dari maserasi dan perkolasai, sedangkan ekstraksi cara panas terdiri dari refluks, sokletasi, digesti, infusasi, dan dekokta. Infusasi adalah proses ekstraksi yang pada dasarnya untuk menarik zat kandungan aktif yang larut dalam air dari sampel. Proses ini dilakukan pada temperatur 90°C dengan waktu 15 menit (Depkes, 2000).

## 2.7 Metode *Freeze Dry*

Metode *freeze drying* atau pengeringan beku merupakan proses dimana air yang dibekukan untuk dihilangkan dari sampel, proses ini diawali dengan proses sublimasi (pengeringan primer), kemudian dilanjutkan dengan proses desorpsi (pengeringan sekunder). Proses pengeringan dilakukan untuk pembuatan obat-obatan dan proses biologi tertentu yang tidak stabil dalam larutan air untuk penyimpanan yang lama dan stabil dalam kondisi kering (Gaidhani dkk., 2015).

## 2.8 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri merupakan salah satu metode dalam kimia analisis yang digunakan untuk menentukan komposisi suatu sampel baik secara kuantitatif dan kualitatif yang didasarkan pada interaksi antara materi dengan cahaya. Detektor dapat mengukur intensitas cahaya yang dipancarkan secara tidak langsung cahaya yang diabsorbsi. Setiap media akan menyerap cahaya pada panjang gelombang

tertentu tergantung pada senyawa atau warna yang terbentuk (Sembiring dkk., 2019).

Spektrofotometer UV-Vis merupakan gabungan antara prinsip spektrofotometri UV dan Visible. Alat ini menggunakan dua buah sumber cahaya yang berbeda, yaitu sumber cahaya UV dan sumber cahaya Visible. Larutan yang dianalisis diukur serapan sinar ultra violet atau sinar tampaknya. Konsentrasi larutan yang dianalisis akan sebanding dengan jumlah sinar yang diserap oleh zat yang terapat dalam larutan tersebut. Spektrofotometri UV-Vis mengacu pada hukum Lambert-Beer yang menyatakan bahwa hubungan linear antara absorbansi dengan konsentrasi larutan sampel. Prinsip dari spektrofotometri UV-Vis apabila cahaya monokromatik melalui suatu media (larutan), maka sebagian cahaya tersebut akan diserap, sebagian dipantulkan dan sebagian lagi akan dipancarkan (Sembiring dkk., 2019).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret sampai dengan bulan Mei tahun 2024 di Laboratorium Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan, Bogor.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Cawan Uap (RRC), *Centrifuge* (ColeParmer), *Freeze Dryer* (ScanVac CoolSafe), Grinder, Kertas Saring, Kurs (RRC), Mesh 40 (ABM), Oven (Memmert), Panci Infusa, Pipet Tetes, Pipet Volume (Pyrex®), Sonikator (Branson), Spektrofotometri Uv-Vis (Jasco V-730), Tabung Reaksi (Pyrex®), Tanur (DAIHAN-brand®), *Thermometer*, Timbangan Analitik (Lab Pro).

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Alumunium Klorida ( $\text{AlCl}_3$ ) Merck, Asam Klorida (HCl) Merck, Asam Galat ( $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ ) Merck, Asam Sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) Merck, Aqua destillata, Etanol 70% ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ ) OneMed, Feri Klorida ( $\text{FeCl}_3$ ) Merck, Gelatin ( $\text{C}_{102}\text{H}_{151}\text{N}_{31}\text{O}_{39}$ ) Merck, Kuersetin ( $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$ ) Sigma, Natrium Asetat ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ ) Brataco, Natrium Karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) Merck, Folin Ciocalteu ( $\text{C}_{10}\text{H}_5\text{NaO}_5\text{S}$ ) Merck, Serbuk Magnesium (Mg) Merck, Simplisia dan Ekstrak cabe jawa, daun mangga arumanis serta Ekstrak sari buah lemon.

#### **3.3 Metode Penelitian**

##### **3.3.1 Pengumpulan Bahan Baku**

Dalam penelitian ini menggunakan bahan baku yaitu buah cabe jawa, daun mangga arumanis, dan buah lemon yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman, Rempah dan Obat (BALITRO), Bogor, Jawa Barat.

### **3.3.2 Determinasi Tanaman**

Buah cabe jawa, daun mangga arumanis, dan buah lemon yang digunakan pada penelitian ini dideterminasi di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Cibinong, Bogor. Tujuan dari determinasi yaitu membandingkan satu tumbuhan dengan tumbuhan lain yang telah dikenal sebelumnya (dicocokkan), sehingga menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan yang digunakan pada penelitian.

### **3.3.3 Pembuatan Serbuk Buah Cabe Jawa dan Daun Mangga**

#### **3.3.3.1 Pembuatan Simplisia**

Bahan baku buah cabe jawa segar diambil sebanyak 1500 g dan daun mangga arumanis diambil sebanyak 3000 g kemudian masing-masing dalam wadah berbeda dilakukan sortasi basah, yaitu memisahkan kotoran yang menempel atau bahan asing lainnya pada bahan baku, kemudian dilakukan pencucian menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel lalu ditiriskan. Selanjutnya dilakukan proses pengeringan untuk buah cabe jawa menggunakan oven pada suhu 40°C (Syafitri dkk., 2023) dan pengeringan untuk daun mangga arumanis dioven pada suhu 50-55°C karena pengeringan menggunakan oven dengan suhu yang tidak terlalu tinggi yaitu sekitar 60°C tidak merusak komponen dalam bahan (DepKes RI, 1995). Simplisia yang sudah kering dilakukan sortasi kering yaitu pemisahan bahan asing yang tidak diperlukan atau kotoran yang masih tertinggal. Setelah itu simplisia di grinder supaya menjadi bagian yang lebih kecil, kemudian diayak menggunakan ayakan mesh 40. Persentase rendemen dilakukan perhitungan dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Rendemen Simplisia} = \frac{\text{Berat Serbuk Simplisia yang Diperoleh}}{\text{Berat Tanaman}} \times 100\% \quad (1)$$

#### **3.3.3.2 Pembuatan Ekstrak**

Serbuk simplisia buah cabe jawa dan daun mangga arumanis dilakukan proses ekstraksi secara terpisah dengan metode infusasi. Masing-masing serbuk ditimbang sebanyak 200 g masukkan ke dalam panci bertingkat infusa yang berbeda, kemudian ditambahkan pelarut aquadest sebanyak 2000 mL lalu dipanaskan selama 15 menit (terhitung pada suhu mencapai 90°C) dan diaduk

sesekali (Depkes, 2000). Setelah itu hasil disaring dan hasil filtrat dijadikan serbuk menggunakan alat *freeze dry*. Hasil rendemen ekstrak dilakukan perhitungan dengan menggunakan rumus:

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{Berat Ekstrak Serbuk}}{\text{Berat Serbuk Simplisia}} \times 100\% \quad (2)$$

### **3.3.4 Pembuatan Serbuk Kering Sari Buah Lemon**

Buah lemon dikumpulkan sebanyak 4000 g kemudian dilakukan sortasi basah yaitu dipisahkan kotoran yang menempel atau bahan asing lainnya pada bahan baku, kemudian dilakukan pencucian menggunakan air yang mengalir agar kotoran langsung terpisahkan, kemudian dilakukan perajangan menjadi 2 bagian, lalu diperas buahnya untuk mendapatkan sari buahnya. Sari buah lemon kemudian dikeringkan menggunakan alat *freeze dryer* pada suhu -48°C sampai -56°C sehingga didapatkan sari buah lemon dalam bentuk serbuk (Sriarumtias dkk., 2020).

## **3.4 Skrining Fitokimia**

### **3.4.1 Uji Flavonoid**

Sampel sebanyak 0,5 g masing-masing secara terpisah dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu dilarutkan dalam 5 mL etanol 70%. Larutan sampel dipipet 2 mL, ditambahkan 0,1 g serbuk Mg dan 10 tetes HCl pekat dari sisi tabung kemudian dikocok perlahan-lahan. Warna merah atau jingga yang terbentuk menunjukkan adanya flavonoid (Hanani, 2015).

### **3.4.2 Uji Tanin Terkondensasi**

Sampel sebanyak 0,5 g masing-masing secara terpisah dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu dilarutkan dalam 5 mL aqua destillata. Ditambahkan dengan larutan FeCl<sub>3</sub> 1% 3-5 mL jika terbentuk warna hijau kehitaman maka sampel tersebut positif mengandung tanin terkondensasi (Tyler *et al.*, 1976).

### **3.4.3 Uji Tanin Terhidrolisis**

Sampel sebanyak 0,5 g masing-masing secara terpisah dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu dilarutkan dalam 5 mL aqua destillata. Ditambahkan dengan kalium bromida (KBr) kemudian dihomogenkan jika tidak terbentuk endapan maka sampel tersebut positif mengandung tanin terhidrolisis (Tyler *et al.*, 1976).

### **3.5 Pengujian Mutu Simplicia dan Ekstrak**

#### **3.5.1 Uji Organoleptik**

Uji organoleptik merupakan uji yang dilakukan untuk mendeskripsikan mutu simplicia dan ekstrak, pengujian ini menggunakan panca indera manusia. Hal yang diamati pada pengujian organoleptik meliputi aroma, bentuk, warna, dan rasa dari simplicia dan ekstrak sehingga didapatkan hasil objektif.

#### **3.5.2 Uji Kadar Air**

Metode gravimetri adalah cara yang digunakan untuk penetapan kadar air simplicia dan ekstrak. Cawan yang telah diisi oleh simplicia dan ekstrak ditimbang masing-masing sebanyak 2 gram untuk mendapatkan berat cawan isi sebelum pemanasan kemudian cawan dipanaskan di dalam oven dengan suhu 105<sup>o</sup> C selama 5 jam, setelah itu dinginkan dalam desikator sampai suhu ruang lalu ditimbang. Dilanjut pengeringan dengan selang waktu 1 jam sampai ada perbedaan antara kedua penimbangan yang dilakukan berturut turut yang tidak lebih dari 0,25 %. Kadar air simplicia dan ekstrak menurut syarat yaitu  $\leq 10\%$  (Depkes, 2017). Pengujian dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

$$\text{Kadar Air} = \frac{\text{Cawan isi sebelum dipanaskan (g)} - \text{Cawan isi setelah dipanaskan (g)}}{\text{Bobot Sampel (g)}} \times 100\% \quad (3)$$

#### **3.5.3 Uji Kadar Abu**

Uji kadar abu dilakukan dengan menimbang 2 gram masing-masing serbuk simplicia dan ekstrak lalu dimasukkan ke dalam krus yang telah dipijarkan dan ditara. Pemijaran dilakukan dengan suhu 600°C hingga arang habis, lalu dinginkan dan ditimbang. Jika arang tidak dapat hilang, ditambahkan air panas dan saring dengan kertas saring bebas abu. Pijarkan kertas saring dalam krus yang sama, dimasukkan filtrat ke dalam krus, diuapkan dan dipijarkan hingga bobot tetap lalu ditimbang. Syarat kadar abu sendiri untuk simplicia yaitu  $\leq 10\%$  (Depkes, 2017).

$$\text{Kadar Abu} = \frac{(\text{Bobot krus} + \text{Bobot Abu})(g) - (\text{Bobot krus kosong})}{\text{Bobot Sampel (g)}} \times 100\% \quad (4)$$

## **3.6 Penetapan Kadar Flavonoid**

### **3.6.1 Pembuatan Larutan**

#### **3.6.1.1 Pembuatan Larutan Standar Induk Kuersetin**

Ditimbang 50 mg kuersetin dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, ditambahkan etanol 70% hingga tanda batas kemudian homogenkan, diperoleh larutan standar baku kuersetin dengan konsentrasi 1000 ppm. Kemudian dibuat larutan 100 ppm dengan memipet 1 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL ditambahkan etanol 70% hingga tanda batas dan dihomogenkan (Hasriyani dkk., 2021).

#### **3.6.1.2 Pembuatan Larutan Na Asetat 1 M**

Ditimbang 8,2 g Natrium asetat, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, dilarutkan dengan aqua destillata hingga tanda batas dan dihomogenkan (Segara & Kurniawan, 2023).

#### **3.6.1.3 Pembuatan Larutan AlCl<sub>3</sub> 10 %**

Ditimbang 10 g alumunium klorida, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, ditambahkan aqua destillata hingga tanda batas dan dihomogenkan (Segara & Kurniawan, 2023).

#### **3.6.1.4 Pembuatan Larutan Blanko**

Larutan AlCl<sub>3</sub> dipipet sebanyak 0,1 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan 0,1 ml larutan Na Asetat 1 M ditambahkan 3 mL etanol 70%, kemudian tambah aquadest hingga tanda batas dan dihomogenkan (Depkes RI, 2017).

#### **3.6.1.5 Pembuatan Larutan Induk Sampel Tunggal**

Ditimbang 50 mg masing-masing ekstrak secara terpisah, dimasukkan ke dalam beaker glass lalu ditambahkan 5 mL etanol 70 % lalu diaduk hingga homogen, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL. Ditambah etanol 70%, hingga tanda batas dan dihomogenkan dengan sonikator diperoleh larutan induk sampel tunggal 1000 ppm (Pujiastuti & El'Zeba, 2021).

### **3.6.1.6 Pembuatan Larutan Induk Sampel Kombinasi**

Ditimbang 50 mg ekstrak kering dimasukkan ke dalam beaker glass yang terdiri dari buah cabe jawa, daun mangga arumanis dan sari lemon dengan perbandingan (1:1:1), dimasukkan ke dalam beaker glass lalu ditambahkan 5 mL etanol 70 % lalu aduk hingga homogen lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL lalu ditambahkan dengan etanol 70 % hingga tanda batas lalu di homogenkan dengan sonikator diperoleh larutan induk sampel kombinasi 1000 ppm.

### **3.6.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum**

Larutan kuersetin 100 ppm dipipet sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan 0,1 mL AlCl<sub>3</sub> 10% dan 0,1 mL Na asetat 1 M kemudian tambah etanol 70% sebanyak 3 mL kemudian ditambah aquadest hingga tanda batas dan dihomogenkan. Diukur serapan dengan spektrotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 429 nm (Depkes RI, 2017)

### **3.6.3 Penentuan Waktu Inkubasi Optimum**

Larutan kuersetin 100 ppm dipipet sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam masing-masing labu ukur 10 mL dengan berbagai waktu inkubasi yang sudah ditentukan dan tambahkan 0,1 mL AlCl<sub>3</sub> 10% kemudian ditambahkan juga 0,1 mL Na asetat 1 M lalu tambahkan etanol 70% sebanyak 3 mL kemudian ditambah aquadest hingga tanda batas dan dihomogenkan. Diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit sehingga diperoleh waktu optimum yang stabil (Depkes RI, 2017).

### **3.6.4 Pembuatan Kurva Kalibrasi**

Larutan standar kuersetin 100 ppm dibuat deret standar menjadi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm. Masing-masing larutan standar kuersetin 100 ppm dipipet 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1 mL ke dalam masing-masing labu ukur 10 mL. Masing-masing konsentrasi ditambahkan 0,1 mL AlCl<sub>3</sub> 10% kemudian ditambahkan juga 0,1 mL Na asetat 1 M lalu tambahkan etanol 70% sebanyak 3 mL kemudian ditambah aquadest hingga tanda batas dan dihomogenkan. Larutan diinkubasi pada suhu kamar selama waktu optimum kemudian serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 429 nm (Hasriyani dkk., 2021).

### 3.6.5 Pengukuran Kadar Flavonoid

Dilakukan pada sampel tunggal buah cabe jawa dan sari buah lemon, masing-masing dipipet 1 mL larutan induk sampel lalu dimasukkan labu ukur 10 mL, lalu ditambahkan 0,1 mL AlCl<sub>3</sub> 10% kemudian ditambahkan juga 0,1 mL Na asetat 1 M lalu tambahkan etanol 70% sebanyak 3 mL kemudian ditambah aquadest hingga tanda batas dan dihomogenkan. Pada sampel daun mangga arumanis dan kombinasi masing-masing dipipet larutan induk sebanyak 5 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan dengan etanol 70 % hingga tanda batas serta di homogenkan. Larutan dipipet kembali sebanyak 5 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan dengan etanol 70 % hingga tanda batas serta di homogenkan. Selanjutnya larutan dipipet 1 mL lalu dimasukkan labu ukur 10 mL, lalu ditambahkan 0,1 mL AlCl<sub>3</sub> 10% dan 0,1 mL Na asetat 1 M lalu tambahkan etanol 70% sebanyak 3 mL kemudian ditambah aquadest hingga tanda batas dan dihomogenkan.

Larutan sampel masing-masing diinkubasi pada waktu inkubasi maksimum kemudian dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang maksimum (Depkes RI, 2017). Perhitungan kadar flavonoid menggunakan rumus:

$$- \quad C = \frac{Abs-a}{b} \text{ (mg/L)} \quad (5)$$

$$- \quad \text{Kadar Flavonoid (mg QE/g)} = \frac{C \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times \text{Volume Labu (L)} \times F_p}{\text{Bobot Sampel (g)}} \quad (6)$$

#### Keterangan:

Abs : Absorbansi

a : Intercept

b : Slope

F<sub>p</sub> : Faktor Pengenceran

V : Volume Labu (L)

## 3.7 Penetapan Kadar Tanin

### 3.7.1 Pembuatan Larutan

#### 3.7.1.1 Pembuatan Larutan Jenuh Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5%

Natrium karbonat sebanyak 7,5 g dilarutkan dalam 80 mL aquadestilata, kemudian dipanaskan sampai serbuk Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> larut kemudian dinginkan semalam,

disaring dan ditambahkan aquadest hingga tanda batas labu 100 mL (Nofita dkk., 2020)

### **3.7.1.2 Pembuatan Larutan Follin Ciocalteu 1:10**

Dipipet larutan follin ciocalteu pekat sebanyak 5 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL. Ditambahkan aquadest hingga tanda batas kemudian dihomogenkan (Waruwu dkk., 2023).

### **3.7.1.3 Pembuatan Larutan Gelatin 1%**

Ditimbang 1 gram gelatin, kemudian dilarutkan dalam aqua destillata sebanyak 100 mL. Dipanaskan larutan hingga gelatin larut.

### **3.7.1.4 Pembuatan Larutan Blanko**

Dipipet 2,5 ml larutan follin ciocalteu 1:10 kemudian ditambahkan larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5% dipipet sebanyak 2,5 mL, dihomogenkan dan ditunggu selama 5 menit. Ditambahkan aquadestillata hingga tanda batas dan dihomogenkan.

### **3.7.1.5 Pembuatan Larutan Standar Induk Asam Galat**

Asam galat sebanyak 50 mg dimasukkan labu ukur 50 mL, kemudian tambahkan aqua destillata hingga tanda batas sehingga didapat konsentrasi 1000 ppm. Dipipet 1 mL larutan standar baku asam galat 1000 ppm, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan aqua destilata hingga tanda batas, sehingga diperoleh larutan standar baku asam galat dengan konsentrasi 100 ppm.

### **3.7.1.6 Pembuatan Larutan Sampel Tunggal**

Ditimbang 50 mg masing-masing ekstrak secara terpisah, dimasukkan ke dalam beaker glass ditambahkan 5 mL etanol 70 % lalu diaduk hingga homogen, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL ditambahkan dengan etanol 70 % hingga tanda batas serta di homogenkan dengan sonikator diperoleh larutan induk sampel tunggal 1000 ppm (Depkes RI, 2017).

### **3.7.1.7 Pembuatan Larutan Sampel Kombinasi**

Ditimbang 50 mg ekstrak kering dimasukkan ke dalam beaker glass yang terdiri dari buah cabe jawa, daun mangga arumanis dan sari lemon dengan perbandingan (1:1:1), dimasukkan ke dalam beaker glass lalu ditambahkan 5 mL etanol 70 % dihomogenkan, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL lalu

ditambahkan dengan etanol 70 % hingga tanda batas lalu dihomogenkan dengan sonikator diperoleh larutan induk sampel kombinasi 1000 ppm (Depkes RI, 2017).

### **3.7.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum**

Larutan baku induk asam galat 100 ppm dipipet sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan 2,5 mL reagen folin ciocalteu, kemudian dikocok dan didiamkan selama 5 menit, kemudian ditambahkan 2,5 mL larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5%, dikocok homogen. Selanjutnya ditambahkan aquadest sampai tanda batas dan dibaca pada panjang gelombang 766,5 nm.

### **3.7.3 Penentuan Waktu Inkubasi Optimum**

Larutan asam galat 100 ppm dipipet sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam masing-masing labu ukur 10 mL dengan berbagai waktu inkubasi yang sudah ditentukan dan ditambahkan 2,5 mL reagen folin ciocalteu, kemudian dihomogenkan dan ditunggu selama 5 menit, kemudian ditambahkan 2,5 mL larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5%, dihomogenkan. Diinkubasi pada suhu kamar selama 40 menit sehingga diperoleh waktu optimum yang stabil (Rahayu dkk., 2021).

### **3.7.4 Pembuatan Kurva Deret Standar Asam Galat**

Larutan standar asam galat 100 ppm dibuat deret standar menjadi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm. Masing-masing larutan standar asam galat 100 ppm dipipet 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1 mL ke dalam masing-masing labu ukur 10 mL. Masing-masing konsentrasi ditambahkan 2,5 mL reagen Folin Ciocalteu, kemudian dikocok dan ditunggu selama 5 menit, kemudian ditambahkan 2,5 mL larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5%, dikocok homogen. Larutan diinkubasi pada suhu kamar selama waktu optimum kemudian serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 766,5 nm (Depkes RI, 2017).

### **3.7.5 Perhitungan Kadar Tanin**

#### **3.7.5.1 Prinsip Analisis**

Polifenol merupakan senyawa yang memiliki banyak gugus fenol dalam molekulnya, seperti tanin, flavonoid, asam fenolik, dan lain-lain. Untuk selanjutnya, senyawa polifenol selain tanin akan disebut sebagai senyawa polifenol

non tanin (PNT), sehingga polifenol (P) adalah jumlah dari senyawa polifenol non tanin (PNT) dan tanin (T) yang ditunjukkan pada persamaan (1).

$$P = PNT + T \quad (1)$$

Metode analisis tanin ini dilakukan dengan mengukur dua macam larutan sampel, yaitu larutan sampel polifenol dan larutan sampel polifenol non tanin, sehingga konsentrasi tanin (T) dapat diperoleh dari selisih antara konsentrasi senyawa polifenol (P) dan polifenol non tanin (PNT) yang dinyatakan dalam persamaan (2).

$$T = P - PNT \quad (2)$$

Sampel polifenol non tanin diperoleh dengan cara mengendapkan tanin menggunakan gelatin yang berlebih. Tanin (T) akan bertindak sebagai pembatas dalam reaksinya dengan gelatin (G), sehingga pada titik kesetimbangan, gelatin akan tersisa (SG) dapat dihitung menggunakan persamaan (3).

$$SG = G - T \quad (3)$$

Endapan yang terbentuk kemudian disaring untuk diambil filtratnya. Kandungan yang terdapat dalam filtrat (F) adalah senyawa polifenol non tannin (PNT) dan sisa gelatin (SG) yang ditunjukkan dengan persamaan (4). PNT dapat diperoleh menyederhanakan persamaan (4), sehingga diperoleh persamaan (5).

$$F = PNT + SG \quad (4)$$

$$PNT = F - SG \quad (5)$$

Substitusi persamaan (3) ke dalam persamaan (5) akan menghasilkan persamaan (6) sebagai berikut:

$$PNT = F - SG \quad (SG = G - T)$$

$$PNT = F - (G - T)$$

$$PNT = F - G + T \quad (6)$$

Konsentrasi tanin dapat diketahui dengan melakukan substitusi persamaan (6) ke dalam persamaan (2), sehingga rumus untuk menghitung konsentrasi tanin ditunjukkan pada persamaan (7):

$$T = P - PNT \quad (PNT = F - G + T)$$

$$T = P - (F - G + T)$$

$$T = P - F + G - T$$

$$T + T = P - F + G$$

$$2T = P - F + G$$

$$T = \frac{(P - F + G)}{2} \quad (7)$$

Pada persamaan (7), konsentrasi tanin dapat diketahui dengan mengukur konsentrasi polifenol (tanpa penambahan gelatin), konsentrasi polifenol non tanin (dengan penambahan gelatin), blanko gelatin (tanpa larutan sampel) dan blanko pelarut (tanpa larutan sampel dan gelatin). Masing-masing larutan sampel tersebut direaksikan dengan reaksi folin ciocalteu (FC) dan natrium bikarbonat (NB), dan diukur menggunakan spektrofotometer visible pada panjang gelombang maksimum. Lalu kadar tanin dihitung dari hasil perlakuan dengan menggunakan rumus:

$$C \text{ Tanin } (\mu\text{g/mL}) = \frac{(C \text{ Polifenol} - C \text{ Polifenol Non Tanin} + C \text{ Gelatin})}{2} \quad (7)$$

$$\text{Kadar Tanin} = \frac{C \text{ Tanin } (\mu\text{g/mL}) \times \text{Volume Labu (mL)} \times FP \times 10^{-3}}{\text{Bobot Sampel (g)}} \quad (8)$$

#### **Keterangan:**

- C Tanin : Konsentrasi tanin ( $\mu\text{g/mL}$ )
- C Polifenol : Konsentrasi polifenol ( $\mu\text{g/mL}$ )
- C Polifenol Non Tanin : Konsentrasi polifenol non tanin ( $\mu\text{g/mL}$ )
- C Gelatin : Konsentrasi uji kontrol gelatin ( $\mu\text{g/mL}$ )
- FP : Faktor Pengenceran

#### **3.7.5.2 Analisis Polifenol**

Dilakukan pada sampel buah cabe jawa dan sari buah lemon, untuk mengukur konsentrasi polifenol (C Polifenol) dipipet 1 mL larutan induk sampel lalu dimasukkan labu ukur 10 mL, ditambahkan 2,5 ml larutan folin ciocalteu 1:10 ditambahkan 2,5 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5% kemudian tambahkan aqua destillata hingga tanda batas dan dihomogenkan. Diinkubasi pada waktu inkubasi optimum kemudian dilakukan pembacaan absorbansi (A1) pada panjang gelombang maksimum.

Dilakukan pengenceran larutan induk sampel daun mangga arumanis dan kombinasi, dipipet sebanyak 5 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan dengan etanol 70 % hingga tanda batas serta di homogenkan. Larutan

dipipet kembali sebanyak 5 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan dengan etanol 70 % hingga tanda batas serta di homogenkan. Kemudian dipipet sebanyak 1 mL dan ditambahkan dengan reagen dengan perlakuan yang sama seperti larutan sampel tunggal untuk mengukur konsentrasi polifenol (C Polifenol). Untuk menghitung konsentrasi polifenol total dengan menggunakan rumus:

$$C \text{ Polifenol } (\mu\text{g/mL}) = \left( \frac{A_1 - a}{b} \right) \times FP \quad (9)$$

Keterangan:

A1 = Absorbansi polifenol

a = Intercept

b = Slope

FP = Faktor pengenceran

### 3.7.5.3 Analisis Polifenol Non Tanin

Dilakukan pada sampel tunggal maupun kombinasi, untuk mengukur konsentrasi polifenol non tanin (C Polifenol Non Tanin) dipipet 1 mL larutan induk sampel ke dalam tabung sentrifugasi kemudian ditambahkan gelatin 5 mL untuk mendapatkan endapan yang tetap, kemudian dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan filtrat dan residu. Filtrat hasil sentrifugasi dipipet sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan 2,5 ml larutan follin ciocalteu 1:10 ditambahkan 2,5 ml larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5% kemudian tambahkan aqua destillata hingga tanda batas dan dihomogenkan. Diinkubasi pada waktu inkubasi optimum kemudian dilakukan pembacaan absorbansi (A2) pada panjang gelombang maksimum. Untuk menghitung konsentrasi polifenol non tanin dengan menggunakan rumus:

$$C \text{ Polifenol Non Tanin } (\mu\text{g/mL}) = \left( \frac{A_2 - a}{b} \right) \times FP \quad (10)$$

Keterangan:

A2 = Absorbansi polifenol non tanin

a = Intercept

b = Slope

FP = Faktor pengenceran

### 3.7.5.4 Analisis Larutan Kontrol Uji Gelatin

Pada analisis larutan uji gelatin untuk mengukur konsentrasi larutan uji gelatin ( $C_{\text{Gelatin}}$ ) dipipet larutan gelatin 1% sebanyak 5 mL ke dalam beaker glass, kemudian ditambahkan 1 mL aqua destillata aduk hingga homogen. Larutan tersebut dipipet sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan 2,5 mL larutan folin ciocalteu 1:10 ditambahkan 2,5 mL larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5% kemudian tambahkan aqua destillata hingga tanda batas dan dihomogenkan. Diinkubasi pada waktu inkubasi optimum kemudian dilakukan pembacaan absorbansi ( $A_3$ ) pada panjang gelombang maksimum. Untuk menghitung konsentrasi larutan uji gelatin dengan menggunakan rumus:

$$C_{\text{Gelatin}} (\mu\text{g/mL}) = \left( \frac{A_3 - a}{b} \right) \times FP \quad (11)$$

Keterangan:

$A_3$  = Absorbansi larutan uji gelatin

$a$  = Intercept

$b$  = Slope

$FP$  = Faktor pengenceran

### 3.8 Analisis Data

Kadar flavonoid dan kadar tanin ekstrak buah cabe jawa, ekstrak daun mangga arumanis, serbuk sari perasan lemon dan kombinasi ketiga ekstrak dilakukan analisis dengan menggunakan IBM SPSS *Statistics* 24 yaitu uji homogenitas, uji normalitas, uji ANOVA, uji ( $F$ ) simultan dan uji lanjut Duncan. Data-data dalam bentuk tabel menunjukkan ada atau tidaknya perbedaan signifikan pada kadar flavonoid dan kadar tanin ekstrak buah cabe jawa, ekstrak daun mangga arumanis, serbuk sari perasan lemon dan kombinasi ketiga ekstrak.

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Determinasi Tanaman**

Tanaman buah cabe jawa, daun mangga arumanis dan buah lemon dilakukan determinasi di Laboratorium Herbarium BRIN (Badan Riset dan Inovasi Nasional), Bogor. Hasil determinasi menyatakan bahwa buah cabe jawa yang digunakan pada penelitian ini adalah buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) suku *Piperaceae*, daun mangga arumanis (*Mangifera indica* L) suku *Anacardiaceae*, dan buah lemon (*Citrus × limon* (L.) Osbeck suku *Rutaceae*. Surat hasil determinasi tanaman dapat dilihat pada Lampiran 2, 3 dan 4.

#### **4.2 Pembuatan Simplisia dan Ekstrak**

Tanaman yang digunakan sebagai sampel penelitian ini yaitu tanaman cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl), mangga arumanis (*Mangifera indica* L) dan lemon (*Citrus × limon* (L.) Osbeck. Bagian tanaman yang digunakan pada cabe jawa yaitu bagian buah segar diperlukan sebanyak 1500 gram, pada mangga arumanis yaitu bagian daun segar diperlukan sebanyak 3000 gram dan pada tanaman lemon yaitu bagian buah segar diperlukan sebanyak 4000 gram yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITRO). Buah lemon dirajang menjadi 2 bagian, kemudian diambil sari buahnya saja didapatkan 1000 mL perasan buah lemon, selanjutnya buah cabe jawa dan daun mangga arumanis akan dikeringkan menjadi simplisia. Simplisia akan dilakukan proses pengecilan ukuran partikel menjadi serbuk, kemudian diayak dengan mesh 40. Serbuk simplisia buah cabe jawa diperoleh 500 gram dengan persentase rendemen sebesar 33,3% dan untuk daun mangga arumanis diperoleh 500gram dengan persentase rendemen sebesar 16,6%. Persentase rendemen pada simplisia buah cabe jawa lebih besar dibandingkan dengan rendemen simplisia daun mangga arumanis hal ini bisa disebabkan karena perbedaan suhu pada saat pengeringan yaitu lebih tinggi suhu pengeringan daun mangga arumanis dibandingkan suhu pengeringan buah cabe jawa.

Setelah didapatkan serbuk simplisia buah cabe jawa dan daun mangga arumanis kemudian dilakukan ekstraksi dengan menggunakan metode infundasi dengan pelarut aquadestillata. Infundasi dipilih sebagai metode ekstraksi dalam penelitian ini dikarenakan proses relatif mudah, biaya yang digunakan murah, dan lebih mendekati cara aplikasi obat tradisional masyarakat pada umumnya. Selain itu waktu yang digunakan lebih efisien (Santosa dkk., 2023). Proses ekstraksi infusa buah cabe jawa dan daun mangga arumanis dibuat dengan perbandingan simplisia dan aquadest sebesar 1:10, pada penelitian (Santosa dkk., 2023) juga melakukan ekstraksi infundasi dengan perbandingan yang 1:10. Masing- masing serbuk simplisia buah cabe jawa dan daun mangga arumanis sebanyak 200 g dimasukkan ke dalam panci infusa, kemudian ditambahkan aqua destillata sebanyak 2000 mL. Panci infusa selanjutnya dipanaskan pada suhu 90°C selama 15 menit (Oktavia dkk., 2020). Hasil infusa setelah disaring didapatkan filtrat buah cabe jawa sebanyak 978 mL dan filtrat daun mangga arumanis sebanyak 1252 mL.

Filtrat hasil ekstraksi infundasi buah cabe dikeringkan hingga terbentuk ekstrak kering dengan menggunakan alat *freeze dryer*. Prinsip *freeze drying* dimulai dengan proses pembekuan ekstrak, dan dilanjutkan dengan pengeringan, yaitu memisahkan hampir sebagian besar air dalam ekstrak yang terjadi melalui mekanisme sublimasi. Keunggulan *freeze drying* yaitu dapat mempertahankan stabilitas dari ekstrak (menghindari perubahan aroma, warna, dan unsur organoleptik lain), dapat menghambat aktivitas mikroba serta mencegah terjadinya reaksi kimia dan aktivitas enzim yang dapat merusak kandungan kimia ekstrak (Nofrianti, 2013).

Hasil perasan buah lemon, filtrat infusa simplisia buah cabe jawa dan daun mangga arumanis dikeringkan menggunakan alat *freeze dryer*. Hasil pengeringan perasan lemon sebanyak 1000 mL diperoleh 81,2 g ekstrak kering dengan rendemen sebesar 2,03%, sedangkan hasil pengeringan filtrat infusa buah cabe jawa diperoleh bobot sebanyak 23 g ekstrak kering dari 200 g serbuk simplisia dengan rendemen sebesar 11,5% dan untuk hasil pengeringan filtrat infundasi daun mangga arumanis diperoleh bobot sebanyak 25 g dengan rendemen sebesar 12,5%. Persentase rendemen ekstrak buah cabe jawa lebih rendah dibandingkan dengan daun mangga

arumanis disebabkan adanya kemungkinan pada saat penyaringan residu dan filtrat buah cabe jawa kurang maksimal karena cairan ekstraksi sangat kental dan partikel residu sangat menyerap pelarut. Perhitungan rendemen serbuk simplisia dan ekstrak kering dapat dilihat pada Lampiran 5.

#### **4.2.1 Uji Organoleptik Simplisia**

Pengujian organoleptik dilakukan menggunakan panca indera yang meliputi rasa, bau dan warna dari simplisia. Hasil pengujian organoleptik pada simplisia serbuk buah cabe jawa memiliki warna coklat agak kehitaman, bau khas aromatik, dan rasa pedas dan pahit. Simplisia serbuk daun mangga arumanis mempunyai warna hijau, bau khas aromatik dan rasa pahit serta sepat. Organoleptik simplisia pada daun mangga arumanis serupa dengan bahan baku segar dari segi warna, bau dan rasa, sedangkan untuk organoleptik simplisia buah cabe jawa sesuai dengan literatur buah cabe jawa segar yaitu warna merah tua, bau aromatik khas dan rasa pedas serta pahit Syafitri dkk (2023). Perbedaan hanya di warna pada simplisia lebih gelap karena proses pengeringan. Simplisia serbuk buah cabe jawa dan daun mangga arumanis dapat dilihat pada Gambar 6.



Buah Cabe Jawa



Daun Mangga Arumanis

**Gambar 6.** Serbuk Simplisia

#### **4.2.2 Uji Organoleptik Ekstrak**

Pengujian organoleptik dilakukan menggunakan panca indera yang meliputi rasa, bau dan warna dari simplisia. Hasil pengujian organoleptik pada ekstrak serbuk buah cabe jawa memiliki warna coklat agak kehitaman, bau khas aromatik, dan rasa pedas. Simplisia serbuk daun mangga arumanis mempunyai warna hijau, bau khas pahit serta sepat. Organoleptik ekstrak kering buah cabe jawa dan daun mangga arumanis hampir serupa dengan organoleptik pada simplisia namun hanya memiliki perbedaan pada bentuk atau tekstur, pada simplisia partikelnya lebih besar

dibandingkan dengan ekstrak. Ekstrak kering buah cabe jawa, daun mangga arumanis, dan sari buah lemon dapat dilihat pada Gambar 7.



**Gambar 7. Ekstrak Kering**

### 4.3 Uji Fitokimia Ekstrak

Uji fitokimia merupakan metode yang dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman. Uji fitokimia dilakukan dengan menggunakan reagen pendekripsi golongan senyawa yang ingin diketahui. Pengujian fitokimia pada penelitian ini ingin mengetahui keberadaan senyawa flavonoid, tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis pada tanaman yang digunakan sebagai sampel penelitian.

Parameter uji fitokimia pada senyawa flavonoid menggunakan pereaksi serbuk Mg dan HCl pekat. Penambahan logam magnesium dan HCl untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flaviginium (senyawa kompleks) berwarna menjadi jingga atau merah (Haeria dkk., 2016).

Parameter tanin terkondensasi menggunakan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  (Besi III klorida) yaitu adanya perubahan warna hijau kehitaman. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman setelah ditambahkan dengan  $\text{FeCl}_3$ . Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tinta pada ekstrak setelah ditambahkan dengan  $\text{FeCl}_3$  karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion  $\text{Fe}^{3+}$  (Dwika dkk., 2016).

Parameter tanin terhidrolisis menggunakan pereaksi bromide (KBr) yaitu ditandai dengan tidak adanya endapan (Tyler *et al.*, 1976). Terbentuknya endapan pada larutan ekstrak setelah ditambahkan dengan KBr karena tanin akan membentuk endapan menjadi endapan.

Berdasarkan hasil penelitian uji fitokimia ekstrak buah cabe jawa positif mengandung senyawa flavonoid ditandai dengan perubahan warna jingga dan tanin terkondensasi ditandai dengan perubahan warna hijau kehitaman, dan negatif tanin terhidrolisis ditandai dengan terbentuknya endapan. Hal ini sesuai dengan penelitian (Syafitri dkk., 2023), namun tidak menguji jenis tanin yang spesifik. Pada hasil penelitian uji fitokimia ekstrak daun mangga arumanis positif mengandung senyawa flavonoid ditandai dengan perubahan warna jingga dan tanin terkondensasi ditandai dengan perubahan warna hijau kehitaman, dan negatif tanin terhidrolisis ditandai dengan terbentuknya endapan. Hal ini sesuai dengan penelitian (Robiyanto dkk., 2018), namun tidak menguji jenis tanin yang spesifik. Untuk hasil uji fitokimia ekstrak sari buah lemon positif mengandung senyawa flavonoid ditandai dengan perubahan warna jingga dan tanin terkondensasi ditandai dengan perubahan warna hijau kehitaman, dan negatif tanin terhidrolisis ditandai dengan terbentuknya endapan. Hal ini sesuai dengan penelitian (Izza & Rahayu, 2018), namun tidak menguji jenis tanin yang spesifik. Hasil uji fitokimia ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 28.

**Tabel 1.** Hasil Uji Fitokimia Ekstrak

Sampel	Uji Senyawa		
	Flavonoid	Tanin	Tanin
		Terkondensasi	Terhidrolisis
Ekstrak Buah Cabe Jawa	+	+	-
Ekstrak Daun Mangga Arumanis	+	+	-
Serbuk Sari Buah Lemon	+	+	-

#### Keterangan

- (+) : mengandung senyawa
- (-) : tidak mengandung senyawa

#### 4.4 Uji Kadar Air Simplicia dan Ekstrak

Penetapan kadar air dilakukan untuk mengetahui kandungan air yang terdapat dalam simplicia dan ekstrak, memberikan batasan kandungan air yang diizinkan. Kadar air adalah salah satu metode yang sangat penting untuk menentukan mutu

dan ketahanan terhadap kerusakan yang mungkin terjadi pada simplisia dan ekstrak. Semakin tinggi kadar air suatu bahan, akan semakin besar kemungkinan kerusakannya baik sebagai akibat aktivitas biologis internal (metabolisme) maupun masuknya mikroba. Umumnya menggunakan metode gravimetri, penentuan kadar air dilakukan dengan mengeringkan bahan dalam oven suhu 105°C selama 5 jam atau sampai diperoleh berat konstan (Daud dkk., 2020).

Berdasarkan hasil pengujian kadar air simplisia buah cabe jawa diperoleh sebanyak 4,8% dan pada simplisia daun mangga arumanis diperoleh kadar air sebanyak 4,6%. Kadar air yang diperoleh telah memenuhi persyaratan kadar air simplisia pada Farmakope Herbal Edisi II yaitu  $\leq 10\%$  (Kemenkes RI, 2017).

Tidak hanya simplisia, ekstrak kering juga dilakukan pengujian kadar air pada penelitian ini. Hasil pengujian kadar air ekstrak buah cabe jawa diperoleh persentase 6,9% dan pada simplisia daun mangga arumanis diperoleh kadar air sebanyak 6,1%. Serbuk sari lemon diperoleh persentase kadar air sebanyak 5,8%. Hasil kadar air yang diperoleh telah memenuhi persyaratan menurut (Saifudin dkk., 2011) bahwa untuk standar ekstrak kering nilai kadar air  $\leq 10\%$ . Data hasil pengujian kadar air simplisia dan ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 6.

#### 4.5 Uji Kadar Abu Simplisia dan Ekstrak

Uji kadar abu dilakukan bertujuan untuk mengetahui kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak (Utami, 2020). Pada tahap ini ekstrak di pemanaskan pada suhu 600 °C hingga senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sampai tinggal unsur mineral dan anorganik saja. Pada pengujian ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali (triplo).

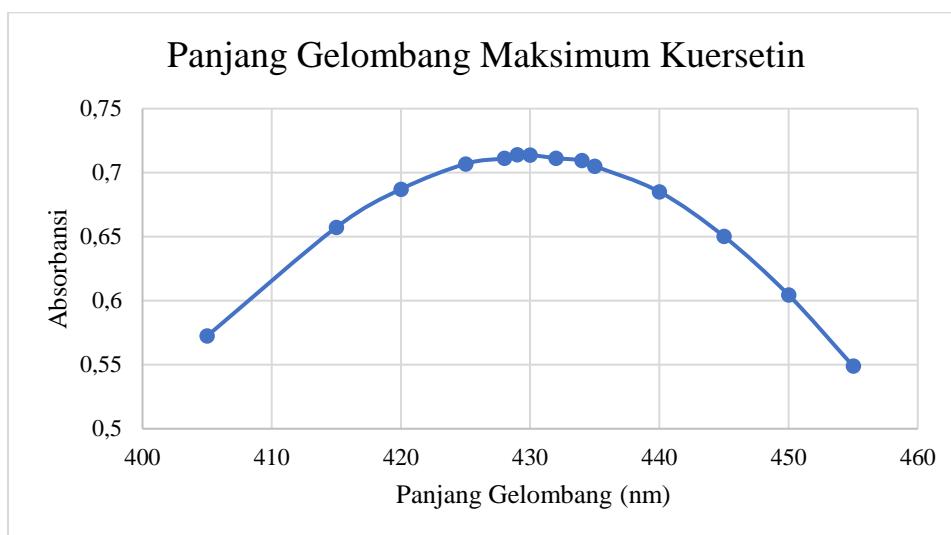
Dalam penelitian ini kandungan kadar abu dalam simplisia cabe jawa yaitu sebesar 5,9%, hasil kadar abu yang diperoleh pada penelitian telah ini memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Edisi II yaitu  $\leq 6,7\%$  (Kemenkes RI, 2017). Hasil kadar abu yang terkandung dalam simplisia daun mangga arumanis yaitu sebesar 5,2%, hasil pengujian pada penelitian ini telah memenuhi syarat karena tidak lebih dari 12% (DepKes RI, 2000).

Selain simplisia, kadungan kadar abu dalam ekstrak buah cabe jawa yaitu sebesar 4,3%, dan pada simplisia daun mangga arumanis diperoleh kadar abu sebanyak 3,8%. Ekstrak sari lemon diperoleh persentase kadar abu sebanyak 2,6%. Hasil kadar abu yang diperoleh telah memenuhi persyaratan menurut % (Maryam dkk., 2020) bahwa untuk standar ekstrak kering nilai kadar abu  $\leq 10,2\%$ . Data hasil pengujian kadar abu simplisia dan ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 7.

#### 4.6 Penetapan Kadar Flavonoid

##### 4.6.1 Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum menggunakan larutan standar kuersetin pada panjang gelombang 400 – 500 nm. Tujuan dilakukannya penentuan panjang gelombang maksimum agar absorbansi berada pada panjang gelombang maksimum sehingga diperoleh kepekaan analisis yang maksimum. Grafik panjang gelombang maksimum kuersetin dapat dilihat pada Gambar 8.

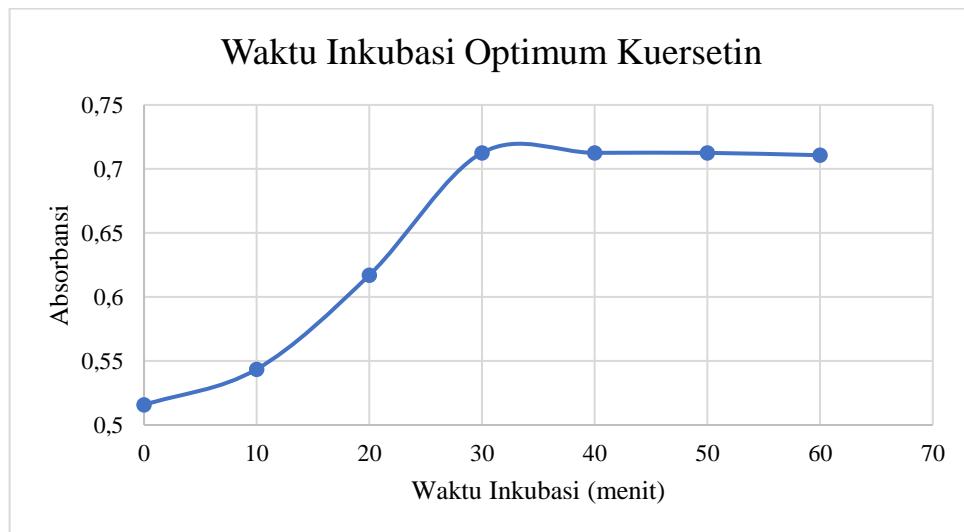


**Gambar 8.** Grafik Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Hasil menunjukkan panjang gelombang maksimum standar kuersetin berada pada 429 nm. Pada panjang gelombang 429 nm memberikan serapan yang maksimal sebesar 0,7141 nm. Dari penetapan yang telah dilakukan didapatkan hasil yang sesuai dengan penelitian (Paokuma dkk., 2023) yang menghasilkan panjang gelombang sama.

##### 4.6.2 Waktu inkubasi Optimum

Penetapan waktu inkubasi optimum dilakukan bertujuan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan zat agar bereaksi secara optimal sehingga menghasilkan serapan yang stabil. Pada penelitian ini, interval waktu inkubasi yang dilakukan yaitu 0, 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 menit. Grafik waktu inkubasi optimum kuersetin dapat dilihat pada Gambar 9.

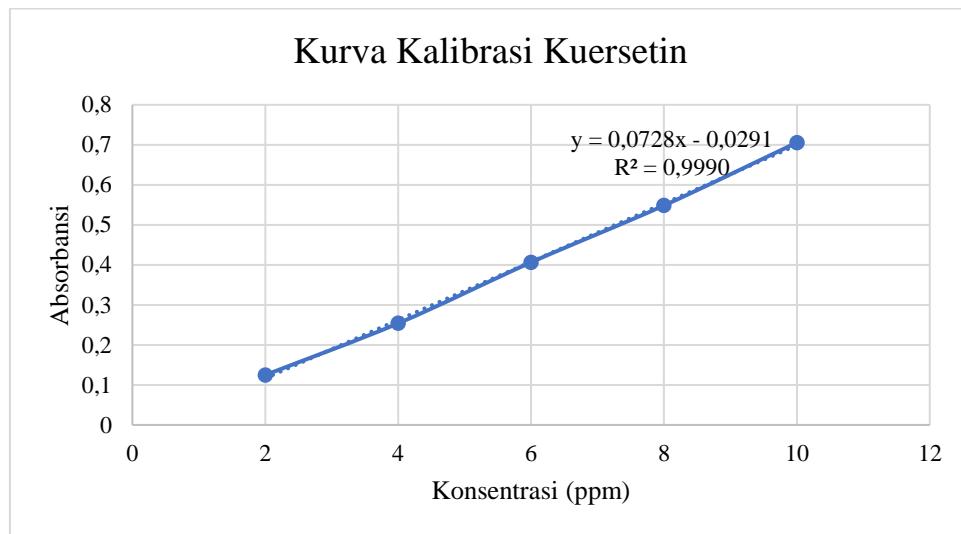


**Gambar 9.** Grafik Waktu Inkubasi Optimum Kuersetin

Hasil waktu inkubasi yang optimum pada penelitian ini yaitu pada waktu ke-30 menit. Hal tersebut ditunjukkan pada grafik absorbansi yang didapat sudah maksimal dan stabil. Serupa dengan penelitian (Aprilia dkk., 2022) waktu inkubasi optimum kuersetin pada waktu 30 menit.

#### 4.6.3 Kurva Kalibrasi Kuersetin

Penetapan kurva kalibrasi bertujuan untuk menentukan konsentrasi suatu zat yang tidak diketahui dalam sampel, yang dapat dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear yaitu  $y = bx + a$ . Kurva deret standar bisa dikatakan linear apabila hasil nilai  $R^2$  (koefisien determinasi) mendekati 1. Deret konsentrasi kuersetin yang digunakan untuk penetapan kurva kalibrasi adalah 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm. Hasil grafik kurva kalibrasi kuersetin dapat dilihat pada Gambar 10.



**Gambar 10.** Grafik Kurva Kalibrasi Kuersetin

Nilai persamaan regresi linear didapatkan yaitu  $y = 0,0728x - 0,0291$  dengan nilai  $R^2 = 0,999$ . Persamaan kurva kalibrasi kuersetin digunakan sebagai pembanding untuk menentukan konsentrasi senyawa flavonoid pada sampel ekstrak.

#### 4.6.4 Hasil Kadar Flavonoid

Pada penelitian ini kadar flavonoid ditentukan berdasarkan metode spektrofotometri UV-Vis. Perlakuan yang dilakukan untuk menentukan kadar flavonoid pada sampel yaitu menambahkan larutan  $\text{AlCl}_3$ , pada larutan sampel penambahan  $\text{AlCl}_3$  berfungsi membentuk kompleks asam yang stabil dengan C-4 gugus keton, lalu dengan C-3 atau C-5 gugus hidroksil. Penambahan natrium asetat bertujuan untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah visible (Chang *et al.*, 2002). Analisis kadar flavonoid dilakukan pada panjang gelombang maksimum 429 nm dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali (triplo). Sebelum dilakukan pengukuran dilakukan inkubasi selama 30 menit agar reaksi berjalan sempurna, sehingga memberikan intensitas warna yang maksimal. Absorbansi yang didapat dihitung konsentrasi dengan persamaan regresi linear yang didapat yaitu  $y = 0,0728x - 0,0291$  dengan nilai  $R^2 = 0,999$ . Hasil perhitungan kadar flavonoid dapat dilihat pada Lampiran 15.

Berdasarkan data yang diperoleh untuk ekstrak buah cabe jawa mengandung kadar flavonoid sebesar  $44,3856 \pm 0,5020$  mg QE/g, kadar pada penelitian memiliki

nilai yang tidak berbeda jauh dengan penelitian (Syafitri dkk., 2023) kadar flavonoid ekstrak etanol buah cabe jawa diperoleh sebesar 47,83 mg QE/g. Serbuk kering sari buah lemon mengandung kadar flavonoid sebesar  $38,4360 \pm 0,1671$  mg QE/g, kadar ini juga tidak berbeda jauh dengan penelitian (Pravita & Dhurhania, 2023) diperoleh sebesar  $38,42 \pm 0,448$  mg QE/100 mL. Ekstrak daun mangga arumanis mengandung kadar flavonoid sebesar  $130,0461 \pm 0,6772$  mg QE/g. Kadar flavonoid tanaman tunggal pada daun mangga arumanis lebih tinggi dibandingkan dengan kadar sampel tunggal lainnya hal ini dibuktikan pada penelitian (Aji dkk., 2023) memiliki kadar yang hampir sama pada penelitian yang dilakukan yaitu 129,95 mg QE/g. Pada ekstrak kombinasi ketiga tanaman mengandung kadar flavonoid sebesar  $148,5125 \pm 0,2616$  mg QE/g. . Hasil data kadar flavonoid dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Kadar Flavonoid

<b>Ekstrak</b>	<b>Rata-Rata Kadar Flavonoid (mg QE/g) ± SD</b>
Buah Cabe Jawa	$44,3856 \pm 0,5020^b$
Sari Buah Lemon	$38,4360 \pm 0,1671^a$
Daun Mangga Arumanis	$130,0461 \pm 0,6772^c$
Kombinasi	$148,5125 \pm 0,2616^d$

Senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak buah cabe jawa, serbuk sari buah lemon, dan ekstrak daun mangga arumanis serta kombinasi ketiga sampel tersebut memiliki kadar flavonoid yang berbeda, dikarenakan dalam masing-masing tanaman memiliki berbagai macam metabolit sekunder dengan nilai kandungan yang berbeda-beda. Buah cabe jawa adalah tanaman dengan spesies *Piper*, menurut (Ferreres *et al.*, 2014) sebagian besar tanaman dengan spesies *Piper* mengandung senyawa flavonoid seperti kuersetin, kaemferol, apigenin dan luteolin. Pada daun mangga terdapat senyawa flavonoid seperti mangiferin, kaempferol-3-O-rutinoside, isokuersetin, dan kuersetin (Kumar dkk., 2021). Selain itu, sari buah lemon mengandung senyawa flavonoid seperti eriocitrin, hesperidin, apigenin,

diosmin, luteolin, dan kuersetin (Klimek-szczykutowicz *et al.*, 2020). Perbedaan kadar senyawa flavonoid pada sampel tunggal dan kombinasi, karena adanya interaksi dari berbagai sampel yang mengakibatkan senyawa dapat terreduksi sehingga memengaruhi kadar flavonoid (Mahfirohtun, 2020).

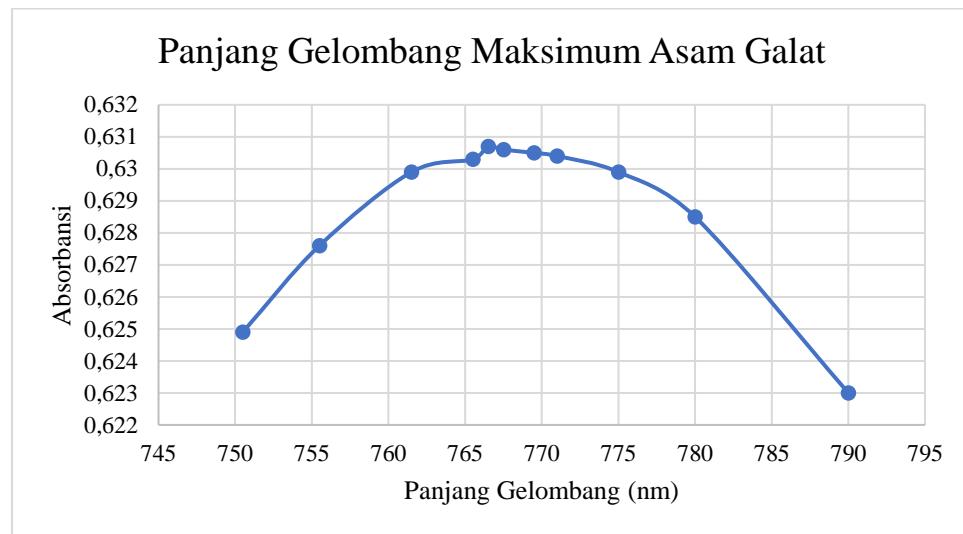
#### **4.6.5 Hasil Analisis Data**

Pada hasil analisis data menggunakan SPSS, untuk uji homogenitas diperoleh nilai  $\text{Sig.} > 0,05$  yaitu sebesar 0,066 yang artinya data berdistribusi homogen. Pada uji normalitas diperoleh nilai  $\text{Sig.} > 0,05$ , masing-masing buah cabe jawa 0,325; sari buah lemon 0,792; daun mangga arumanis 0,248; kombinasi 0,147 yang artinya data berdistribusi normal. Setelah dilakukan uji normalitas dan homogenitas, dilakukan uji *One Way ANOVA* untuk melihat perbedaan yang signifikan. Dalam uji (F) simultan didapatkan F hitung kadar flavonoid sebesar 48399,763 dan F tabel kadar flavonoid sebesar 4,07, maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima artinya masing-masing ekstrak tunggal dan kombinasi ketiga ekstrak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar flavonoid Didapatkan nilai  $\text{Sig.} < 0,05$  ( $\text{Sig.} < 0,05$ ) artinya, ada perbedaan yang signifikan antara kadar flavonoid masing-masing sampel. Diperlukan uji lanjut yaitu uji lanjut Duncan melihat perbedaan yang signifikan dari nilai tengahnya. Berdasarkan hasil analisis uji lanjut Duncan menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kadar flavonoid sari buah lemon, buah cabe jawa, daun mangga arumanis dan kombinasi. Hasil analisis data SPSS dapat dilihat pada Lampiran 29.

### **4.7 Penetapan Kadar Tanin**

#### **4.7.1 Panjang Gelombang maksimum**

Penentuan panjang gelombang maksimum menggunakan larutan asam galat pada panjang gelombang 500 – 900 nm. Tujuan dilakukannya penentuan panjang gelombang maksimum agar absorbansi larutan standar berada panjang gelombang maksimum sehingga diperoleh kepekaan analisis yang maksimum. Grafik panjang gelombang maksimum kuersetin dapat dilihat pada Gambar 11.

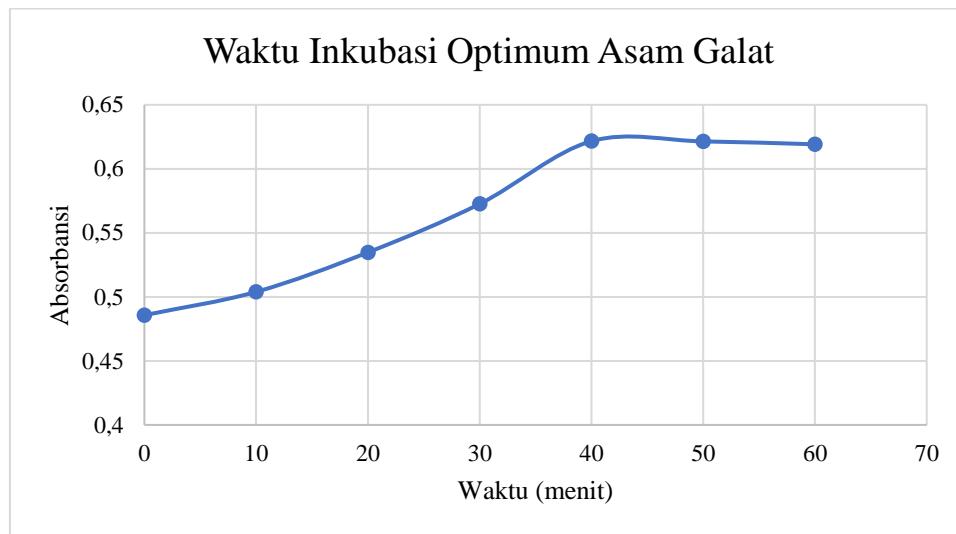


**Gambar 11.** Grafik Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

Hasil menunjukkan panjang gelombang maksimum standar asam galat berada pada 766,5 nm. Pada panjang gelombang 766,5 nm memberikan serapan yang maksimal sebesar 0,6307 nm. Dari penetapan yang telah dilakukan didapatkan hasil yang sesuai dengan penelitian (Christiani dkk., 2023) yang menghasilkan panjang gelombang yang mendekati yaitu 766 nm.

#### 4.7.2 Waktu Inkubasi Optimum

Penetapan waktu inkubasi optimum dilakukan bertujuan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan zat agar bereaksi secara optimal sehingga menghasilkan serapan yang stabil. Pada penelitian ini, waktu inkubasi yang dilakukan 0 - 60 menit dengan selisih waktu 10 menit. Grafik waktu inkubasi optimum asam galat dapat dilihat pada Gambar 12.

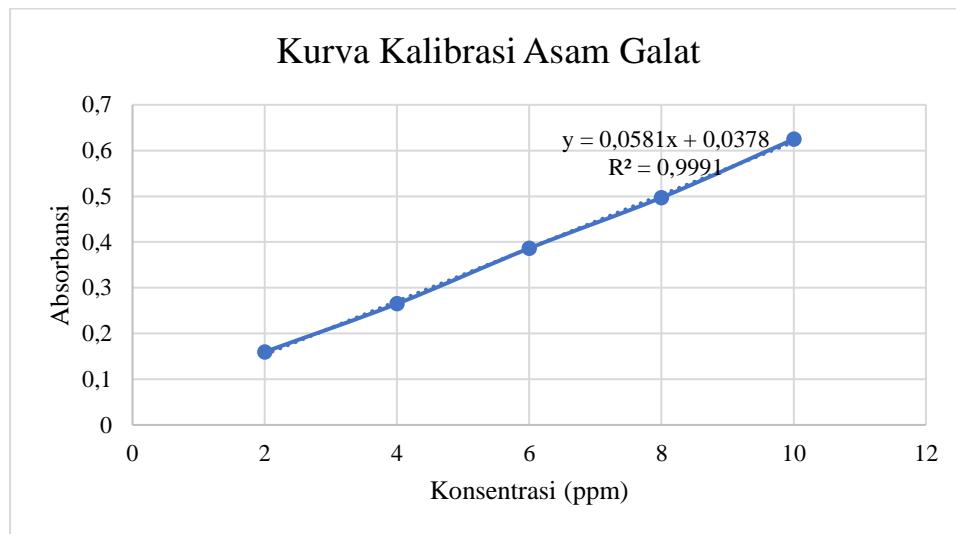


**Gambar 12.** Grafik Waktu Inkubasi Optimum Asam Galat

Hasil waktu inkubasi yang optimum yaitu pada menit ke-40. Hal tersebut ditunjukkan pada grafik absorbansi yang didapat sudah maksimal dan stabil. Pada penelitian (Salim, 2021) waktu inkubasi optimum dari asam galat didapat pada waktu 40 menit.

#### 4.7.3 Kurva Kalibrasi Asam Galat

Penentuan kurva kalibrasi bertujuan untuk menentukan konsentrasi suatu zat yang tidak diketahui dalam sampel, yang dapat dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear yaitu  $y = bx + a$ . Kurva deret standar bisa dikatakan linear bila nilai  $R^2$  (koefisien determinasi) nilainya mendekati 1. Adapun deret konsentrasi asam galat yang digunakan untuk penetapan kurva standar yaitu 2,4,6,8 dan 10 ppm. Hasil grafik kurva kalibrasi kuersetin dapat dilihat pada Gambar 13.



**Gambar 13.** Grafik Kurva Kalibrasi Asam Galat

Nilai persamaan regresi linear didapatkan yaitu  $y = 0,0581x + 0,0378$  dengan nilai  $R^2 = 0,9991$ . Persamaan regresi linear asam galat ini digunakan sebagai pembanding untuk menentukan konsentrasi senyawa flavonoid pada sampel ekstrak.

#### 4.7.4 Hasil Kadar Tanin

Pada penelitian ini kadar tanin ditentukan berdasarkan metode spektrofotometri UV-Vis. Perlakuan yang dilakukan untuk menentukan kadar tanin pada sampel yaitu menambahkan reagen folin ciocalteu. Gugus hidroksil pada fenol bereaksi dengan reagen folin ciocalteu membentuk senyawa kompleks berwarna biru yang dapat dideteksi dengan spektrofotometer. Penambahan natrium karbonat digunakan agar kondisi menjadi basa (Karim dkk., 2021). Analisis kadar tanin dilakukan pada panjang gelombang maksimum 766,5 nm dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali (triplo). Sebelum dilakukan pengukuran dilakukan inkubasi selama 40 menit agar reaksi berjalan sempurna, sehingga memberikan intensitas warna yang maksimal. Absorbansi yang didapat dihitung konsentrasi dengan persamaan regresi linear yang didapat yaitu  $y = 0,0581x + 0,0378$  dengan nilai  $R^2 = 0,9991$ . Hasil perhitungan kadar tanin dapat dilihat pada Lampiran 27.

Metode penetapan kadar tanin yang digunakan pada penelitian ini adalah modifikasi dari metode penelitian Amorim *et al.*, (2008). Dalam metode penelitian Amorim *et al.*, (2008), penentuan konsentrasi tanin dihitung sebagai selisih antara

konsentrasi polifenol total dan konsentrasi polifenol non tanin. Polifenol non tanin didapatkan dengan menghilangkan tanin dari polifenol total dengan cara penambahan protein (gelatin), sehingga tanin akan membentuk endapan yang terpisah dari filtrat. Modifikasi penelitian yang dilakukan adalah menganalisis larutan uji kontrol gelatin (sebagai protein) yang digunakan untuk mengendapkan tanin. Hal ini, protein akan menjadi matriks analisis, sehingga perlu dilakukan analisis terhadap matriks dari protein.

Metode penelitian ini terdapat matriks analisis yaitu gelatin dan pelarut, maka dari itu dilakukan pengukuran blanko pelarut dan blanko gelatin (larutan uji kontrol gelatin). Adapun fungsi dari blanko pelarut yaitu mengetahui pengaruh pelarut ketika direaksikan dengan pereaksi follin ciocalteu dan natrium karbonat. Penggunaan blanko pelarut biasanya sebagai *zero set* pada spektrofotometer.

Menurut teori, kandungan gelatin pada larutan uji kontrol gelatin tidak bisa bereaksi dengan pereaksi follin ciocalteu, dikarenakan gelatin adalah protein tidak memiliki gugus yang dapat teroksidasi. Namun, hasil modifikasi metode ini larutan uji kontrol gelatin memberikan serapan setelah direaksikan dengan pereaksi follin ciocalteu dan natrium karbonat. Hal ini bisa terjadi karena protein dapat bereaksi dengan logam membentuk kompleks, yang selanjutnya dapat bereaksi dengan pereaksi follin ciocalteu, yang merupakan prinsip dari metode lowry. Prinsip kerja dari metode Lowry adalah reaksi antara protein dengan asam fosfotungstato-fosfomolibdat pada suasana alkalis akan memberikan warna biru yang intensitasnya tergantung pada konsentrasi protein yang ditera.

Berdasarkan data yang diperoleh untuk ekstrak buah cabe jawa mengandung kadar tanin sebesar  $1,3690 \pm 0,0321$  mg GAE/g, serbuk sari buah lemon mengandung kadar polifenol umum sebesar  $0,8799 \pm 0,0043$  mg GAE/g, ekstrak daun mangga arumanis mengandung kadar tanin sebesar  $2,2504 \pm 0,0274$  mg GAE/g, dan ekstrak kombinasi ketiga tanaman mengandung kadar tanin sebesar  $2,6167 \pm 0,0182$  mg GAE/g. Hasil data kadar tanin dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil Kadar Tanin

<b>Ekstrak</b>	<b>Rata-Rata Kadar Tanin (mg GAE/g) ± SD</b>
Buah Cabe Jawa	1,3690 ± 0,0321 <sup>b</sup>
Sari Buah Lemon	0,8799 ± 0,0043 <sup>a</sup>
Daun Mangga Arumanis	2,2504 ± 0,0274 <sup>c</sup>
Kombinasi	2,6167 ± 0,0182 <sup>d</sup>

Kadar tanin yang terkandung dalam ekstrak buah cabe jawa, serbuk sari buah lemon, dan ekstrak daun mangga arumanis serta kombinasi ketiga sampel tersebut memiliki kadar yang berbeda, dikarenakan dalam setiap tanaman memiliki berbagai metabolit sekunder dengan kandungan yang berbeda. Kadar senyawa tanin yang berbeda pada sampel tunggal dan kombinasi, karena dimungkinkan sama halnya seperti senyawa flavonoid karena adanya interaksi dari berbagai sampel yang mengakibatkan senyawa dapat tereduksi sehingga memengaruhi kadar tanin (Mahfirohtun, 2020).

#### 4.7.5 Hasil Analisis Data

Berdasarkan output data SPSS, untuk uji homogenitas diperoleh nilai Sig. > 0,05 yaitu sebesar 0,088 yang artinya data berdistribusi homogen. Pada uji normalitas diperoleh nilai Sig. > 0,05, masing-masing buah cabe jawa 0,238; sari buah lemon 0,806; daun mangga arumanis 0,645; kombinasi 0,268 yang artinya data berdistribusi normal.

Setelah dilakukan uji normalitas dan homogenitas, dilakukan uji *One Way* ANOVA untuk melihat perbedaan yang signifikan. Dalam uji (F) simultan didapatkan F hitung kadar tanin sebesar 3551,381 dan F tabel kadar tanin sebesar 4,07, karena F hitung > F tabel maka H<sub>0</sub> ditolak dan H<sub>1</sub> diterima artinya masing-masing ekstrak tunggal dan kombinasi ketiga ekstrak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar tanin. Didapatkan nilai Sig. 0,000 (Sig. < 0,05) artinya, ada perbedaan yang signifikan antara kadar tanin masing-masing sampel. Diperlukan uji lanjut yaitu uji lanjut Duncan yang dilihat dari nilai tengahnya,

menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kadar tanin sari buah lemon, buah cabe jawa, daun mangga arumanis dan kombinasi. Hasil analisis data SPSS dapat dilihat pada Lampiran 29.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

1. Hasil analisa kadar flavonoid pada ekstrak buah cabe jawa, ekstrak daun mangga arumanis, serbuk sari buah lemon dan kombinasi ketiga ekstrak diperoleh secara berturut-turut adalah  $44,38 \pm 0,5020$  mg QE/g;  $130,04 \pm 0,6772$  mg QE/g;  $38,43 \pm 0,1671$  mg QE/g dan  $148,51 \pm 0,2616$  mg QE/g.
2. Hasil analisa kadar tanin pada ekstrak buah cabe jawa, ekstrak daun mangga arumanis, serbuk sari buah lemon dan kombinasi ketiga ekstrak diperoleh secara berturut-turut adalah  $1,36 \pm 0,0321$  mg GAE/g;  $2,25 \pm 0,0274$  mg GAE/g;  $0,87 \pm 0,0043$  mg GAE/g dan  $2,61 \pm 0,0182$  mg GAE/g.
3. Terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar flavonoid dan kadar tanin ekstrak buah cabe jawa, ekstrak daun mangga arumanis, serbuk sari perasan lemon dan kombinasi ketiga ekstrak.

#### **5.2 Saran**

Saran untuk penelitian selanjutnya, filtrat yang mengandung polifenol non tanin digunakan untuk menganalisis kadar flavonoid. Selain itu, senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman dapat diidentifikasi lebih spesifik dengan metode yang berbeda.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aimaier, S., Tao, Y., Lei, F., Yupeng, Z., Wenhui, S., Aikemu, A., & Maimaitiyiming, D. (2023). Protective effects of the Terminalia bellirica tannin-induced Nrf2/HO-1 signaling pathway in rats with high-altitude pulmonary hypertension. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23(1), 1–11.
- Aji, O. R., Bastiani, N., Tari, M. R., & Putri, D. A. (2023). Aktivitas Inhibitor Lipase Ekstrak Daun Mangga Arum Manis dan Mangga Kweni Secara In Vitro. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 17(1), 1–9.
- Amorim, E. L. C., Nascimento, J. E., Monteiro, J. M., Sobrinho, T. J. S. P., Araújo, T. A. S., & Albuquerque, U. P. (2008). A Simple and Accurate Procedure for the Determination of Tannin and Flavonoid Levels and Some Applications in Ethnobotany and Ethnopharmacology. *Functional Ecosystems and Communities*. 2(1), 88–94.
- Aprilia, A. Y., Agustiani, N., & Salasanti, C. D. (2022). Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antipiretik Ekstrak Etanol Buah Kapulaga (*Amomum compactum* Soland. ex Maton). *Prosiding Seminar Nasional Diseminasi Hasil Penelitian Program Studi S1 Farmasi*, Vol 2, 279–285.
- BPOM RI. 2010. *Acuan Sediaan Herbal, Volume Kelima Edisi Pertama*. Jakarta: Direktorat OAI.
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L. (2019). Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), 551.
- Chang, C., Yang, M., Wen H., and Chern. J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. Food Drug Anal*, 10(3). 178-182.
- Christiani, G., Rawar, E., & Yuhara, N. (2023). Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH dan Kandungan Fenol Total dalam Minyak Atsiri

- Daun Sirih Hijau. *Journal of Pharmacy Science and Practice*, 10(2), 2657–2311.
- Daud, A., Suriati, S., & Nuzulyanti, N. (2020). Kajian Penerapan Faktor yang Mempengaruhi Akurasi Penentuan Kadar Air Metode Thermogravimetri. *Lutjanus*, 24(2), 11–16.
- Departemen Kesehatan RI., 1995. *Farmakope Indonesia, Edisi IV*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan : Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: DirJen POM.
- Departemen Kesehatan RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta.
- Devi, N. P. L. R., Hardiana, I., & Putra, A. P. (2023). Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Bajakah Kalalawit (*Uncaria gambir* (W.Hunter) Roxb) Sebagai Anti Hipertensi Pada Mencit (*Mus musculus*) Jantan. *Jurnal Farmasi Kryonaut*, 2(2), 77–84.
- Dewi, D. A. L. (2021). Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Lipase Ekstrak Buah Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) Secara In-vitro Sebagai Anti-Hiperlipidemia. Univeritas Jember.
- Dwika, W., Putra, P., Agung, A., Oka Dharmayudha, G., & Sudimartini, L. M. (2016). Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) di Bali. *Indonesia Medicus Veterinus Oktober*, 5(5), 464–473.
- Fabbrini, M., D'amico, F., Barone, M., Conti, G., Mengoli, M., Brigidi, P., & Turroni, S. (2022). Polyphenol and Tannin Nutraceuticals and Their Metabolites: How the Human Gut Microbiota Influences Their Properties. *Biomolecules*, 12(7), 1–19.
- Fajrina, A., Jubahar, J., & Sabirin, S. (2016). Penetapan Kadar Tanin pada Teh Celup yang Beredar Dipasaran Secara Spektofotometri UV-VIS. *Jurnal Farmasi Higea*, 8(2), 133–142.
- Ferrerres, F., Oliveira, A.P., Gil-Izquierdo, A., Valentão, P., Andrade, P.B., 2014. Piper betle leaves: profiling phenolic compounds by HPLC/DAD–ESI/MS and anti- cholinesterase activity. *Phytochemical Analysis* 25, 453–460.

- Fitriani, U., Wijayanti, E., Nisa, U., & Zulkarnain, Z. (2018). The Activitiy of Potion of Java Chillies, Spoon Leaves and Celery on Hyperuricemic Rats. *Indonesian Journal of Medicinal Plants*, 11(2), 33–39.
- Gaidhani, K. A., Harwalkar, M., Bhambere, D., & Nirgude, P. S. (2015). Lyophilizaton/Freeze Drying a Review. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4(8), 516-543.
- Haeria, Hermawati, P. A. (2016). Penentuan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bidara. *Journal of Pharmaceutical and Medical Sciences*, 1(2), 57–61.
- Hagerman, A.E., Rice, M.E., Ritchard, N.T., 1998. Mechanisms of protein precipitation for two tannins, pentagalloyl glucose and epicatechin16 (4->8) catechin (procyanidin). *J. Agric. Food Chem.* 46,2590-2595.
- Hanani, E. 2015. *Analisis Fitokimia*. Gramedia Digital Indonesia. Jakarta.
- Hasriyani, H., Akhyasin, A., & Dikdayani, L. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan dan Kadar Flavonoid Total Pada Ekstrak Etanol Biji Dan Kulit Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Dengan Metode DPPH. *Indonesia Jurnal Farmasi*, 6(1), 8.
- Hikmawanti, N. P. E., Hanani, E., Maharani, S., & Putri, A. I. W. (2021). Kadar Piperin Ekstrak Buah Cabe Jawa dan Lada Hitam dari Daerah dengan Ketinggian Berbeda. *Jurnal Jamu Indonesia*, 6(1), 16–22.
- Ichsan, M. C., & Wijaya. (2014). Karakteristik Morfologis dan Beberapa Keunggulan Mangga Arumanis (*Mangifera indica* L.). *Agritrop Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 66–72.
- Izza, E. A., & Rahayu, L. O. (2018). Aktivitas Antibakteri Air Perasan Jeruk Purut (*Citrus hystrix*), Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*), dan Jeruk Lemon (*Citrus limon*) Pada *Streptococcus pyogenes*. *Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang*, 1–7.
- Kabiru, A. A., Joshua, A. A., & Raji, A. O. (2013). Effect of slice thickness and hot-air temperature on the kinetics Of Mango (*Mangifera Indica*). *IJRAS*. 15(1), 41–50.
- Karak, P. (2019). Biological Activities of Flavonoids: an Overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(4), 1567–1574.

- Karim, A., Ma'ruf, D., & Rahim, M. (2021). Penetapan Kadar Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Yang Berasal Dari Kabupaten Jeneponto Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Farmasi Pelamonia*, 1(1), 2775–8567.
- Khafid, A., Dwijunianto Wiraputra, M., Christyaji Putra, A., Khoirunnisa, N., Awalia Kirana Putri, A., Widodo Agung Suedy, S., Nurchayati. (2023). Uji Kualitatif Metabolit Sekunder pada Beberapa Tanaman yang Berkhasiat sebagai Obat. *Buletin Anatomi dan Fisiologi Volume 8 Nomor 1*.
- Klimek-szczykutowicz, M., Szopa, A., & Ekiert, H. (2020). *Citrus limon* (Lemon) phenomenon—a review of the chemistry, pharmacological properties, applications in the modern pharmaceutical, food, and cosmetics industries, and biotechnological studies. *Plants*, 9(1).
- Kumar, M., Saurabh, V., Tomar, M., Hasan, M., Changan, S., Sasi, M., Maheshwari, C., Prajapati, U., Singh, S., Prajapat, R. K., Dhumal, S., Punia, S., Amarowicz, R., & Mekhemar, M. (2021). Mango (*Mangifera indica* l.) leaves: Nutritional composition, phytochemical profile, and health-promoting bioactivities. *Antioxidants*, 10(2), 1–23.
- Kumontoy, D., G., Deeng., D., & Mulianti, T. (2023). Pemanfaatan Tanaman Herbal Sebagai Obat Tradisional Untuk Kesehatan Masyarakat Di Desa Guaan Kecamatan Mooat Kabupaten Bolaang Mongondow Timur. *Jurnal Holistik*. 16(3), 1–20.
- Mahfirotun, Y. (2020). Penentuan Kadar Senyawa Flavonoid Ekstrak Kombinasi Buah Anggur, Tin, Delima dan Zaitun Menggunakan Analisis Spektrofotometer UV-Vis. *Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim*.
- Marjoni, M. R. (2016). *Dasar dasar fitokimia*. Jakarta: Trans Info Media, 39-43.
- Maryam, F., Taebe, B., & Toding, D. P. (2020). Pengukuran Parameter Spesifik Dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Matoa (*Pometia pinnata* J. R & G.Forst). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 6(01), 1–12.

- Mehmood, H., Mehmood, J., & Zulfiqar, N. (2023). Exploring the Phytochemistry and Pharmacology of *Mangifera indica* L. (Mango) Leaves: A Review. *SSRN Electronic Journal*, 4, 9–18.
- Motta, S., Guaita, M., Cassino, C., & Bosso, A. (2020). Relationship between polyphenolic content, antioxidant properties and oxygen consumption rate of different tannins in a model wine solution. *Food Chemistry, Volume 313*.
- Namita, P., & Mukesh, R. (2012). Medicinal Plants Used As Antimicrobial Agents: a Review. *International Research Journal of Pharmacy*, 3(1), 31–40.
- Ningsih, D. R. (2017). Ekstrak Daun Mangga (*Mangifera indica* L.) Sebagai Antijamur Terhadap Jamur *Candida albicans* Dan Identifikasi Golongan Senyawanya. *Jurnal Kimia Riset*, 2(1), 61.
- Nofita, D., Sari, S. N., & Mardiah, H. (2020). Penentuan Fenolik Total dan Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata* J. R & G.Forst) secara Spektrofotometri. *Chimica et Natura Acta*, 8(1), 36.
- Nofrianti, R. (2013). Metode freeze drying bikin keripik makin crunchy. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 2(1).
- Oktavia, S. N., Wahyuningsih, E., Andasari, S. D., & Normaidah. (2020). Skrining Fitokimia Dari Infusa Dan Ekstrak Etanol 70% Daun Cincau Hijau(*Cyclea barbata* Miers). *CERATA Jurnal Ilmu Farmasi*, 11(1), 1–6.
- Pakaya, S., Une, S., & Antuli, Z. (2021). Karakteristik Kimia Minuman Isotonik Berbahan Baku Air Kelapa (*Cocos nucifera*) Dan Ekstrak Jeruk Lemon (*Citrus limon*). *Jambura Journal of Food Technology*, 3(2), 102–111.
- Paokuma, F., Syarif, R. A., & Najib, A. (2023). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Senyawa Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Patikan Kebo (*Ephorbia hirta* ). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 10(1), 35–38.
- Parvez, G. M. (2016). Pharmacological Activities of Mango (*Mangifera Indica*): A Review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry JPP*, 1(53), 1–7.
- Patra, A. K., & Saxena, J. (2011). Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(1), 24–37.
- Pravita, C. S., & Dhurhania, C. E. (2023). Penetapan kadar flavonoid total perasan

- lemon (*Citrus limon* (L.) Osbeck) secara spektrofotometri UV-Vis. *Health Sciences and Pharmacy Journal*, 7(1), 175–183.
- Pujiastuti, E., & El'Zeba, D. (2021). Perbandingan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 70% dan 96% Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Dengan Spektrofotometri. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 5(1), 28–43.
- Purbaya, S., Aisyah, L. S., Jasmansyah, J., & Arianti, W. E. (2018). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Jahe Merah (*Zingiber officinale Roscoe* var. sunti) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kartika Kimia*, 1(1), 29–34.
- 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. Dalam *Generics: Journal of Research in Pharmacy* (Vol. 1, Nomor 2).
- Ridho, R. (2020). Pengaruh Bauran Pemasaran Terhadap Keputusan Jeruk Lemon Impor (Studi Kasus: Berastagi Supermarket Kota Medan)". Universitas Islam Negeri Sumatera Utara.
- Robiyanto, Kusuma, R., & Untari, E. K. (2018). Potensi Antelmintik Ekstrak Etanol Daun Mangga Arumanis (*Mangifera indica* L.) pada Cacing *Ascaridia galli* Dan *Raillietina tetragona* secara In Vitro. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(2), 81–89.
- Roseno, M., Sudaryat, Y., & Widayastiwi (2019). Immunomodulatory Activity of Ethanol Kemukus Extract (*Piper cubeba*), Kiseureuh (*Piper aduncum*), and *P. retrofractum* (*P. retrofractum*) in Male Balb /C (Immunomodulatory Activity of Ethanolic Extract of Kemukus) *P. retrofractum* (*P. retrofractum*) in Balb / C Mice). 17(2), 255-261.
- Ruiz-Cruz S., Chaparro-Hernández S., Hernández-Ruiz K.L., Cira-Chávez L.A., Estrada-Alvarado M.I., Ortega L.E.G., Ornelas-Paz L.L., Mata M.A.L. Flavonoids: Important Biocompounds in Food. In: Justino G.C., editor. *Flavonoids—From Biosynthesis to Human Health*. Intech Open; London, UK: 2017.
- Saifudin, A., Rahayu, V., dan Teruna, H., Y, 2011, *Standarisasi Bahan Obat Alam*.

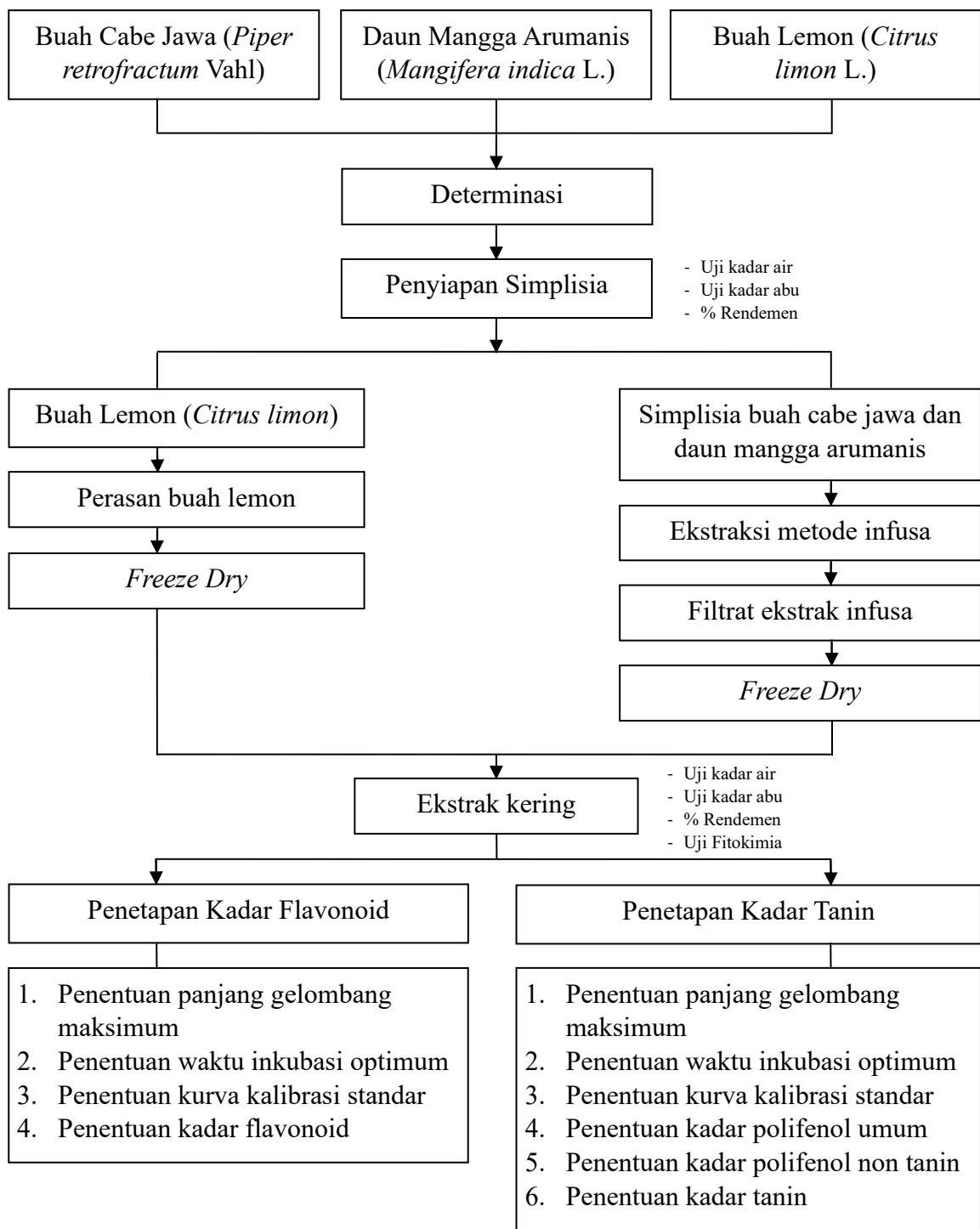
- Graha Ilmu* : Yogyakarta.
- Salim, R. & dkk. (2021). Kadar Fenolat, Flavonoid Si Ungu Mentawai (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff). *Katalisator*, 6(1), 34–54.
- Salleh, W. M. N. H. W., & Ahmad, F. (2020). Phytopharmacological investigations of *Piper retrofractum* Vahl. – A review. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 85(3), 193–202.
- Samec D., Karalija E., Sola I., Bok V.V., Salopek-Sondi B. The role of polyphenols in abiotic stress response: The influence of molecular structure. *Plants*. 2021;10:118.
- Santosa, A., Purnawarman, T., Mustika, A. A., Rahma, A., & Lina Noviyanti Sutardi. (2023). Efektivitas infusa buah jambu bol (*Syzygium malaccense*) sebagai antidiare pada mencit (*Mus musculus*). *Current Biomedicine*, 2(1), 21–28.
- Schofield, P., Mbugua, D. M., & Pell, A. N. (2001). Analysis of condensed tannins: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 91(1–2), 21–40.
- Segara, Y. & Kurniawan, A. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Flavonoid Total pada Ekstrak Etanol Daun Iler (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth.). *Jurnal Farmasi dan Farmakoinformatika*, 1(1), 60–75.
- Sembiring Timbangen, Dayana Indri, Rianna Martha. (2019). *Alat Pengujian Material*. Bogor: Guepedia.
- Shah, K., Patel, M., Patel, R., & Parmar, P. (2010). *Mangifera Indica* (Mango). *Pharmacognosy Reviews*, 4(7), 42–48.
- Shethi, K. J., P. Rashid, M. Begum, dan M. O. Rahman. 2019. Morphoanatomical profile of five species of piper L. from bangladesh and its taxonomic significance. *Bangladesh Journal of Plant Taxonomy*. 26(1):57-68.
- Shiyan, S., Pratiwi, G., Sari, A. R., & Alta, U. (2022). *Narrative Review: Profil Fitokimia Dan Potensi Farmakologi Citrus limon*. *Jurnal 'Aisyiyah Medika*, 7(2), 34–48.
- Sriarumtias, F. F., Najihudin, A., Rantika, N., & Nengsих, R. (2020). Antibacterial Activity Of Tangerine Powder (*Citrus reticulata* Blanco.) Against Caries

- Causing Bacteria (*Streptococcus mutans*). *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(2), 148–157.
- Susilawati, S., & Kasron, K. (2019). Jus Lemon untuk menurunkan Hipertensi pada Warga di Desa Menganti Kabupaten Cilacap. *Journal of Community Engagement in Health*, 2(2), 9–13.
- Swaroop, A., Stohs, S. J., Bagchi, M., Moriyama, H., & Bagchi, D. (2018). Mango (*Mangifera indica* Linn) and anti-inflammatory benefits: Versatile roles in mitochondrial bio-energetics and exercise physiology. *Functional Foods in Health and Disease*, 8(5), 267–279.
- Syafitri, M. H., Suryandari, M., & Martha, J. A. (2023). Pengaruh Pengeringan Terhadap Senyawa Fitokimia Simplisia dan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Buah Cabe Jawa. *Journal of Herbal, Clinical and Pharmaceutical Science*, 4(2), 18-26.
- Tyler, V. E., Brady L. R., Robbers J. E. 1976. *Pharmacognosy*. Seventh Edition. London : Lea & Febiger 134-170
- Utami, Y. P. (2020). Pengukuran Parameter Simplisia Dan Ekstrak Etanol Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M. Sm) Asal Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, 24(1), 6–10.
- Utari, D. A. P., Anggreni, N. P. R., Putri, P. R. J., & Laksmiani, N. P. L. (2021). Aktivitas Kuersetin sebagai Antihipertensi secara in silico. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 7(1), 71–76.
- Verawati, V., Sari, T. M., & Savera, H. (2020). Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kadar Fenolat Total dalam Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.). *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia*, 17(1), 90.
- Wang, T. yang, Li, Q., & Bi, K. shun. (2018). Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(1), 12–23.
- Waruwu, I. S., Rawar, E. A., & Kristiyani, A. (2023). Penetapan Kadar Flavonoid Total Dan Fenolik Total Serta Uji Penghambatan Denaturasi Protein Dalam

Seduhan Teh Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.). *Majalah Farmasi Farmakologi*, 27(2), 47–51.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Alur Penelitian



## Lampiran 2. Surat Determinasi Cabe Jawa



### DIREKTORAT PENGELOLAAN KOLEKSI ILMIAH

Gedung B.J. Habibie JL. M.H Thamrin No. 8, Jakarta Pusat 10340

Telepon/WA:+62811 1064 6760; Surel: [dit-pki@brin.go.id](mailto:dit-pki@brin.go.id)

Laman: [www.brin.go.id](http://www.brin.go.id)

Nomor : B-872/II.6.2/IR.01.02/5/2023

10 Mei 2023

Lampiran : -

Perihal : Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan

Yth.

Bpk./Ibu/Sdr(i). **Lusi Agus Setiani**

Universitas Indonesia

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah BRIN Cibinong, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1.	Cabe Jawa	<i>Piper retrofractum</i> Vahl	Piperaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Plt. Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah,  
Badan Riset dan Inovasi Nasional

TT ELEKTRONIK  
BRIN

Dr. Ratih Damayanti, S.Hut. M.Si.



Dokumen ini ditandatangani secara elektronik menggunakan sertifikat dari BRIN. Silakan lakukan verifikasi pada dokumen elektronik yang dapat diunduh dengan melakukan scan QR Code.

### Lampiran 3. Surat Determinasi Daun Mangga Arumanis



#### DIREKTORAT PENGELOLAAN KOLEKSI ILMIAH

Gedung B.J. Habibie JL. M.H Thamrin No. 8, Jakarta Pusat 10340

Telepon/WA:+62811 1064 6760; Surel: [dit-pki@brin.go.id](mailto:dit-pki@brin.go.id)

Laman: [www.brin.go.id](http://www.brin.go.id)

Nomor : B-867/II.6.2/IR.01.02/5/2023

10 Mei 2023

Lampiran : -

Perihal : Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan

Yth.

Bpk./Ibu/Sdr(i). **Lusi Agus Setiani**

Universitas Indonesia

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah BRIN Cibinong, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1.	Daun Mangga Arumanis	<i>Mangifera indica L.</i>	Anacardiaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Plt. Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah,  
Badan Riset dan Inovasi Nasional



Dr. Ratih Damayanti, S.Hut. M.Si.



Dokumen ini ditandatangani secara elektronik menggunakan sertifikat dari BRIN. Silakan lakukan verifikasi pada dokumen elektronik yang dapat diunduh dengan melakukan scan QR Code.

## Lampiran 4. Surat Determinasi Lemon



### DIREKTORAT PENGELOLAAN KOLEKSI ILMIAH

Gedung B.J. Habibie JL. M.H Thamrin No. 8, Jakarta Pusat 10340

Telepon/WA:+62811 1064 6760; Surel: [dit-pki@brin.go.id](mailto:dit-pki@brin.go.id)

Laman: [www.brin.go.id](http://www.brin.go.id)

Nomor : B-871/II.6.2/IR.01.02/5/2023

10 Mei 2023

Lampiran : -

Perihal : Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan

Yth.

Bpk./Ibu/Sdr(i). **Lusi Agus Setiani**

Universitas Indonesia

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah BRIN Cibinong, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1.	Jeruk Lemon	<i>Citrus × limon</i> (L.) Osbeck	Rutaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Plt. Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah,  
Badan Riset dan Inovasi Nasional



Dr. Ratih Damayanti, S.Hut. M.Si.



Dokumen ini ditandatangani secara elektronik menggunakan sertifikat dari BRIN. Silakan lakukan verifikasi pada dokumen elektronik yang dapat diunduh dengan melakukan scan QR Code

**Lampiran 5.** Hasil Rendemen Serbuk Simplisia dan Ekstrak Kering  
Rendemen Serbuk Simplisia

1. Buah Cabe Jawa

Berat sortasi basah = 1500 gram

Berat serbuk simplisia = 500 gram

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{500 \text{ gram}}{1500 \text{ gram}} \times 100\% = 33,3\%$$

2. Daun Mangga Arumanis

Berat sortasi basah = 3000 gram

Berat serbuk simplisia = 500 gram

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{500 \text{ gram}}{3000 \text{ gram}} \times 100\% = 16,6\%$$

Rendemen Ekstrak Kering

1. Buah Cabe Jawa

Berat serbuk simplisia = 200 gram

Berat serbuk ekstrak = 23 gram

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{23 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100\% = 11,5\%$$

2. Daun Mangga Arumanis

Berat serbuk simplisia = 200 gram

Berat serbuk ekstrak = 25 gram

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{25 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100\% = 12,5\%$$

3. Sari Lemon

Berat buah segar = 4000 gram

Berat serbuk sari = 81,2 gram

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{81,2 \text{ gram}}{4000 \text{ gram}} \times 100\% = 2,03\%$$

### Lampiran 6. Hasil Kadar Air Simplisia dan Ekstrak

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{\text{Cawan isi sebelum dipanaskan (g)} - \text{Cawan isi setelah dipanaskan (g)}}{\text{Bobot Sampel (g)}} \times 100\%$$

#### Kadar Air Simplisia

Ulangan	Sampel	Bobot Sampel (g)	Bobot Cawan Isi Sebelum Pemanasan (g)	Bobot Cawan Isi Setelah Pemanasan (g)	Kadar Air (%)	Rata-rata ± SD
1		2,0086	54,4468	54,3702		
				54,3586	4,4956	
				54,3565		
2	Cabe Jawa	2,0132	56,6944	56,5998		
				56,5914	5,1957	4,8297 ± 0,3511
				56,5898		
3		2,0176	57,6304	57,5498		
				57,5354	4,7977	
				57,5336		
1		2,0185	61,8948	61,8114		
				61,8063	4,4092	
				61,8058		
2	Daun Mangga	2,0232	57,9574	57,5753		
				57,8669	4,5274	4,6346 ± 0,2940
				57,8658		
3		2,0172	64,4545	64,3673		
				64,3566	4,9672	
				64,3543		

Contoh Perhitungan:

Cabe Jawa

$$\text{Ulangan 1} = \frac{54,4468 \text{ (g)} - 54,3565 \text{ (g)}}{2,0086 \text{ (g)}} \times 100\% = 4,4956\%$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{56,6944 \text{ (g)} - 56,5898 \text{ (g)}}{2,0132 \text{ (g)}} \times 100\% = 5,1957\%$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{57,6304 \text{ (g)} - 57,5336 \text{ (g)}}{2,0176 \text{ (g)}} \times 100\% = 4,7977\%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{4,4956\% + 5,1957\% + 4,7977\%}{3} = 4,8297\%$$

### Kadar Air Ekstrak

Ulangan	Sampel	Bobot Sampel (g)	Bobot Cawan Isi Sebelum Pemanasan (g)	Bobot Cawan Isi Setelah Pemanasan (g)	Kadar Air (%)	Rata-rata ± SD
1		2,0145	56,2987	56,1868		
				56,1538	7,3020	
				56,1516		
2	Cabe Jawa	2,0159	64,6327	64,5043		
				64,4996	6,7215	6,9974
				64,4972		± 0,2913
3		2,0133	54,4242	54,2913		
				54,2859	6,9686	
				54,2839		
1		2,0073	57,475	57,3579		
				57,3532	6,1724	
				57,3511		
2	Daun Mangga	2,0193	62,7014	62,5859		
				62,5867	5,7742	6,1585
				62,5848		± 0,3775
3		2,0233	54,8458	54,7419		
				54,7157	6,5289	
				54,7137		
1		2,0129	56,4913	56,3834		
				56,3707	6,0758	
				56,369		
2	Lemon	2,0167	54,9603	54,8535		
				54,8436	5,8461	5,8092 ± 0,2867
				54,8424		
3		2,0215	57,7511	57,6542		
				57,642	5,5058	
				57,6398		

Contoh Perhitungan:

Cabe Jawa

$$\text{Ulangan 1} = \frac{56,2987 \text{ (g)} - 56,1516 \text{ (g)}}{2,0145 \text{ (g)}} \times 100\% = 7,3020\%$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{64,6327 \text{ (g)} - 64,4972 \text{ (g)}}{2,0159 \text{ (g)}} \times 100\% = 6,7215\%$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{54,4242 \text{ (g)} - 54,2839 \text{ (g)}}{2,0133 \text{ (g)}} \times 100\% = 6,9686\%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{7,3020\% + 6,7215\% + 6,9686\%}{3} = 6,9974\%$$

### Lampiran 7. Hasil Kadar Abu Simplisia dan Ekstrak

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

#### Kadar Abu Simplisia

Ulangan	Sampel	Bobot Sampel (g)	Bobot Kurs Kosong (g)	Bobot Kurs + Abu (g)	Kadar Abu (%)	Rata-rata ± SD
1		2,0169	37,9377	38,0714		
				38,0641	6,2372	
				38,0635		
2	Cabe Jawa	2,0171	40,5193	40,6647		5,9020 ± 0,5377
				40,6458	6,1871	
				40,6441		
3		2,0239	40,9816	41,1112		
				41,0897	5,2818	
				41,0885		
1		2,0233	38,4537	38,5836		
				38,5713	5,7183	
				38,5694		
2	Daun Mangga	2,0262	41,5194	41,6489		5,2194 ± 0,4617
				41,6254	5,1327	
				41,6234		
3		2,0137	40,7396	41,8486		
				41,8379	4,8070	
				41,8364		

Contoh Perhitungan:

Cabe Jawa

$$\text{Ulangan 1} = \frac{38,0635 \text{ (g)} - 37,9377 \text{ (g)}}{2,0169 \text{ (g)}} \times 100\% = 6,2372\%$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{40,6441 \text{ (g)} - 40,5193 \text{ (g)}}{2,0171 \text{ (g)}} \times 100\% = 6,1871\%$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{41,0885 \text{ (g)} - 40,9816 \text{ (g)}}{2,0239 \text{ (g)}} \times 100\% = 5,2818\%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{6,2372\% + 6,1871\% + 5,2818\%}{3} = 5,9020\%$$

### Kadar Abu Ekstrak

Ulangan	Sampel	Bobot Sampel (g)	Bobot Kurs Kosong (g)	Bobot Kurs + Abu (g)	Kadar Abu (%)	Rata-rata ± SD
1		2,0153	41,4263	41,5301		
				41,5145	4,2772	
				41,5125		
2	Cabe Jawa	2,0164	37,4868	37,5826		
				37,5729	4,2055	4,3702 ± 0,2261
				37,5716		
3		2,0138	36,4359	36,5456		
				36,5308	4,6280	
				36,5291		
1		2,0119	38,9104	38,993		
				38,9849	3,5985	
				38,9828		
2	Daun Mangga	2,0139	43,7614	43,8574		
				43,8482	4,1958	3,8980 ± 0,2986
				43,8459		
3		2,0052	39,4748	39,5639		
				39,5548	3,8998	
				39,553		
1		2,0223	40,5643	40,6292		
				40,6195	2,6306	
				40,6175		
2	Lemon	2,0185	38,3964	38,4595		
				38,4471	2,4424	2,6285 ± 0,1851
				38,4457		
3		2,0194	39,6766	39,7448		
				39,7349	2,8127	
				39,7334		

Contoh Perhitungan:

Cabe Jawa

$$\text{Ulangan 1} = \frac{41,5125 \text{ (g)} - 41,4263 \text{ (g)}}{2,0153 \text{ (g)}} \times 100\% = 4,2772\%$$

$$\text{Ulangan 2} = \frac{37,5716 \text{ (g)} - 37,4868 \text{ (g)}}{2,0164 \text{ (g)}} \times 100\% = 4,2055\%$$

$$\text{Ulangan 3} = \frac{36,5291 \text{ (g)} - 36,4359 \text{ (g)}}{2,0138 \text{ (g)}} \times 100\% = 4,6280\%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{4,2772\% + 4,2055\% + 4,6280\%}{3} = 4,3702\%$$

**Lampiran 8.** Perhitungan Preparasi AlCl<sub>3</sub> 10%

Konsentrasi AlCl<sub>3</sub> yang dibutuhkan yaitu 10%

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

Jadi alumunium klorida yang ditimbang sebanyak 10 gram dan dilarutkan menggunakan pelarut 100 mL

**Lampiran 9.** Perhitungan Natrium Asetat

Molaritas Natrium Asetat : 1 M

Mr Natrium Asetat : 82,03 g/mol

Volume : 100 mL

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

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

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

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

$$\text{massa} = \frac{8203}{1000} \rightarrow 8,203 \text{ gram}$$

**Lampiran 10.** Perhitungan Larutan Standar Induk Kuersetin 1000 ppm

$$\begin{aligned} \text{Kuersetin 1000 ppm} &= \frac{50 \text{ mg}}{50 \text{ mL}} \\ &= \frac{50 \text{ mg}}{0,05 \text{ L}} \rightarrow 1000 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Kemudian diencerkan ke 100 ppm

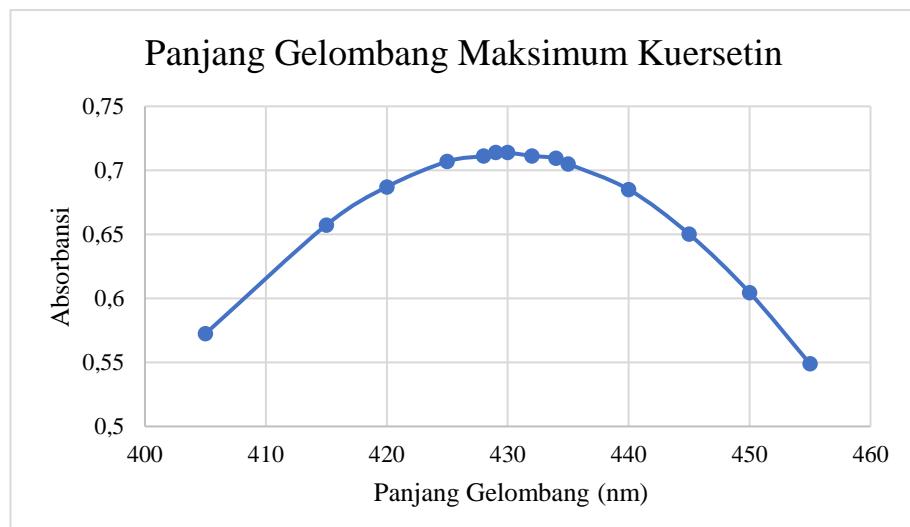
$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

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

$$\begin{aligned} V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \\ &= 1 \text{ mL} \end{aligned}$$

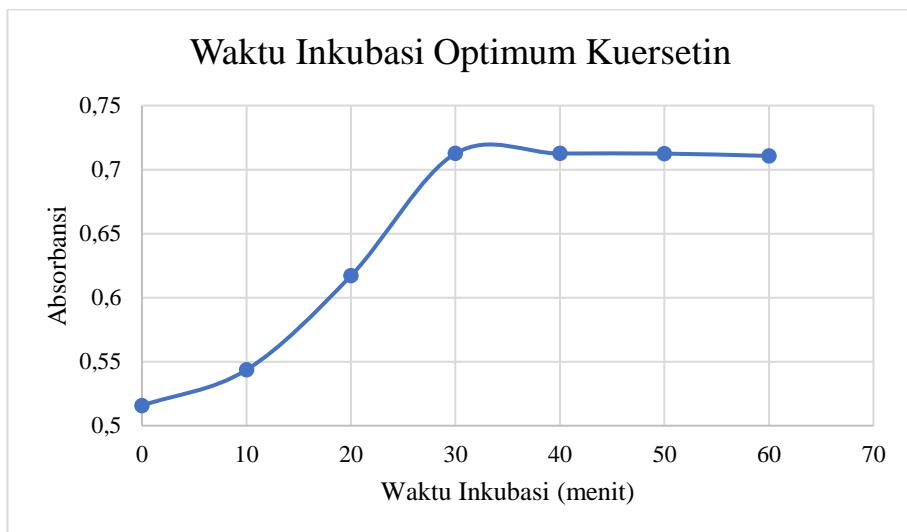
**Lampiran 11.** Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
405	0,5724
415	0,6573
420	0,6871
425	0,7069
428	0,7112
<b>429</b>	<b>0,7141</b>
430	0,7139
432	0,7113
434	0,7096
435	0,7051
440	0,6851
445	0,6502
450	0,6045
455	0,5489



**Lampiran 12.** Waktu Inkubasi Optimum Kuersetin

Waktu (menit)	Absorbansi
0	0,5157
10	0,5436
20	0,6171
30	0,7126
40	0,71256
50	0,7125
60	0,7107



**Lampiran 13.** Perhitungan Deret Standar Kuersetin

Larutan induk Kuersetin dengan konsentrasi 100 ppm

- 2 ppm

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

- 4 ppm

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

- 6 ppm

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

- 8 ppm

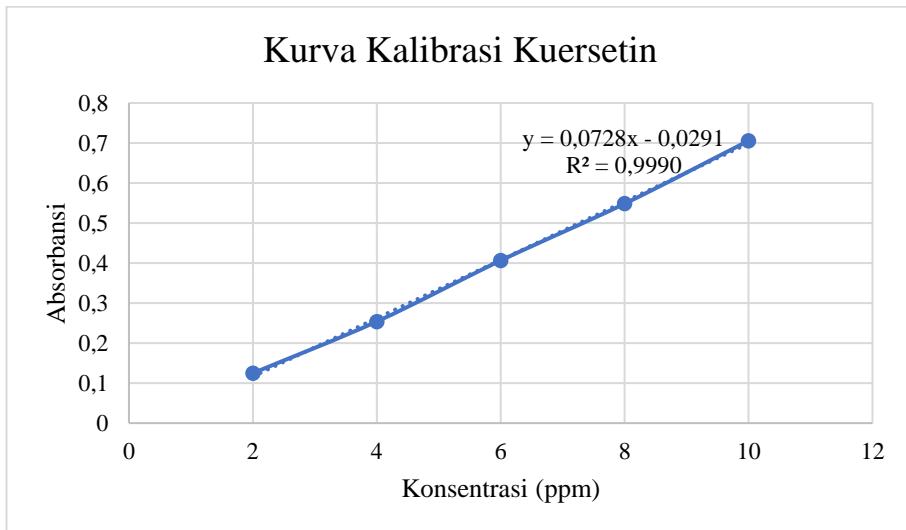
$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ppm} &= 10 \text{ mL} \times 8 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \times 8 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \\ &= 0,8 \text{ mL} \end{aligned}$$

- 10 ppm

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

**Lampiran 14.** Kurva Kalibrasi Kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
2	0,1247
4	0,2538
6	0,4063
8	0,5484
10	0,7056



Persamaan regresi linear:

$$y = bx + a$$

$$y = 0,0728x - 0,0291$$

$$R^2 = 0,999$$

**Lampiran 15.** Perhitungan Kadar Flavonoid

Sampel	Ulangan	Bobot		C (mg/L)	Kadar (mg QE/g)	Rata- rata Kadar ± SD
		Sampel	Abs (g)			
Buah	1	0,0507	0,2943	4,4427	43,8142	44,3856 ± 0,5020
	2	0,0505	0,2987	4,5032	44,5861	
Cabe Jawa	3	0,0504	0,2993	4,5114	44,7564	
	1	0,0503	0,2535	3,8823	38,5917	38,4360 ± 0,1671
	2	0,0503	0,2511	3,8489	38,2594	
Sari Buah Lemon	3	0,0505	0,2536	3,8841	38,4570	
	1	0,0509	0,2124	3,3173	130,3460	130,0461 ± 0,6772
	2	0,0507	0,2094	3,2770	129,2707	
Daun Mangga	3	0,0506	0,2113	3,3021	130,5216	
	1	0,0509	0,2463	3,7829	148,6431	148,5125 ± 0,2616
	2	0,0509	0,2455	3,7719	148,2113	
Arumanis	3	0,0508	0,2458	3,7765	148,6833	
	1	0,0509	0,2455	3,7719	148,2113	148,5125 ± 0,2616
	2	0,0509	0,2458	3,7765	148,6833	

**Contoh Perhitungan:**

Diketahui:

Persamaan regresi linear →  $y = 0,0728x - 0,0291$

Volume Labu = 50 mL → 0,05 L

Fp Cabe Jawa & Lemon = 10

Fp Daun Mangga & Kombinasi = 40

Buah Cabe Jawa Ulangan 1

$$\begin{aligned} C &= \frac{y - a}{b} \\ &= \frac{0,2943 + 0,0291}{0,0728} = 4,4427 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar Flavonoid} &= \frac{C \times \text{Volume Labu (L)} \times \text{Fp}}{\text{Bobot Sampel (g)}} \\ &= \frac{4,4427 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 0,05 \text{ L} \times 10}{0,0507 \text{ g}} = 43,8142 \text{ (mg QE/g)} \end{aligned}$$

**Lampiran 16.** Perhitungan Larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7,5%

Konsentrasi Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> yang dibutuhkan yaitu 7,5%

$$\text{Na}_2\text{CO}_3 = \frac{7,5 \text{ gram}}{100 \text{ mL}} \times 100\% = 7,5\%$$

Jadi natrium karbonat anhidrat yang ditimbang sebanyak 7,5 gram dan dilarutkan menggunakan pelarut 100 mL

**Lampiran 17.** Perhitungan Pengenceran Follin Ciocalteu 1:10

Konsentrasi reagen follin ciocalteu yang dibutuhkan yaitu 1:10

$$\begin{aligned} \text{Follin ciocalteu} &= \frac{x}{50 \text{ mL}} \times \frac{1}{10} \\ x &= 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi regen follin ciocalteu yang diperlukan sebanyak 5 mL dan dilarutkan menggunakan pelarut aquadest 50 mL

**Lampiran 18.** Perhitungan Gelatin 1%

$$\text{Gelatin} = \frac{1}{100} \times 100 \text{ mL} = 1 \text{ gram}$$

**Lampiran 19.** Perhitungan Pembuatan Larutan Standar Induk Asam Galat

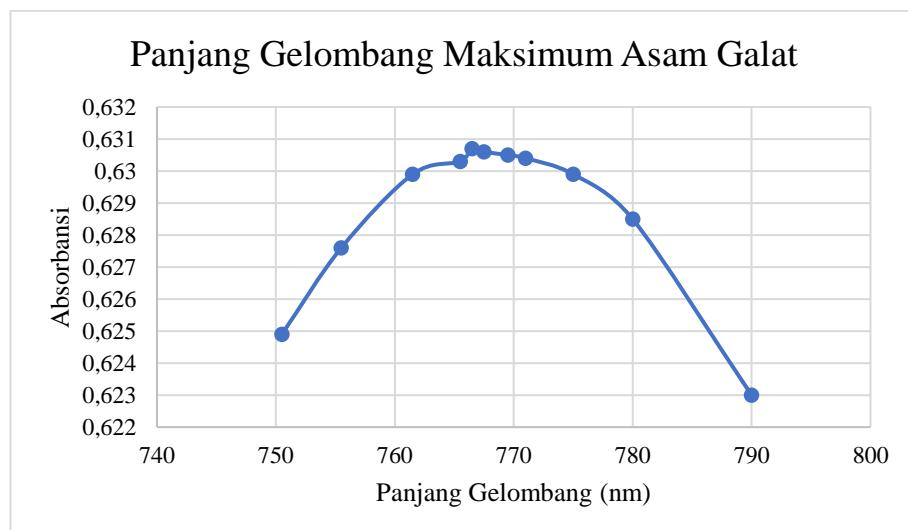
$$\begin{aligned} \text{Asam Galat 1000 ppm} &= \frac{50 \text{ mg}}{50 \text{ mL}} \\ &= \frac{50 \text{ mg}}{0,05 \text{ L}} \rightarrow 1000 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Kemudian dilakukan pengenceran ke 100 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 1000 \text{ ppm} &= 10 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}} \\ &= 1 \text{ mL} \end{aligned}$$

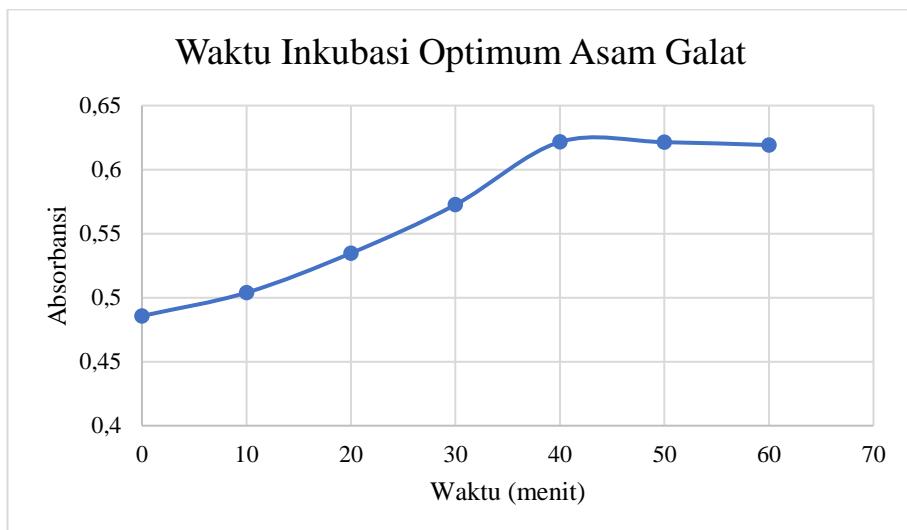
**Lampiran 20.** Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
750,5	0,6249
755,5	0,6276
761,5	0,6299
765,5	0,6303
<b>766,5</b>	<b>0,6307</b>
767,5	0,6306
769,5	0,6305
771	0,6304
775	0,6299
780	0,6285
790	0,623



**Lampiran 21.** Waktu Inkubasi Optimum Asam Galat

Waktu (menit)	Absorbansi
0	0,4857
10	0,5039
20	0,5347
30	0,5726
40	0,6216
50	0,6214
60	0,6191



**Lampiran 22.** Perhitungan Deret Standar Asam Galat

Larutan induk Asam Galat dengan konsentrasi 100 ppm

- 2 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 1000 \text{ ppm} &= 10 \text{ mL} \times 2 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \times 2 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \\ &= 0,2 \text{ mL} \end{aligned}$$

- 4 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 1000 \text{ ppm} &= 10 \text{ mL} \times 4 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \times 4 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \\ &= 0,4 \text{ mL} \end{aligned}$$

- 6 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 1000 \text{ ppm} &= 10 \text{ mL} \times 6 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \times 6 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \\ &= 0,6 \text{ mL} \end{aligned}$$

- 8 ppm

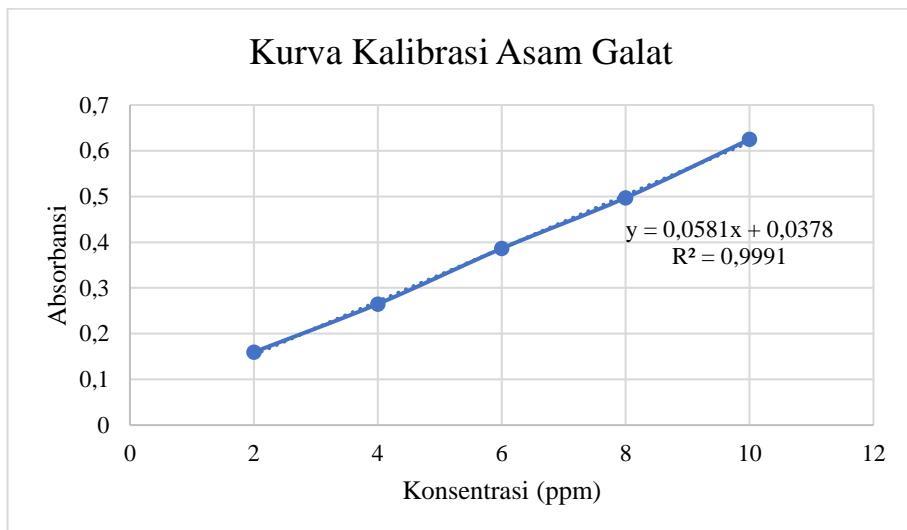
$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 1000 \text{ ppm} &= 10 \text{ mL} \times 8 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \times 8 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \\ &= 0,8 \text{ mL} \end{aligned}$$

- 10 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 1000 \text{ ppm} &= 10 \text{ mL} \times 10 \text{ ppm} \\ V_1 &= \frac{10 \text{ mL} \times 10 \text{ ppm}}{100 \text{ ppm}} \\ &= 1 \text{ mL} \end{aligned}$$

**Lampiran 23.** Kurva Kalibrasi Asam Galat

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
2	0,1596
4	0,2649
6	0,3862
8	0,4971
10	0,6248



**Lampiran 24.** Perhitungan Konsentrasi Polifenol

Sampel	Ulangan	Bobot Sampel (g)	Absorbansi	C (µg/mL)	C Polifenol (µg/mL)
Buah Cabe Jawa	1	0,0507	0,4416	6,9512	69,5123
	2	0,0505	0,4441	6,9931	69,9312
	3	0,0504	0,4487	7,0063	70,0631
Sari Buah Lemon	1	0,0503	0,4004	6,2415	62,4153
	2	0,0503	0,4006	6,2449	62,4498
	3	0,0505	0,40153	6,2604	62,6047
Daun Mangga	1	0,0509	0,3375	5,1594	51,5949
	2	0,0507	0,3361	5,1342	51,3425
	3	0,0506	0,3363	5,1382	51,3826
Kombinasi	1	0,0509	0,3755	5,8123	58,1239
	2	0,0509	0,3746	5,7969	57,9690
	3	0,0508	0,3757	5,8158	58,1583

**Contoh Perhitungan:**

Diketahui:

Persamaan regresi linear →  $y = 0,0581x + 0,0378$

$$\text{Faktor Pengenceran (FP)} = \frac{10 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} = 10$$

Buah Cabe Jawa Ulangan 1

$$\begin{aligned} C &= \frac{A_1 - a}{b} \\ &= \frac{0,4416 - 0,0378}{0,0581} = 6,9512 \text{ µg/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} C \text{ Polifenol} &= \left( \frac{A_1 - a}{b} \right) \times FP \\ &= 6,9512 \text{ µg/mL} \times 10 \\ &= 69,5123 \text{ µg/mL} \end{aligned}$$

**Lampiran 25.** Perhitungan Konsentrasi Polifenol Non Tanin

Sampel	Ulangan	Absorbansi	C ( $\mu\text{g/mL}$ )	C Polifenol Non Tanin ( $\mu\text{g/mL}$ )
Buah Cabe Jawa	1	0,6003	9,6821	290,4647
	2	0,6009	9,6924	290,7745
	3	0,6014	9,7005	291,0154
Sari Buah Lemon	1	0,5884	9,4773	284,3201
	2	0,5885	9,4790	284,3717
	3	0,5888	9,4836	284,5094
Daun	1	0,5687	9,1382	274,1480
Mangga	2	0,5682	9,1290	273,8726
Arumanis	3	0,5683	9,1308	273,9242
Kombinasi	1	0,5809	9,3488	280,4647
	2	0,5807	9,3442	280,3270
	3	0,5810	9,3505	280,5163

**Contoh Perhitungan:**

Diketahui:

Persamaan regresi linear  $\rightarrow y = 0,0581x + 0,0378$

$$\text{Faktor Pengenceran 1 (FP 1)} = \frac{10 \text{ mL}}{2 \text{ mL}} = 5$$

$$\text{Faktor Pengenceran 2 (FP 2)} = \frac{6 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} = 6$$

Buah Cabe Jawa Ulangan 1

$$\begin{aligned} C &= \frac{A_2 - a}{b} \\ &= \frac{0,6003 - 0,0378}{0,0581} = 9,6821 \text{ } \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{C Polifenol Non Tanin} &= \left( \frac{A_2 - a}{b} \right) \times 5 \times 6 \\ &= 9,6821 \text{ } \mu\text{g/mL} \times 5 \times 6 \\ &= 290,4647 \text{ } \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

**Lampiran 26.** Perhitungan Konsentrasi Larutan Uji Gelatin

Absorbansi	Rata-rata Absorbansi	C ( $\mu\text{g/mL}$ )	C Gelatin ( $\mu\text{g/mL}$ )
0,4714			
0,4705	0,471	7,4561	223,6833
0,4711			

**Contoh Perhitungan:**

Diketahui:

Persamaan regresi linear  $\rightarrow y = 0,0581x + 0,0378$

$$\text{Faktor Pengenceran 1 (FP 1)} = \frac{10 \text{ mL}}{2 \text{ mL}} = 5$$

$$\text{Faktor Pengenceran 2 (FP 2)} = \frac{6 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} = 6$$

$$\begin{aligned} C &= \frac{A_3 - a}{b} \\ &= \frac{0,471 - 0,0378}{0,0581} = 7,4561 \text{ } \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} C \text{ Gelatin} &= \left( \frac{A_3 - a}{b} \right) \times 5 \times 6 \\ &= 7,4561 \times 5 \times 6 \\ &= 223,6833 \text{ } \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

**Lampiran 27.** Perhitungan Konsentrasi Tanin

Sampel	Ulangan	Volume Labu (mL)	FP	C Tanin ( $\mu\text{g/mL}$ )	Kadar (mg TAE/g)	Rata- rata Kadar $\pm$ SD
Buah	1		1	1,3654	1,3466	1,3690 $\pm$ 0,0321
	2			1,4199	1,4059	
	3			1,3654	1,3546	
Cabe Jawa	1		50	0,8892	0,8839	0,8799 $\pm$ 0,0043
	2			0,8806	0,8754	
	3			0,8892	0,8804	
Sari Buah	1		4	0,5651	2,2205	2,2504 $\pm$ 0,0274
	2			0,5765	2,2745	
	3			0,5708	2,2563	
Lemon	1			0,6712	2,6375	2,6167 $\pm$ 0,0182
	2			0,6626	2,6037	
	3			0,6626	2,6088	
Daun	1					
	2					
	3					
Mangga	1					
	2					
	3					
Arumanis	1					
	2					
	3					
Kombinasi	1					
	2					
	3					

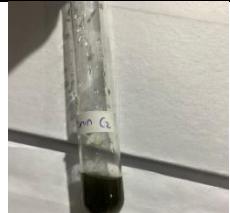
**Contoh Perhitungan:**

Buah Cabe Jawa Ulangan 1

$$\begin{aligned} \text{C Tanin} &= \frac{(C \text{ Polifenol} - C \text{ Polifenol Non Tanin} + C \text{ Gelatin})}{2} \\ &= \frac{(69,5123 - 290,4647 + 223,6833)}{2} = 1,3654 \text{ } \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar Tanin} &= \frac{\text{C Tanin} \times V \times FP \times 10^{-3}}{\text{Bobot Sampel (g)}} \\ &= \frac{1,3654 \text{ } \mu\text{g/mL} \times 50 \text{ mL} \times 1 \times 10^{-3}}{0,0507 \text{ g}} \\ &= 1,3466 \text{ mg TAE/g} \end{aligned}$$

**Lampiran 28.** Uji Fitokimia Ekstrak

Sampel	Uji Senyawa		
	Flavonoid	Tanin	Tanin
		Terkondensasi	Terhidrolisis
Ekstrak Buah Cabe Jawa			
Ekstrak Daun Mangga			
Serbuk Sari Buah Lemon			

## Lampiran 29. Hasil Analisis SPSS

### 1. Uji Homogenitas

**Test of Homogeneity of Variances**

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
kadar flavonoid	3.598	3	8	.066
kadar tanin	3.124	3	8	.088

- Apabila nilai Sig. < 0,05 maka data tidak berdistribusi homogen
- Apabila nilai Sig. > 0,05 maka data berdistribusi homogen

Hasil output data, diperoleh nilai Sig. 0,066 untuk kadar flavonoid; 0,088 untuk kadar tanin, semua nilai Sig. > 0,05 maka dapat disimpulkan data berdistribusi homogen.

### 2. Uji Normalitas

**Tests of Normality**

	sample	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kadar flavonoid	buah cabe jawa	.322	3	.	.880	3	.325
	sari buah lemon	.217	3	.	.988	3	.792
	daun mangga arumanis	.338	3	.	.853	3	.248
	kombinasi	.358	3	.	.813	3	.147
kadar tanin	buah cabe jawa	.340	3	.	.849	3	.238
	sari buah lemon	.213	3	.	.990	3	.806
	daun mangga arumanis	.251	3	.	.966	3	.645
	kombinasi	.334	3	.	.860	3	.268

a. Lilliefors Significance Correction

- Apabila nilai Sig. < 0,05 maka data tidak berdistribusi normal
- Apabila nilai Sig. > 0,05 maka data berdistribusi normal

Hasil output data, diperoleh nilai Sig. buah cabe jawa 0,325; sari buah lemon 0,792; daun mangga arumanis 0,248; kombinasi 0,147 untuk kadar flavonoid, sedangkan untuk kadar tanin buah cabe jawa 0,238; sari buah lemon 0,806; daun mangga arumanis 0,645; kombinasi 0,268. Semua nilai Sig. > 0,05 maka dapat disimpulkan data berdistribusi normal.

### 3. Uji One Way ANOVA

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
kadar flavonoid	Between Groups	29299.360	3	9766.453	48399.763	.000
	Within Groups	1.614	8	.202		
	Total	29300.975	11			
kadar tanin	Between Groups	5.701	3	1.900	3551.381	.000
	Within Groups	.004	8	.001		
	Total	5.705	11			

Untuk hipotesis, maka:

- $H_0$  = masing-masing ekstrak tunggal dan kombinasi ketiga ekstrak tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar flavonoid dan kadar tanin
- $H_1$  = masing-masing ekstrak tunggal dan kombinasi ketiga ekstrak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar flavonoid dan kadar tanin

Titik Persentase Distribusi F untuk Probabilita = 0,05

df untuk penyebut (N2)	df untuk pembilang (N1)														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	161	199	216	225	230	234	237	239	241	242	243	244	245	245	246
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.40	19.41	19.42	19.42	19.43
3	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.76	8.74	8.73	8.71	8.70
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.94	5.91	5.89	5.87	5.86
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.70	4.68	4.66	4.64	4.62
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	4.03	4.00	3.98	3.96	3.94
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.60	3.57	3.55	3.53	3.51
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.31	3.28	3.26	3.24	3.22

Dalam uji (F) simultan didapatkan F hitung kadar flavonoid sebesar 48399,763 dan F tabel kadar flavonoid sebesar 4,07. F hitung kadar tanin sebesar 3551,381 dan F tabel kadar tanin sebesar 4,07, karena  $F \text{ hitung} > F \text{ tabel}$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima artinya masing-masing ekstrak tunggal dan kombinasi ketiga ekstrak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar flavonoid dan kadar tanin.

Untuk nilai signifikansi,

- Jika nilai sig < 0,05 maka, ada perbedaan yang signifikan antara sampel terhadap kadar flavonoid dan kadar tanin
- Jika nilai sig > 0,05 maka, tidak ada perbedaan yang signifikan antara sampel terhadap kadar flavonoid dan kadar tanin

Hasil output data, diperoleh semua nilai sig  $0,000 < 0,05$  artinya, ada perbedaan yang signifikan antara sampel terhadap kadar flavonoid dan kadar tanin. Sehingga diperlukan uji lanjut yaitu uji lanjut Duncan

#### 4. Uji Duncan

<b>kadar flavonoid</b>					
Duncan <sup>a</sup>					
sampel	N	Subset for alpha = 0.05			
sari buah lemon	3	38.436033			
buah cabe jawa	3		44.385567		
daun mangga arumanis	3			130.046100	
kombinasi	3				148.512567
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

<b>kadar tanin</b>					
Duncan <sup>a</sup>					
sampel	N	Subset for alpha = 0.05			
sari buah lemon	3	.879900			
buah cabe jawa	3		1.369033		
daun mangga arumanis	3			2.250433	
kombinasi	3				2.616667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Kesimpulan: Uji lanjut duncan menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dilihat dari nilai rata-rata kadar flavonoid dan tanin sari buah lemon, buah cabe jawa, daun mangga arumanis dan kombinasi ketiga ekstrak.

**ANALISIS KADAR TANIN MENGGUNAKAN MODIFIKASI METODE DAN  
PERSAMAAN TERBARU PADA BUAH CABE JAWA (*Piper retrofractum* Vahl.), DAUN  
MANGGA ARUMANIS (*Mangifera indica* L.), DAN SARI BUAH LEMON (*Citrus limon* L.)**

**ANALYSIS OF TANNIN CONTENTS USING MODIFICATION METHOD AND NEW  
EQUATIONS ON *Piper retrofractum* Vahl., *Mangifera indica* L., AND *Citrus limon* L.**

**Jihan Maharani<sup>1\*</sup>, Lusi Agus Setiani<sup>2</sup>, Zaldy Rusli<sup>3</sup>**

*Program Studi Farmasi, FMIPA Universitas Pakuan,  
Jalan Pakuan PO Box 452 Bogor 16129  
e-mail : [jmaharani637@gmail.com](mailto:jmaharani637@gmail.com)*

**ABSTRAK**

Buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl), daun mangga arumanis (*Mangifera indica* L.), dan sari buah lemon (*Citrus limon* L.) memiliki banyak kandungan metabolit sekunder, terutama senyawa tanin. Senyawa tanin dalam tumbuhan dapat menurunkan tekanan darah (antihipertensi). Analisis kadar kadar tanin dengan modifikasi dari metode Amorim menggunakan spektrofotometer UV-Visible. Hasil analisis kadar tanin pada ekstrak buah cabe jawa, ekstrak daun mangga arumanis, serbuk sari buah lemon dan kombinasi ekstrak diperoleh secara berturut-turut adalah  $1,36 \pm 0,0321$  mg GAE/g;  $2,25 \pm 0,0274$  mg GAE/g;  $0,87 \pm 0,0043$  mg GAE/g dan  $2,61 \pm 0,0182$  mg GAE/g. Hasil kadar tanin ekstrak buah cabe jawa, ekstrak daun mangga arumanis, serbuk sari buah lemon dan kombinasi ketiga ekstrak memiliki perbedaan yang signifikan.

**Kata kunci :** Cabe Jawa, Mangga Arumanis, Lemon, Tanin, Protein, Gelatin, Spektrofotometri UV-VIS

**ABSTRACT**

*Piper retrofractum* Vahl, *Mangifera indica* L., and *Citrus limon* L. contain many secondary metabolites, especially tannin compounds. Tannin compounds in plants can lower blood pressure (antihypertension). Analysis of tannin levels with a modification of the Amorim method using a UV-Visible spectrophotometer. The results of the analysis of tannin levels in *Piper retrofractum* Vahl, *Mangifera indica* L., *Citrus limon* L. and a combination of extracts were respectively  $1.36 \pm 0.0321$  mg GAE/g;  $2.25 \pm 0.0274$  mg GAE/g;  $0.87 \pm 0.0043$  mg GAE/g and  $2.61 \pm 0.0182$  mg GAE/g. The results of the tannin levels of *Piper retrofractum* Vahl, *Mangifera indica* L., *Citrus limon* L. and a combination of extracts had significant differences.

**Keywords :** *Piper retrofractum* Vahl, *Mangifera indica* L., *Citrus limon* L., Tannins, Protein, Gelatin, UV-Vis Spectrophotometry

## PENDAHULUAN

Semakin populernya istilah *back to nature*, semakin mendorong pemanfaatan herbal yang berefek terhadap kesehatan serta semakin banyaknya kajian atau studi terkait herbal oleh para ilmuwan. Tanaman herbal memiliki senyawa metabolit sekunder yang bermanfaat untuk mencegah, menyembuhkan penyakit, melakukan fungsi biologis tertentu (Kumontoy dkk., 2023). Metabolit sekunder tanaman berfungsi sebagai komponen pemandu dalam pencarian dan pengembangan obat baru. Saat pengujian fitokimia secara kualitatif, ekstrak tumbuhan dapat menunjukkan senyawa aktif yang mungkin memiliki efek toksik atau efek terapi. Inilah sebabnya mengapa uji fitokimia kualitatif dan kuantitatif sangat penting untuk proses ini (Khafid dkk., 2023).

Secara tradisional seluruh bagian dari tanaman cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) digunakan untuk pengobatan (Salleh & Ahmad, 2020). Dalam penelitian, buah cabe jawa berkhasiat sebagai antihipertensi akibat adanya plak aterosklerosis, mekanisme buah kerja cabe jawa yaitu menghambat aktivitas enzim lipase sehingga menghambat penyerapan lemak pada tubuh (Dewi, 2021).

Daun mangga memiliki aktivitas farmakologi sebagai antioksidan, antikanker, antimikroba, kardioprotektif dan antihipertensi (Mehmood et al., 2023). Tanaman mangga telah terkenal lebih dari 4.000 tahun yang lalu di negara India, sebagai pengobatan ayurveda

dengan menggunakan berbagai bagian tanamannya salah satunya yaitu daun mangga (Swaroop et al., 2018).

Buah lemon memiliki banyak manfaat farmakologi, termasuk sifat antimikroba, antikanker, antioksidan, dan antiinflamasi (Shiyan dkk., 2022). Perasan air lemon juga dapat digunakan untuk mengobati hipertensi, pada penelitian Susilawati & Kasron, (2019) menyatakan bahwa jus lemon dapat menurunkan tekanan darah dengan penurunan sistolik pada lansia.

Atas dasar kesamaan kandungan metabolit sekunder pada buah cabe jawa, daun mangga, dan sari buah lemon terutama tanin yang diyakini berkhasiat sebagai antihipertensi dengan menghambat stress oksidatif serta mengurangi tekanan arteri pulmonalis (Aimaier et al., 2023), peneliti menganalisis kadar senyawa tanin dengan modifikasi metode dari Amorim menggunakan ekstraksi infusasi, karena prosesnya hampir serupa dengan pengolahan tanaman herbal pada masyarakat dan sebagai keterbaruan dari penelitian ini dari ekstrak tunggal serta kombinasi ekstrak dari ketiga tanaman tersebut. Peneliti berharap ketiga tanaman tersebut dengan kombinasi ketiganya dapat dibuktikan kadar tanin secara kuantitatif, yang memiliki khasiat sebagai pengobatan.

## METODE PENELITIAN

### Alat Dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini

yaitu Cawan Uap (RRC), Centrifuge (ColeParmer), Freeze Dryer (ScanVac CoolSafe), Grinder, Kertas Saring, Kurs (RRC), Mesh 40 (ABM), Oven (Memmert), Panci Infusa, Pipet Tetes, Pipet Volume (Pyrex®), Sonikator (Branson), Spektrofotometri Uv-Vis (Jasco V-730), Tabung Reaksi (Pyrex®), Tanur (DAIHAN®), Thermometer, Timbangan Analitik (Lab Pro).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Asam Galat ( $C_7H_6O_5$ ) Merck, Aqua destillata, Etanol 70% ( $C_2H_6O$ ) OneMed, Feri Klorida ( $FeCl_3$ ) Merck, Gelatin ( $C_{102}H_{151}N_{31}O_{39}$ ) Merck, Kalium Bromida (KBr) Merck, Natrium Karbonat ( $Na_2CO_3$ ) Merck, Folin Ciocalteu ( $C_{10}H_5NaO_5S$ ) Merck, Simplisia dan Ekstrak cabe jawa, daun mangga arumanis serta Ekstrak sari buah lemon.

## Prosedur Kerja

### Pengumpulan Bahan Baku

Dalam penelitian ini menggunakan bahan baku yaitu buah cabe jawa, daun mangga arumanis, dan buah lemon yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman, Rempah dan Obat (BALITRO), Bogor, Jawa Barat.

### Pembuatan Simplisia dan Ekstrak Kering Buah Cabe Jawa dan Daun Mangga

Bahan baku buah cabe jawa segar diambil sebanyak 1500 g dan daun mangga arumanis diambil sebanyak 3000 g kemudian masing-masing dalam wadah berbeda dilakukan sortasi

basah, yaitu memisahkan kotoran yang menempel atau bahan asing lainnya pada bahan baku, kemudian dilakukan pencucian menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel lalu ditiriskan. Selanjutnya dilakukan proses pengeringan untuk buah cabe jawa menggunakan oven pada suhu 40°C (Syafitri dkk., 2023) dan pengeringan untuk daun mangga arumanis dioven pada suhu 50-55°C karena pengeringan menggunakan oven dengan suhu yang tidak terlalu tinggi yaitu sekitar 60°C tidak merusak komponen dalam bahan (DepKes RI, 1995).

Serbuk simplisia buah cabe jawa dan daun mangga arumanis dilakukan proses ekstraksi secara terpisah dengan metode infusasi. Masing-masing serbuk ditimbang sebanyak 200 g masukkan ke dalam panci bertingkat infusa yang berbeda, kemudian ditambahkan pelarut aquadest sebanyak 2000 mL lalu dipanaskan selama 15 menit (terhitung pada suhu mencapai 90°C) dan diaduk sesekali (Depkes, 2000). Setelah itu hasil disaring dan hasil filtrat dijadikan serbuk menggunakan alat *freeze dry*.

### Pembuatan Serbuk Kering Sari Buah Lemon

Buah lemon dikumpulkan sebanyak 4000 g kemudian dilakukan sortasi basah yaitu dipisahkan kotoran yang menempel atau bahan asing lainnya pada bahan baku, kemudian dilakukan pencucian menggunakan air yang mengalir agar kotoran langsung terpisahkan,

kemudian dilakukan perajangan menjadi 2 bagian, lalu diperas buahnya untuk mendapatkan sari buahnya. Sari buah lemon kemudian dikeringkan menggunakan alat *freeze dryer* pada suhu -48°C sampai -56°C sehingga didapatkan sari buah lemon dalam bentuk serbuk (Sriarumtias dkk., 2020).

### **Uji Fitokimia**

#### **Uji Tanin Terkondensasi**

Sampel sebanyak 0,5 g masing-masing secara terpisah dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu dilarutkan dalam 5 mL aqua destillata. Ditambahkan dengan larutan FeCl<sub>3</sub> 1% 3-5 mL jika terbentuk warna hijau kehitaman maka sampel tersebut positif mengandung tanin terkondensasi (Tyler *et al.*, 1976).

#### **Uji Tanin Terhidrolisis**

Sampel sebanyak 0,5 g masing-masing secara terpisah dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu dilarutkan dalam 5 mL aqua destillata. Ditambahkan dengan kalium bromida (KBr) kemudian dihomogenkan jika tidak terbentuk endapan maka sampel tersebut positif mengandung tanin terhidrolisis (Tyler *et al.*, 1976).

### **Pengujian Mutu Simplisia Dan Ekstrak**

#### **Uji Organoleptik**

Uji organoleptik merupakan uji yang dilakukan menggunakan panca indra manusia.

Hal yang diamati pada pengujian organoleptik meliputi aroma, bentuk, warna, dan rasa dari simplisia dan ekstrak sehingga didapatkan hasil objektif.

#### **Uji Kadar Air**

Metode gravimetri adalah cara yang digunakan untuk penetapan kadar air simplisia dan ekstrak. Cawan yang telah diisi oleh simplisia dan ekstrak ditimbang masing-masing sebanyak 2 gram untuk mendapatkan berat cawan isi sebelum pemanasan kemudian cawan dipanaskan di dalam oven dengan suhu 105° C selama 5 jam, setelah itu dinginkan dalam desikator sampai suhu ruang lalu ditimbang. Dilanjut pengeringan dengan selang waktu 1 jam sampai ada perbedaan antara kedua penimbangan yang dilakukan berturut turut yang tidak lebih dari 0,25 %. Kadar air simplisia dan ekstrak menurut syarat yaitu  $\leq 10\%$  (Depkes, 2017).

#### **Uji Kadar Abu**

Uji kadar abu dilakukan dengan menimbang 2 gram masing-masing serbuk simplisia dan ekstrak lalu dimasukkan ke dalam krus yang telah dipijarkan dan ditara. Pemijaran dilakukan dengan suhu 600°C hingga arang habis, lalu dinginkan dan ditimbang. Jika arang tidak dapat hilang, ditambahkan air panas dan saring dengan kertas saring bebas abu. Pijarkan kertas saring dalam krus yang sama, dimasukkan filtrat ke dalam krus, diuapkan dan dipijarkan

hingga bobot tetap lalu ditimbang. Syarat kadar abu sendiri untuk simplisia yaitu  $\leq 10\%$  (Depkes, 2017).

### Prinsip Analisis Tanin

Polifenol merupakan senyawa yang memiliki banyak gugus fenol dalam molekulnya, seperti tanin, flavonoid, asam fenolik, dan lain-lain. Untuk selanjutnya, senyawa polifenol selain tanin akan disebut sebagai senyawa polifenol non tanin (PNT), sehingga polifenol (P) adalah jumlah dari senyawa polifenol non tanin (PNT) dan tanin (T) yang ditunjukkan pada persamaan (1).

$$P = PNT + T \quad (1)$$

Metode analisis tanin ini dilakukan dengan mengukur dua macam larutan sampel, yaitu larutan sampel polifenol dan larutan sampel polifenol non tanin, sehingga konsentrasi tanin (T) dapat diperoleh dari selisih antara konsentrasi senyawa polifenol (P) dan polifenol non tanin (PNT) yang dinyatakan dalam persamaan (2).

$$T = P - PNT \quad (2)$$

Sampel polifenol non tanin diperoleh dengan cara mengendapkan tanin menggunakan gelatin yang berlebih. Tanin (T) akan bertindak sebagai pembatas dalam reaksinya dengan gelatin (G), sehingga pada titik kesetimbangan, gelatin akan tersisa (SG) dapat dihitung menggunakan persamaan (3).

$$SG = G - T \quad (3)$$

Endapan yang terbentuk kemudian

disaring untuk diambil filtratnya. Kandungan yang terdapat dalam filtrat (F) adalah senyawa polifenol non tannin (PNT) dan sisa gelatin (SG) yang ditunjukkan dengan persamaan (4). PNT dapat diperoleh menyederhanakan persamaan (4), sehingga diperoleh persamaan (5).

$$F = PNT + SG \quad (4)$$

$$PNT = F - SG \quad (5)$$

Substitusi persamaan (3) ke dalam persamaan (5) akan menghasilkan persamaan (6) sebagai berikut:

$$PNT = F - SG \quad (SG = G - T)$$

$$PNT = F - (G - T)$$

$$PNT = F - G + T \quad (6)$$

Konsentrasi tanin dapat diketahui dengan melakukan substitusi persamaan (6) ke dalam persamaan (2), sehingga rumus untuk menghitung konsentrasi tanin ditunjukkan pada persamaan (7):

$$T = P - PNT \quad (PNT = F - G + T)$$

$$T = P - (F - G + T)$$

$$T = P - F + G - T$$

$$T + T = P - F + G$$

$$2T = P - F + G$$

$$T = \frac{(P - F + G)}{2} \quad (7)$$

Pada persamaan (7), konsentrasi tanin dapat diketahui dengan mengukur konsentrasi polifenol (tanpa penambahan gelatin), konsentrasi polifenol non tanin (dengan penambahan gelatin), blanko gelatin (tanpa larutan sampel) dan blanko pelarut (tanpa larutan sampel dan gelatin).

## **Penetapan Kadar Tanin**

Dibuat larutan standar asam galat dengan konsentrasi 100 ppm dan larutan sampel dengan konsentrasi 1000 ppm. Dibuat larutan pereaksi  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%, pereaksi folin ciocalteu 1:10. Selain itu dibuat larutan gelatin 1%. Dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum, waktu inkubasi dan kurva kalibrasi menggunakan larutan uji standar asam galat. Larutan uji standar dibuat dengan memipet sebanyak 1 mL larutan standar asam galat 100 ppm, ditambahkan 2,5 mL reagen folin ciocalteu 1:10 dan 2,5 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%, kemudian ditambahkan aquadest hingga tanda batas labu 10 mL.

Setelah itu, dibuat larutan uji sampel untuk analisis polifenol, yaitu sampel buah cabe jawa dan sari buah lemon, untuk mengetahui konsentrasi polifenol (C Polifenol) dipipet 1 mL larutan induk sampel lalu dimasukkan labu ukur 10 mL, ditambahkan 2,5 ml larutan follin ciocalteu 1:10 ditambahkan 2,5 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5% kemudian tambahkan aqua destillata hingga tanda batas dan dihomogenkan. Dilakukan pengenceran larutan induk sampel daun mangga arumanis dan kombinasi ketiga ekstrak, dipipet sebanyak 5 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan dengan etanol 70 % hingga tanda batas serta di homogenkan. Larutan dipipet kembali sebanyak 5 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan dengan etanol 70 % hingga tanda batas serta di

homogenkan. Kemudian dipipet sebanyak 1 mL dan ditambahkan dengan pereaksi dengan perlakuan yang sama seperti larutan sampel tunggal.

Analisis polifenol non tanin pada sampel tunggal maupun kombinasi, untuk mengetahui konsentrasi polifenol non tanin (C Polifenol Non Tanin) dengan cara dipipet 1 mL larutan induk sampel ke dalam tabung sentrifugasi kemudian ditambahkan gelatin 5 mL untuk mendapatkan endapan yang tetap, kemudian dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan filtrat dan residu. Filtrat hasil sentrifugasi dipipet sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan 2,5 ml larutan follin ciocalteu 1:10 ditambahkan 2,5 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5% kemudian ditambahkan aqua destillata hingga tanda batas dan dihomogenkan.

Selain itu, dilakukan analisis larutan kontrol uji gelatin. Pada analisis larutan uji gelatin untuk mengetahui konsentrasi larutan uji gelatin (C Gelatin) dipipet larutan gelatin 1% sebanyak 5 mL ke dalam beaker glass, kemudian ditambahkan 1 mL aqua destillata aduk hingga homogen. Larutan tersebut dipipet sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan 2,5 mL larutan follin ciocalteu 1:10 ditambahkan 2,5 mL larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5% kemudian tambahkan aqua destillata hingga tanda batas dan dihomogenkan. Diinkubasi pada waktu inkubasi optimum 40 menit kemudian dilakukan pembacaan absorbansi (A1, A2 dan A3) pada panjang

gelombang maksimum 766,5 nm.

## Analisis Data

Analisis statistika dilakukan dengan SPSS Statistics 24. Dilakukan uji homogenitas, uji normalitas, uji ANOVA, uji (F) simultan dan uji lanjut Duncan. Data-data dalam bentuk tabel menunjukkan ada atau tidaknya perbedaan signifikan pada kadar.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Uji Karakteristik Mutu Simplisia dan Ekstrak

**Hasil Organoleptik Simplisia dan Ekstrak**

Tanaman buah cabe jawa, daun mangga arumanis dan buah lemon dilakukan determinasi di Laboratorium Herbarium BRIN (Badan Riset dan Inovasi Nasional), Bogor. Hasil determinasi menyatakan bahwa buah cabe jawa yang digunakan pada penelitian ini adalah buah cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) suku *Piperaceae*, daun mangga arumanis (*Mangifera indica* L) suku *Anacardiaceae*, dan buah lemon (*Citrus × limon* (L.) Osbeck suku *Rutaceae*. Ciri-ciri serbuk simplisia buah cabe jawa yaitu warna coklat agak kehitaman, bau khas aromatik, dan rasa pedas dan pahit. Serbuk simplisia daun mangga arumanis yaitu warna hijau, bau khas aromatik dan rasa pahit serta sepat.

Pembuatan ekstrak kering dilakukan dengan ekstraksi infusasi dengan perbandungan serbuk simplisia dan pelarut

adalah 1:10. Kemudian filtrat infusasi dibuat menjadi serbuk dengan metode *Freeze Dry*. Organoleptik ekstrak kering buah cabe jawa dan daun mangga arumanis hampir serupa dengan organoleptik pada simplisia namun memiliki perbedaan pada bentuk atau tekstur, pada simplisia partikelnya lebih besar dibandingkan dengan ekstrak.

### Hasil Uji Kadar Air Simplisia dan Ekstrak

Kadar air adalah salah satu metode yang sangat penting untuk menentukan mutu dan ketahanan terhadap kerusakan yang mungkin terjadi pada simplisia dan ekstrak. Semakin tinggi kadar air suatu bahan, akan semakin besar kemungkinan kerusakannya baik sebagai akibat aktivitas biologis internal (metabolisme) maupun masuknya mikroba (Daud dkk., 2020). Hasil pengujian kadar air simplisia dan ekstrak dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Uji Kadar Air Simplisia dan Ekstrak

Sampel	Kadar Air dan SD (%)	Syarat (%)
Simplisia Buah Cabe Jawa	4,8297 ± 0,3511	≤10%
Simplisia Daun Mangga	4,6346 ± 0,2940	≤10%
Ekstrak Buah Cabe Jawa	6,9974 ± 0,2913	≤ 10%
Ekstrak Daun Mangga	6,1585 ± 0,3775	≤ 10%

Ekstrak Sari	$5,8092 \pm$	
Buah lemon	0,2867	$\leq 10\%$

## Hasil Uji Kadar Abu Simplisia dan Ekstrak kering

Uji kadar abu dilakukan bertujuan untuk mengetahui kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak (Utami, 2020). Pada tahap ini ekstrak di dipanaskan pada suhu  $600^{\circ}\text{C}$  hingga senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sampai tinggal unsur mineral dan anorganik saja. Hasil pengujian kadar air simplisia dan ekstrak dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Uji Kadar Abu Simplisia dan Ekstrak

Sampel	Kadar Abu dan SD (%)	Syarat (%)
Simplisia Buah Cabe Jawa	$5,9020 \pm$ 0,5377	$\leq 6,7\%$
Simplisia Daun Mangga	$5,2194 \pm$ 0,4617	$<12\%$
Ekstrak Buah Cabe Jawa	$4,3702 \pm$ 0,2261	$\leq 10,2\%$
Ekstrak Daun Mangga	$3,8980 \pm$ 0,2986	$\leq 10,2\%$
Ekstrak Sari Buah lemon	$2,6285 \pm$ 0,1851	$\leq 10,2\%$

## Hasil Uji Fitokimia Ekstrak

Parameter tanin terkondensasi menggunakan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  (Besi III klorida) yaitu adanya perubahan warna hijau kehitaman. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tinta pada ekstrak setelah ditambahkan dengan  $\text{FeCl}_3$  karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion  $\text{Fe}^{3+}$  (Dwika dkk., 2016). Untuk tanin terhidrolisis menggunakan pereaksi bromide ( $\text{KBr}$ ) yaitu ditandai dengan tidak adanya endapan (Tyler *et al.*, 1976). Terbentuknya endapan pada larutan ekstrak setelah ditambahkan dengan  $\text{KBr}$  karena tanin akan membentuk endapan. Hasil uji fitokimia ekstrak dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil Uji Fitokimia Ekstrak

Ekstrak	Uji Tanin $\text{FeCl}_3$	Uji Tanin $\text{KBr}$
Buah Cabe Jawa	+	-
Sari Buah Lemon	+	-
Daun Mangga		
Arumanis	+	-

Keterangan :

(+) Mengandung senyawa

(-) Tidak mengandung senyawa tersebut

Berdasarkan hasil penelitian uji fitokimia ekstrak buah cabe jawa positif tanin terkondensasi ditandai dengan perubahan warna hijau kehitaman, dan negatif tanin terhidrolisis ditandai dengan terbentuknya endapan.

## Hasil Analisis Kadar Tanin

Analisis kadar tanin ditentukan berdasarkan metode spektrofotometri UV-Vis.

Perlakuan yang dilakukan untuk menentukan kadar tanin pada sampel yaitu menambahkan reagen folin ciocalteu. Gugus hidroksil pada fenol bereaksi dengan reagen folin ciocalteu membentuk senyawa kompleks berwarna biru yang dapat dideteksi dengan spektrofotometer. Penambahan natrium karbonat digunakan agar kondisi menjadi basa (Karim dkk., 2021). Analisis kadar tanin dilakukan pada panjang gelombang maksimum 766,5 nm dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali (triplo). Sebelum dilakukan pengukuran dilakukan inkubasi selama 40 menit agar reaksi berjalan sempurna, sehingga memberikan intensitas warna yang maksimal. Absorbansi yang didapat dihitung konsentrasi dengan persamaan regresi linear yang didapat yaitu  $y = 0,0581x + 0,0378$  dengan nilai  $R^2 = 0,9991$ . Hasil analisis kadar tanin dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Hasil Analisis Kadar Tanin

Ekstrak	Rata-Rata Kadar Tanin (mg GAE/g) ± SD
Buah Cabe Jawa	1,3690 ± 0,0321 <sup>b</sup>
Sari Buah Lemon	0,8799 ± 0,0043 <sup>a</sup>
Daun Mangga Arumanis	2,2504 ± 0,0274 <sup>c</sup>
Kombinasi	2,6167 ± 0,0182 <sup>d</sup>

Kadar tanin yang terkandung dalam ekstrak buah cabe jawa, serbuk sari buah lemon, dan ekstrak daun mangga arumanis serta kombinasi ketiga sampel tersebut memiliki kadar yang berbeda, dikarenakan dalam setiap

tanaman memiliki berbagai metabolit sekunder dengan kandungan yang berbeda. Kadar senyawa tanin yang berbeda pada sampel tunggal dan kombinasi, karena dimungkinkan sama halnya seperti senyawa flavonoid karena adanya interaksi dari berbagai sampel yang mengakibatkan senyawa dapat terreduksi sehingga memengaruhi kadar tanin (Mahfirohtun, 2020).

Metode penetapan kadar tanin yang digunakan pada penelitian ini adalah modifikasi dari metode penelitian Amorim *et al.*, (2008). Dalam metode penelitian Amorim *et al.*, (2008), penentuan konsentrasi tanin dihitung sebagai selisih antara konsentrasi polifenol total dan konsentrasi polifenol non tanin. Polifenol non tanin didapatkan dengan menghilangkan tanin dari polifenol total dengan cara penambahan protein (gelatin), sehingga tanin akan membentuk endapan yang terpisah dari filtrat. Modifikasi penelitian yang dilakukan adalah menganalisis larutan uji kontrol gelatin (sebagai protein) yang digunakan untuk mengendapkan tanin. Hal ini, protein akan menjadi matriks analisis, sehingga perlu dilakukan analisis terhadap matriks dari protein.

Metode penelitian ini terdapat matriks analisis yaitu gelatin dan pelarut, maka dari itu dilakukan pengukuran blanko pelarut dan blanko gelatin (larutan uji kontrol gelatin). Adapun fungsi dari blanko pelarut yaitu mengetahui pengaruh pelarut ketika direaksikan dengan pereaksi follin ciocalteu dan natrium karbonat.

Penggunaan blanko pelarut biasanya sebagai *zero set* pada spektrofotometer. Menurut teori, kandungan gelatin pada larutan uji kontrol gelatin tidak bisa bereaksi dengan pereaksi folin ciocalteu, dikarenakan gelatin adalah protein tidak memiliki gugus yang dapat teroksidasi. Namun, hasil modifikasi metode ini larutan uji kontrol gelatin memberikan serapan setelah direaksikan dengan pereaksi folin ciocalteu dan natrium karbonat. Hal ini bisa terjadi karena protein dapat bereaksi dengan logam membentuk kompleks, yang selanjutnya dapat bereaksi dengan pereaksi folin ciocalteu, yang merupakan prinsip dari metode lowry. Prinsip kerja dari metode Lowry adalah reaksi antara protein dengan asam fosfotungstato-fosfomolibdat pada suasana alkalis akan memberikan warna biru yang intensitasnya tergantung pada konsentrasi protein yang ditera.

Berdasarkan output data SPSS, untuk uji homogenitas diperoleh nilai  $\text{Sig.} > 0,05$  yaitu sebesar 0,088 yang artinya data berdistribusi homogen. Pada uji normalitas diperoleh nilai  $\text{Sig.} > 0,05$ , masing-masing buah cabe jawa 0,238; sari buah lemon 0,806; daun mangga arumanis 0,645; kombinasi 0,268 yang artinya data berdistribusi normal.

Setelah dilakukan uji normalitas dan homogenitas, dilakukan uji *One Way ANOVA* untuk melihat perbedaan yang signifikan. Dalam uji ( $F$ ) simultan didapatkan  $F$  hitung kadar tanin sebesar 3551,381 dan  $F$  tabel kadar tanin sebesar 4,07, karena  $F$  hitung  $>$   $F$  tabel

maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima artinya masing-masing ekstrak tunggal dan kombinasi ketiga ekstrak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar tanin. Didapatkan nilai  $\text{Sig.} 0,000$  ( $\text{Sig.} < 0,05$ ) artinya, ada perbedaan yang signifikan antara kadar tanin masing-masing sampel. Diperlukan uji lanjut yaitu uji lanjut Duncan yang dilihat dari nilai tengahnya, menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kadar tanin sari buah lemon, buah cabe jawa, daun mangga arumanis dan kombinasi.

## KESIMPULAN

Pada penelitian ini, diperoleh hasil analisa kadar tanin pada ekstrak buah cabe jawa, ekstrak daun mangga arumanis, serbuk sari buah lemon dan kombinasi ketiga ekstrak diperoleh secara berturut-turut adalah  $1,36 \pm 0,0321$  mg GAE/g;  $2,25 \pm 0,0274$  mg GAE/g;  $0,87 \pm 0,0043$  mg GAE/g dan  $2,61 \pm 0,0182$  mg GAE/g. Terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar tanin ekstrak buah cabe jawa, ekstrak daun mangga arumanis, serbuk sari perasan lemon dan kombinasi ketiga ekstrak.

## SARAN

Saran untuk penelitian selanjutnya, filtrat yang mengandung polifenol non tanin digunakan untuk menganalisis kadar flavonoid. Selain itu, senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman dapat diidentifikasi lebih spesifik dengan metode yang berbeda.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aimaier, S., Tao, Y., Lei, F., Yupeng, Z., Wenhui, S., Aikemu, A., & Maimaitiyiming, D. (2023). Protective effects of the Terminalia bellirica tannin-induced Nrf2/HO-1 signaling pathway in rats with high-altitude pulmonary hypertension. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23(1), 1–11.
- Amorim, E. L. C., Nascimento, J. E., Monteiro, J. M., Sobrinho, T. J. S. P., Araújo, T. A. S., & Albuquerque, U. P. (2008). A Simple and Accurate Procedure for the Determination of Tannin and Flavonoid Levels and Some Applications in Ethnobotany and Ethnopharmacology. *Functional Ecosystems and Communities*. 2(1), 88–94.
- Daud, A., Suriati, S., & Nuzulyanti, N. (2020). Kajian Penerapan Faktor yang Mempengaruhi Akurasi Penentuan Kadar Air Metode Thermogravimetri. *Lutjanus*, 24(2), 11–16.
- Departemen Kesehatan RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: DirJen POM.
- Departemen Kesehatan RI., 1995. *Farmakope Indonesia, Edisi IV*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan : Jakarta.
- Dewi, D. A. L. (2021). Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Lipase Ekstrak Buah Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) Secara In-vitro Sebagai Anti-Hiperlipidemia. Univeritas Jember.
- Dwika, W., Putra, P., Agung, A., Oka Dharmayudha, G., & Sudimartini, L. M. (2016). Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) di Bali. *Indonesia Medicus Veterinus Oktober*, 5(5), 464–473.
- Karim, A., Ma'ruf, D., & Rahim, M. (2021). Penetapan Kadar Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Yang Berasal Dari Kabupaten Jeneponto Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Farmasi Pelamonia*, 1(1), 2775–8567.
- Khafid, A., Dwijunjianto Wiraputra, M., Christyaji Putra, A., Khoirunnisa, N., Awalia Kirana Putri, A., Widodo Agung Suedy, S., Nurchayati. (2023). Uji Kualitatif Metabolit Sekunder pada Beberapa Tanaman yang Berkhasiat sebagai Obat. *Buletin Anatomi dan Fisiologi Volume 8 Nomor 1*.
- Kumontoy, D., Deeng., D., & Mulianti, T. (2023). Pemanfaatan Tanaman Herbal Sebagai Obat Tradisional Untuk Kesehatan Masyarakat Di Desa Guaan Kecamatan Mooat Kabupaten Bolaang Mongondow Timur. *Jurnal Holistik*. 16(3), 1–20.
- Mahfirotun, Y. (2020). Penentuan Kadar Senyawa Flavonoid Ekstrak Kombinasi Buah Anggur, Tin, Delima dan Zaitun Menggunakan Analisis Spektrofotometer UV-Vis. *Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim*.
- Mehmood, H., Mehmood, J., & Zulfiqar, N. (2023). Exploring the Phytochemistry and Pharmacology of *Mangifera indica* L. (Mango) Leaves: A Review. *SSRN Electronic Journal*, 4, 9–18.
- Salleh, W. M. N. H. W., & Ahmad, F. (2020). Phytopharmacological investigations of *Piper retrofractum* Vahl. – A review. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 85(3), 193–202.

- Shiyan, S., Pratiwi, G., Sari, A. R., & Alta, U. (2022). *Narrative Review: Profil Fitokimia Dan Potensi Farmakologi Citrus limon*. *Jurnal 'Aisyiyah Medika*, 7(2), 34–48.
- Sriarumtias, F. F., Najihudin, A., Rantika, N., & Nengsih, R. (2020). Antibacterial Activity Of Tangerine Powder (*Citrus reticulata* Blanco.) Against Caries Causing Bacteria (*Streptococcus mutans*). *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(2), 148–157.
- Susilawati, S., & Kasron, K. (2019). Jus Lemon untuk menurunkan Hipertensi pada Warga di Desa Menganti Kabupaten Cilacap. *Journal of Community Engagement in Health*, 2(2), 9–13.
- Swaroop, A., Stohs, S. J., Bagchi, M., Moriyama, H., & Bagchi, D. (2018). Mango (*Mangifera indica* Linn) and anti-inflammatory benefits: Versatile roles in mitochondrial bio-energetics and exercise physiology. *Functional Foods in Health and Disease*, 8(5), 267–279.
- Syafitri, M. H., Suryandari, M., & Martha, J. A. (2023). Pengaruh Pengeringan Terhadap Senyawa Fitokimia Simplisia dan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Buah Cabe Jawa. *Journal of Herbal, Clinical and Pharmaceutical Science*, 4(2), 18–26.
- Tyler, V. E., Brady L. R., Robbers J. E. 1976. *Pharmacognosy*. Seventh Edition. London : Lea & Febiger 134-170