

Penetapan Parameter Spesifik, Non-Spesifik, Penetapan Kadar Flavonoid Total, Fenolik Total Ekstrak Aseton Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb)

Dewi Lanjar Sukmawati, Diferens Putra Dwijaya, Dita Riftina, Dimas Adityo Saksono, Sundari Desi Nuryanti*

Program Studi Farmasi; Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan; Universitas Alma Ata

Korespondensi:

Sundari Desi Nuryanti

Program Studi Farmasi; Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan; Universitas Alma Ata

*Email: sundaridesi@almaata.ac.id

Abstrak

Daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius*) merupakan salah satu obat tradisional yang termasuk dalam genus pandanus dari suku Pandanaceae. Daun pandan memiliki manfaat yang berupa , menghitamkan rambut, menghilangkan ketombe, mengatasi rambut rontok, lemah saraf, tidak nafsu makan, rematik, sakit disertai gelisah, serta mengatasi pegal linu. Tujuan dari penelitian ini untuk melakukan ekstraksi, fraksinasi, dan standarisasi parameter spesifik dan non- spesifik ekstrak aseton dari Daun pandan wangi, melakukan skrining fitokimia dan identifikasi dengan kromatografi lapis tipis, dan serta untuk mengetahui kadar fenolik dan flavonoid total. Hasil uji parameter spesifik ekstrak aseton Daun pandan wangi berupa ekstrak kering, dengan warna hijau kecoklatan, berbau khas ekstrak, dan memiliki rasa yang pahit. Hasil Ekstrak aseton Daun pandan wangi memiliki kadar senyawa larut air 0,018% dan etanol 0,004%. Hasil skrining fitokimia menunjukkan ekstrak daun pandan wangi positif mengandung saponin, flavonoid, dan polifenol. Hasil kromatografi lapis tipis yang diamati dibawah sinar UV 254nm didapatkan hasil nilai RF 0,9375. Hasil uji parameter non-spesifik menunjukkan susut pengeringan sebesar 1,52%, hasil bobot jenis 1,398 gr/ml, kadar abu 3,01% dan kadar abu tidak larut asam 0,108%. Hasil penetapan kadar flavonoid total dan penetapan kadar fenolik total.

Kata Kunci: *aseton; daun pandan wangi; kadar flavonoid total; kadar fenolik total; parameter mutu,*

Specific, Non-Specific Parameters Determination, Total Flavonoid, Total Phenolic Acetone Extract of Pandan Wangi Leaves (Pandanus amaryllifolius Roxb)

Abstract

Fragrant pandan leaves (Pandanus amaryllifolius) are a traditional medicine belonging to the Pandanus genus of the Pandanaceae tribe. Pandan leaves have benefits in blackening harm, eliminating dandruff, treating hair loss, weak nerves, lack of appetite, rheumatism, pain accompanied by anxiety, and overcoming aches and pains. This research aimed to perform the extraction, fractionation, and standardization of specific and non-specific parameters of acetone extract from fragrant pandan leaves, perform phytochemical screening and identification using thin-layer chromatography, and determine total phenolic and flavonoid levels. The test results for specific parameters of acetone extract

of fragrant pandan leaves are dry extract, with a brownish green color, has a bitter taste. Acetone extract results from fragrant pandan leaves have a water-soluble compound content of 0,018% and ethanol of 0,004%. The result of the phytochemical screening showed that fragrant pandan leaf extract was positive for containing saponins, flavonoids, and polyphenols. The results of thin layer chromatography observed under 254nm UV light showed an RF value of 0,9375. The results of the non-specific parameter test showed a drying loss of 1,52%, specific gravity results of 1,398 gt/ml, ash content of 3,01%, and non-acid ash content of 0,108%—the result of determining total flavonoid levels and determining total phenolic levels.

Keywords: *acetone; fragrant pandan leaves; total flavonoid content; total phenolic content: quality parameters;*

Received: 25 Desember 2024

Accepted: 08 Februari 2025

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki berbagai jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Obat tradisional semakin banyak digunakan oleh masyarakat karena bahan utamanya mudah didapat, mudah diracik, serta harganya yang terjangkau, sehingga bahan baku yang digunakan sebagai bahan obat tradisional perlu ditingkatkan terkait mutu serta kualitasnya agar sesuai dengan kebutuhan masyarakat. Salah satu tumbuhan yang banyak digunakan sebagai bahan obat tradisional adalah daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius Roxb*), yang termasuk dalam genus pandanus dari suku Pandanaceae. Daun pandan dalam kehidupan sehari-hari dimanfaatkan sebagai bahan penyedap, pewangi, serta memberikan warna hijau pada masakan. Daun pandan juga memiliki manfaat berupa, menghitamkan rambut, menghilangkan ketombe, mengatasi rambut rontok, lemah saraf, tidak nafsu makan, rematik, sakit disertai gelisah, serta mengatasi pegal linu¹.

Metode yang digunakan untuk ekstraksi adalah maserasi. Maserasi memiliki keunggulan berupa prosedurnya yang sederhana dan mudah dilakukan². Metode maserasi merupakan prosedur ekstraksi yang berdasarkan pada prinsip *like dissolve like* dimana senyawa akan terlarut pada pelarut yang sesuai³. Pelarut yang digunakan untuk praktikum kali ini adalah aseton, aseton merupakan pelarut yang dapat menarik senyawa dari yang bersifat polar hingga non polar⁴. Berdasarkan penelitian tahun 2018 oleh Chatarina Lilis Suryani *et al.* "Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius*) dan Fraksi-Fraksinya". Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun pandan wangi memiliki kemampuan dalam mereduksi lebih tinggi dibanding dengan ekstrak etanolnya. Fraksi etil asetat mempunyai nilai EC₅₀ 0,90 mg/ml yang berarti fraksi etil asetat daun pandan memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami⁵.

Tumbuhan ini banyak ditemukan di halaman ataupun kebun-kebun, terkadang tumbuh liar di pinggir sungai, rawa, ataupun ditempat-tempat dengan kelembaban yang tinggi, sehingga cukup mudah untuk didapatkan masyarakat. Maka dari itu dengan mengetahui senyawa yang terkandung dalam daun pandan, dapat membuka peluang untuk penelitian lebih lanjut serta pengembangan produk baru yang inovatif.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat

Toples (wadah maserasi), Gelas Ukur 1000ml, Aluminium Foil, Batang Pengaduk, Beaker Glass 1000ml, Timbangan Analitik, Corong Pisah, Beaker Glass 50ml, Erlenmeyer 50ml, Kertas Saring, Cawan Porselen, Waterbath, Tabung Reaksi, Pipet Tetes, Spatula, Bunsen, Korek Api, Penjepit Kayu, Kertas Saring, Termometer, Mikroskop, Object Glass, Cover Slip, Pipet Ukur, Bulb Filler, Botol Timbang, Oven, Krus Silika, Desikator, Piknometer, Tanur, Corong Kaca, Kompur Listrik, Chamber, Lampu UV 254 nm, Pipa Kapiler, Plat Silica Gell 254, Spektrofotometri UV-Vis, Labu Ukur, AlCl₃ 10%, Na. Asetat.

Bahan

Bubuk Daun Pandan Wangi (*Pandanus amarillyfolius Roxb*), Aseton, Etanol 70%, Aquadest, HCL 2M, NaCl, HCl Pekat, NaCl 10%, FeCl₃, Kloralhidrat, Kloroform, Etanol 96%, HCL 1M, Etil Asetat, Kuersetin, Asam Galat, NaOH 1%, Folin Ciocalteu.

Rancangan Penelitian

Jenis Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental dilaboraturium dengan menggunakan metode skrining fitokimia, kromatografi lapis tipis, serta mengidentifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis untuk mengidentifikasi komponen senyawa kimia yang terdapat pada daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius Roxb*).

Ekstraksi Daun Pandan Wangi

Serbuk simplisia diperoleh dari Pasar Bringharjo. Sebanyak 500 gr serbuk kering ditimbang kemudian diekstraksi dengan 1 L aseton dengan metode maserasi selama 72 jam, sesekali filtrat diaduk berkala tiap 12 jam. Setelah proses penyarian, dilakukan remaserasi selama 2 hari kemudian filtrat hasil remaserasi digabungkan dengan filtrat hasil maserasi. Filtrat diuapkan dengan waterbath pada suhu 55°C hingga diperoleh ekstrak kental. Hasil ekstrak kemudian ditimbang dan dihirung rendemen dengan rumus di bawah ini.

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{bobot simplisia awal}} \times 100\% \quad (1)$$

Fraksinasi

Metode fraksinasi yang digunakan adalah fraksinasi cari-cair, metode ini dilakukan berdasarkan pemisahan berdasarkan kepolaran pelarut dimana senyawa akan terpisah berdasarkan tingkat kepolaran dengan pelarut⁶. Fraksinasi akan membantu pemisahan senyawa – senyawa yang terdapat didalam ekstrak sehingga didapatkan senyawa murni tanpa kandungan senyawa lain. Ekstrak daun pandan wangi yang diperoleh sebelumnya diencerkan menggunakan aquadest sebanyak 25 ml dan dimasukkan kedalam corong pisah. Larutan pembanding berupa N-Heksan kemudian digojog hingga terdapat dua fase kemudian fraksi N-Heksan dipisahkan. Fraksi aquadest ditambahkan dengan larutan etil asetat kemudian digojog hingga terdapat dua fase, masing-masing fraksi kemudian dipisahkan. Tiap fraksi yang telah dipisahkan kemudian diuapkan menggunakan waterbath hingga mendapat fraksi kental.

Pengujian Parameter Spesifik dan Fitokimia

Organoleptis

Uji dilakukan dengan pengenalan secara fisik menggunakan panca indera dalam mendeskripsikan bentuk, bau, warna, dan rasa⁷.

Kadar Sari Larut Air

Ekstrak diambil 1 gr, ditambahkan dengan kloroform 20 ml dan didiamkan selama 18 jam. Setelah 18 jam ekstrak disaring kemudian filtrat diuapkan dalam cawan porselen dengan suhu 55°C. Kadar sari larut air dihitung dengan rumus.

$$\text{Kadar Sari Larut Air} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \times 5 \times 100\% \quad (2)$$

Kadar Senyawa Larut Etanol

Ekstrak 1 gr dilarutkan dengan 100 ml etanol 70%, setelah homogen diinkubasi selama 18 jam. Ekstrak disaring dan filtrat diuapkan sebanyak 20 ml. Filtrat diuapkan dengan cawan porselen pada waterbath dengan suhu 50°C. Kadar senyawa larut etanol dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar Sari Larut Etanol} = \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Simplisia}} \times 5 \times 100\% \quad (3)$$

Uji Susut Pengerinan

Ekstrak ditimbang sebanyak 1 gram, kemudian dimasukkan kedalam botol timbang bertutup yang telah dipanaskan sebelumnya pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditera. Sebelum ekstrak ditimbang ekstrak diratakan dalam botol timbang dengan menggoyangkan botol hingga terbentuk lapisan setebal 5mm-10mm. Kemudian keringkan pada suhu 105°C, timbang tiap 15 menit dan perlakuan terus diulang hingga diperoleh bobot yang konstan. Adapun rumus perhitungan susut pengerinan adalah sebagai berikut ini.

$$\text{Susut Pengerinan (\%)} = \frac{B_1 - B_2}{B_1} \times 100\% \quad (4)$$

Pada rumus susut pengerinan dalam bentuk persentase (%) dapat dihitung melalui rumus di atas dimana B1 adalah Berat sampel awal (g) dan Berat sampel akhir (g).

Uji Bobot Jenis

Penetapan bobot jenis dilakukan dengan menggunakan piknometer yang telah dikalibrasi dengan menetapkan bobot piknometer dan bobot air yang baru dididihkan pada suhu 25°C. Atur suhu ekstrak hingga 20°C. Masukkan ekstrak ke dalam piknometer 100 ml, tambahkan aquadest lalu tutup piknometer. Buang kelebihan ekstrak cair dan ditimbang. Sebelumnya sudah menimbang piknometer kosong serta piknometer dengan aquades. Kurangkan bobot piknometer kosong dari bobot piknometer yang telah diisi. Bobot jenis ekstrak cair adalah hasil yang diperoleh dengan membagi bobot ekstrak dengan bobot air. Adapun rumus perhitungan bobot jenis ekstrak adalah sebagai berikut ini.

$$D = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0} \times BJ \text{ Air} \quad (5)$$

Pada rumus bobot jenis W_2 menggambarkan berat piknometer + ekstrak (g), W_1 adalah berat piknometer + air (g), dan W_0 , berat piknometer kosong (g).

Penetapan Kadar Abu

Sebanyak 2 gram ekstrak ditimbang secara seksama. Kemudian dimasukkan kedalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara. Kemudian masukkan krus silikat berisi ekstrak kedalam tanur yang telah diatur pada suhu 600°C selama 24 jam. Kemudian suhu pada tanur diturunkan hingga 40°C . Keluarkan krus silikat berisi abu ekstrak secara hati-hati. Setelah itu ditimbang dan dihitung kadar abu yang telah diperoleh. Adapun rumus perhitungan penetapan kadar abu adalah sebagai berikut ini.

$$\text{Kadar Abu} = \frac{W_2 - W_0}{W_1} \times 100\% \quad (6)$$

Pada rumus penetapan kadar abu di atas, W_0 menggambarkan berat cawan kosong (g), W_1 menggambarkan Berat ekstrak awal (g), dan W_2 adalah Berat cawan + Berat ekstrak setelah diabukan (g).

Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Asam

Abu hasil pada tanur (Abu yang dihasilkan pada penetapan kadar abu) ditambahkan dengan HCL 0,1 M sebanyak 25 mL, kemudian filtrat disaring dengan kertas saring, Cuci filtrat dengan air panas secukupnya. Kertas saring dan filtrat kemudian dioven hingga kering. Adapun rumus perhitungan penetapan kadar abu tidak larut asam adalah sebagai berikut ini.

$$\text{Kadar Abu Tidak Larut Asam} = \frac{\text{Berat Abu Sisa Pemijaran}}{\text{Berat Simplisia}} \times 100\% \quad (7)$$

Identifikasi KLT

Pembuatan Larutan Baku Kuersetin

Kuersetin ditimbang 25 mg, dilarutkan dengan 25 ml etanol dalam labu ukur 25 ml. Kocok hingga homogen.

Persiapan Plat KLT

Plat KLT ukuran 5X10 cm, dipanaskan dioven dengan suhu 70°C selama 30 menit. Plat KLT digaris menggunakan pensil dengan jarak atas 1 cm dan bagian bawah 1 cm.

Persiapan Fase Gerak

Fase gerak yang dibuat dari etanol:etil asetat dengan perbandingan 1:4. Digunakan etanol 70% 5 ml dan etil asetat 20 ml. kemudian fase gerak dimasukan ke chamber dan ditutup. Chamber dijenuhkan bersama dengan kertas saring, dilakukan selama 5 menit.

Preparation Sample

Ekstrak aseton daun pandan wangi (*Pandanus amarillyfolius Robx*), dilarutkan dengan etanol 70% sebanyak 20 ml. kemudian diasaring untuk mengurangi residu sampel.

Identifikasi Flavonoid dalam Ekstrak Aseton Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius Roxb*) dengan Metode KLT

Pada plat KLT yang telah diberi garis ditotol dengan sample berupa ekstrak aseton daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius Roxb*) dan pembanding berupa kuersetin. Setelahnya chamber kemudian ditutup dan ditunggu hingga fase gerak melewati garis batas atas. Setelahnya plat KLT diangkat dan dikeringkan. Kemudian noda yang terbentuk diamati menggunakan lampu UV.

Identifikasi Kadar Flavonoid dan Fenolik**Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin**

Dilakukan dengan running larutan kuersetin pada range panjang gelombang 400-800 nm. Hasil running kuersetin menunjukkan panjang gelombang maksimum berada pada 438 nm. Panjang gelombang tersebut yang akan digunakan untuk membaca serapan dari sample ekstrak aseton daun pandan (*Pandanus amaryllifolius Roxb*).

Penentuan Kurva Baku

Ditimbang 25 mg kuersetin dan dilarutkan dalam 25 mL etanol. Larutan stok 1 ml dan diencerkan dengan etanol dalam labu ukur 10 mL sampai tanda batas dan diperoleh konsentrasi larutan 100 ppm. Dari larutan standar kuersetin 100 ppm dibuat menjadi beberapa seri konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm kemudian dilarutkan dengan etanol dalam labu ukur 10 mL. Masing-masing larutan seri kadar kuersetin ditambahkan 1,5 mL etanol, 0,1 mL AlCl₃ 10%, 0,1 mL Natrium Asetat, dan 2,8 mL aquadest. Kemudian diukur panjang gelombang absorbansinya dengan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 422 nm.

Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Aseton Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius Roxb*)

Ekstrak ditimbang 0,2 gr, dilarutkan dengan aquadest sebanyak 25 mL dalam labu ukur. Larutan tersebut dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 1,5 mL etanol, 0,1 mL AlCl₃ 10%, 0,1 mL Natrium Asetat, dan 2,8 mL aquadest. Sample kemudian diinkubasi selama tiga puluh menit pada suhu kamar. Sample diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 438 nm. Sample dibuat dalam tiga kali replikasi.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

Dilakukan dengan running larutan asam galat pada range panjang gelombang 400-800 nm. Hasil running asam galat menunjukkan panjang gelombang maksimum berada pada 730 nm. Panjang gelombang tersebut yang akan digunakan untuk membaca serapan dari sample ekstrak aseton daun pandan (*Pandanus amaryllifolius Roxb*).

Permbuatan Kurva Standar Asam Galat

Sebanyak 25 mg asam galat dilarutkan dengan etanol 70% 10 mL. Larutan stock dipipet 1 mL kemudian dilarutkan dengan etanol 70% sampai 10 mL dan diperoleh larutan stock 100 ppm. Larutan asam galat kemudian dibuat dalam beberapa konsentrasi yaitu 5 ppm, 15 ppm, 30 ppm, 50 ppm, 70 ppm, dan 100 ppm. Masing-masing larutan dipipet 1 mL dan ditambahkan dengan folin 1,5 mL, dan NaOH 1% 2 mL. Larutan diinkubasi selama 1 jam.

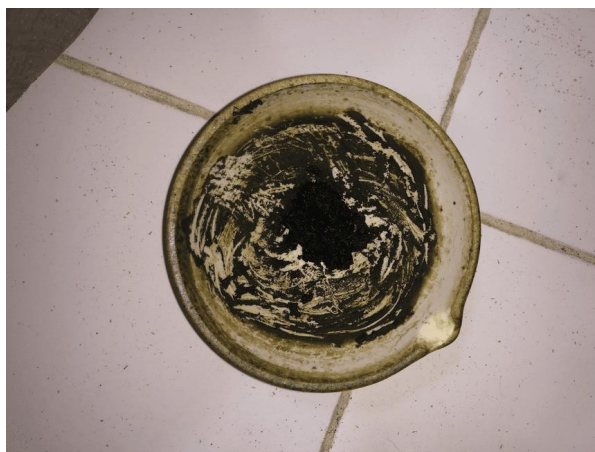
Dan setelahnya akan diukur serapannya menggunakan spektrofotometri Uv-Vis pada panjang gelombang 730 nm.

Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Aseton Daun Pandan Wangi (Pandanus amaryllifolius Roxb)

Ekstrak dirimbang sebanyak 0,5 gr, dilarutkan dengan aquadest sebanyak 25 mL dalam labu ukur 25 mL. Larutan ekstrak kemudian dipipet sebanyak 1 mL dan ditambahkan dengan 2 mL NaOH 1%, 1 mL etanol. Larutan sample kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama satu jam. Sample kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 730. Sample dilakukan replikasi sebanyak tiga kali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian skrining fitokimia ekstrak seton daun pandan wangi (*Padanus amaryllifolius Roxb*) (Gambar 1), dengan metode spektrofotometri Uv-Vis dan kromatografi lapis tipis di Laboratorium Farmasi Prodi S1 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Alma Ata Yogyakarta diperoleh hasil sebagai berikut ini.



Gambar 1. Ekstrak aseton daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius Roxb*)

Setelah ekstraksi dilakukan proses selanjutnya adalah fraksinasi. Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan senyawa yang berdasarkan pada tingkat kepolaran yang berbeda antara dua pelarut dengan kepolaran yang berbeda. Metode fraksinasi yang digunakan adalah fraksinasi cair-cair dalam pengujiannya dilakukan secara bertingkat. Pelarut yang digunakan adalah etil asetat dan N-Heksan. Pelarut yang pertama yang digunakan adalah aquadest dan N-Heksan yang kemudian digojog dan diinkubasi hingga pemisahan terbentuk. Fraksi kemudian dipisahkan dan dilanjutkan dengan fraksi aquadest dan N-heksan. Pelarut yang digunakan sebanyak 25 ml^{10,11}.

Tabel 1. Hasil fraksinasi dari ekstrak aseton daun pandan wangi

Sample	Rendemen(%)
Fraksi Aquadest	0,018
Fraksi Aseton	0,004

Rendemen fraksi ekstrak merupakan perbandingan jumlah fraksi yang didapatkan dengan jumlah ekstrak yang digunakan. Semakin besar rendemen fraksi ekstrak, maka semakin banyak jumlah senyawa yang terekstraksi antar pelarut (Tabel 2). Hal ini menandakan bahwa senyawa polar lebih banyak terekstraksi ke dalam aquadest, sementara senyawa non-polar lebih sedikit terekstraksi ke dalam aseton.

Tabel 2. Hasil uji parameter non-spesifik daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius Roxb*)

Uji	Kandungan	Syarat	Keterangan
Susut pengeringan	1,52%	≤ 10%	Memenuhi syarat
Bobot jenis	1,398 gr/mL	-	Tidak ada persyaratan
Kadar abu	3,01%	≤ 8,9%	Memenuhi syarat
Kadar abu tidak larut asam	0,108%	≤ 0,2%	Memenuhi syarat

Pada uji standarisasi mutu ekstrak dengan parameter non spesifik (Tabel 2) yang pertama yaitu susut pengeringan, penentuan susut pengeringan bertujuan untuk memberikan batasan minimal tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Tujuan uji susut pengeringan adalah untuk mengetahui gambaran batasan maksimal besarnya senyawa yang hilang selama proses pengeringan. Adapun hasil yang diperoleh adalah 1,52% yang diperoleh dari pemanasan pada oven sebanyak 5 kali replikasi untuk mendapatkan bobot yang konstan pada suhu 105⁰C selama 30 menit. Nilai susut pengeringan dalam hal khusus identik dengan kadar air yang berarti kadar air ≤10% maka sediaan dikatakan kering dan tidak mudah tercemar mikroorganisme¹².

Penentuan bobot jenis ekstrak aseton daun pandan dilakukan menggunakan alat piknometer. Bobot jenis diartikan sebagai perbandingan kerapatan suatu zat terhadap kerapatan air dengan nilai masa persatuan volume. Penentuan bobot jenis bertujuan untuk memberi batasan tentang besarnya massa persatuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai menjadi ekstrak kental yang masih dapat dituang, bobot jenis juga terkait dengan kemurnian ekstrak dari kontaminasi. Hasil dari pengukuran bobot jenis ekstrak aseton daun pandan yaitu 1,398gr/ml¹².

Uji parameter non spesifik yang terakhir yaitu parameter uji abu, yang pertama yaitu penetapan kadar abu dan yang kedua penetapan kadar abu tidak larut asam. Penetapan kadar abu pada prinsipnya bahan dipanaskan pada temperature dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sehingga hanya meninggalkan unsur mineral dan anorganik. Tujuan dari parameter kadar abu ini untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak. Hasil percobaan yang dilakukan yaitu Ekstrak kental ditimbang 1 gram kemudian diarakkan diatas nyala pembakar menggunakan tanur (suhu 600⁰C) sampai diperoleh abu, kemudian didinginkan dan ditimbang berat abunya. Proses pembakaran pada suhu tinggi di dalam furnace atau tanur dilakukan untuk mengoksidasi dan menghilangkan bahan organik dari sampel. Nilai kadar abu yang diperoleh dari ekstrak aseton daun pandan yaitu 3,01 %¹².

Selanjutnya Penetapan kadar abu tidak larut asam. Penetapan kadar abu tidak larut asam bertujuan untuk mengetahui jumlah kadar abu yang diperoleh dari faktor eksternal, berasal dari pengotor yang berasal dari pasir atau tanah. Untuk penetapan

kadar abu tidak larut asam menurut FHI tahun 2022 presentase yaitu tidak lebih dari 0,2% maka hasil praktikum kadar abu tidak larut asam sebesar 0,108% dikatakan memenuhi syarat¹².

Secara organoleptis ekstrak aseton daun pandan wangi memenuhi spesifikasi yang ditentukan oleh Farmakope Herbal Indonesia. Dimana ekstrak aseton daun pandan wangi berupa ekstrak kering, dengan warna hijau kecoklatan, berbau khas ekstrak, dan memiliki rasa yang pahit. Salah satu spesifikasi yang tidak terpenuhi adalah konsistensi ekstrak yang kental, ekstrak aseton daun pandan wangi memiliki konsistensi kering. Hal tersebut dikarenakan sifat pelarut aseton yang mudah menguap^{12,13}.

Tabel 3. Hasil uji parameter spesifik daun pandan wangi
(*Pandanus amaryllifolius* Robx.)

Uji Fitokimia	Pengamatan	Hasil
Alkaloid	Tidak terbentuk warna cincin merah	-
Saponin	Terbentuknya busa stabil	+
Flavonoid	Terbentuknya warna merah	+
Polifenol	Terbentuknya warna hijau kehitaman	+

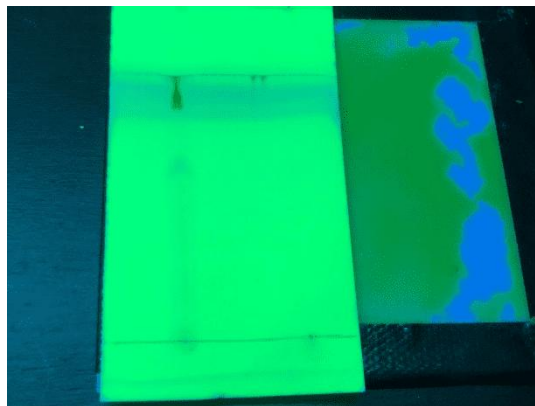
Dalam mengidentifikasi alkaloid ekstrak dimasukkan dalam cawan porselin ditambah dengan 5ml HCL 2M dan 0,5gr NaCl kemudian diambil filtrat ditambah HCL 2M dan 2 tetes pereaksi meyer. Berdasarkan uji fitokimia, ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius roxb*) didapatkan hasil bahwa pada uji alkaloid yang ditambahkan dengan reagen mayer menghasilkan hasil yang negatif ditandai dengan tidak terbentuknya endapan merah. menurut Setyowati dkk. (2014), bahwasanya pada pengujian alkaloid akan menunjukkan hasil positif apabila terdapat endapan putih, coklat dan merah. Tidak terbentuknya alkaloid kemungkinan diakibatkan pereaksi yang sudah rusak sehingga pada uji alkaloid tidak terjadi endapan warna merah¹ (Tabel 3).

Berdasarkan hasil penelitian oleh Muthmainnah, 2019 saat saponin teridentifikasi, beberapa Ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml air panas, kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Hasil yang diperoleh positif saponin karena terbentuk buih setinggi 1 cm selama 10 menit dan ditambahkan 1 tetes HCl 2N tetap stabil dan buih tidak hilang. Hal ini sejalan dengan penelitian yang menunjukkan hasil positif. Berdasarkan Indah Sulistyarini et al., 2020, Busa yang dihasilkan pada penelitian ini bersifat stabil. Penambahan HCl 2N membuat busa lebih kencang dan stabil. Busa yang dihasilkan disebabkan oleh senyawa saponin yang dalam pelarutnya mengandung beberapa senyawa yang larut dalam air (hidrofilik) dan non polar (hidrofobik) sebagai surfaktan yang menurunkan tegangan permukaan. Saat dikocok, gugus hidrofilik berikatan dengan air, sedangkan gugus hidrofobik berikatan dengan udara, sehingga membentuk buih¹.

Dalam mengidentifikasi flavonoid, beberapa ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan HCl pekat. Tujuan penambahan HCl pekat adalah untuk mengurangi ikatan glikosidik tanaman dengan flavonoid, yang harus diputus dengan cara mereduksi ikatan tersebut. Hasil yang diperoleh positif karena terbentuknya warna kuning, merah atau orange. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Hashary, A.R et. al., 2023 yang meneliti

daun pandan wangi didapatkan warna kuning dan hasil yang didapatkan positif adanya senyawa flavanoid¹. Uji polifenol dilakukan dengan menambahkan larutan FeCl₃ 5% terhadap sampel. Sampel yang mengandung polifenol akan membentuk senyawa kompleks Fe³⁺. polifenol dengan ikatan koordinasi dengan terjadinya perubahan menjadi biru kehitaman atau hijau kecolelatan¹.

Pada analisis Kromatografi Lapis Tipis pada Gambar 2, fase diam yang digunakan adalah silika GF 254 sedangkan fase gerak yang digunakan adalah Etanol dan Asam asetat dengan perbandingan (1:4). Fase gerak yang digunakan bersifat polar sehingga pada saat dilakukan pengujian sampel yang bersifat polar tidak terikat kuat pada fase diamnya. Senyawa yang digunakan untuk uji Kromatografi Lapis Tipis ini adalah ekstrak daun pandan dan perbandingan yang digunakan adalah kuerseti, Hasil KLT diamati di bawah sinar UV 254 dan 366 nm untuk memperjelas noda yang terbentuk sehingga noda dapat dihitung nilai Rf-nya. Parameter positif apabila warna bercak antara standar dengan sampel sama dan nilai Rfnya antara standar dengan sampel sama atau saling mendekati dengan selisih $\leq 0,2$ ¹⁴. Nilai yang baik pada KLT berkisar antara 0,2 sampai 0,8. Senyawa yang mempunyai nilai RF besar berarti memiliki kepolaran yang rendah begitu juga sebaliknya dikarenakan sifat fase diam yang polar.



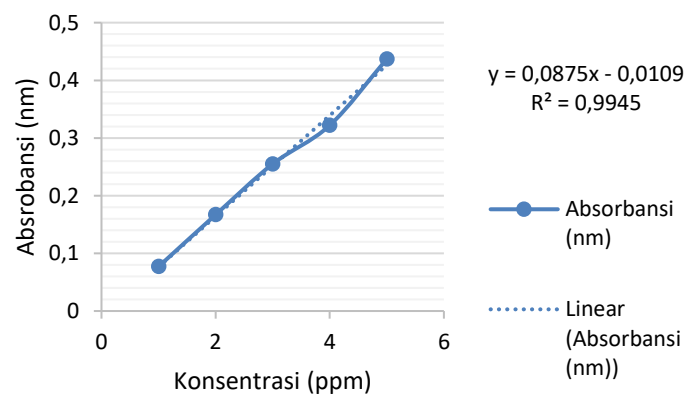
Gambar 2. Hasil uji kromatografi lapis tipis ekstrak aseton daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius Robx.*) dengan lampu UV 254 nm

Pada pengamatan dibawah sinar UV pada Tabel 5, dengan Panjang gelombang 254nm akan munculnya warna hijau hal ini dikarenakan plat silika GF 254 berfluoresensi pada Panjang gelombang 254nm dan didapatkan hasil nilai RF yaitu 0,9375.

Tabel 5. Hasil pengukuran absorbansi larutan standar kuersetin pada panjang gelombang maksimal 438 nm

Konsetrasi (ppm)	Absorbansi (nm)
2 ppm	0,077
4 ppm	0,167
6 ppm	0,255
8 ppm	0,322
10 ppm	0,437

Persamaan Regresi Linear (Gambar 3) sebesar $y = 0,0875x - 0,0109$ adalah persamaan garis lurus yang menggambarkan hubungan antara konsentrasi kuersetin (x) dan absorbansi (y) yang diukur pada panjang gelombang 436 nm. Dalam kasus ini, $R^2 = 0,9945$ berarti 99,45% variasi dalam absorbansi dapat dijelaskan oleh variasi konsentrasi kuersetin. Ini menunjukkan hubungan linear yang sangat kuat dan baik antara konsentrasi dan absorbansi. Kurva standar yang baik umumnya memiliki nilai linearitas $r \geq 0,98$. Hasil ini menunjukkan bahwa kurva baku kuersetin yang dibuat memiliki kualitas yang sangat baik, dengan hubungan linear yang kuat antara konsentrasi dan absorbansi pada panjang gelombang 436 nm. Persamaan regresi yang diperoleh dapat digunakan untuk menghitung kadar kandungan senyawa metabolit dalam sampel dengan mengukur absorbansinya pada panjang gelombang yang sama.



Gambar 3. Kurva baku standar kuersetin pada panjang gelombang maksimum 436 nm.

Dari hasil pada Tabel 6, diketahui bahwa sampel ekstrak aseton daun pandan wangi pada replikasi pertama memiliki nilai yang lebih besar dibanding dengan sampel 2 dan 3. Pada prose preparasi sample, ekstrak aseton daun pandan wangi akan ditambahkan dengan $AlCl_3$ yang akan membentuk kompleks asam yang cenderung stabil dengan C-4 gugus keton, lalu dengan C-3 atau C-5 pada gugus hidroksil dari flavon dan flavonol⁷.

Tabel 6. Hasil pengukuran flavonoid total ekstrak aseton daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius Roxb*)

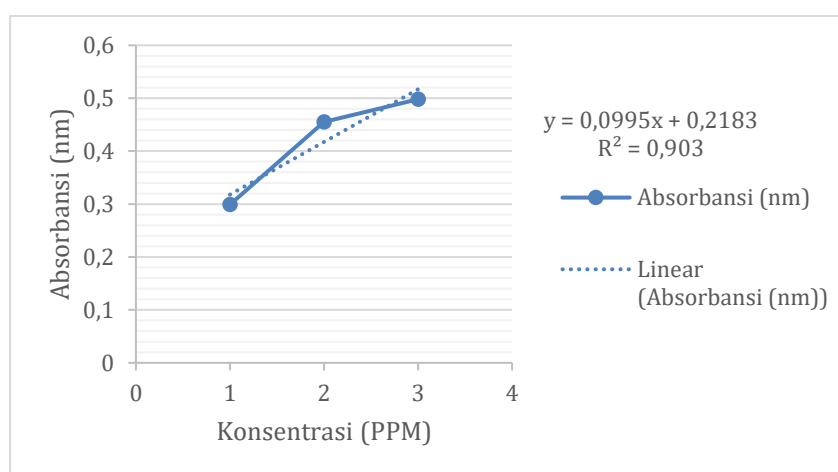
Sample	Absorbansi (nm)
R1	4,297
R2	3,579
R3	3,504

Selain itu $AlCl_3$ akan membentuk kompleks asam labil dengan gugus ortodihidroksil pada cincin A atau B dari flavonoid sehingga akan mempunyai serapan maksimum dengan panjang gelombang pada daerah visible. Larutan sample sebelumnya diinkubasi selama tiga puluh menit dengan suhu ruang sebelum pengukuran, hal tersebut bertujuan agar reaksi dapat berjalan dengan sempurna. Reaksi yang berjalan sempurna ditandai dengan intensitas warna yang maksimal¹⁵. Dari hasil pengujian pada kurva baku

dengan spektrofotometri UV-Vis kemudian dihitung persamaan regresi linear $Y=0,0875X-0,0109$ dengan koefisien kolerasi (r) 0,9945 (Tabel 7 dan Gambar 4).

Tabel 7. Hasil pengukuran fenolik total ekstrak aseton daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius Roxb*)

Konsentrasi (PPM)	Absorbansi(nm)
5 ppm	0,299
15 ppm	0,455
30 ppm	0,498



Gambar4. Kurva baku standar Asam Galat pada panjang gelombang 730 nm

Identifikasi fitokimia fenolik menunjukkan adanya perubahan warna dari larutan sampel ekstrak daun pandan wangi. Identifikasi fitokimia pada senyawa fenolik menggunakan uji kolorimetri *Folin Ciolcateu* yang ditandai dengan perubahan warna menjadi biru-kehijauan^{16,17}.

Pengujian kolorimetri dengan menggunakan *Folin Cioceltea* berdasarkan prinsip reduksi dan oksidasi. Dimana senyawa fenol pada daun pandan wangi akan bereaksi dengan senyawa fosfomolibdatfosfotungstat (*Folin Cioceltea*) yang ditandai perubahan warna menjadi kuning, dan ketika ditambahkan dengan Na_2CO_3 akan membentuk warna biru. Digunakannya standar asam galat karena tergolong dalam asam fenolik yang dapat mengalami reaksi yang sama dengan senyawa fenol pada daun pandan wangi, sehingga digunakan sebagai kurva baku¹⁶.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah hasil uji parameter spesifik ekstrak aseton Daun pandan wangi berupa ekstrak kering, dangan warna hijau kecoklatan, berbau khas ekstrak, dan memiliki rasa yang pahit. Hasil Ekstrak aseton Daun pandan wangi memiliki kadar senyawa larut air 0,018% dan etanol 0,004%. Pada pengamatan Kromatografi lapis tipis dibawah sinar UV dengan Panjang gelombang 254nm akan munculnya warna hijau hal ini dikarenakan plat silika GF 254 berflurosensi pada Panjang gelombang 254nm dan didapatkan hasil nilai RF yaitu 0,9375. Hasil uji parameter non-spesifik menunjukkan susut

pengeringan sebesar 1,52%, hasil bobot jenis 1,398 gr/ml, kadar abu 3,01% dan kadar abu tidak larut asam 0,108%. Hasil penetapan kadar flavonoid total dan Identifikasi fitokimia fenolik menunjukkan adanya perubahan warna dari larutan sampel ekstrak daun pandan wangi dan didapatkan hasil pada penetapan fenolik total sebesar.

Saran untuk penelitian ini yaitu lebih hati hati serta memperhatikan langkah prosedur dengan baik dan penting untuk mencatat seluruh hasil penelitian agar didapatkan hasil yang lebih akurat dan spesifik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hadiq, S. & Yulianti, T. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb). 2023.
2. Ihsan, B. R. P., Nurhayati, I. P. & Maysaroh, I. Validasi Metode Ultra High Performance Chromatography Double Mass Spectrometry (UHPLC-MS/MS) untuk Analisis Kurkumin pada Ekstrak Etanol Kunyit (*Curcuma longa*) dengan Berbagai Perbandingan. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*. 2018; 4(1): 29-34
3. Alif, A. A., Gusmiaty, G., Akzad, M. B., Rahim, I. & Larekeng, S. H. Isolasi Cendawan Rhizosfer Pelarut Fosfat Pada Jabon Merah (*Neolamarckia macrophylla*) Provenas Kabupaten Sidrap Sulawesi Selatan. *J. GALUNG Trop*. 2023; **12**, 109–118.
4. Firdayani, F. & Winarni Agustini, T. Ekstraksi Senyawa Bioaktif sebagai Antioksidan Alami *Spirulina Platensis* Segar dengan Pelarut yang Berbeda. *J. Pengolah. Has. Perikan. Indones*. 2015; **18**, 28–37.
5. Suryani, C. L., Murti, S. T. C., Ardiyan, A. & Setyowati, A. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius*) dan Fraksi-Fraksinya. *Agritech*. 2018. **37**, 271.
6. Makalunsenge, M. O., Yudistira, A. & Rumondor, E. M. Antioxidant Activity Test of Extracts and Fractions of *Callyspongia aerizusa* Obtained From Manado Tua Island. 2022; **11**.
7. Arziyah, D., Yusmita, L. & Wijayanti, R. Analisis Mutu Organoleptik Sirup Kayu Manis Dengan Modifikasi Perbandingan Konsentrasi Gula Aren Dan Gula Pasir. *J. Penelit. Dan Pengkaj. Ilm. Eksakta*. 2022; **1**, 105–109.
8. Kasim, A., Asben, A. & Anwar, A. Review: Optimasi Metode Maserasi Untuk Ekstrak Tanin Rendemen Tinggi. 2020.
9. Kayadoe, V., Fadli, M., Hasim, R. & Tomaso, M. Ekstrak Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) sebagai Inhibitor Korosi Baja Ss-304 dalam Larutan H₂SO₄. *Molekul*. 2015; **10**, 88.
10. Makian, A. F. W. & Kosman, R. Aktivitas Antibakteri Fraksinasi Ekstrak Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) Terhadap Bakteri *Salmonella thyphi* dan *Escherichia coli* dengan Metode KLT-bioautografi. 2023;1[3](19), 160-170.
11. Putri, F. E., Diharmi, A. & Karnila, R. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Rumput Laut Coklat (*Sargassum plagyophyllum*) Dengan Metode Fraksinasi. *J. Teknol. Dan Ind. Pertan. Indonesia*. 2023; **15**, 40–46.
12. Departemen Kesehatan Indonesia. *Suplemen I Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. (Departemen Kesehatan Indonesia. 2022.
13. Dwipayana, I. M. Pengaruh Perbandingan Bahand Pelarut dan Lama Ekstraksi terhadap Karakteristik Ekstrak Pewarna Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). 2019; **7**.

14. DEPKES. *Farmakope Indonesia Edisi V*. (Departemen Kesehatan Indonesia: Jakarta. 2014).
15. Bachtiar, A. R., Handayani, S. & Ahmad, A. R. Penetapan Kadar Flavonoid Total Buah Dungen (*Dillenia serrate*) Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis.
16. Ramadhan, H., Rezky, D. P. & Susiani, E. F. Penetapan Kandungan Total Fenolik-Flavonoid pada Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterman). *J. Farm. DAN ILMU KEFARMASIAN Indones.* 2021; **8**, 58. 2021.
17. Suhaera, Shinta Sari Dewi, & Umi Kalsum. Penetapan Kadar Fenolik Total Dan Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bronok (*Acaudina molpadioides*): *The Determination Of Total Phenolik Content And Testing Of Antioxidant Activity of Bronok Extract (Acaudina molpadioides)*. *Med. Sains J. Ilm. Kefarmasian.* 2022; **7**, 645–652.