

Original Research

PENENTUAN KADAR FENOLIK TOTAL EKSTRAK DAN FRAKSI-FRAKSI DAUN KEPUNDUNG (*Baccaurea racemosa*)

DETERMINATION OF TOTAL PHENOLIC LEVELS OF EXTRACTS AND FRACTIONS OF KEPUNDUNG LEAVES (*Baccaurea racemosa*)

Dinda Sahila¹ *, Handa Muliasari¹, Lina Permatasari² Neneng Rachmalia Izzatul Mukhlisah³

¹Kedokteran, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia, Kode Pos

*E-mail: dindasahila77@email.com

Diterima: (kosongkan)

Direvisi: (kosongkan)

Disetujui: (kosongkan)

Abstrak

Baccaurea racemosa merupakan salah satu tumbuhan berkhasiat obat yang secara empiris bagian daunnya dimanfaatkan untuk mengobati diare dan melancarkan haid. Aktivitas tersebut diperoleh karena daun *B. racemosa* mengandung senyawa metabolit seperti flavonoid dan fenolik. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa senyawa fenolik yang terkandung pada ekstrak daun *B. racemosa* memiliki aktivitas antioksidan potensial. Namun, penelitian mengenai kadar senyawa fenolik total yang terkandung dalam ekstrak dan fraksi daun kepundung (*B. racemosa*) belum memadai. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menetapkan kadar senyawa fenolik total yang terkandung dalam ekstrak dan fraksi-fraksi daun kepundung (*B. racemosa*). Penarikan senyawa dilakukan menggunakan metode sonikasi dengan pelarut etanol 96% dan partisi cair-cair dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan akuades. Ekstrak dan fraksi-fraksi yang diperoleh dianalisis profil metabolitnya dengan uji tabung dan kadar fenolik total dengan spektrofotometri UV-Vis. Perolehan kadar fenolik total kemudian dianalisis statistik dengan metode *one-way analysis of variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji Tukey. Hasil uji tabung menunjukkan ekstrak dan fraksi-fraksi daun kepundung mengandung senyawa fenolik, flavonoid, steroid, dan saponin. Kadar fenolik total pada ekstrak etanol 96%, fraksi n-heksan, etil asetat, dan akuades secara berturut-turut sebesar $419,153 \pm 1,80$; $115,589 \pm 1,68$; $244,359$; dan $334,512 \pm 1,29$ mg EAG/gram ekstrak dan fraksi. Hasil uji statistik menunjukkan seluruh sampel memiliki kadar fenolik total yang berbeda signifikan.

Kata kunci: *B. racemosa*; Kepundung; Antioksidan; Senyawa fenolik; Ekstrak; Fraksi.

Abstract

Baccaurea racemosa is one of the medicinal plants whose leaves are empirically used to treat diarrhea and launch menstruation. This activity was obtained because *B. racemosa* leaves contain metabolite compounds such as flavonoids and phenolics. Several studies have shown that the phenolic compounds contained in *B. racemosa* leaf extract have potential antioxidant activity. However, research on the levels of total phenolic compounds contained in the extract and fractions of kepundung leaves (*B. racemosa*) has not been sufficient. Therefore, this research was conducted to determine the levels of total phenolic compounds contained in the extracts and fractions of kepundung leaves (*B. racemosa*). Withdrawal of compounds was carried out using the sonication method with 96% ethanol solvent and liquid-liquid partitioning with n-hexane, ethyl acetate, and distilled water. The extracts and fractions obtained were analyzed for their metabolite profiles by test tube and total phenolic content by UV-Vis spectrophotometry. The obtained total phenolic content was then analyzed statistically using the one-way analysis of variance (ANOVA) method and followed by the Tukey test. Test-tube results showed that extracts and fractions of kepundung leaves contained phenolic compounds, flavonoids, steroids and saponins. The total phenolic content in the 96% ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate, and distilled water respectively were 419.153 ± 1.80 ; 115.589 ± 1.68 ; $244,359$; and 334.512 ± 1.29 mg EAG/gram extract and fraction. The statistical test results showed that all samples had significantly different phenolic levels.

Keywords: *B. racemose*; kepundung; antioxidants; phenolic compounds; extracts; fractions

PENDAHULUAN

Pengobatan tradisional termasuk *herbal medicine* digunakan secara terus menerus di berbagai wilayah di dunia. *World Health Organization* (WHO) menyatakan bahwa penggunaan *herbal medicine* mencapai lebih dari 90% di Asia Tenggara, dan di negara berkembang penggunaan obat tradisional mencapai lebih dari 80% dari jumlah populasinya [1,2] Namun demikian, obat tradisional harus digunakan secara rasional dan berbasis bukti [3]. Indonesia diperkirakan memiliki 30.000 spesies tumbuhan, dengan 9.600 spesies tumbuhan berkhasiat sebagai obat-obatan, jumlah tumbuhan berkhasiat tersebut cukup tinggi dan masih perlu dibuktikan khasiatnya secara ilmiah [4].

Tumbuhan yang banyak digunakan oleh masyarakat dalam pengobatan dan tersebar di berbagai wilayah di Indonesia salah satunya berasal dari genus *Baccaurea* [5]. Beberapa penelitian menunjukkan genus *Baccaurea* berpotensi sebagai antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, antidiabetes, antikanker, dan antitripanosoma [6,7,5] Khasiat-khasiat tersebut diperoleh karena genus *Baccaurea* mengandung beberapa metabolit sekunder seperti fenolik, flavonoid, terpenoid, saponin, alkaloid, karotenoid, tanin, steroid dan asam rosmarinik [8,9,10]

Baccaurea racemosa dengan nama lokal kepundung merupakan salah satu spesies dari genus *Baccaurea* yang terdapat di Indonesia. Bagian tumbuhan yang sering digunakan dalam pengobatan adalah daun, karena tersedia dalam jumlah yang besar, mudah diolah, dan dalam pengambilannya tidak merusak tumbuhan [11]. Secara empiris daun *B. racemosa* dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengobati diare dan melancarkan haid [12]. Aktivitas tersebut didapatkan

karena daun *B. racemosa* mengandung senyawa metabolit seperti flavonoid dan fenolik yang tinggi [13,14].

Senyawa fenolik dapat bekerja sebagai antidiare dengan cara mengurangi sekresi mukosa usus dan mengurangi rangsangan terhadap meningkatnya peristaltik usus [15,16]. Selain berkhasiat sebagai antidiare, senyawa fenolik juga berperan sebagai antioksidan. Antioksidan sangat diperlukan untuk memperbaiki kerusakan sel yang berpotensi menimbulkan berbagai penyakit [17,18,19]. Penggunaan senyawa antioksidan alami dianjurkan karena beberapa antioksidan sintetis diduga bertanggung jawab atas karsinogenesis dan kerusakan hati [20].

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa bagian daun *B. racemosa* memiliki aktivitas antioksidan yang potensial karena mengandung senyawa fenolik dengan kadar yang tinggi [21]. Ekstrak metanol dan etanol daun *B. racemosa* mempunyai nilai IC_{50} yang mendekati IC_{50} dari vitamin C [22]. Penelitian yang dilakukan oleh Widodo *et al.* (2019) menunjukkan bahwa ekstrak daun *B. racemosa* memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi, dibandingkan dengan beberapa sampel lainnya, baik yang diuji dengan metode DPPH, TEAC, dan FRAP [13]. Indrayoni *et al.*, (2022) membuktikan bahwa ekstrak etanol 96% *B. racemosa* menunjukkan penurunan aktivitas DPPH yang lebih kuat (1.593,17 mg/L GAEAC) dibandingkan dengan ekstrak etanol 96% *H. rosa-sinensis* (673,65 mg/L GAEAC) dan menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun *B. racemosa* mengandung senyawa fenolik (4.223,06 mg GAE/100 g ekstrak) dan flavonoid (10.383,12 mg QE/100 g ekstrak) [23].

Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut, diketahui bahwa daun *B. racemosa* mengandung senyawa fenolik potensial yang memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Namun, penelitian mengenai kadar senyawa fenolik total yang terdapat pada fraksi daun kepundung (*B. racemosa*) belum dilaporkan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menetapkan kadar senyawa fenolik total yang terkandung pada ekstrak dan fraksi-fraksi daun kepundung (*B. racemosa*).

METODE

Sampel (Bahan) Penelitian

Daun kepundung (*Baccaurea racemosa Follium.*) yang diperoleh dari Dusun Jurang Sate, Desa Sepakek, Kecamatan Pringgarata, Kabupaten Lombok Tengah, Provinsi Nusa Tenggara Barat (NTB). Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah akuades, asam asetat anhidrat, asam sulfat, asam galat p.a (Merck®), asam klorida (HCl teknis) pekat, Dragendorff, etanol 96% (teknis), etanol p.a, etil asetat teknis (Emsure®), ferri klorida (FeCl₃) 1%, *Folin-Ciocalteu*, natrium karbonat (Na₂CO₃ p.a), n-heksan teknis (Emsure®), dan serbuk magnesium (Mg), Mayer, dan Wagner.

Prosedur kerja

Determinasi Tumbuhan

Determinasi sampel dilakukan di Laboratorium Biologi, Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Ilmu Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Mataram.

Preparasi Sampel

Sampel dikumpulkan sejumlah 3 kg dengan kriteria daun tua, berwarna hijau tua, permukaan halus, tidak terkontaminasi jamur, dan tidak robek atau berlubang. Selanjutnya, dilakukan sortasi basah untuk menghilangkan bagian yang tidak digunakan dan ditimbang untuk mendapatkan bobot awal sebelum pengeringan. Sampel selanjutnya dicuci menggunakan air mengalir dengan perendaman bertingkat untuk menghilangkan kotoran. Sampel yang sudah dicuci dan ditiriskan, kemudian dirajang menggunakan gunting dengan ukuran yang seragam. Sampel yang sudah dirajang selanjutnya dikering anginkan pada ruangan dengan suhu sekitar 27-30°C [24]. Sampel selanjutnya disortasi untuk menghilangkan kotoran yang ada [25]. Hasil sortasi ditimbang dan dihitung persen rendemen menggunakan persamaan 1 [26]. Sampel kemudian dihaluskan dengan blender dan diayak menggunakan ayakan mesh 70 [27].

$$\text{Rendemen simplisia (\%)} = \frac{\text{Sampel basah}}{\text{Simplisia kering}} \times 100\% \quad (1)$$

Ekstraksi

Serbuk simplisia diekstraksi dengan metode sonikasi, sebanyak 200 g serbuk simplisia daun kepundung ditimbang dan ditambahkan dengan 2 L pelarut etanol 96% (1:10 b/v). Sampel disonikasi selama 30 menit dengan suhu 30°C. Setelah 30 menit, ekstrak kemudian disaring dengan kain mori dan kertas saring agar diperoleh bagian filtratnya [28]. Penambahan pelarut etanol 96% dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Filtrat yang diperoleh dari tiga kali pengulangan digabungkan, dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Hasil yang diperoleh setelah *rotary evaporator*, selanjutnya dikentalkan menggunakan *water bath*. Rendemen ekstrak dapat ditentukan dengan persamaan 2 [27,29,30].

$$\text{Rendemen ekstrak (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak total}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\% \quad (2)$$

Fraksinasi

Ekstrak kental etanol daun *B. racemosa* difraksinasi dengan metode partisi cair-cair menggunakan pelarut akuades, etil asetat, dan n-heksan. Prosedur fraksinasi diadaptasi dari penelitian yang dilakukan oleh Dona *et al.*, (2020) dengan sedikit modifikasi [31]. Fraksinasi dilakukan dengan melarutkan 10 g ekstrak kental dengan 100 ml akuades suhu 40°C dan diaduk hingga homogen. Larutan air ekstrak etanol daun *B. racemosa* dimasukkan ke dalam corong pisah kemudian ditambahkan pelarut n-heksan sebanyak 100 ml (1:1 v/v). Corong pisah digojok hingga terbentuk dua lapisan, selanjutnya lapisan yang terbentuk dipisahkan dengan membuka penutup kran. Fraksi n-heksan dipisahkan dan ditampung dengan wadahlain, sedangkan fraksi air difraksi dengan n-heksan sebanyak tiga kali pengulangan. Filtrat n-heksan yang diperoleh dari tiga kali pengulangan digabungkan, dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C [27]. Prosedur yang sama dilakukan untuk pelarut etil asetat. Rendemen masing-masing fraksi dapat ditentukan menggunakan persamaan 3 [32].

$$\text{Rendemen fraksi (\%)} = \frac{\text{Berat fraksi}}{\text{Berat ekstrak}} \times 100\% \quad (3)$$

Uji Tabung

Profil metabolit daun kepundung diskriming fitokimia menggunakan pereaksi pendeteksi golongan dengan tabung reaksi sebagai wadah. Senyawa metabolit dianalisis menggunakan metode yang diadopsi dari Ahmad *et al.*, (2018) dengan prosedur sebagai berikut [33]:

1. Pembuatan Larutan Uji Fitokimia

Lautan dibuat dengan cara melarutkan masing-masing 0,05 g ekstrak kental etanol 96%, fraksi n-heksan, etil asetat, dan air daun kepundung dengan 50 ml pelarut etanol p.a kemudian di vortex sampai larutan tercampur.

2. Analisis Fenolik

Larutan uji masing-masing ekstrak dan fraksi-fraksi dipipet sebanyak 2 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Larutan FeCl_3 1% ditambahkan sebanyak 3 tetes pada masing-masing tabung reaksi. Tabung reaksi digoyangkan dan diamati perubahan warna yang terjadi. Positif fenolik ditandai dengan terjadinya perubahan warna larutan menjadi hijau, ungu, biru, hitam atau lebih pekat dari warna awal.

3. Analisis Flavonoid

Larutan uji masing-masing ekstrak dan fraksi-fraksi dipipet sebanyak 2 ml, dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan 5 tetes etanol 96% dan dikocok hingga homogen. Selanjutnya, sebanyak 0.2 mg serbuk Magnesium dan 5 tetes HCl pekat ditambahkan ke dalam masing-masing tabung reaksi yang berisi sampel. Tabung reaksi digoyangkan dan diamati perubahan warna yang terjadi. Positif flavonoid ditandai dengan terjadinya perubahan warna larutan menjadi merah, kuning atau jingga.

4. Analisis Terpenoid dan Steroid

Larutan uji masing-masing ekstrak dan fraksi-fraksi dipipet sebanyak 2 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Larutan asam asetat anhidrat sebanyak 1 tetes dan H_2SO_4 pekat sebanyak 2 tetes ditambahkan ke dalam masing-masing tabung reaksi yang berisi sampel. Tabung reaksi digoyangkan dan diamati perubahan warna yang terjadi. Positif terpenoid ditandai dengan terbentuknya warna merah, jingga, atau ungu, dan positif steroid ditandai dengan terbentuknya warna hijau atau biru.

5. Analisis Saponin

Larutan uji masing-masing ekstrak dan fraksi-fraksi dipipet sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 ml akuades hangat. Campuran larutan digojog kuat selama 10 detik. Apabila terbentuk busa, ditambahkan HCl 2N sebanyak 1 tetes. Positif saponin ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil selama 30 detik.

6. Analisis Alkaloid

Larutan uji masing-masing ekstrak dan fraksi-fraksi dipipet sebanyak 9 ml, ditambahkan HCl 2N sebanyak 1 ml, kemudian dipanaskan dalam penangas air selama 2 menit, dan disaring. Larutan sampel yang telah dipanaskan dibagi ke dalam 3 tabung reaksi berbeda. Tabung 1 ditambahkan 2 tetes reagen Mayer, positif alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih. Tabung 2 ditambahkan 2 tetes reagen Dragendorff, positif alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna jingga kecoklatan atau coklat kemerahan. Tabung 3

ditambahkan 2 tetes reagen Wagner, positif alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna kecoklatan.

Penentuan Kadar Fenolik Total

Penentuan kadar fenolik total dilakukan dengan menggunakan metode yang diadaptasi dari Andriani & Murtisiwi, (2018) dengan sedikit modifikasi [34].

Pembuatan Larutan Standar Asam Galat (500 ppm)

Serbuk asam galat ditimbang sebanyak 25 mg dan dilarutkan dengan 0,25 ml etanol p.a, kemudian diencerkan dengan akuades sampai volume 50 ml. Larutan digojok hingga homogen [34].

Pembuatan Larutan Standar Asam Galat Berbagai Konsentrasi

Larutan asam galat dibuat menjadi beberapa seri konsentrasi, yaitu 10; 20; 30; 40; dan 50 ppm. Larutan dibuat dengan cara dipipet sejumlah 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1 ml dari larutan induk asam galat 500 ppm. Hasil pemipetan dituang ke dalam labu ukur 10 ml dan volume larutan dicukupkan hingga 10 ml menggunakan akuades. Larutan digojok hingga homogen [34].

Pembuatan Larutan Na_2CO_3 7,5% b/v

Serbuk Na_2CO_3 ditimbang sebanyak 7,5 gram. Serbuk Na_2CO_3 dilarutkan dengan akuades secukupnya, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan dicukupkan dengan akuades hingga tanda batas. Larutan dihomogenkan dengan cara divortex [35].

Penentuan Operating Time

Larutan asam galat 30 ppm dipipet sebanyak 0,3 ml ditambahkan dengan reagen *Folin-Ciocalteu* yang telah diencerkan dengan akuades (1:10) sebanyak 1,5 ml. Campuran digojog dan didiamkan selama 3 menit. Selanjutnya ditambahkan larutan Na_2CO_3 7,5 % sebanyak 1,2 ml, digojog homogen dan diukur absorbansinya dalam rentang waktu 0-120 menit setiap 1 menit pada panjang gelombang 765 nm. Blanko dibuat dengan mencampurkan 0,3 ml akuades, 1,5 ml reagen *FC* dan 1,2 ml Na_2CO_3 7,5 % [34].

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan asam galat 30 ppm dipipet sebanyak 0,3 ml ditambahkan dengan reagen *Folin-Ciocalteu* yang telah diencerkan dengan akuades (1:10) sebanyak 1,5 ml. Campuran digojog dan didiamkan selama 3 menit. Selanjutnya ditambahkan larutan Na_2CO_3 7,5 % sebanyak 1,2 ml, digojog dan didiamkan pada rantang *operating time*, kemudian absorbansinya diukur pada panjang gelombang 600-850 nm [34].

Pembuatan Kurva Baku Asam Galat

Larutan asam galat berbagai konsentrasi, yaitu 10; 20; 30; 40; dan 50 µg/ml dipipet sebanyak 0,3 ml ditambahkan dengan reagen *Folin-Ciocalteu* yang telah diencerkan dengan akuades (1:10) sebanyak 1,5 ml. Campuran digojog dan didiamkan selama 3 menit. Selanjutnya ditambahkan larutan Na₂CO₃ 7,5 % sebanyak 1,2 ml, digojog homogen dan didiamkan dalam rentang *operating time*. Semua larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum, kemudian dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat (ppm) dengan absorbansi yang diperoleh. Pengukuran direplikasi sebanyak 2 kali hingga diperoleh 3 data pengukuran [34].

Penentuan Kadar Fenolik Total Sampel dengan Sepktro UV-Vis

Masing-masing ekstrak dan fraksi ditimbang sebanyak 10 mg, dilarutkan menggunakan campuran etanol p.a : akuades (1:1) sampai volumenya 10 ml. Masing-masing larutan ekstrak dan fraksi dipipet sebanyak 0,3 ml ditambahkan dengan reagen *Folin-Ciocalteu* yang telah diencerkan dengan akuades (1:10) sebanyak 1,5 ml. Campuran digojog dan didiamkan selama 3 menit. Selanjutnya ditambahkan larutan Na₂CO₃ 7,5 % sebanyak 1,2 ml, digojog homogen dan didiamkan dalam rentang *operating time*, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Pengukuran direplikasi sebanyak 2 kali hingga diperoleh 3 data pengukuran [34].

Analisis Data

Data hasil analisis profil metabolit dengan uji tabung dianalisis secara deskriptif dengan menjabarkan hasil yang diperoleh dalam bentuk tabel dan gambar, serta menganalisis hasil dengan membandingkan dengan literatur. Data hasil pengukuran kurva baku asam galat berbagai konsentrasi disajikan dalam bentuk tabel dan persamaan regresi dicari menggunakan *excel*. Persamaan yang didapatkan digunakan untuk menghitung konsentrasi fenolik dari sampel ekstrak dan fraksi-fraksi.

$$TPC = \frac{c.v.f.p}{g} \quad (4)$$

Kandungan fenolik total dihitung menggunakan rumus seperti pada persamaan 4, dan dinyatakan dalam mg ekivalen asam galat (EAG)/g ekstrak atau fraksi-fraksi daun kepundung. Perhitungan statistik dilakukan dengan metode *one-way analysis of variance* (ANOVA) dengan perangkat lunak SPSS 22.0, yang dilanjutkan dengan uji Tukey untuk membandingkan perbedaan pengaruh perlakuan terhadap kadar fenolik yang diperoleh dari ekstrak etanol 96% dan fraksi-fraksi daun kepundung [36Listiawati, 2022; 37Aggraeni & Abdulgani, 2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Sampling dan Determinasi Tumbuhan Kepundung (*Baccaurea racemosa*)

Daun kepundung (*Baccaurea racemosa Follium.*) dikoleksi di daerah dengan koordinat 8°35'37,78224" S - 116°16'25,74696" E. Koordinat berfungsi menunjukkan letak atau posisi pengambilan sampel. Menurut Utomo et al., (2020) perbedaan lokasi pengambilan atau tempat tumbuh berpengaruh terhadap senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam suatu

tumbuhan [38]. Sampel daun kepundung yang dikoleksi terkumpul sejumlah 3 kg, dengan kriteria yaitu daun tua yang berwarna hijau tua, permukaan halus, tidak terkontaminasi jamur, dan tidak robek atau berlubang (**Gambar 1**) [39,40].



Gambar 1. Hasil panen daun kepundung (*Baccaurea racemosa*) (Dokumentasi pribadi, 2023)

Sampel kepundung dideterminasi untuk memastikan apakah tumbuhan tersebut benar-benar jenis *Baccaurea racemosa* atau tidak. Hasil determinasi yang dilakukan oleh Drs. I Gede Mertha, M.Si. menunjukkan bahwa tumbuhan yang dikoleksi adalah benar merupakan *Baccaurea racemosa* (Reinw. Ex BI.).

Pembuatan Simplisia Daun Kepundung (*Baccaurea racemosa*)

Sampel daun kepundung basah yang terkumpul, disortasi dan dicuci sebanyak tiga kali untuk menghilangkan kotoran secara optimal. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Frazier (1978) pencucian sebanyak satu kali mampu menghilangkan 25% mikroba, sedangkan pencucian sebanyak tiga kali mampu menghilangkan 58% mikroba [41]. Setelah dicuci bersih, sampel segera ditiriskan untuk mengurangi kandungan air pada permukaan daun sehingga mengurangi kemungkinan pembusukan [42].

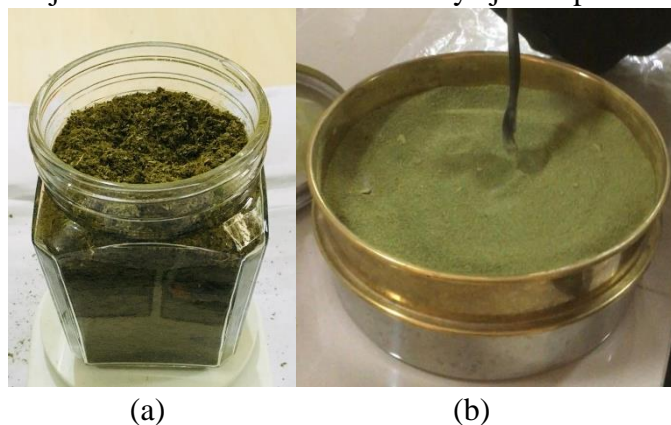
Sampel selanjutnya dirajang, dengan ukuran ± 2 cm untuk memudahkan proses pengeringan, penghalusan, dan penyimpanan simplisia [43]. Hasil perajangan yang didapatkan sesuai dengan parameter kontrol kualitas Kemenkes RI (2011) karena sampel memiliki bentuk dan ukuran yang seragam [40]. Setelah semua daun dirajang, selanjutnya daun dikeringkan untuk mengurangi kadar air agar simplisia tidak mudah rusak dan tidak mudah ditumbuhi kapang, jamur, atau jasad renik lain [42]. Pengeringan dilakukan secara alami kering angin karena senyawa yang akan diambil adalah senyawa fenolik yang bersifat termolabil atau tidak tahan terhadap pemanasan [44]. Pengeringan daun kepundung berlangsung selama 5 hari, dengan kriteria seperti dalam Pertiwi & Wulandari (2022) yaitu sampel dapat dikatakan kering apabila terjadi perubahan warna, terasa ringan, dan apabila diremas mudah untuk dipatahkan [42]. Daun kepundung yang telah kering dapat dilihat pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Simplisia daun kepunding (*Baccaurea racemosa*) (Dokumentasi pribadi)

Setelah semua daun kering, selanjutnya daun disortasi kering dan ditimbang. Bobot simplisia kering diperoleh sejumlah 950 gram. Berdasarkan data hasil penimbangan simplisia basah dan kering, diperoleh rendemen simplisia sebesar 31,66%. Hasil rendemen menunjukkan seberapa banyak simplisia yang didapatkan setelah melewati berbagai tahapan pembuatan simplisia [45].

Selanjutnya simplisia daun diserbukkan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan mesh 70. Penyerbukan dilakukan untuk memperkecil ukuran partikel simplisia sehingga memudahkan simplisia untuk berkontak dengan pelarut pada saat ekstraksi, sedangkan pengayakan dilakukan untuk menyeragamkan ukuran serbuk simplisia [46]. Pengayakan menggunakan mesh 70 menghasilkan serbuk yang halus dan seragam seperti yang terlihat pada **Gambar 3 b**. Antari, *et al*, (2015) menunjukkan bahwa semakin halus bahan yang digunakan maka semakin tinggi rendemen dan kadar senyawa yang dihasilkan [47]. Sampel selanjutnya disimpan dalam wadah toples yang bersifat inert, ringan, dan mudah digunakan. Penyimpanan menggunakan toples dengan tambahan silica gel dilakukan agar simplisia dapat disimpan dalam waktu yang lama dengan kualitas, dan tingkat kekeringan yang terjaga, dapat diketahui dari aroma yang masih menunjukkan bau khas dan tidak adanya jamur pada serbuk simplisia [40].



Gambar 3. (a) Serbuk simplisia daun kepunding sebelum diayak (b) Serbuk simplisia daun kepunding diayak dengan mesh 70 (Dokumentasi pribadi, 2023)

Ekstrak Etanol Daun Kepundung (*Baccaurea racemosa*)

Serbuk simplisia daun kepundung diekstraksi dengan pelarut etanol 96%, perbandingan 1:10 b/v menggunakan metode sonikasi suhu 30°C selama 30 menit. Ekstraksi dilakukan dengan penambahan pelarut etanol 96% sebanyak tiga kali untuk memaksimalkan penarikan senyawa metabolit yang terkandung pada sampel, pernyataan tersebut didukung oleh Muheidin (2008) dalam Rezki (2015) yang menyatakan bahwa ekstraksi beberapa kali dengan pelarut yang lebih sedikit lebih efektif dibandingkan dengan ekstraksi satu kali dengan pelarut sekaligus [48]. Terlihat dari perubahan warna larutan yang awalnya berwarna hijau tua pada penambahan pertama dan menjadi semakin muda pada setiap pengulangan.

Hasil ekstrak etanol cair yang telah disaring selanjutnya diuapkan dengan *rotary evaporator*. *Rotary evaporator* bekerja di bawah tekanan atmosfer (vakum) sehingga titik didih pelarut dapat diturunkan untuk mengurangi resiko kerusakan sampel yang diuapkan [49]. Penelitian yang dilakukan oleh Yuliantari *et al* (2017) menunjukkan senyawa fenolik dapat terdegradasi pada suhu di atas 50°C [27]. Oleh karena itu, penguapan pelarut etanol 96% pada suhu 40°C tepat untuk digunakan meskipun titik didih etanol adalah 78,5°C. Tekanan 175 mBar digunakan untuk pelarut etanol, sesuai dengan yang ada pada buku panduan di laboratorium penelitian. Ekstrak selanjutnya dikentalkan menggunakan *water bath*.



Gambar 4. Ekstrak etanol 96% daun kepundung (*Baccaurea racemosa*) (Dokumentasi pribadi, 2023)

Hasil ekstrak kental yang diperoleh berwarna hijau tua, dengan aroma khas daun kepundung, dan bertekstur kental sedikit kasar (**Gambar 4**). Bobot ekstrak kental yang diperoleh adalah sejumlah 18,059 gram dengan rendemen sebesar 9,02 %. Hasil persen rendemen yang diperoleh berada di bawah nilai persen rendemen yang baik yaitu 10% [50]. Namun, rendemen yang diperoleh pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Irasari *et al.*, (2022) yang menghasilkan rendemen sebesar 3,33% dari sampel rumput laut merah (*E. spinosum*) yang diekstraksi secara maserasi dengan pelarut metanol 1:3 [51]. Perbedaan perolehan rendemen dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti jenis pelarut yang digunakan, perbandingan bahan dan pelarut, serta metode, waktu dan suhu yang digunakan untuk ekstraksi.

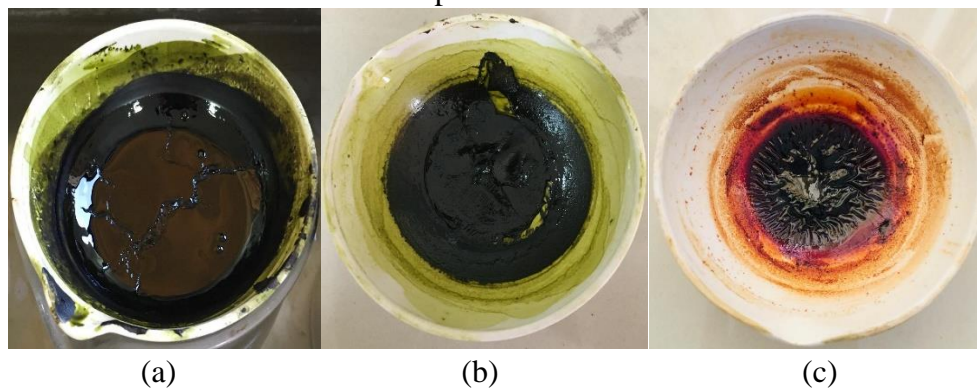
Efektivitas pelarut dalam mengekstraksi suatu senyawa sangat tergantung pada kelarutan senyawa tersebut dalam suatu pelarut. Pelarut etanol 96% digunakan karena etanol bersifat universal sehingga mampu melarutkan hampir semua senyawa organik yang terdapat pada

sampel, baik yang bersifat polar, semi polar, hingga non polar [52]. Penelitian Kurniawati (2016) menunjukkan bahwa etanol 96% merupakan pelarut yang paling maksimal untuk ekstraksi rumput laut *Gracilaria* sp, karena menghasilkan rendemen yang paling tinggi dibandingkan dengan pelarut lainnya [53]. Semakin banyak pelarut yang digunakan maka semakin banyak senyawa yang dapat terekstrak, namun penggunaan pelarut dengan volume yang tidak tepat mengakibatkan penurunan kadar senyawa yang diinginkan [54](Putra *et al.*, 2019). Penelitian Handayani (2016) menunjukkan perbandingan simplisia dan pelarut 1:10 b/v menghasilkan rendemen dan kadar fenolik total yang lebih tinggi dibandingkan perbandingan 1:5 b/v [55]. Metode sonikasi membutuhkan waktu yang lebih singkat dengan perolehan rendemen yang lebih banyak dibandingkan metode lainnya, karena sonikator bekerja dengan memanfaatkan gelombang *ultrasonic* yang mampu meningkatkan pemecahan dinding sel dengan cara membentuk rongga pada sel, sehingga senyawa mudah untuk terekstraksi ke dalam pelarut [56].

Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Kepundung (*Baccaurea racemosa*)

Ekstrak kental sebanyak 10 gram difraksinasi cair-cair untuk mengelompokkan senyawa-senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol daun kepundung berdasarkan tingkat kepolarannya. Oleh karena itu, dipilih tiga pelarut dengan polaritas dan berat jenis yang berbeda yaitu n-heksan (non-polar), etil asetat (semi polar), dan akuades (polar).

Hasil pencampuran larutan dengan polaritas dan masa jenis yang berbeda akan menyebabkan terbentuknya fase yang terpisah. Pada saat pencampuran, senyawa-senyawa dari ekstrak akan bergerak dan terpisah menuju pelarut dengan sifat polaritas yang sama [32]. Proses fraksinasi dilakukan dengan tiga kali pengulangan untuk menarik senyawa dengan optimal. Fraksi-fraksi yang diperoleh selanjutnya diuapkan dan dikentalkan dengan *rotary evaporator*. Perolehan fraksi-fraksi kental dicantumkan pada **Gambar 5**.



Gambar 5. Fraksi ekstrak etanol 96% daun kepundung (a) Fraksi n-heksan (FBR-NH) (b) Fraksi etil asetat (FBR-EA) (c) Fraksi air (FBR-A) (Dokumentasi pribadi, 2023)

Fraksi-fraksi yang telah mengental ditimbang dan diperoleh bobot kental dengan rendemen seperti yang dicantumkan pada **Tabel 1**. Fraksi air memiliki bobot ekstrak dan persen rendemen yang paling tinggi. Menurut Armando (2009) dalam Wijaya (2018) semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan maka nilai ekstrak yang dihasilkan juga semakin banyak [57]. Persentase rendemen bergantung pada kemampuan pelarut untuk melarutkan suatu senyawa,

sesuai dengan prinsip dasar *like dissolved like*, dimana suatu pelarut polar akan mudah melarutkan senyawa yang bersifat polar [58]. Berdasarkan pernyataan tersebut dapat dikatakan bahwa senyawa-senyawa yang terdapat pada ekstrak daun kepundung cenderung bersifat polar karena lebih banyak terekstraksi menuju pelarut akuades yang bersifat polar dibandingkan pelarut etil asetat dan n-heksan.

Tabel 1. Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol 96% Daun Kepundung (*Baccaurea racemosa*)

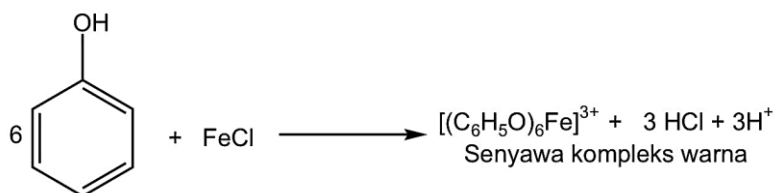
Fraksi	Uji Organoleptis			Bobot (gram)	Rendemen (%)
	Warna	Aroma	Tekstur		
FBR-NH	Hijau kehitaman	Khas daun kepundung	Kental, halus	2,594	25,94
FBR-EA	Hijau kekuningan	Khas daun kepundung	Kental, kasar	3,965	39,65
FBR-A	Jingga kecoklatan	Khas daun kepundung	Kental, kasar	7,67	70,62

Keterangan: FBR-NH: Fraksi *Baccaurea racemosa* n-Heksan; FBR-EA: Fraksi *Baccaurea racemosa* Etil Asetat; FBR-A: Fraksi *Baccaurea racemosa* Air

Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi-fraksi Daun Kepundung (*Baccaurea racemosa*)

Skrining fitokimia memberikan gambaran awal mengenai golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak dan fraksi-fraksi daun kepundung. Golongan senyawa yang diskriminasi pada penelitian ini adalah fenolik, flavonoid, terpenoid, steroid, saponin, dan alkaloid. Hasil skrining fitokimia ekstrak dan fraksi-fraksi daun kepundung (*Baccaurea racemosa*) dapat dilihat pada **Tabel 2**.

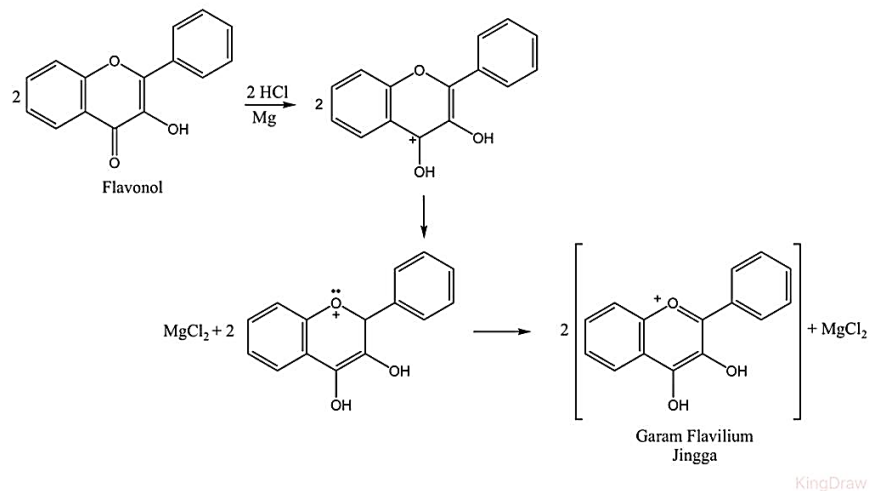
Senyawa fenolik dan flavonoid teridentifikasi dalam ekstrak etanol 96%, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun kepundung. Senyawa fenolik umumnya bersifat polar karena mengandung satu atau lebih gugus hidroksil (bagian polar) yang melekat pada cincin aromatik (bagian non-polar) sehingga mampu terlarut pada pelarut yang bersifat polar, semi polar, maupun non-polar [59]. Adanya senyawa fenolik pada suatu ekstrak ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi hijau, ungu, biru, hitam atau lebih gelap dibandingkan sebelum ditambahkan reagen [60]. Perubahan warna terjadi akibat adanya reaksi antara ion Fe dari $FeCl_3$ yang membentuk kompleks dengan gugus hidroksil pada senyawa fenolik (**Gambar 6**) [61].



Gambar 6. Reaksi antara senyawa fenol dengan $FeCl_3$ [61].

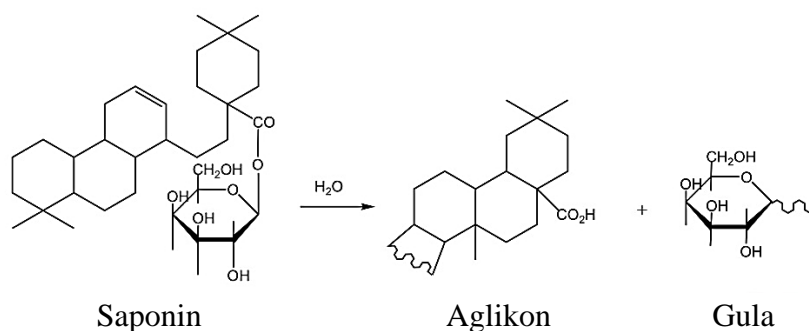
Senyawa flavonoid umumnya bersifat polar sehingga mampu terlarut dalam pelarut polar dan memiliki bentuk aglikon seperti polimetoksi atau isovlapon yang mampu terlarut dalam

pelarut non-polar maupun semi polar [62]. Adanya senyawa flavonoid pada suatu ekstrak ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi merah, jingga, atau kuning [60]. Perubahan warna terjadi akibat penambahan Mg dan HCl yang mereduksi benzopiranon pada senyawa flavonoid menjadi benzopirilium dan menghasilkan warna merah, jingga atau kuning (**Gambar 7**) [63].



Gambar 7. Reaksi antara senyawa flavonoid dengan HCl dan Mg [61].

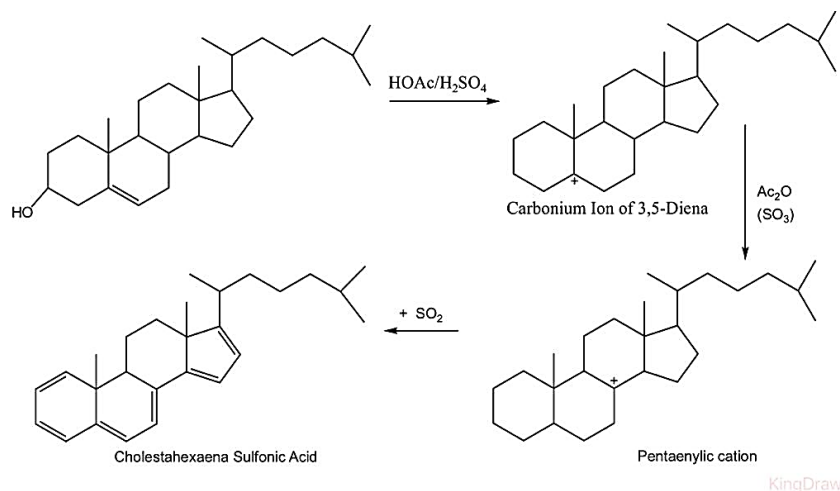
Senyawa saponin bersifat polar karena memiliki gugus glikosil dan non-polar karena memiliki gugus hidrofob yaitu aglikon berupa sapogenin sehingga dapat terlarut pada pelarut polar, semi polar, dan non-polar [64]. Adanya saponin ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil setelah pengkocokan dan penambahan HCl. Busa terbentuk karena proses adsorpsi molekul saponin pada permukaan air yang dapat menurunkan tegangan permukaan air (**Gambar 8**) [65].



Gambar 8. Reaksi senyawa saponin dengan H₂O [66].

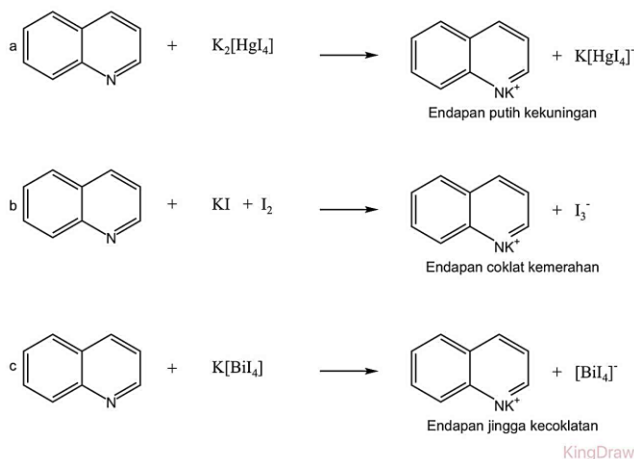
Senyawa steroid positif terkandung dalam ekstrak etanol 96%, fraksi n-heksan, dan fraksi etil asetat daun kepundung sedangkan senyawa terpenoid tidak teridentifikasi pada semua sampel. Senyawa steroid dan terpenoid merupakan senyawa yang bersifat non-polar dan diidentifikasi dengan reagen yang sama yaitu reagen *Liebermann-Bouchard*. Hasil positif ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi hijau atau biru untuk senyawa steroid dan merah, jingga, atau ungu untuk terpenoid. Perbedaan warna yang dihasilkan disebabkan oleh perbedaan

gugus atom yang terletak pada senyawa steroid dan terpenoid, mekanisme reaksi dapat dilihat pada **Gambar 9** [64].



Gambar 9. Mekanisme reaksi uji steroid dan terpenoid [64].

Senyawa alkaloid merupakan senyawa yang bersifat semi polar yang mampu terlarut dalam pelarut etanol yang bersifat universal, akuades yang bersifat polar, etil asetat yang bersifat semi polar, dan n-heksan yang bersifat non-polar [60]. Namun, pada penelitian ini senyawa alkaloid tidak terdeteksi pada ekstrak etanol 96% maupun fraksi-fraksi daun kepungung. Hasil negatif ditunjukkan dengan tidak terbentuknya endapan pada semua sampel yang diujikan, reaksi pengendapan seharusnya terjadi seperti yang dincanumkan pada **Gambar 10**. Hasil pengujian alkaloid yang didapatkan pada penelitian ini, dapat didukung dengan hasil penelitian Wulandari *et al.*, (2020) yang melakukan skrining fitokimia dengan metode KLT dan menunjukkan bahwa pada ekstrak metanol, etanol, maupun etil asetat daun kepungung tidak terdeteksi adanya senyawa alkaloid [22].



Gambar 10. Reaksi identifikasi alkaloid dengan reagen (a) Mayer, (b) Wagner, dan (c) Dragendorff [66].

Terdapat beberapa perbedaan hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder pada penelitian ini dengan penelitian Wulandari *et al.*, (2020) yang melakukan identifikasi senyawa pada daun kepundung menggunakan metode KLT [22]. Perbedaan kandungan senyawa metabolit sekunder dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor baik itu faktor internal seperti genetik dan faktor eksternal seperti perbedaan kondisi tempat tumbuh [67].

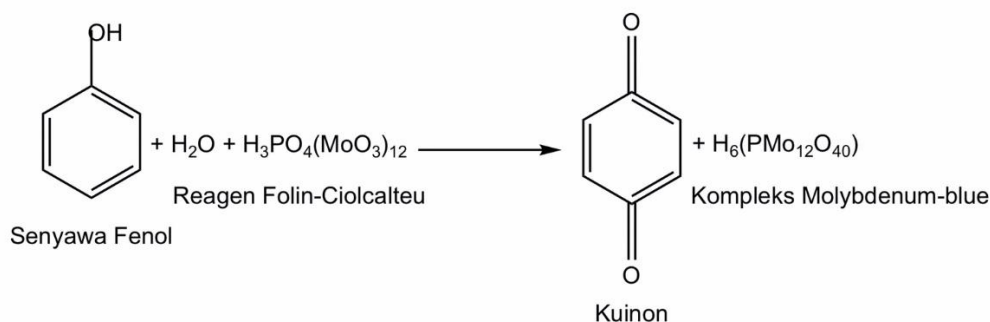
Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi-fraksi Daun Kepundung (*Baccaurea racemosa*)

Sampel	Senyawa Positif
Ekstrak etanol 96%	Fenolik, flavonoid, steroid, dan saponin
Fraksi n-Heksan	Fenolik, flavonoid, dan steroid
Fraksi etil asetat	Fenolik, flavonoid, steroid, dan saponin
Fraksi air	Fenolik, flavonoid, dan saponin

Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Daun Kepundung (*Baccaurea racemosa*)

Kadar fenolik total ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun kepundung pada penelitian ini dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis, dengan asam galat sebagai pembanding. Asam galat digunakan sebagai standar pengukuran karena asam galat tergolong dalam asam fenol sederhana turunan hidroksibenzoat yang tersedia dalam bentuk murni, stabil, dan tersedia dengan harga yang murah [68] (Lee *et al.*, 2003 dalam Rahayu & Inanda, 2015). Reagen *Folin-Ciocalteu* (FC) dipilih karena telah digunakan secara luas untuk mengukur kadar fenolik total, sederhana, sensitif terhadap fenolik, dan hasilnya relatif akurat [69](Berker *et al.*, 2013).

Senyawa fenolik memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel pada gugus aromatik. Gugus hidroksil pada senyawa fenolik akan teroksidasi oleh reagen FC dalam suasana basa membentuk ion fenolat, yang akan mereduksi asam heteropoli (fosfomolibdat-fosfotungstat) menjadi suatu kompleks molibdenum-tungsten berwarna biru yang dapat dideteksi dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang (600-850 nm), reaksi senyawa fenolik dan reagen FC dapat dilihat pada **Gambar 11** [70,71]. Semakin pekat warna yang dihasilkan menandakan semakin banyak senyawa fenolik yang bereaksi [68], dapat dilihat pada **Gambar 14**.

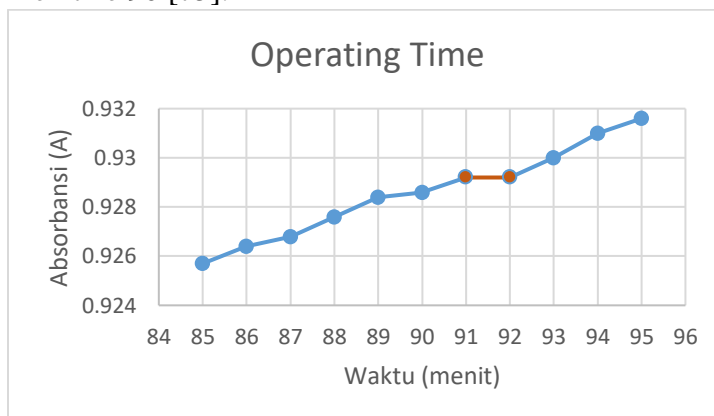


Gambar 1. Mekanisme reaksi senyawa fenolik dengan reagen *Folin-Ciocalteu* [72]

Senyawa fenolik dapat bereaksi dengan reagen *FC* hanya dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat [61]. Pada penelitian ini suasana basa diberikan dengan menambahkan Na_2CO_3 7,5%. Namun, menurut Mondong *et al.*, 2015 reagen *Folin-Ciocalteu* tidak stabil dalam suasana basa karena pada kondisi basa, reagen *FC* akan mudah teroksidasi oleh oksidan lain termasuk apabila terkena udara [73]. Oleh karena alasan tersebut, reagen *FC* ditambahkan sebelum sampel dibasakan dan wadah yang digunakan untuk mereaksikan ditutup dengan *aluminium foil* untuk meminimalkan kontak dengan udara. Sebelum penambahan Na_2CO_3 , sampel yang telah ditambahkan reagen *FC* diinkubasi selama 3 menit terlebih dahulu bertujuan agar larutan sampel dan reagen *FC* lebih homogen.

Menurut Prior *et al.*, 2005 dalam Yusnawan dan Utomo, 2017 agar hasil analisis senyawa fenolik dalam suatu sampel dapat dipertanggung jawabkan harus dipertimbangkan beberapa hal, yaitu perbandingan volume yang tepat antara pereaksi basa dengan reagen *FC*, waktu reaksi yang optimal, panjang gelombang saat analisis, dan penggunaan pembanding sebagai standar [74]. Pada penelitian ini penggunaan *FC* (1:10) sebanyak 1,5 ml dengan Na_2CO_3 7,5% sebanyak 1,2 ml tepat untuk digunakan hal ini sesuai dengan penelitian Andriani & Murtisiwa, (2018) yang menggunakan *FC* (1:10) 1,5 ml dan Na_2CO_3 1,2 untuk direaksikan senyawa fenolik [34]. Berdasarkan pengalaman peneliti penggunaan *FC* dan Na_2CO_3 dengan perbandingan yang tidak tepat menyebabkan terbentuknya larutan berwarna putih yang akan mengganggu keakuratan hasil pengukuran.

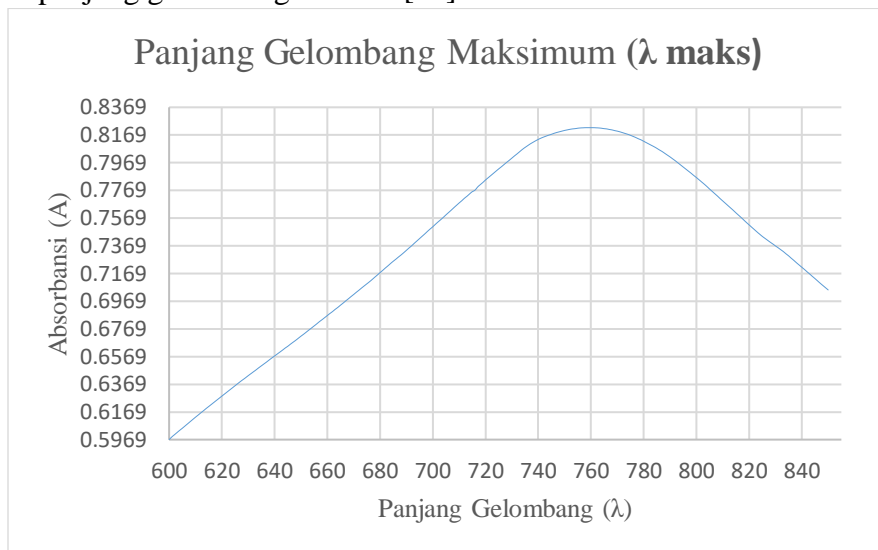
Tahapan pertama untuk mengukur kadar fenolik dilakukan dengan menentukan *Operating time* untuk mencari waktu reaksi yang optimal agar mendapatkan nilai absorbansi yang stabil. Hasil *Operating time* diperoleh pada menit ke 91 dan 92 yang ditandai dengan adanya absorbansi yang stabil, dapat dilihat pada **Gambar 12**. Waktu *operating time* yang diperoleh tidak berbeda jauh dengan penelitian Hapsari *et al.*, (2018) yang memperoleh *operating time* pada menit ke 90 [75].



Gambar 12. Kurva *Operating Time* (Waktu *operating time* ditandai dengan warna orange)

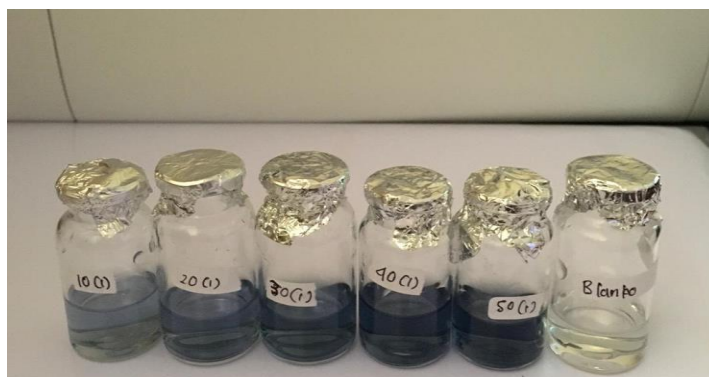
Setelah mendapatkan *operating time* dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum untuk mendapatkan nilai absorbansi yang maksimal [76]. Absorbansi diukur pada rentang panjang gelombang 600-850 nm. Berdasarkan hasil pemindaian, absorbansi maksimum diperoleh pada panjang gelombang 760 nm, dapat dilihat pada **Gambar 13**. Hasil yang diperoleh

sejalan dengan penelitian Dewantara *et al.*, (2021) yang memperoleh absorbansi maksimum asam galat pada panjang gelombang 760 nm [77].



Gambar 13. Kurva panjang gelombang maksimum (λ maks)

Kurva baku asam galat diperoleh dari berbagai seri konsentrasi (10; 20; 30; 40; 50 ppm) agar mendapatkan kurva baku yang linear. Persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva baku asam galat digunakan untuk menghitung kadar fenolik total yang terkandung pada ekstrak dan fraksi-fraksi daun kepundung (*Baccaurea racemosa*). Pengukuran kurva baku dilakukan sebanyak tiga kali untuk memvalidasi prosedur yang dilakukan dan memperoleh ketelitian yang tinggi [78].

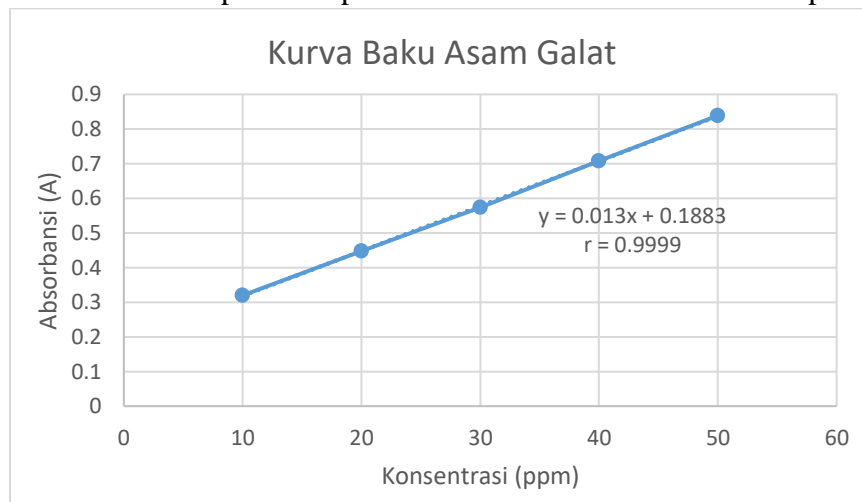


(a) (b) (c) (d) (e) (f)

Gambar 14. Larutan asam galat berbagai konsentrasi (a) 10 ppm (b) 20ppm (c) 30 ppm (d) 40 ppm (e) 50 ppm (f) Blanko (Dokumentasi pribadi, 2023).

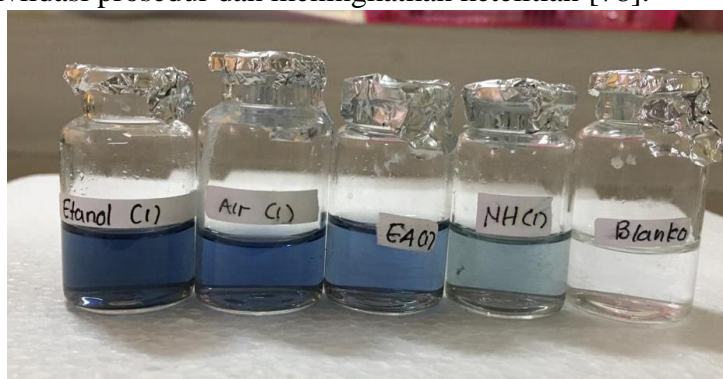
Berdasarkan rata-rata data absorbansi tiga kali pengukuran diperoleh kurva baku seperti yang dapat dilihat pada **Gambar 15** dengan persamaan $y = 0,013x + 0,1883$ dengan koefisien korelasi sebesar 0,9999. Nilai koefisien korelasi tergolong baik karena mendekati angka 1 yang menunjukkan bahwa kurva standar memiliki respon linear dan dapat digunakan untuk

pengukuran sampel [79]. Oleh karena itu, persamaan yang diperoleh dapat digunakan untuk menghitung kadar fenolik total pada sampel ekstrak dan fraksi-fraksi daun kepundung.



Gambar 15. Kurva baku asam galat

Setelah mendapatkan *operating time*, panjang gelombang maksimum, dan persamaan asam galat. Selanjutnya pengukuran absorbansi sampel ekstrak dan fraksi-fraksi daun kepundung dengan konsentrasi 1000 ppm pada panjang gelombang 760nm setelah diinkubasi selama 91 menit. Sampel daun kepundung konsentrasi 1000 ppm yang direaksikan dengan reagen *FC* dan Na_2CO_3 terlalu pekat, menyebabkan hasil pengukuran melewati rentang absorbansi yang baik yaitu 0,2-0,8 A [80]. Oleh karena itu, dilakukan pengenceran larutan ekstrak dan fraksi-fraksi daun kepundung 1000 ppm menggunakan akuades dengan perbandingan (1:10). Larutan sampel yang telah direaksikan dapat dilihat pada **Gambar 16**. Pengukuran sampel dilakukan sebanyak tiga kali untuk memvalidasi prosedur dan meningkatkan ketelitian [78].



Gambar 16. Larutan sampel yang telah direaksikan dengan reagen *Folin-Ciocalteu* dan Na_2CO_3 (Dokumentasi pribadi)

Hasil pengukuran absorbansi sampel dicantumkan pada **Tabel 3**. Perolehan % CV pada semua sampel tidak lebih dari 1 %, dalam Dio *et al*, (2021) nilai CV < dari 5 % menandakan tingkat kepercayaan data mencapai 95% [81]. Oleh karena itu, data yang didapatkan pada penelitian ini dapat dikatakan mempunyai nilai presisi yang tinggi sehingga dapat digunakan

untuk perhitungan selanjutnya. Absorbansi yang diperoleh dari masing-masing sampel disubsitusikan ke dalam persamaan regresi linear kurva baku asam galat kemudian dihitung dengan rumus pengukuran kadar fenolik total. Hasil perhitungan kadar fenolik total ekstrak dan fraksi-fraksi daun kepundung dicantumkan pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Hasil perhitungan kadar TPC ekstrak etanol 96% dan fraksi-fraksi daun kepundung (*Baccaurea racemosa*)

Sampel Replikasi	Absorbansi	TPC (mg EAG/gram sampel)	Rata-rata TPC ± SD (mg EAG/gram sampel)
Ekstrak Etanol (1000 ppm)			
I	0,7347	420,308	419,153 ± 1,80*
II	0,7305	417,077	
III	0,7344	420,077	
Fraksi n-Heksan (1000 ppm)			
I	0,3411	117,538	115,589 ± 1,68*
II	0,3374	114,692	
III	0,3372	114,538	
Fraksi Etil asetat (1000 ppm)			
I	0,5018	241,154	244,359 ± 3,27*
II	0,5058	244,231	
III	0,5103	247,692	
Fraksi Air 1000 ppm)			
I	0,625	335,923	334,512 ± 1,29*
II	0,6217	333,385	
III	0,6228	334,231	

Keterangan: *Hasil TPC berbeda bermakna secara statistik berdasarkan uji *One Way ANOVA*

Kadar fenolik total tertinggi terdapat pada ekstrak etanol diikuti fraksi air, etil asetat dan yang paling rendah adalah fraksi n-heksan. Senyawa fenolik cenderung bersifat polar. Namun, pada penelitian ini kadar fenolik total lebih banyak terkandung pada ekstrak etanol 96% yang memiliki polaritas lebih rendah dibanding fraksi air. Hal ini sejalan dengan penelitian Padmawati *et al.*, (2020) yang membandingkan kadar fenolik total ekstrak eceng padi dari berbagai pelarut, dan menunjukkan bahwa kadar TPC paling rendah diperoleh pada fraksi air yaitu sebesar 2,28 mg GAE/gram sampel [52]. Menurut Septian dan Asnani, (2012) pelarut air sangat polar dibandingkan dengan pelarut lainnya, sehingga komponen yang bersifat polar seperti karbohidrat mudah terekstrak dan menyebabkan total fenol yang dapat terlarut pada pelarut akuades lebih rendah [82]. Berdasarkan perolehan kadar fenolik tertinggi yaitu pada ekstrak etanol 96%, diperkirakan senyawa fenolik yang terkandung pada daun kepundung bersifat polar. Penelitian

Galanakis *et al.*, (2013) menunjukkan bahwa senyawa fenol alami yang umumnya terlarut dalam pelarut etanol adalah oleuropein, asam rosmarinik, asam p-hidroksibenzoat, p-hidroksifenil asetat, tirosol, dan hidroksi tirosol [59].

Kadar fenolik daun kepundung pada penelitian ini 10 kali lipat lebih tinggi dibandingkan penelitian Indrayoni & Padmiswari., (2022) yang memperoleh kadar fenolik total ekstrak etanol 96% daun kepundung sebesar 4.223,06 mg GAE/100 gram ekstrak atau sama dengan 42,2306 mg EAG/gram ekstrak yang dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis [23]. Namun, kadar fenolik daun kepundung yang diperoleh hampir setara dengan nilai kadar fenolik total ekstrak etanol 75% daun manggis yaitu sebesar 499,87 mg EAG/gram ekstrak yang dianalisis dengan metode spektrofotometri UV-Vis [83](Salim *et al.*, 2019).

Perbedaan kadar fenolik daun kepundung yang diperoleh pada penelitian ini dengan penelitian yang dilakukan oleh Indrayoni & Padmiswari dapat disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya lokasi tumbuh. Daun kepundung pada penelitian ini diperoleh dari Dusun Jurang Sate, Desa Sepakek, Kecamatan Pringgarata, Kabupaten Lombok Tengah, Provinsi Nusa Tenggara Barat (NTB) sedangkan daun kepundung pada penelitian Indrayoni & Padmiswari diperoleh dari Karangasem, Bali. Perbedaan tempat tumbuh dengan suhu, cahaya, dan kelembaban yang berbeda mempengaruhi produksi senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan [23]. Hal ini dibuktikan oleh penelitian Lallo *et al.*, (2019) yang membandingkan kadar fenolik total dari ekstrak rimpang lengkuas (*Alpinia galanga* L.) yang diperoleh dari tiga lokasi berbeda yaitu Kecamatan Bara, Kota Palopo; Kecamatan Mungkajang, Kota Palopo; dan Kecamatan Sesean, Kota Rantepao dengan kadar fenolik total secara berturut-turut sebesar $6,08 \pm 0,25\%$; $5,09 \pm 0,14\%$; $5,47 \pm 0,24\%$ [84].

Hasil perhitungan TPC dianalisis menggunakan uji statistik parametrik *One Way ANOVA* menggunakan SPSS versi 22. Agar dapat dilakukan uji *One Way ANOVA* terlebih dahulu harus dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Hasil pengujian normalitas menggunakan Shapiro-wilk menunjukkan seluruh sampel memiliki data yang terdistribusi secara normal karena memiliki nilai signifikan lebih besar dari 0,05 ($P > 0,05$). Uji homogenitas menunjukkan nilai signifikan 0,521 ($P > 0,05$) artinya data terdistribusi secara homogen. Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas yang menunjukkan bahwa data terdistribusi secara normal dan homogen, maka uji *One Way ANOVA* dapat dilakukan. Hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan nilai signifikan 0,00 ($P < 0,05$) artinya terdapat perbedaan signifikan yang berarti H_1 ditolak, sehingga dapat disimpulkan bahwa perbedaan pelarut berpengaruh secara signifikan terhadap kadar fenolik total [36]. Setelah itu, dilakukan uji lanjutan dengan uji Tukey untuk mengetahui tingkat perbedaan antar perlakuan. Hasil uji menunjukkan bahwa penggunaan pelarut berbeda berpengaruh secara nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar fenolik total yang dihasilkan (37Aggraeni & Abdulgani, 2013).

KESIMPULAN

Bedasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa:

Skrining fitokima dengan uji tabung menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% dan fraksi etil asetat daun kepundung mengandung senyawa fenolik, flavonoid, steroid, dan saponin. Fraksi n-heksan daun kepundung mengandung senyawa fenolik, flavonoid, dan steroid. Fraksi air mengandung senyawa fenolik, flavonoid, dan saponin.

Kadar fenolik total yang terkandung pada ekstrak etanol 96%, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air secara berturut-turut adalah sebesar $419,153 \pm 1,80$ mg EAG/gram ekstrak; $115,589 \pm 1,68$ mg EAG/gram fraksi; $244,359 \pm 3,27$ mg EAG/gram fraksi; dan $334,512 \pm 1,29$ mg EAG/gram fraksi. Hasil uji statistik menunjukkan seluruh sampel memiliki kadar fenolik yang berbeda signifikan.

DAFTAR RUJUKAN

1. WHO. WHO Global Report on Traditional and Complementary Medicine 2019. Geneva: World Health Organization; 2019.
2. Ekor, M. The Growing Use OF Herbal Medicines: Issues Relating to Adverse Reactions and Challenges in Monitoring Safety. *Front Pharmacol.* 2014, 4, 201-209.
3. WHO. World Health Organization traditional medicine Strategy: 2014-2023. Geneva: World Health Organization; 2013.
4. Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. Potensi Obat Herbal Indonesia. Jakarta: BPOM; 2020. Diakses pada tanggal 23 November 2022 Pukul 10.15.
<https://www.pom.go.id/new/view/more/pers/531/Potensi-Obat-Herbal-Indonesia.html>
5. Munawaroh, E., dan Astuti, I. P. Kajian Keanekaragaman Jenis *Baccaurea* spp., Pemanfaatan, Potensi dan Upaya Konservasinya di Kebun Raya Bogor. Seminar Nasional PMEI V. 2021; <https://jte.pmei.or.id/index.php/jte/article/view/124/98>
6. Mikail, M. A. et al. *Baccaurea angulata* fruit inhibits lipid peroxidation and inducesthe increase in antioxidant enzyme activities. *Eur J Nutr.* 2015; DOI 10.1007/s00394-015-0961-7.
7. Mohmod, A. L., Krishnasamy, G., Adenan, M. I. Review: Malaysian plants with potential in vitro trypanocidal activity. *Annals of Phytomedicine.* 2105; 4(1): 6-16.
8. Andriyanto, B. A., Ardiningsih, P., dan Idiawati, N. Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Belimbing Hutan (*Baccaurea angulate* Merr.). *JKK.* 2016; 5(4):9-13.
9. Tirtana, E., Idiawati, N., Warsidah., Jayuska, A. Analisa Proksimat, Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Pada Buah Tampoi (*Baccaurea macrocarpa*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa.* 2013; 2 (1): 42-45.
10. Panjaitan, M. P., Alimuddin, A. H., Adhitiyawarman. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Batang Ceria (*Baccaurea hookeri*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa.* 2014; 3(1):17-21.
11. Takoy, D. M., Linda, M., Lovadi, I. Tumbuhan Berkhasiat Obat Suku Dayak Di Kawasan Hutan Desa Ensabang Kecamatan Sepauk Kabupaten Sintang. *Protobiont.* 2013; 2. (3): 122-128.
12. Hesthiati, E., Priatmodjo, D., Wisnubudi, G., dan Sukartono, I. G. S. Keanekaragaman Hayati Tanaman Buah Langka Indonesia. Lembaga Penerbit Unas: Jakarta; 2019.
13. Widodo, H., Sismindari, S., Asmara, W., dan Rohman, A. Antioxidant Activity, Total Phenolic and Flavonoid Contents of Selected Medicinal Plants Used for Liver Diseases and its Classification with Chemometrics. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* 2019; 9, (06), pp :099-105.
14. Junaidi, E., dan Anwar, Y. A. S. Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Asam Galat dari Kulit Buah Lokal yang Diproduksi dengan Tanase. *ALCHEMY Jurnal Penelitian.* 2018; 14, (1): 131-142.

- 15 Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., dan Kaur, H. Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *International Pharmaceutica Scientia*. 2011; 1 (1): 98-106.
- 16 Kumar, R., Sharma, R. J., Bairawa, K., Roy, R. K., and Kumar, A. Pharmacological review on Natural Antidiarrheal Agents. *Der Pharma Chemical*. 2010; 2 (2): 66-93.
- 17 Hajhashemi, V., Vaseghi, G., Pourfarzam, M., Abdollahi, A. Are antioxidants helpful for disease prevention. *Res Pharm Sci*. 2010; 5(1): 1–8.
- 18 Rajendran, P., Nandakumar, N., Rengarajan, T., Palaniswami, R., Gnanadhas, E. N., Lakshminarasiah, U., Gopas, J., and Nishigaki, I. Antioxidants and human diseases. *Clinica Chimica Acta*. 2014; 436(9): 332–347.
- 19 Verma, P., Mishra, S. Antioxidants and disease prevention. *Int. J. Adv. Sci. Res*. 2014; 4(2): 902–911.20 Hatamia, T. B., dan Emamic, S. A. Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Various *Artemisia biennis* Willd. Air Extracts and Fractions. *Iran Pharmaceutical Journal Research*. 2014; 13. (2): 551-558.
20. Hatamia, T. B., dan Emamic, S. A. Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Various *Artemisia biennis* Willd. Air Extracts and Fractions. *Iran Pharmaceutical Journal Research*. 2014; 13. (2): 551-558.
21. Permatasari, L., Riyanto, S., dan Rohman, A. The Review of *Baccaurea racemosa*: Neglected Plants, but Potential to be Developed. *Advances in Health Sciences Research*. 2021; 46. (2): 383-389.
22. Wulandari, L., Nugraha, A. S., dan Azhari, N. P. Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetes Ekstrak Daun Kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell.Arg.) secara In Vitro. *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*. 2020; 7, (1): 60-66.
23. Indrayoni, P., dan Padmiswari, A. A. I. M. Potential of *Hibiscus Rosa-Sinensis* L. and *Baccaurea Racemosa* Extract as a Hair Growth with Tail Suspension Test. *Ad-Dawaa' Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2022; 5 (1): 1-7.
24. Nisa, M., Jannah, R., Qodri, U. L., dan Sari, R. T. Pengaruh Metode Pengeringan terhadap Kadar Flavonoid Simplisia Daun Cermay (*Phyllanthus acidus* L. Skeels). *Jurnal Farmasi Ma Chung*. 2023; (1):8-12.
25. Prasetyo., dan Entang, I. *Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-obatan Bahan Simplisia*. Cetakan I. Bengkulu: Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB; 2013.
26. Rahmawati, S. I., Zein, E. R., Mardiah., Listani, E., and. Nurlaela, R. S. Yield and Antioxidant of *Simplicia* from *Pepermoia Pellucida* Using Drum Dryer, Tray Dryer, and Solar Dryer Drying Method. *International Journal of Advance in Science Engineering and Technology*. 2017; 5. Iss-3. Spl.
27. Yuliantari, N. W. A., Widarta, I. W. R. dan Permana, I. D. G. M. Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Menggunakan Ultrasonik. *Scientific Journal of Food Technology*. 2017; 4 (1): 35-42.
28. Amalia, B. R., Handa, M., dan Hidayati, A. R. Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.) dan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose) dengan Metode DPPH. *Jurnal Pharmascience*. 2023; 10 (1): 69-81.
29. Fikayuniar, L. *Penuntun Praktikum Fitokimia*. Indonesia: Penerbit NEM; 2022.
30. Kumalasari, E., Nararia, N. M., Musiam, S. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol 70%, dan Fraksi Etil asetat Daun Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 2021; 4(1):74-84.

31. Dona, R., Furi, M., dan Suryani, F. Penentuan Kadar Total Fenolik, Total Flavonoid, dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak dan Fraksi Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk). *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*. 2020; 9 (2): 72-78.
32. Supomo., Sa'adah, H., Syamsul, E.S., Kintoko., Witasari, H. A., dan Noorcahyati. *Khasiat Tumbuhan Akar Kuning Berbasis Bukti*. Yogyakarta: Nas Media Pustaka; 2021.
33. Ahmad, F. M. Y., Katja, D. G., dan Suryanto, E. Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Batang *Chisocheton* sp. (C.DC) Harams yang Tumbuh di Gunung Soputan Sulawesi Utara. *PHARMACON*. 2018; 7 (4): 23-30.
34. Andriani, D., dan Mustisiwi. Penetapan Kadra Fenolik Total Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan Spektrofotometri UV-Vis. *Cendikia Journal of Pharmacy*. 2018; 2 (1): 33-37.
35. Qurniasih, I., Safitri, I., Aritionang, A. B., Warsidah., dan Helena, S. Kandungan Total Fenol Dalam Ekstrak Metanol dan Etil Asetat *Caulerpa racemosa*. *Indo. J. Pure App. Chem*. 2022; 15 (2), pp: 96-104.
36. Listiawati, M. D. A., Nastiti, K., dan Audina, M. Pengaruh Perbedaan Jenis Pelarut terhadap Kadar Fenolik Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.). *Journal of Pharmaceutical Care and Sciences*. 2022; 3 (1): 110-120.
37. Aggraeni, N. M., dan Abdulgani, N. Pengaruh Pemberian Pakan Alami dan Pakan Buatan Terhadap Pertumbuhan Ikan Betutu (*Oxyeleotris marmorata*) pada Skala Laboratorium. *Jurnal Sains dan Seni POMITS*. 2013; 2 (1): 197-201.
38. Utomo, D.S., Kristiani, E.B.E., dan Mahardika, A. Pengaruh Lokasi Tumbuh Terhadap Kadar Flavonoid, Fenolik, Klorofil, Karatenoid dan Aktivitas Antioksidam Pada Tumbuhan Pecut Kuda (*Stachytarpheta Jamaicensis*). *Bioma*. 2020, 22, (2): 143-149.
39. Palgunadi, S, dan Almandatya, Y. *Klasifikasi Kualitas Kesehatan Daun Mangga Berdasarkan Warna Citra Daun*. Surakarta: Prosiding SNST; 2014.
40. *Kemenkes RI. Pedoman Umum Panen & PascaPanen Tanaman Obat*. Tawamangu: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2011.
41. Frazier, W.C. and Westhoff, P.C. *Food Microbiology*, 3rd Ed. New Delhi: McGraw-Hill Company; 1978.
42. Pertiwi, R, dan Wulandari, S. *Farmakognosi Simplisia Minyak Atsiri dan Gula*. Klaten: Lakeisha; 2022.
43. Charisma, A.M. dan Ningsih, A.W. *Botani Farmasi*. Jawa Timur: Qiara Media; 2019.
44. Ulhusna, F.A., Syafrianti, D., Moriicha, U., dan Safriani, A. (2022). Profil Fitokimia dan Aktifitas Antioksidan Ekstrak Air Daun *Tegetes erecta* L. *JEUMPA*. Vol, 9 (1): 690-694.
45. Nahor, E.M., Rumagit, B.I., dan Tou, H.Y. Perbandingan Rendemen Ekstrak Etanol Daun Andong (*Cordyline fucosa* L.) Menggunakan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokhletasi. *Manado: PROSIDING*; 2020.
46. Jayani, N.I.E., dan Handoyo, H.O. Standarisasi Simplisia Daun Tempuyung (*Sonchi Folium*) Hasil Budidaya di Ubaya Training Center Trawas Mojokerto. *Journal of Pharmacy Science and Technology*. 2018; 1 (1):68-79.
47. Antari, N.M.R.O., Wartini, N.M., dan Mulyani, S. Pengaruh Ukuran Partikel dan Lama Ekstraksi Terhadap Karakteristik Ekstrak Warna Alami Buah Pandan. *Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 2015; 3 (4): 30-40.
48. Rezki, R.S., Anggoro, D., dan Siswarni, M.Z. Ekstraksi Multi Tahap Kurkumin Dari Kunyit (*Curcuma domestica* Valet) Menggunakan Pelarut Etanol. *Jurnal Teknik Kimia USU*. Article in Press. 2015; 29-34.50.

49. Syakdani, A., Purnamasari, I., dan Necessary, E. Prototipe Alat Evaporator Vakum (Efektivitas Temperatur dan Waktu Evaporasi Terhadap Tekanan Vakum dan Laju Evaporasi Pada Pembuatan Sirup Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)). *Jurnal Kinetika*. 2019; 10 (2): 29-35.
50. Depkes RI. *Farmakope Indonesia*. Edisi II. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2017.
51. Irasari, N., Diharmi, A., Sidauruk, S. W., dan Sinurat, F. Identifikasi Komponen Bioaktif dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Rumput Laut Merah (*Eucheuma spinosum*). *JTIP Indonesia*. 2022; 14 (1): 9-15.
52. Padmawati, I. A. G., Suter, I. K., dan Arihantana, H. N. M. I. Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Eceng Padi (*Monochoria vaginalis* Burm F. C. Presel.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 2020; 9 (1): 81-87.
53. Kurniawati, I., Maftuch., dan Hariati, A.M. Penentuan Pelarut dan Lama Ekstraksi Terbaik pada Teknik Maserasi *Gracilaria* sp Serta Pengaruhnya terhadap Kadar Air dan Rendemen. *Jurnal Ilmu Perikanan*. 2016; 7 (2): 72-77.
54. Putra, I.K.W., Putra, G.P., dan Wrasiasi, L.P. Pengaruh Perbandingan Bahan dengan Pelarut dan Waktu Maserasi terhadap Ekstrak Kulit Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai Sumber Antioksidan. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 2019; 8 (2):167-176.
55. Handayani, H., Sriherfyna, F.H., dan Yuniarta. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio Bahan: Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2016; 4 (1): 262-272.
56. Susiloningrum, D., dan Sari, D.E.M. Optimasi Suhu UAE (Ultrasonik Assisted Extraction) Terhadap Nilai Sun Protection Factor (SPF) Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber Purpureum* Roxb) Sebagai Kandidat Bahan Aktif Tabir Surya. *Cendikia Journal of Pharmacy*. 2023; 7, (1): 58-66.
57. Wijaya, H., Novitasari., dan Jubaidah, S. Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 2018; 4, (1): 79-83.
58. Dewatisari, W. F. Perbandingan Pelarut Kloroform dan Etanol terhadap Rendemen Ekstrak Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain.) Menggunakan Metode Maserasi. Lampung: Prosiding Seminar Nasional Biologi; 2020. <http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb/>
59. Galanakis, C.M., Goulas, V., Tsakona, S., Manganaris, G.A., dan Gekas, V. Dasar Pengetahuan untuk Pemulihan Alam Fenol dengan Pelarut yang Berbeda. *International Journal of Food Properties*. 2013; 2 (16): 382-396.
60. Agustina, W., Nurhamidah, dan Handayani, D. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi dari Kulit Batang Jarak (*Ricinus communis* L). *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*. 2017; 1 (2): 117-122.
61. Mukhriani, Sugiarna, R., Farhan, N., Rusdi, M., dan Arsul, M.I. Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Anggur (*Vitis vinifera* L). *ad-Dawaa'J.Pharm.Sci*. 2019; 2 (2): 95-102.
62. Rahmati, R. A., Lestari. T., dan Ruswanto. Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Saliara (*Lantana camara* L.) Dengan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Surya Medika*. 2020; 9 (1): 31-45
63. Asmorowati, H and Lindawati, N. Y. Determination of total flavonoid content in avocado (*Persea americana* Mill.) using spectrophotometry method. *Journal International*. 2019; 15 (2): 51-63.
64. Habibi, A. I., Firmansyah, R. A., dan Setyawati, S. M. Skrining Fitokimia Ekstrak n-Heksan Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*). *Indo. J Chem.Sci*. 2018; 7 (1): 1-4.

- 65 Amananti, W., Tivani, I., dan Riyanta, A. B. Uji Kandungan Saponin Pada Daun, Tangkai Daun dan Biji Tanaman Turi (*Sesbania Grandi*). Tegal: 2nd Seminar Nasional IPTEK Terapan (SENIT); 2017.
- 66 Marliana, S. D., Suryanti, V., & Suyono. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*. 2005; 3(1): 26–31.
- 67 Katuuk, R. H. H., Wanger, S. A., dan Tumewu, P. Pengaruh Perbedaan Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Metabolit Sekunder Pada Gulma Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.). Manado: Ratulangi Press; 2018.
- 68 Rahayu, M.P., dan Inanda, L.V. Penentuan Kadar Fenol Total Ekstrak Etil Asetat dan Fraksi Dichloromethan-Etil Asetat Kulit Batang Mundu (*Garcinia dulcis*. Kurz). *E-Journal Biomedika*. 2015; 8 (2): 37-44.
- 69 Berker, K.I., F.A., Ozdemir, O.D., Ozyurt, B. Demirata., and Apak, R. Modified Folin-Ciocalteu Antioxidant Capacity Assay for Measuring Lipophilic Antioxidants. *J Agric, Food Chem*. 2013; 61 (20): 4782-4791.
- 70 Ford, K. Theodoridou, G. N. Sheldrake, and P. J. Walsh. A critical review of analytical methods used for the chemical characterisation and quantification of phlorotannin compounds in brown seaweeds, *Phytochemical Analysis*. 2019; 30, no. 6, pp. 587–599.
- 71 Hernandez, J.C.C., Ocampo, G.T., and Correa, C.H.G. Folin-Ciocalteu Reaction Alternatives for Higher Polyphenol Quantitation in Colombian Passion Fruits. *International Journal of Food Science*. 2021; 1 (1): 1-10.
- 72 Koto, D. S. P., Ahda, M., Zainab., dan Guntarti, A. Determination of Polifenol Content and Antioxidant Activity Test of Ethanol Extract 70% Awar-Awar (*Ficus septica* Burm. F) Leaf using DPPH Method (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*. 2019; 7 (2): 89-96.
- 73 Mondong, F. R., Sangi, M. S., dan Kumaunang, M. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Patikan Emas (*Euphorbia prunifolia* Jacq.) dan Bawang Laut (*Proiphys amboinensis* (L.) Herb). *Jurnal UNSRAT*. 2015; 4 (1): 81-87.
- 74 Yusnawan, E., dan Utomo, J.S. Mikronalisasi Kandungan Senyawa Fenolik Total Ekstrak Biji Kedelai dengan Reagen Folin-Ciocalteu. *Jurnal Pertanian Tanaman Pangan*. 2017; 1 (1): 73-82.
- 75 Hapsari, A.M., Masfria, M.S., dan Dalimunthe, A. Pengujian Kandungan Total Fenol Ekstrak Etanol Tempuyung (*Shoncus arvensis* L.). *TM Conference Series*. 2018; 1 (1): 284-290.
- 76 Apriliyani, S.A., Martono, Y., Riyanto, C.A., Mutmainah., dan Kusmita, L. Validation of UV-Vis Spectrophotometric Methods for Determination of Inulin Leves from Lesser Yam (*Dioscorea esculenta* L.). *Journal of Scientific and Applied Chemistry*. 2018; 21 (4): 161-165.
- 77 Dewantara, L.A.R., Ananto, A.D., dan Andayani, Y. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Kacang Panjang (*Vigna unguiculata*) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 2021; 2 (1): 13-19.
- 78 Evi, Y., Vitasari, P., Salima L.A.S.T. Pengurangan Produk Cacat Pada Bahan Baku Kulit Dengan Metode Taguchi Pada PT. Surya Sukmana Leather. *Jurnal Teknologi dan Manajemen Industri*. 2016; 2 (1): 35-39.
- 79 Aulia, N., Amirotul, M.H.M., dan Legowo, S.J. Model Matematis Pengunjung Stasiun Pengisian Bahan Bakar (Studi Kasus di KotSurakarta). *e-Jurnal Matriks Teknik Sipil*. 2013; 1 (4): 549-556.
- 80 Ahriani., Zelfiani, S., Hernawati., dan Fitriyani. Analisis Nilai Absorbansi untuk Menentukan Kadar Flavonoid Daun Jarak Merah (*Jatropha gossypifolia* L.) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *Jurnal Fisika dan Terapannya*. 2021; 8 (2): 56-64.

- 81 Dio, R.G.R., Bahri, S., Kiswandono, A.A., dan Supriyanto, R. Validasi Metode Fotodegradasi Congo Red Terkatalis ZnO/ Zeolit Y Secara Spektrofotometri UV-Vis. *Anal. Environ. Chem.* 2021; 6 (2): 134-144.
- 82 Septian, A. T., dan Asnani, A. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. *Agrointek.* 2012; 6 (1):22-28.
- 83 Salim, E., Afritunando, Y., Febriana, N.A., dan Efdi, M. Studi Optimasi Ekstraksi Kandungan Senyawa Fenolik Total dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Daun Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.). *Jurnal Riset Kimia.* 2019; 10 (1):36-43.
- 84 Lallo, S., Lewerissa, A. C., Rafi'I, A., Umar, Ismail, dan Tayeb, R. Pengaruh Ketinggian Tempat Tumbuh terhadap Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksik Ekstrak Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga* L.). *Journal UNHAS.* 2019; 23 (3): 118:123.