



Optimasi Metode *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) untuk Menentukan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok (*Musa Paradisiaca.L*)

Salsabila Khoerunniyssa¹, Danang Raharjo², Bagas Ardiyantoro³
^{1,2,3}Universitas Duta Bangsa Surakarta, Indonesia

Abstract. Indonesia is a country that has a lot of banana diversity. One of the banana plants that is widely found in Indonesia is the Kepok banana (*Musa Paradisiaca.L*). Kepok banana skin has a very high content of flavonoids and phenols. Flavonoids are known as good antioxidants because they can find reactive oxygen species with the phenolic hydroxyl group that flavonoids have. The aim of this research was to determine the results of the optimization of the Microwave-Assisted Extraction (MAE) method on the total flavonoid content of kapok banana peel ethanol extract. Microwave-Assisted Extraction (MAE) was done to extraction flavonoid from ethanol extract of kepok banana peel (*Musa Paradisiaca.L*). The sample collected from Widoro village, Karangasambung sub-district, Kebumen regency. Optimum extraction condition was determined by the Response Surface Methodology (RSM). The Box- Behnken design (BBD) was used to evaluate the influence of 3 factors with 3 levels extraction that is power level (10%, 30%, 50%), ethanol concentration (50, 70, 96%), and extraction time (3, 5 and 7 minutes) with 15 different runs. The research showed that optimum extraction condition was at 24,14 % of power level, 66,26% ethanol concentration, and time extraction of 3,52 minutes with calculations from the Design Expert program, the total flavonoid content response was 8.491 Mg QE/g. The total flavonoid content value obtained experimentally was 8,246 Mg QE/g under condition of 30 % power level, 70% ethanol concentration, and time extraction of 5 minutes. Based on the result, total flavonoid content can be significantly increased by optimizing the MAE process use RSM.

Keywords: Microwave-Assisted Extraction, flavonoid total content, kepok bananapell (*Musa Paradisiaca.L*)

Abstrak. Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki banyak keanekaragaman pisang. Salah satu tanaman pisang yang banyak terdapat di Indonesia yaitu pisang Kepok (*Musa Paradisiaca.L*). Kulit Pisang kepok memiliki kandungan flavonoid dan fenol yang sangat tinggi, Flavonoid dikenal sebagai antioksidan yang baik karena dapat menemukan spesies oksigen reaktif dengan golongan *phenolic hydroxyl* yang dimiliki oleh flavonoid. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hasil optimasi metode Microwave-Assisted Extraction (MAE) terhadap kadar flavonoid total ekstrak etanol kulit pisang kapok. Metode *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) digunakan untuk mengekstraksi senyawa flavonoid dari ekstrak etanol kulit pisang kepok (*Musa Paradisiaca.L*). Sampel diperoleh dari desa widoro, kecamatan karangsambung kabupaten kebumen. Kondisi optimal ekstraksi ditentukan dengan *Response Surface Methodology* (RSM). *Desain Box-Behnken* (BBD) digunakan untuk mengevaluasi pengaruh 3 faktor dengan 3 level yaitu level daya (10 %, 30 %, 50 %), konsentrasi etanol (50, 70, 96%), dan waktu ekstraksi (3, 5 dan 7 menit) dengan 15 perlakuan yang berbeda. Hasil disain eksperimen dengan BBD menunjukkan kondisi ekstraksi optimum yaitu pada level daya 24,14%, konsentrasi pelarut etanol 66,26%, dan waktu ekstraksi 3,52 menit dengan perhitungan program *Design Expert* kadar flavonoid total sebesar 8,491 Mg QE/g. Nilai kadar flavonoid total yang diperoleh secara eksperimental sebesar 8,246 Mg QE/g pada kondisi menggunakan level daya 30 %, konsentrasi etanol 70% dengan lama ekstraksi 5 menit. Berdasarkan hasil penelitian, kadar flavonoid total dapat meningkat secara signifikan dengan melakukan optimasi proses MAE menggunakan RSM.

Kata kunci: Microwave-Assisted Extraction, kadar flavonoid total, kulit pisangkepok (*Musa Paradisiaca.L*)

1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang beriklim tropis yang kaya akan beranekaragam tanaman yang dapat tumbuh dengan mudah, dari berbagai tanaman itu diantaranya adalah tanaman buah pisang. Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki banyak keanekaragaman pisang sehingga menjadikannya sebagai salah satu negara pengekspor pisang. Salah satu tanaman pisang yang banyak terdapat di Indonesia yaitu pisang Kepok (*Musa Paradisiaca.L*) (Saputri *et al.*, 2020).

Pisang kepok (*Musa paradisiaca.L*) merupakan anggota *Musaceae* memiliki bentuk bersegi dan pipih dengan rasa yang manis, memiliki kulit buah yang tebal berwarna kuning kehijauan dan memiliki bercak coklat, Kulit pisang adalah bahan buangan atau limbah yang terhitung banyak dan pemanfaatannya hanya sebagai pakan ternak (Salma Putri *et al.*, 2020). Kulit pisang yang kita anggap sebagai limbah ternyata memiliki banyak manfaat, salah satunya dapat digunakan untuk mempercepat penyembuhan luka, losion anti nyamuk, dan bahan fortifikasi makanan (Farishal, 2017). Kulit pisang kepok memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tannin, saponin, alkaloid, kuinon, terpenoid dan antioksidan (Salma Putri *et al.*, 2020).

Kulit Pisang kepok memiliki kandungan flavonoid dan fenol yang sangat tinggi. Flavonoid merupakan senyawa turunan dari grup *polyphenolic* yang terdapat pada banyak tumbuhan dan tidak sedikit penelitian yang telah membuktikan bahwa senyawa ini dapat menjadi agen pelindung traktus gastrointestinal antara lain sebagai anti ulkus, anti diare, antispasmodik dan anti sekretorik. Tumbuhan menyintesis flavonoid sebagai respon dari stress (infeksi, luka, dan lain-lain). Beberapa tahun lalu flavonoid menjadi sangat terkenal di kalangan peneliti karena dipercaya memiliki kemampuan untuk memproteksi tubuh manusia dari radikal bebas oleh kemampuan mendonasi ion hidrogennya. Flavonoid dikenal sebagai antioksidan yang baik karena dapat menemukan spesies oksigen reaktif dengan golongan *phenolic hydroxyl* yang dimiliki oleh flavonoid. Salah satu studi menunjukkan bahwa flavonoid dapat memproteksi gaster dengan mekanisme *Platelet Activating Factor* (PAF), peningkatan sekresi mukus dan sebagai agen antihistamin yang akan menurunkan kadar histamin dan mereduksi jumlah sel mast (Deborah N, 2015).

Penelitian yang dilakukan oleh (Ulfa *et al.*, 2020) yang mengkaji kandungan dari ekstrak kulit buah pisang kepok dan uli menggunakan pelarut air, etanol 70% dan etanol 96% dengan perbandingan jumlah pelarut dan sampel 10:1, menunjukkan bahwa semua ekstrak terdapat senyawa flavonoid, adanya senyawa aktif flavonoid tersebut memberikan manfaat yang baik yaitu kulit pisang dapat berperan sebagai antioksidan yang dapat menangkal radikal

bebas yang masuk ke dalam tubuh (Larasati & Putri, 2023). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Ariani *et al.*, 2023) menunjukkan kadar flavonoid total (kuersetin) rata-rata pada ekstrak kulit pisang kepok dengan metode spektrofotometri UV-Vis adalah 8,5468mg QE/g \pm 0,947422695. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh (Umi Hasanah, 2021) didapatkan hasil penetapan kadar flavonoid total dalam ekstrak kulit pisang kepok sebesar 6,686 mg QE/g dengan nilai koefisien variasi sebesar 1,15%.

Pada penelitian ini menggunakan Kulit Pisang Kepok (*Musa Paradisiaca.L*) karena kulit pisang adalah bahan buangan atau limbah yang terhitung banyak dan pemanfaatannya hanya sebagai pakan ternak. Maka dari itu penulis ingin melakukan penelitian untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung pada sampel melalui metode *microwave-assisted extraction* (MAE). MAE merupakan salah satu alternatif terbaik untuk menggantikan proses ekstraksi konvensional karena lebih efisien. MAE memiliki kelebihan diantaranya waktu yang lebih singkat, penggunaan pelarut yang lebih sedikit, ekonomis, dan menghasilkan efisiensi ekstrak yang lebih baik. Teknologi tersebut cocok bagi pengambilan senyawa bioaktif karena memiliki kontrol terhadap temperatur yang lebih baik dibandingkan proses pemanasan konvensional (Muhammad hasdar, 2021).

2. TINJAUAN PUSTAKA

Tanaman Pisang Kepok (*Musa Paradisiaca.L*)

Klasifikasi Tanaman



Gambar 1. Pisang Kepok (*Musa Paradisiaca.L*)

Berdasarkan klasifikasi taksonomi pisang kepok kuning termasuk ke dalam family Musaceae yang berasal dari India Selatan. Kedudukan taksonomi, tanaman pisang kepok adalah sebagai berikut (Yusnita Usman & Rahmatullah Muin, 2023) :

| | |
|----------|---------------------------|
| Kingdom | : <i>Plantae</i> |
| Division | : <i>Tracheophyta</i> |
| Class | : <i>Magnoliopsida</i> |
| Order | : <i>Zingiberales</i> |
| Family | : <i>Musaceae</i> |
| Genus | : <i>Musa</i> |
| Species | : <i>Musa paradisiaca</i> |

Deskripsi Tanaman

Pisang kepok (*Musa paradisiaca.L*) merupakan jenis pisang olahan yang paling sering diolah terutama dalam olahan pisang goreng dalam berbagai variasi. Pisang kepok (*Musa paradisiaca.L*) memiliki tinggi batang lebih dari 3 meter yang berwarna hijau, memiliki permukaan daun yang mengkilat, bentuk pangkal daun yang kedua sisinya membulat, warna punggung tulang daun hijau kekuningan, panjang tangkai tandan 31 - 60 cm, bentuk jantung yang bulat, posisi buah lurus terhadap tangkai, jumlah sisir per tandan 4 – 7 dengan jumlah buah per sisirnya sebanyak 13 – 16 buah. Panjang buah kurang dari 15 cm dengan bentuk buah lurus dengan ujung yang runcing. Warna kulit buah belum masak yaitu hijau, sedangkan jika sudah masak akan berwarna kuning dengan warna daging yang putih. Pisang kepok memiliki kulit yang sangat tebal dengan warnakuning kehijauan dan kadang bernoda coklat (Yusnita Usman & Rahmatullah Muin, 2023).

Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu cara yang digunakan untuk memisahkan bagian berkhasiat obat dari suatu tumbuhan dengan menggunakan pelarut tertentu melalui prosedur standar. Tujuan ekstraksi adalah untuk memisahkan metabolit tanaman yang larut dari bahan yang tidak larut (residu) sehingga dapat diperoleh senyawa yang diinginkan. Langkah-langkah dalam prosedur ekstraksi adalah: Pelarut menembus matriks padat, zat terlarut larut dalam pelarut, zat terlarut berdifusi menjauh dari matriks padat dan zat terlarut yang diekstraksi dikumpulkan (Zhang & Ye, 2018).

Terdapat beberapa metode ekstraksi yang digunakan dalam proses pemisahan senyawa alami dari tumbuhan, yaitu metode konvensional dan metode modern. Metode konvensional umumnya dilakukan pada tekanan atmosfer sedangkan metode modern dilakukan pada tekanan atau suhu tinggi (Rasul, 2018). Pada metode ekstraksi modern biasanya dibutuhkan pelarut organik dalam jumlah banyak dengan durasi ekstraksi yang cukup lama. Dibandingkan

dengan metode konvensional (Zhang & Ye, 2018).

Microwave-Assisted Extraction (MAE)

MAE merupakan salah satu alternatif dari metode ekstraksi konvensional dalam mengekstraksi unsur-unsur pokok dari bagian tumbuhan atau makanan. Microwaveterdiri atas energi elektromagnetik yang tidak terionisasi dengan frekuensi antara 0,3 GHz sampai dengan 300 GHz, biasanya diaplikasikan langsung pada bahan mentah. Alat ini akan mentransmisikan energi yang akan berpenetrasi ke dalam matriks biologi dan berinteraksi dengan molekul-molekul polar, kebanyakan air, menciptakan panas. Panas berkembang dan merusak dinding sel tumbuhan membantu ekstraksi molekul-molekul fitokimia intraseluler. MAE biasanya digunakan untuk mengekstraksi senyawa-senyawa yang tidak tahan panas (Desy, 2017).

Flavonoid

Flavonoid adalah sekelompok besar senyawa polifenol tanaman yang tersebar luas dalam berbagai bahan makanan dan dalam berbagai konsentrasi. Dalam tumbuhan flavonoid terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid yang mungkin terdapat dalam satu tumbuhan dalam bentuk kombinasi glikosida. Aglikonflavonoid (yaitu flavonoid tanpa gula terikat) terdapat dalam berbagai bentukstruktur. Tanaman-tanaman obat memiliki kandungan flavonoid yang telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, anti bakteri, anti virus, anti radang, anti alergi, dan anti kanker. Efek antioksidan senyawa ini disebabkan oleh adanya penangkapan radikal bebas melalui donor atom hidrogen dari gugus hidroksil flavonoid (Neldawati, 2019).

Flavonoid adalah salah satu senyawa metabolit sekunder yang keberadaannya pada jaringan tumbuhan diperkirakan dipengaruhi oleh adanya proses fotosintesis, sehingga pada tanaman atau daun muda diketahui belum banyak mengandung flavonoid. Flavonoid merupakan pigmen yang memiliki warna yang terdapat pada tumbuhan, misalnya antosianin sebagai penyusun warna biru, violet, dan merah, flavon dan flavonol penyusun warna kuning redup, khalkon dan auron sebagai penyusun warna kuning terang, sedangkan isoflavon dan flavonol merupakan senyawa yang tidak berwarna (Nugraha, 2017).

Optimasi Ekstraksi Dengan *Response Surface Methodology* Rancangan *Box-Behnken Design*

Metode permukaan respon (*Response Surface Methodology*) merupakan sekumpulan teknik matematika dan statistika yang berguna untuk mengoptimalkan respon dengan cara menganalisis permasalahan dimana beberapa variabel independen mempengaruhi variabel respon. Prinsip dasar metode ini yaitu memanfaatkan desain eksperimen dengan teknik statistika untuk mencari nilai optimal dari suatu respon. Metode RSM memiliki keunggulan dibandingkan dengan metode konvensional, diantaranya jumlah perlakuan lebih sedikit dengan akurasi yang lebih tinggi sehingga lebih efisien dari segi waktu dan biaya. Metode ini mampu mengeksplorasi korelasi antara banyak faktor untuk mendapatkan kondisi produksi optimal dalam suatu proses serta memprediksi suatu respon (Faadilah Atikah, 2020).

Terdapat dua desain eksperimen RSM yang umum digunakan, yaitu *Central Composite Design* (CCD) dan *Box-Behnken Design* (BBD). *Central Composite Design* (CCD) digunakan pada rancangan eksperimen berurutan. CCD dibuat dari desain faktorial dua tingkat, dimana titik tengah ditambah dengan titik aksial. Titik aksial pada CCD menyebabkan adanya lima level pada setiap faktor dalam desain. *Box-Behnken Design* (BBD) merupakan desain permukaan respon yang tidak mengandung desain faktorial fraksional. BBD memiliki tiga level pada setiap variabel untuk mencocokkan pada permukaan respon orde kedua. *Box-Behnken Design* sering memiliki titik desain yang lebih sedikit, sehingga desain ini lebih efisien untuk dilakukan dari pada CCD dengan jumlah faktor yang sama. BBD juga bermanfaat apabila peneliti menginginkan level pada setiap variabel tetap berada pada wilayah yang ditetapkan, lain hal dengan CCD yang umumnya memiliki titik aksial diluar “kubus” (Faadilah Atikah, 2020).

3. METODE PENELITIAN

Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental yang dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Program Studi S1 Farmasi, Universitas Duta Bangsa Surakarta. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui optimasi metode *microwave-assisted extraction* (MAE) untuk menentukan kadar flavonoid total ekstrak etanol kulit pisang kepok (*Musa Paradisiaca.L*). Optimasi metode ekstraksi menggunakan RSM (*Response Surface Methodology*) dengan rancangan *Box-Behnken Design* dengan *software* Design Expert 16. Tahap penelitian dimulai dari pengambilan sampel, determinasi tumbuhan, pembuatan simplisia, pembuatan ekstrak, uji kadar flavonoid total, skrining fitokimia dan analisa data.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai bulan April 2024 sampai bulan Mei 2024 di laboratorium Bahan Alam Program Studi S1 Farmasi, Universitas Duta Bangsa Surakarta.

Alat dan Bahan

a) Alat

Alat-alat yang digunakan terdiri dari blender, ayakan, microwave sharp R-220Ma-Wh, oven, cirus porselen, timbangan analitik, mikro pipet, beaker glass, gelas ukur, tabung reaksi, batang pengaduk, pipet tetes, spektrofotometer UV-Vis, penampak bercak KLT, pipa kapiler, chamber, pinset, Kertas saring, klem, statif, dan corong pisah.

b) Bahan

Bahan yang digunakan adalah kulit pisang kepok (*Musa Paradisiaca.L*), etanol 70%, etanol 50 %, etanol 96%, aluminium klorida, metanol p.a, natrium asetat, aquadest, kuersetin, serbuk Mg, HCL pekat, Plat KLT, n-butanol, asam asetat.

4. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Determinasi

Sebelum dilakukan pengolahan bahan, pisang kepok dideterminasi terlebih dahulu. Determinasi tanaman merupakan tahap awal yang harus dilakukan untuk memulai atau melakukan tahapan-tahapan berikutnya saat penelitian. Determinasi bertujuan untuk mengetahui dan menentukan jenis dan nama tanaman secara spesifik. Determinasi pisang kepok dilakukan di UPF Pelayanan Kesehatan Tradisional Tawangmangu. Determinasi dilakukan untuk mengetahui jenis suatu tanaman berdasarkan klasifikasi tanamannya. Hasil determinasi dengan nomor TL.02.04/D.XI.6/14031.791/2024 menyatakan bahwa sampel yang digunakan adalah pisang kapok dengan famili *Musaceae*, spesies *Musa paradisiaca L.* dan sinonim *Musa x mensaria Moench*. Bagian yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit pisang kepok. Hasil determinasi dapat dilihat pada bagian lampiran.

Pembuatan Simplisia

Penelitian ini menggunakan kulit pisang kepok segar yang disortasi basah untuk memisahkan zat atau benda asing lainnya lalu dilakukan pencucian hingga bersih dengan air mengalir sebanyak 3 kali. Kulit pisang kapok yang telah bersih lalu dilakukan perajangan yang bertujuan untuk mempermudah proses pengeringan pada kulit. Kulit yang telah dirajang lalu

dilakukan pengeringan dibawah sinar matahari dan ditutupi kain hitam untuk mendapatkan simplisia. Kulit pisang kepok yang sudah kering dilakukan penyerbukan menggunakan blender dan diayak hingga didapatkan serbuk.

Serbuk kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca.L*) kemudian dilakukan uji makroskopik. Pada Uji Makroskopik dilakukan pengamatan secara langsung menggunakan indera manusia sebagai alat untuk menilai kesesuaian simplisia kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca.L*) dengan morfologinya. Hasil dari uji makroskopik serbuk kulit pisang kepok memiliki warna coklat tua kehitaman, bau khas kulit pisang, dan rasa agak sepat.

Penetapan Susut pengeringan

Parameter susut pengeringan pada dasarnya adalah pengukuran sisa zat setelah pengeringan. Tujuan uji susut pengeringan adalah untuk mengetahui gambaran batasan maksimal besarnya senyawa yang hilang selama proses pengeringan. Cara yang digunakan yaitu dengan menimbang 2 gram serbuk kulit pisang kepok (*MusaParadisiaca.L*), kemudian dimasukkan ke dalam krus porselin bertutup yang telah dipanaskan pada suhu 105 °C selama 30 menit dan sudah didinginkan. Krus yang berisi sampel tersebut kemudian ditimbang dan dimasukkan ke dalam oven dalam keadaan terbuka dan disertakan tutup krus ke dalam oven, krus dipanaskan pada suhu 105 °C selama 30 menit. Setelah kurang lebih 30 menit, krus ditimbang dan ulangi pemanasan hingga beratnya konstan.

Hasil susut pengeringan serbuk kulit pisang kepok yaitu 9,5 %. Hasil ini telah memenuhi syarat susut pengeringan $\leq 10\%$. Karena batas maksimum susut pengeringan menurut farmakope herbal yaitu $\leq 10\%$ (Depkes RI, 2017).

Penetapan Kadar Air

Uji kadar air merupakan pengukuran kandungan air yang terdapat dalam simplisia yang telah dikeringkan dan diserbuk. Tujuan penetapan kadar air untuk memberikan batasan minimal rentang besarnya kandungan air di dalam serbuk simplisia. Nilai kadar air yang tinggi mengakibatkan mudahnya bakteri dan kapang berkembang biak, sehingga akan terjadi perubahan pada simplisia. Nilai untuk kadar air jika tidak dinyatakan lain adalah $\leq 10\%$ (Depkes RI, 2017).

Hasil penetapan kadar air serbuk kulit pisang kepok adalah 8,5%, sehingga telah memenuhi syarat yang telah ditentukan yaitu $\leq 10\%$. Kadar air yang terlalu tinggi menyebabkan tumbuhnya mikroba yang akan menurunkan stabilitas serbuk.

Pembuatan Ekstrak

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode MAE (*Microwave-assisted extraction*). Keuntungan dari ekstraksi ini adalah waktu ekstraksi lebih pendek, penggunaan pelarut lebih sedikit, tingkat ekstraksi yang lebih tinggi dan kualitas produk yang lebih baik dengan biaya yang lebih rendah karena microwave langsung memanaskan pelarut atau campuran. Pada penelitian ini menggunakan serbuk simplisia sebanyak 10 gram dan 100 ml etanol sesuai dengan data percobaan. Penggunaan etanol pada penelitian ini karena etanol bersifat universal, polar dan juga mudah didapat.

Hasil dari proses ekstraksi kemudian disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan maserat dengan filtratnya. Maserat kemudian diuapkan diatas *waterbath* hingga didapatkan ekstrak kental. Hasil ekstrak kental yang telah didapatkan lalu ditimbang dan dihitung rendemennya. Hasil rendemen ekstrak dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak

| Run | Level Daya(%) | Konsentrasi Etanol (%) | Waktu Ekstraksi (Menit) | Rendemen Ekstrak (%) |
|-----|---------------|------------------------|-------------------------|----------------------|
| 1 | 10 | 50 | 5 | 19,1 % |
| 2 | 50 | 50 | 5 | 17,3 % |
| 3 | 10 | 96 | 5 | 5,3 % |
| 4 | 50 | 96 | 5 | 5,2 % |
| 5 | 10 | 70 | 3 | 22,4 % |
| 6 | 50 | 70 | 3 | 18,5 % |
| 7 | 10 | 70 | 7 | 19 % |
| 8 | 50 | 70 | 7 | 14,5 % |
| 9 | 30 | 50 | 3 | 21,5 % |
| 10 | 30 | 96 | 3 | 9,8 % |
| 11 | 30 | 50 | 7 | 18,4 % |
| 12 | 30 | 96 | 7 | 5,6 % |
| 13 | 30 | 70 | 5 | 24,7 % |
| 14 | 30 | 70 | 5 | 32,7 % |
| 15 | 30 | 70 | 5 | 26 % |

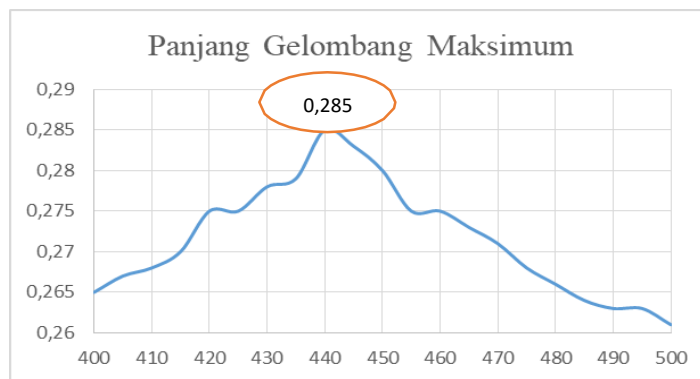
Perhitungan rendemen dilakukan pada 15 ekstrak dan mendapatkan hasil rendemen terbesar yaitu pada ekstrak ke 14 dengan hasil 32,7 %, sedangkan rendemen dengan hasil terkecil yaitu pada ekstrak ke 4 dengan hasil 5,2 %.

Penetapan Kadar Flavonoid Total

Prinsip penetapan kadar flavonoid metode aluminium klorida adalah terjadinya pembentukan kompleks antara aluminium klorida dengan gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari golongan flavonol. Senyawa yang digunakan sebagai standar pada penetapan kadar flavonoid ini adalah kuersetin, karena

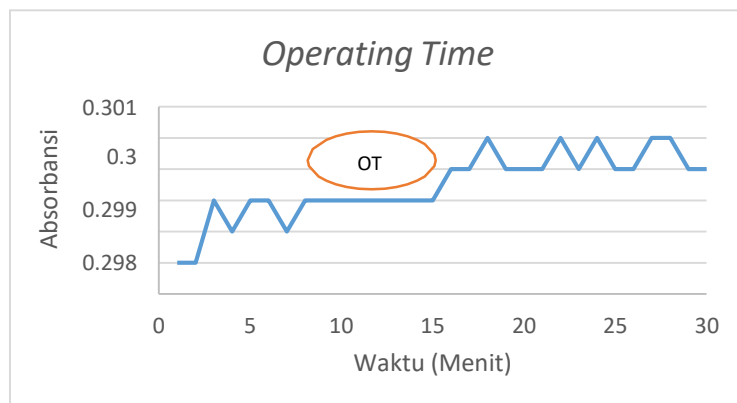
kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus keto pada atom C-4 dan juga gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang bertetangga (Aminah et al., 2017). Pemilihan kuersetin sebagai larutan baku juga karena kemampuannya bereaksi dengan $AlCl_3$ dalam membentuk kompleks. Penambahan natrium asetat pada penetapan kadar flavonoid digunakan sebagai pereaksi geser untuk mendeteksi adanya gugus 7-OH, dan untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah visible (Lusi et al., 2021).

Pengukuran serapan panjang gelombang maksimum dilakukan *running* dari panjang gelombang 400-500 nm. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui λ yang memiliki serapan tertinggi (Aminah et al., 2017). Hasil *running* menunjukkan panjang gelombang maksimum standar baku kuersetin berada pada panjang gelombang 440 nm dengan nilai absorbansi 0,285 nm. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum kuersetin dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Panjang gelombang maksimum Kuersetin

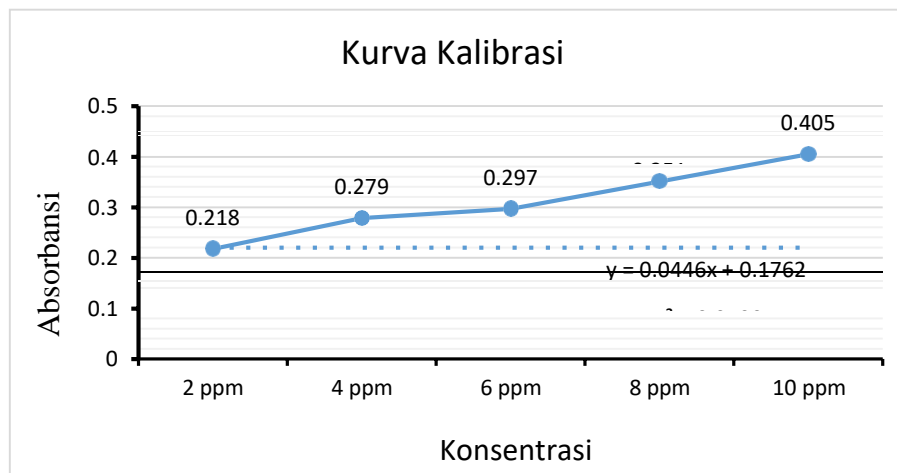
Penentuan *operating time* bertujuan untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil yaitu ketika sampel bereaksi sempurna dan membentuk senyawa kompleks. *Operating time* dilakukan dengan menggunakan larutan baku kuersetin 100 ppm dengan interval waktu 1 menit dan dilakukan selama 30 menit. Hasil penentuan *operating time* yang diperoleh dapat diketahui bahwa nilai absorbansi yang stabil terletak pada menit ke 8-15. Pengukuran absorbansi dilakukan pada menit ke 8 diperoleh nilai absorbansi stabil pada angka 0,298. Hasil *operating time* yang diperoleh digunakan sebagai waktu perlakuan inkubasi larutan sebelum pengukuran, yang bertujuan untuk membuat reaksi berjalan sempurna sehingga memberikan intensitas warna yang maksimal. Hasil penentuan *operating time* dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Hasil Penentuan *Operating Time* Kuersetin

Pada penelitian ini untuk menentukan kadar flavonoid total pada sampel digunakan kuersetin sebagai larutan standar dengan deret konsentrasi 2,4,6,8, dan 10ppm. Digunakan deret konsentrasi karena metode yang di gunakan dalam menentukankadar adalah metode yang menggunakan persamaan kurva baku, untuk membuat kurva baku terlebih dahulu dibuat beberapa deret konsentrasi untuk mendapatkan persamaan linear yang dapat digunakan untuk menghitung persen kadar. Digunakan kuersetin sebagai larutan standar karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksil padaatom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol (Aminah *et al.*, 2017).

Masing-masing konsentrasi larutan standar kuersetin dipipet sebanyak 0,2 mL;0,4 mL; 0,6 mL; 0,8 mL; 1 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas. Larutan baku kuersetin masing-masing di pipet 1 mL, kemudian ditambahkan 3 mL metanol p.a, 0,2 mL AlCl₃ 10%, 0,2 mLnatrium asetat 1 M dan ditambahkan dengan akuades dalam labu ukur 10 mL. Setelah itu, diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 440 nm dan waktu inkubasi 7-15 menit. Hasil kurva baku kuersetin dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Grafik Hasil Penentuan Kurva Baku Kuersetin

Dari pengukuran tersebut dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin tinggi pula absorbansi yang diperoleh. Hasil baku kuersetin yang diperoleh diplotkan antara kadar dan absorbannya, sehingga diperoleh persamaan regresi linear yaitu $y = 0,446x + 0,1762$ dengan nilai R^2 yang diperoleh sebesar 0,9799. Persamaan kurva kalibrasi kuersetin dapat digunakan sebagai pembanding untuk menentukan konsentrasi senyawa flavonoid total pada ekstrak sampel. Pengujian analisis blanko sebagai kontrol yang berfungsi sebagai pemblank (mengkalikan nol) senyawa yang tidak perlu dianalisis.

Pada pengukuran senyawa flavonoid total, larutan sampel ditambahkan $AlCl_3$ yang dapat membentuk kompleks, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah *visible* (tampak) yang ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning. Penambahan natrium asetat bertujuan untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah *visible* (tampak) (Aminah *et al.*, 2017). Perlakuan inkubasi selama 8-15 menit sebelum pengukuran dimaksudkan agar reaksi berjalan sempurna, sehingga intensitas warna yang dihasilkan lebih maksimal. Hasil penetapan kadar flavonoid total dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total

| Run | Level Daya(%) | Konsentrasi Etanol (%) | tu Ekstraksi(Menit) | Kadar Total Flavonoid Mg QE/g |
|-----|---------------|------------------------|---------------------|-------------------------------|
| 1 | 10 | 50 | 5 | 6,340 |
| 2 | 50 | 50 | 5 | 4,636 |
| 3 | 10 | 96 | 5 | 5,309 |
| 4 | 50 | 96 | 5 | 3,605 |
| 5 | 10 | 70 | 3 | 7,820 |
| 6 | 50 | 70 | 3 | 6,318 |
| 7 | 10 | 70 | 7 | 6,542 |
| 8 | 50 | 70 | 7 | 4,300 |
| 9 | 30 | 50 | 3 | 7,730 |
| 10 | 30 | 96 | 3 | 5,130 |
| 11 | 30 | 50 | 7 | 6,049 |
| 12 | 30 | 96 | 7 | 4,367 |
| 13 | 30 | 70 | 5 | 7,932 |
| 14 | 30 | 70 | 5 | 8,246 |
| 15 | 30 | 70 | 5 | 8,022 |

Penetapan kadar flavonoid total ini dilakukan pada kelima belas ekstrak dan mendapatkan hasil kadar flavonoid terbesar yaitu pada ekstraksi ke 14 dengan hasil 8,246 mg QE/g, sama seperti penelitian yang dilakukan oleh (Ariani *et al.*, 2023) menunjukkan kadar flavonoid total (kuersetin) rata-rata pada ekstrak kulit pisang kepok dengan metode spektrofotometri UV-Vis adalah 8,5468 mg QE/g. Sedangkan penetapan kadar flavonoid total dengan hasil terkecil yaitu pada ekstraksi ke 4 dengan hasil 3,605 mg QE/g, hal ini karena power microwave, waktu pemanasan dan konsentrasi pelarut yang terlalu tinggi sehingga dapat mempengaruhi jumlah senyawa yang diekstraksi. Karena semakin besar power microwave yang digunakan dalam ekstraksi MAE, maka semakin cepat pecahnya dinding sel sehingga analit yang diinginkan lebih cepat keluar dari dalam sel dan berdifusi ke dalam pelarut (Dwiyanti Aritonang, 2019).

Optimasi Ekstraksi Dengan Response Surface Methodology Rancangan *Box-Behnken Design*

Setelah menentukan kondisi terbaik dari BBD dengan 15 perlakuan, maka dilakukan optimasi ke tiga faktor independen terhadap kadar flavonoid total dari kulit pisang kapok (*Musa Paradisiaca.L*). Analisis varian (ANOVA) dengan model polinomial kuadratik untuk menentukan kadar flavonoid dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil ANOVA pada Respon Kadar Flavonoid Total

| Sumber Keragaman | Jumlah Kuadrat | Derajat Bebas | Kuadrat Tengah | F- Value | P- Value | Keterangan |
|------------------|----------------|---------------|----------------|----------|----------|------------------|
| Model | 32,9557 | 9 | 3,6617 | 24,45 | 0,001 | Signifikan |
| A | 6,3354 | 1 | 6,3354 | 42,30 | 0,001 | Signifikan |
| B | 5,0308 | 1 | 5,0308 | 33,59 | 0,002 | Signifikan |
| C | 3,9068 | 1 | 3,9068 | 26,09 | 0,004 | Signifikan |
| A ² | 6,5715 | 1 | 6,5715 | 43,88 | 0,001 | Signifikan |
| B ² | 10,0545 | 1 | 10,0545 | 67,14 | 0,000 | Signifikan |
| C ² | 0,8778 | 1 | 0,8778 | 5,86 | 0,060 | Tidak Signifikan |
| AB | 0,0001 | 1 | 0,0001 | 0,00 | 0,979 | Tidak Signifikan |
| AC | 0,1369 | 1 | 0,1369 | 0,91 | 0,383 | Tidak Signifikan |
| BC | 0,2350 | 1 | 0,2350 | 1,57 | 0,266 | Tidak Signifikan |
| Residual | 0,7488 | 5 | 0,1498 | | | |
| Lack of fit | 0,6965 | 3 | 0,2322 | 8,88 | 0,103 | Tidak Signifikan |
| Pure Error | 0,0523 | 2 | 0,0261 | | | |
| Cor Total | 33,7045 | 14 | | | | |

Keterangan :

A = Variabel X1 (Level Daya (%))

B = Variabel X2 (Konsentrasi Pelarut (%)) C = Variabel X3 (Waktu (Menit)) AB,AC,BC = Interaksi antar perlakuan

Model variabel level daya (A), variabel konsentrasi pelarut (B), variabel waktu(C), variabel level daya (A²), dan variabel konsentrasi pelarut (B²) pada grafik kuadratik memberikan pengaruh yang signifikan terhadap respon kadar flavonoid total ditunjukkan dari nilai (P ≤ 0,05). Hal ini menunjukkan bahwa kelima variabel tersebut berpengaruh terhadap respon kadar flavonoid total. Menurut (Oktavian FajarRahman, 2018), apabila nilai P kurang dari 0,05 hal tersebut menunjukkan bahwa model bersifat signifikan dan Lack of Fit tidak signifikan (P>0,05) yaitu 0,103.

Persamaan regresi model kuadratik dari respon Y2 (Kadar flavonoid total) yang dipengaruhi level daya (X1), konsentrasi pelarut (X2), waktu (X3) adalah sebagai berikut:

$$Y_2 = -8,18 + 0,1777 X_1 + 0,4041 X_2 + 0,624 X_3 - 0,003335 X_1^2 - 0,003186 X_2^2 - 0,1219 X_3^2 + 0,000012 X_1X_2 - 0,00463 X_1X_3 + 0,00525 X_2X_3$$

Persamaan tersebut merupakan persamaan aktual yang diperlukan untuk mengetahui respon kadar flavonoid total yang akan didapatkan jika nilai variabel yang diperlakukan berbeda. Pada persamaan tersebut koefisien variabel yang bertanda negatif yang mengindikasikan adanya titik stasioner maksimum dari permukaan respon yang didapatkan. Persamaan tersebut juga dapat digunakan untuk memprediksi respon yang mungkin diperoleh dengan berbagai taraf proporsi (Wiradiestia & Trionggono, 2018). Persamaan tersebut menunjukkan variabel yang paling berpengaruh untuk respon kadar flavonoid total yaitu variabel rasio waktu

ekstraksi ditunjukkan dengan koefisien tertinggi yaitu pada koefisien X3 sebesar 0,624.

Analisis varian dengan model polinomial kuadrat untuk menentukan kadar flavonoid total menghasilkan koefisien determinasi ditunjukkan pada tabel 9.

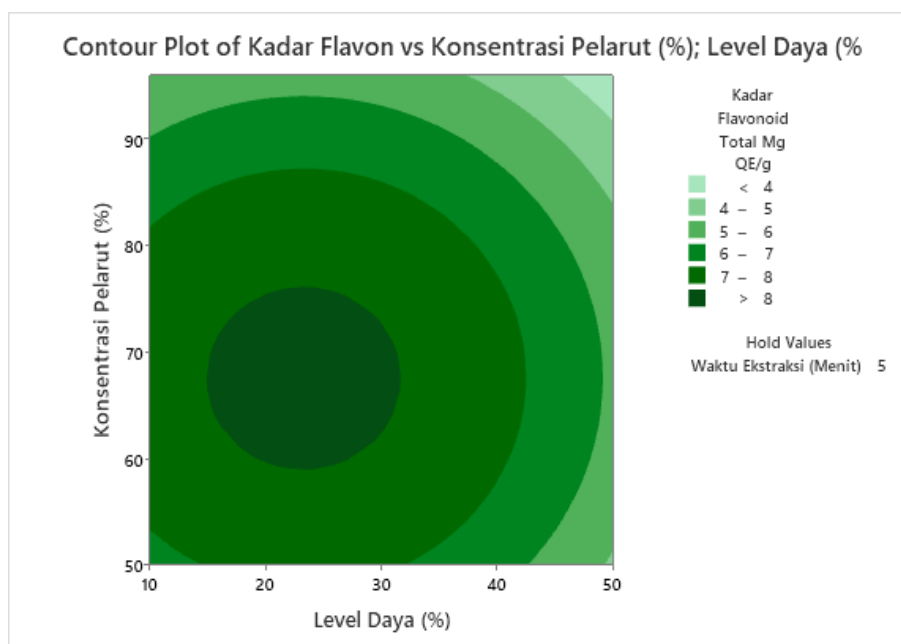
Tabel 4. Hasil Koefisien Determinasi

| R-Squared | Adjusted R-Squared | predicted R-Squared |
|------------------|---------------------------|----------------------------|
| 97,78% | 93,78% | 65,36% |

R-Squared atau kuadrat R menunjukkan koefisien determinasi, berkisar antara 0-1. Semakin kecil R-Squared hubungan antara variabel semakin lemah, sebaliknya jika R-Squared semakin mendekati 1, maka hubungan antara variabel dependen semakin kuat (Lohita & Saptari, 2020).

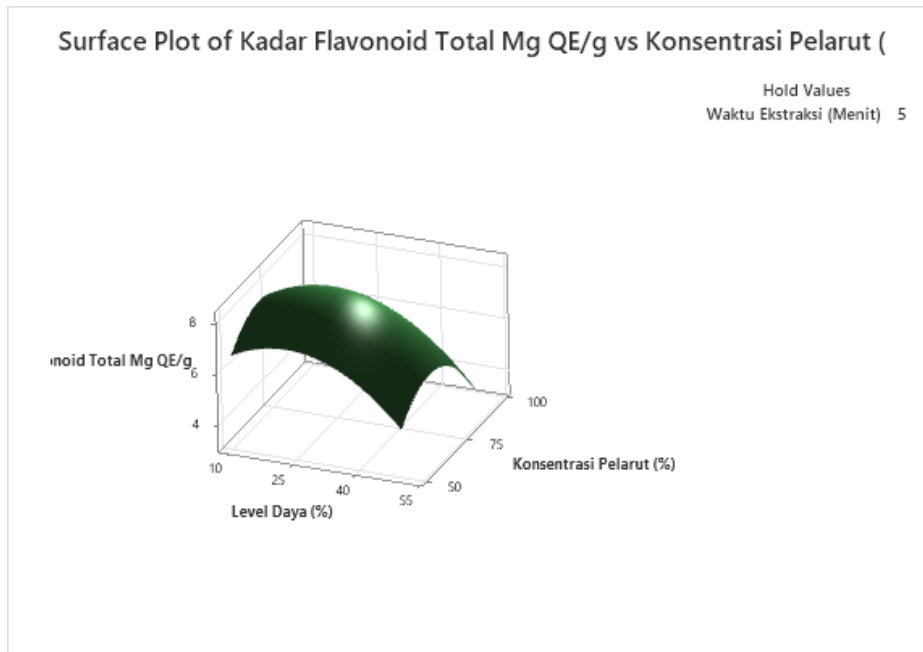
Model ini menghasilkan koefisien determinasi *R-Squared* sebesar 97,78% artinya menunjukkan hubungan yang baik antara nilai eksperimen dan nilai prediksi respon. Nilai *Adjusted R-Squared* sebesar 93,78% artinya faktor perlakuan berpengaruh terhadap respon kadar flavonoid total, sisanya dipengaruhi faktor lain dalam penelitian. Nilai *predicted R-Squared* sebesar 65,36% artinya kemampuan model untuk memprediksi.

Respon permukaan 3D dan contour plot 2D dibuat dengan bantuan perangkat lunak *Design-Expert* untuk menentukan hubungan antara daya, konsentrasi pelarut dan waktu ekstraksi terhadap kadar flavonoid.



Gambar 5. 2D Kontur Plot Variabel Level Daya dan Konsentrasi Pelarut Terhadap Respon Kadar Flavonoid Total

Pada gambar 5 menunjukkan kontur plot yang terdiri dari beberapa warna. Dimana masing-masing variasi menunjukkan *range* besarnya respon yang dihasilkan. Kondisi paling maksimal untuk plot diatas berada diwarna hijau tua dengan nilai kadarflavonoid total lebih dari 8. *Range* inilah yang akan memberi garis besar petunjuk letak titik optimum variabel. Dari gambar diatas didapatkan hasil kondisi maksimalvariabel level daya dan konsentrasi pelarut terhadap respon kadar flavonoid total yaitu 18- 32 % untuk level daya dan konsentrasi pelarut sebesar 60 – 75 %.

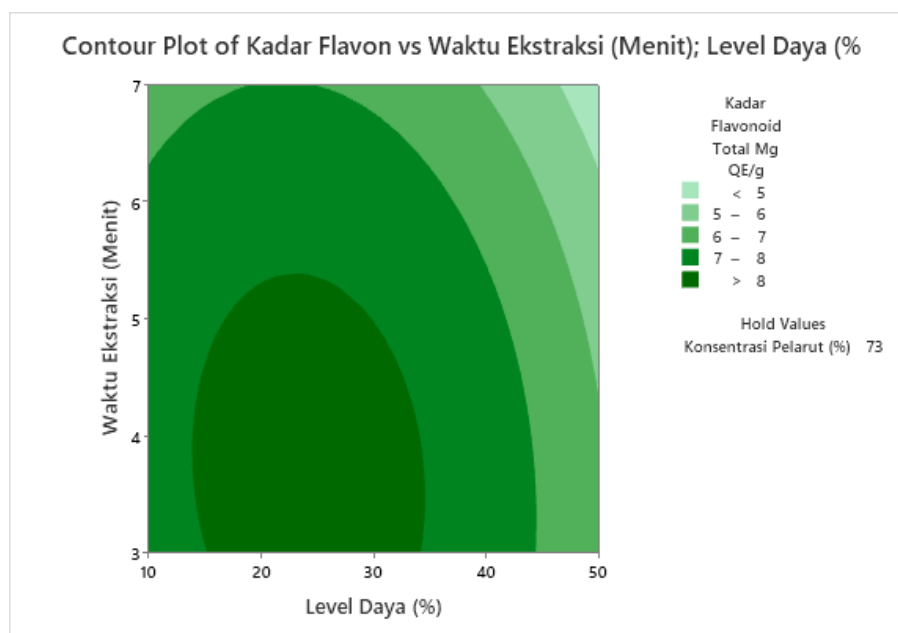


Gambar 6. 3D Kontur Plot Variabel Level Daya dan Konsentrasi Pelarut Terhadap Respon Kadar Flavonoid Total

Pada gambar 8 merupakan kontur yang menunjukkan ketepatan hasil optimasi. Kontur ini ditandai dengan adanya cahaya putih yang berada di tengah kontur yang menunjukkan keterangan titik optimal yang terletak pada titik (node) yang ditunjukkan pada gambar tersebut. Dari gambar diatas didapatkan hasil titik optimumvariabel level daya dan konsentrasi pelarut terhadap respon kadar flavonoid total yaitulevel daya sebesar 30 % dan konsentrasi pelarut sebesar 70 % menghasilkan kadar flavonoid total sebesar 7 Mg QE/g.

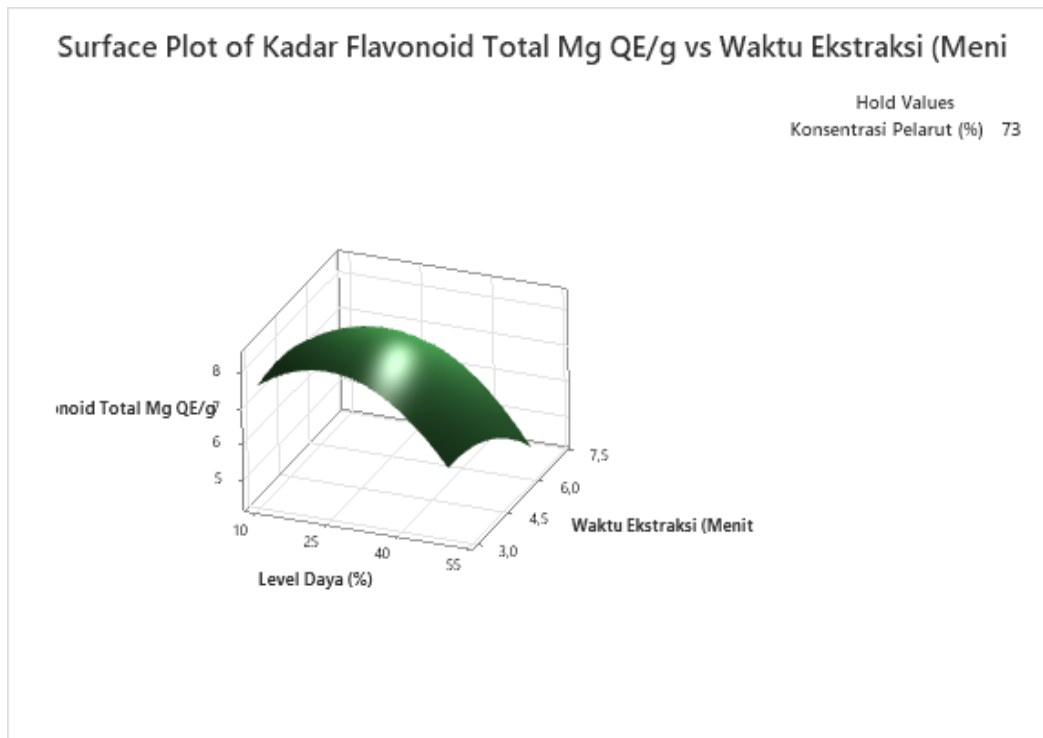
Kontur plot menunjukkan bahwa semakin tinggi level daya dan konsentrasi pelarut etanol, maka terjadi peningkatan total flavonoid. Namun, pada titik tertinggi level daya dan konsentrasi pelarut nilai total flavonoidnya akan semakin turun. Hal ini terjadi karena semakin tinggi level daya microwave yang digunakan maka semakin besar tekanan internal pada sel partikel sehingga dinding sel cepat pecah dan analit dari dalam sel akan keluar larut dalam

pelarut. Perlakuan suhu tinggi dapat merusak kandungan flavonoid pada ekstrak kulit pisang kepok, beberapa komponen fenol akan rusak, sehingga nilai fenol akan menurun seiring waktu dan menyebabkan tidak semua senyawa fenolik dapat keluar dari sel sehingga senyawa fenolik tidak dapat terekstrak dengan sempurna. Konsentrasi pelarut juga mempengaruhi hasil dari kandungan flavonoid, konsentrasi pelarut harus cukup untuk memastikan bahwa solid selalu terendam dalam seluruh pelarut selama iradiasi berlangsung (Dwiyanti Aritonang, 2019).



Gambar 7. 2D Kontur Plot Variabel Level Daya dan Waktu Ekstraksi Terhadap Respon Kadar Flavonoid Total

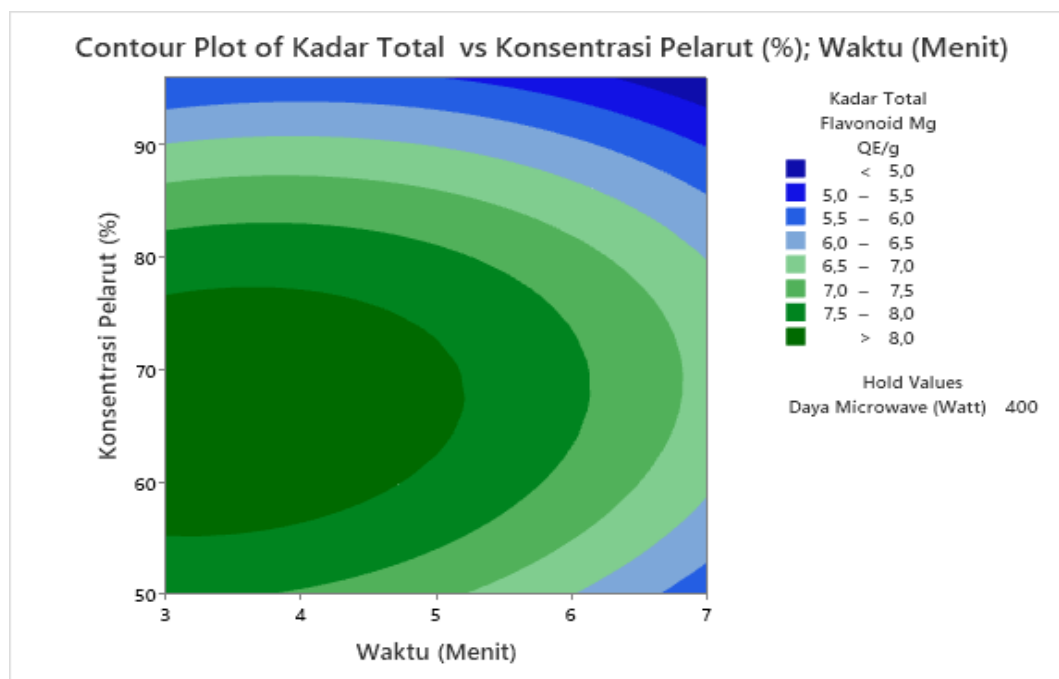
Pada gambar 7 menunjukkan kontur plot yang terdiri dari beberapa warna. Dimana masing-masing variasi menunjukkan *range* besarnya respon yang dihasilkan. Kondisi paling maksimal untuk plot diatas berada diwarna hijau tua dengan nilai kadarflavonoid total lebih dari 8. *Range* inilah yang akan memberi garis besar petunjuk letak titik optimum variabel. Dari gambar diatas didapatkan hasil kondisi maksimalvariabel level daya dan waktu terhadap respon kadar flavonoid total yaitu 15-35 % untuk level daya dan waktu sebanyak 3-5 menit.



Gambar 8. 3D Kontur Plot Variabel Level Daya dan Waktu Terhadap Respon Kadar Flavonoid Total

Gambar 8 merupakan kontur yang menunjukkan ketepatan hasil optimasi. Kontur ini ditandai dengan adanya cahaya putih yang berada di tengah kontur yang menunjukkan keterangan titik optimal yang terletak pada titik (node) yang ditunjukkan pada gambar tersebut. Dari gambar diatas didapatkan hasil titik optimum variabel level daya dan waktu ekstraksi terhadap respon kadar flavonoid total yaitu level daya sebesar 25 % dan waktu ekstraksi 5 menit menghasilkan kadar flavonoid total sebesar 7,5 Mg QE/g.

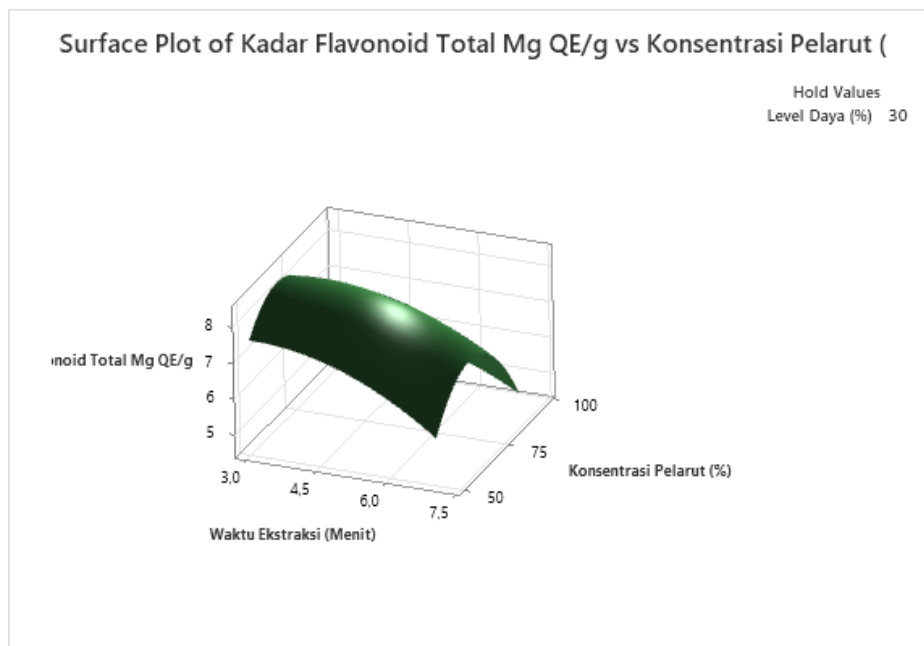
Kontur plot menunjukkan bahwa semakin tinggi level daya microwave dan waktu ekstraksi, maka terjadi penurunan total flavonoid. Faktor daya gelombang mikro dan waktu iradiasi saling mempengaruhi satu sama lain. Hal ini terjadi karena semakin lama waktu ekstraksi dan semakin besar power microwave yang digunakan menyebabkan waktu radiasi dalam microwave semakin lama sehingga pelarut akan menyerap energi microwave yang lebih banyak dan semakin cepat pecahnya dinding sel. Sehingga analit akan terdegradasi oleh panas yang dihasilkan oleh energi microwave. Oleh karena itu, ekstraksi MAE harus dilakukan dengan waktu radiasi yang optimum (Dwiyanti Aritonang, 2019).



Gambar 9. 2D Kontur Plot Variabel Waktu Ekstraksi dan Konsentrasi Pelarut Terhadap Respon Kadar Flavonoid Total

Kontur plot menunjukkan bahwa semakin lama waktu ekstraksi dan semakin tinggi konsentrasi pelarut, maka terjadi penurunan total flavonoid. Karena dalam MAE semakin tinggi volume pelarut maka semakin kecil yield yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena dengan jumlah pelarut yang jauh lebih banyak dibandingkan jumlah solid yang sedikit, pelarut akan lebih banyak menyerap energi microwave yang besar untuk menaikkan suhunya, sedangkan solid hanya menyerap sisa energi microwave yang ada dan dengan waktu radiasi yang terlalu lama maka analit akan terdegradasi oleh panas yang dihasilkan oleh energi microwave (Dwiyanti Aritonang, 2019).

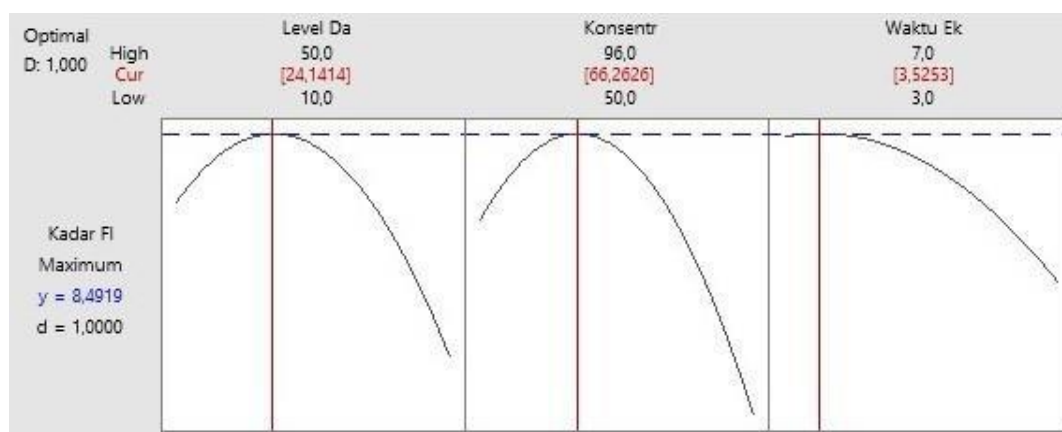
Dari gambar di atas didapatkan hasil kondisi maksimal variabel waktu dan konsentrasi pelarut terhadap respon kadar flavonoid total yaitu 3-5 menit untuk waktu ekstraksi dan konsentrasi pelarut sebesar 55 – 78 %.



Gambar 10. 2D Kontur Plot Variabel Waktu dan Konsentrasi Pelarut Terhadap Respon Kadar Flavonoid Total

Gambar 10 merupakan kontur yang menunjukkan ketepatan hasil optimasi. Kontur ini ditandai dengan adanya cahaya putih yang berada di tengah kontur yang menunjukkan keterangan titik optimal yang terletak pada titik (node) yang ditunjukkan pada gambar tersebut. Dari gambar diatas didapatkan hasil titik optimum variabel waktu dan konsentrasi pelarut terhadap respon kadar flavonoid total yaitu waktu ekstraksi 5 menit dan konsentrasi 75 % menghasilkan kadar flavonoid total sebesar 7,5 Mg QE/g.

Optimasi pada program akan dilakukan berdasarkan input data variabel data dan data pengukuran respon. Output dari tahap optimasi berupa rekomendasi formulabaru yang optimal menurut program. Formula dengan nilai desirability maksimum adalah formula yang paling optimal. Menurut (Oktavian Fajar Rahman, 2018) nilaidesirabilty berkisar dari 0-1, dimana semakin mendekati angka 1 menunjukkan kemampuan program untuk menghasilkan nilai yang dikehendaki semakin sempurna.



Gambar 11. Hasil Kondisi Optimum

Pada gambar 11 diketahui bahwa nilai desirability sebesar 1,000, menunjukkan kemampuan program untuk memenuhi keinginan berdasarkan kriteria yang ditetapkan pada produk akhir sempurna. Berdasarkan solusi yang diperoleh dari sistem perhitungan program *Design Expert*, titik optimum variabel level daya, konsentrasi pelarut, dan waktu ekstraksi berturut-turut adalah 24,14 %; 66,26 %; 3,52 menit. Dari titik optimum variabel bebas, didapatkan nilai respon kadar flavonoid total sebesar 8,491 Mg QE/g.

Verifikasi Hasil Optimum

Tahapan selanjutnya adalah tahapan verifikasi hasil optimum. Hasil yang diperoleh dari analisa respon kemudian dibandingkan dengan nilai variabel respon yang diprediksi oleh RSM yang telah dilengkapi dengan prediksi nilai setiap respon sehingga dapat dilihat kesesuaiannya pada tahapan verifikasi. Verifikasi hasil optimum dilakukan sebagai pembuktian bahwa solusi titik optimum variabel bebas yang diberikan oleh program *Design Expert* benar-benar dapat memberikan hasil respon sesuai dengan respon optimum yang telah ditentukan oleh program dan benar-benar optimal (Oktavian Fajar Rahman, 2018). Verifikasi dilakukan dengan cara membandingkan nilai analisa respon pada penelitian dengan nilai respon hasil perhitungan program *Design Expert*. Verifikasi hasil optimum dapat pada tabel 10.

Tabel 5. Perbandingan Antara Hasil Optimasi dengan Hasil Verifikasi

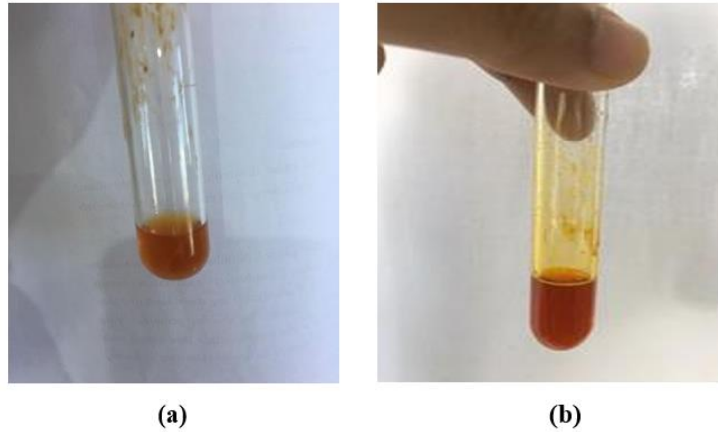
| | Variabel | | | Respon | |
|------------|-------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------|
| | el Daya (%) | Konsentrasi Etanol (%) | Waktu Ekstraksi (Menit) | Kadar Flavonoid Mg QE/g | Total |
| Prediksi | 24,14 | 66,26 | 3,52 | 8,491 | |
| Verifikasi | 30 | 70 | 5 | 8,246 | |
| Perbedaan | | | | 2,886% | |

Berdasarkan Tabel 5, perhitungan analisa penelitian didapatkan nilai respon kadar flavonoid total sebesar 8,246 Mg QE/g. Sedangkan dari perhitungan program *Design Expert* respon kadar flavonoid total sebesar 8,491 Mg QE/g. Perbedaan nilai respon kadar flavonoid total yaitu 2,886%. Hasil perbandingan tersebut menunjukkan bahwa selisih prediksi dengan verifikasi lebih kecil dari 5% yang berarti nilai verifikasi sudah sesuai dengan nilai prediksi program. Hal ini diperkuat oleh pernyataan (Oktavian Fajar Rahman, 2018) bahwa perbedaan nilai prediksi dan nilai penelitian tidak lebih dari 5% mengindikasikan bahwa model tersebut cukup tepat dengan demikian selisih nilai tidak terlalu signifikan dan solusi variabel bebas yang diberikan program *Design Expert* dapat diterima. Hasil nilai aktual dengan nilai PI (Prediction Interval) yang menunjukkan bahwa nilai aktual masih masuk dalam rentang 95% PI Low dan 95% PI High membuktikan bahwa formula optimum dengan nilai desirability tertinggi memiliki hasil pengujian yang sesuai dengan prediksi yang direkomendasikan oleh program (Oktavian Fajar Rahman, 2018).

Hasil Analisis Fitokimia Flavonoid

1) Uji Tabung

Pengujian fitokimia ini dilakukan dengan menggunakan uji tabung dari ekstrak kulit pisang kepok (*Musa Paradisiaca.L*) dengan kadar flavonoid tertinggi yaitu hasil ekstraksi MAE level daya 30 %, konsentrasi etanol 70 % dan waktu ekstraksi 5 menit. Prinsip dari uji tabung adalah adanya perubahan warna yang terjadi ketika sampel diberikan pereaksi tertentu. Cara mereaksikan yaitu sebanyak 10 mg ekstrak kulit pisang kepok (*Musa Paradisiaca.L*) ditambahkan 2 ml etanol dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan dengan 2 mg serbuk magnesium dan diberikan 3 tetes HCl pekat. Sampel dikocok dan diamati perubahan yang terjadi, terbentuknya warna merah, jingga atau kuning pada larutan menunjukkan adanya flavonoid (Lumowa & Bardin, 2018). Hasil uji tabung.

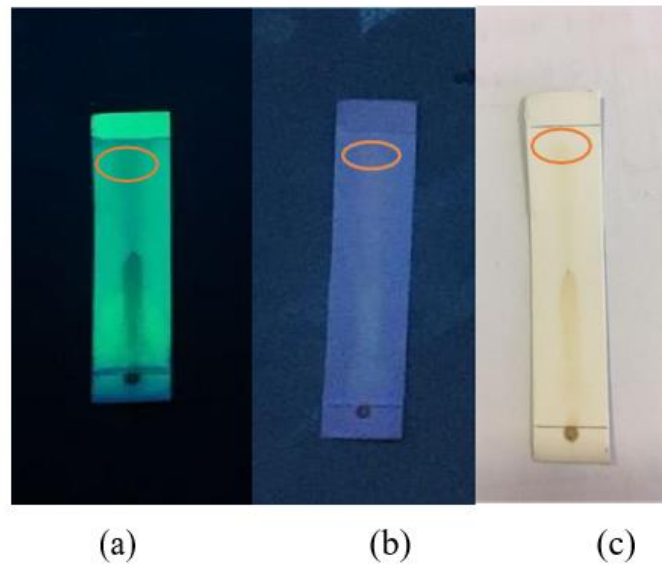


Gambar 12. Hasil Uji Tabung

Menurut (Usman & Mui, 2023) penggunaan serbuk magnesium sebagai pereduksi, reduksi tersebut dilakukan dalam suasana asam dengan penambahan HCl pekat. Reduksi dengan magnesium dan HCl pekat menghasilkan warna jingga-merah sehingga ekstrak positif mengandung flavonoid. Tabung (a) merupakan tabung kontrol yang berisi ekstrak kulit pisang kepok yang dilarutkan dengan etanol dan terbentuk warna coklat muda. Tabung (b) merupakan hasil dari uji tabung ekstrak kulit pisang kepok yang telah dilarutkan dengan etanol dan ditambahkan serbuk mg dan HCl pekat menghasilkan perubahan warna menjadi jingga. Hasil uji tabung senyawa flavonoid menunjukkan hasil yang sama dalam penelitian (Mukhlisa *et al.*, 2021) bahwa kulit pisang kepok positif mengandung flavonoid dengan terbentuknya warna jingga.

2) Uji Kromatografi Lapis Tipis

Pada uji KLT senyawa flavonoid, fase diam yang digunakan yaitu silika Gel GF254 yang telah diaktivasi menggunakan oven pada suhu 105°C selama 15 menit untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat KLT, lalu diberi garis pada plat KLT yaitu 0,5 cm dari batas bawah dan atas dengan panjang plat 4 cm. Dengan fase gerak n-butanol: asam asetat: aquadest (3:1:1) yang dijenuhkan terlebih dahulu menggunakan corong pisah lalu dimasukkan ke dalam chamber, lalu dilakukan penotolan ekstrak sebanyak 3 kali pada plat KLT dan dimasukkan ke chamber dibiarkan terelusi hingga batas atas dari plat KLT. Setelah fase gerak sampai batas atas lalu plat KLT diangkat dan ditunggu hingga kering lalu amati menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Hasil uji tersebut dapat dilihat pada gambar 13.



Gambar 13. Hasil KLT sinar UV 254 nm (a), Hasil KLT sinar UV 366 nm (b), Hasil KLT pada sinar tampak (c).

Hasil yang didapatkan dari uji kromatografi lapis tipis ekstrak kulit pisang kepok (*Musa Paradisiaca.L*) yaitu adanya bercak atau spot berwarna birudi bawah sinar UV 254 nm dan terdapat bercak atau spot berwarna kuning samardi bawah sinar UV 366 nm. Menurut (Hasan et al., 2023) mengemukakan bahwaterdapat penafsiran warna bercak dari segi struktur flavonoid, Beberapa senyawa(flavonol, kalkon) akan berfluoresensi di bawah sinar UV 366 nm sedangkan senyawa lain (glikosida flavonol, antosianin, flavon) menyerap sinar dan tampak sebagai bercak gelap dengan latar belakang berfluoresensi. Glikosida flavon danflavonol berfluoresensi kuning, flavonol kelihatan kuning pucat, katekin biru pucat, antosianin kelabu biru, kalkon dan auron merah.

Hasil bercak noda KLT pada UV 254 nm dan 366 nm dipertegas dengan penyemprotan pereaksi $AlCl_3$ didapatkan hasil perubahan warna menjadi warna kuning. Hal ini menandakan bahwa ekstrak etanol kulit pisang kepok positif mengandung flavonoid. Hal ini sesuai menurut (Hasan *et al.*, 2023) bahwa penambahan reagen semprot $AlCl_3$ menunjukkan bercak warna kuning menjadi lebih intensif, hal ini terjadi karena adanya pembentukan senyawa kompleks. Penggunaan pereaksi $AlCl_3$ untuk mendeteksi senyawa golongan flavonoid akan menghasilkan warna kuning.

Berdasarkan pengujian skrining fitokimia menggunakan metode kromatografi

lapis tipis, nilai Rf pada senyawa flavonoid berkisar dari 0,1-0,96 cm (Yuda *et al.*, 2017). Hasil uji KLT yang didapatkan untuk kulit pisang kepok (*Musa Paradisiaca.L*) yaitu 0,87, pengamatan menandakan bahwa ekstrak kulit pisang kepok memenuhi persyaratan nilai Rf flavonoid yang baik dan positif mengandung senyawa flavonoid. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Hasan *et al.*, 2023) yang menyatakan bahwa kulit pisang kepok mengandung flavonoid dengan nilai Rf 0,88. Menurut (Natasa *et al.*, 2021) menyatakan bahwa nilai Rf dapat dijadikan bukti dalam mengidentifikasi suatu senyawa, dimana senyawa-senyawa dengan nilai Rf yang sama atau hampir sama dapat menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki karakteristik yang sama atau mirip.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

- 1) *Desain Box-Behnken* memberikan hasil nilai *predicted R-Squared* sebesar 65,36% artinya kemampuan model untuk memprediksi optimasi metode MAE terhadap kadar flavonoid total.
- 2) Kondisi optimum kadar flavonoid total hasil perhitungan RSM terhadap level daya, konsentrasi etanol, dan waktu ekstraksi adalah level daya 24,14%, konsentrasi pelarut etanol 66,26%, dan waktu ekstraksi 3,52 menit dengan perhitungan program *Design Expert* respon kadar flavonoid total sebesar 8,491 Mg QE/g.
- 3) Berdasarkan kondisi eksperimental, hasil dari level daya 30 %, konsentrasi pelarut 70 %, dan waktu ekstraksi 5 menit menghasilkan kadar flavonoid total ekstrak etanol kulit pisang kapok (*Musa Paradisiaca.L*) sebesar 8,246 Mg QE/g.

Saran

- 1) Penelitian selanjutnya dapat melanjutkan penelitian ini dengan membuat formulasi sediaan farmasi dari kulit pisang kepok (*Musa Paradisiaca.L*) dan aktivitas antioksidan.
- 2) Penelitian selanjutnya diharapkan agar dilakukan perbandingan kadar flavonoid total dengan jenis pelarut dan metode ekstraksi yang berbeda.

REFERENSI

- Aminah, Nurhayati, T., & Zainal, A. (2017). Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol kulit buah alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan metode spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2), 28. <https://doi.org/10.33096/jffi.v4i2.265>
- Ariani, N., Prihandiwati, E., Rahim, A., Milasari, N., & Fatimah, N. (2023). Analisis kadar fenolik total dan flavonoid total ekstrak etanol kulit pisang kepok (*Musa pradiasiaca* L.). *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 6(2), 263–269. <https://doi.org/10.36387/jifi.v6i2.1614>
- Deborah, N. G. (2015). Khasiat kulit pisang kepok (*Musa acuminata*) sebagai agen preventif ulkus gaster. Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung.
- Depkes RI. (2017). Profil kesehatan Republik Indonesia.
- Soetanto, D. A. (2017). Pengaruh lama waktu ekstraksi metode modified microwave-assisted extraction (MAE) terhadap aktivitas antioksidan pada tiga galur cabai rawit (*Capsicum frutescens*) di Kota Malang. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang.
- Aritonang, D. (2019). Uji aktivitas antioksidan pada minuman kemasan dengan metode DPPH. Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi dan Kesehatan Institut Kesehatan Helvetia Medan.
- Atikah, F. (2020). Optimasi microwave-assisted extraction terhadap senyawa bioaktif antioksidan dari sarang semut Papua (*Myrmecodia pendans*) dengan variasi konsentrasi etanol, suhu, dan lama ekstraksi. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang.
- Farishal, A. (2017). Pengaruh pemberian ekstrak kulit pisang kepok (*Musa acuminata*) terhadap kadar glukosa darah puasa 8 jam pada mencit obesitas (*Mus musculus* L.) galur Deutschland-Denken-Yoken (DDY). Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung.
- Hasan, H., Suryadi, A. M., Bahri, S., & Widiastuti, N. L. (2023). Penentuan kadar flavonoid daun rumput knop (*Hyptis capitata* Jacq.) menggunakan spektrofotometri UV-Vis. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 5(2), 200–211. <https://doi.org/10.37311/jsscr.v5i2.19371>
- Marisep, H. (2023). Ekstraksi dan karakterisasi senyawa metabolit sekunder kulit buah pisang kepok (*Musa acuminata*) serta uji aktivitas antidiabetes terhadap mencit (*Mus musculus*) secara in vivo dan in silico flavonoid pada protein. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
- Jami'ah, S. R., Ifaya, M., Pusmarani, J., & Nurhikma, E. (2018). Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol kulit pisang raja (*Musa paradisiaca sapientum*) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 4(1), 33–38. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v4i1.22>

- Larasati, D., & Putri, F. M. S. (2023). Skrining fitokimia dan penentuan kadar flavonoid ekstrak etanol limbah kulit pisang (*Musa acuminata* Colla). *Jurnal Mandala Pharmacoon Indonesia*, 9(1), 125–131. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v9i1.330>
- Lohita, B., & Saptari, T. (2020). Optimasi metode microwave-assisted extraction (MAE) untuk menentukan kadar flavonoid total alga coklat *Padina australis*. *Jurnal Penelitian Kimia*, 16(1), 37–48.
- Lumowa, S. V., & Bardin, S. (2018). Uji fitokimia kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) bahan alam sebagai pestisida nabati berpotensi menekan serangan serangga hama tanaman umur pendek. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 1(9), 465–469. <https://doi.org/10.25026/jsk.v1i9.87>
- Lusi, S., Nopri, Y., & Winta, E. (2021). Optimasi kondisi pengujian senyawa flavonoid total di dalam ekstrak tanaman sebagai pengayaan bahan ajar praktikum makromolekul dan hasil alam di laboratorium kimia organik. *Jurnal Penelitian Sains*, 1(23), 28–35.
- Hasdar, M. W. (2021). Ekstraksi beras hitam sirampog berbantu gelombang mikro (microwave-assisted extraction). Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Muhadi Setiabudi.
- Mukhlisa, R., Pratiwi, L., & Kurniawan, H. (2021). Uji fitokimia ekstrak infusa kulit pisang (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana*). *Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura*. <https://doi.org/10.2307/3615019>
- Natasa, E., Ferdinan, A., & Kurnianto, E. (2021). Identifikasi senyawa flavonoid ekstrak etanol akar bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk.). *Jurnal Komunitas Farmasi Nasional*, 1(2), 6.
- Neldawati. (2019). Analisis nilai absorbansi dalam penentuan kadar flavonoid untuk berbagai jenis daun tanaman obat. *Pillar of Physics*, 2(1).
- Nugraha. (2017). *Kimia farmasi analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Rahman, O. F. (2018). Optimasi ekstraksi pewarna alami dari daun alpukat (*Persea americana* Mill.) menggunakan metode response surface methodology (RSM). Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya.
- Rasul, M. G. (2018). Extraction, isolation, and characterization of natural products from medicinal plants. *International Journal of Basic Science and Applied Computing*, 2(6).
- Putri, Z. S., Wati, R. R., Widyanto, M., Rahmi, Y., & Proborini, W. D. (2020). Pengaruh tepung kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) terhadap aktivitas antioksidan dan sitotoksitas pada sel kanker payudara T-47D. *Jurnal Kedokteran*, 8(1), 40–46.
- Saputri, A. P., Augustina, I., & Fatmaria, D. (2020). Uji aktivitas antioksidan ekstrak air kulit pisang kepok (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana* (ABB cv)) dengan metode ABTS (2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat). *Jurnal Kedokteran*, 10(1), 30–35.
- Ulfa, A., Ekastuti, D. R., & Wresdiyati, T. (2020). Potensi ekstrak kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca forma typica*) dan uli (*Musa paradisiaca sapientum*) menaikkan aktivitas

- superoksida dismutase dan menurunkan kadar malondialdehid organ hati tikus model hiperkolesterolemia. *Studi Ilmu-Ilmu Faal dan Khasiat Obat*, 8(1), 40–46.
- Umi Hasanah, O. (2021). Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol kulit pisang kepok (*Musa acuminata x balbisiana*) dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Karya Tulis Ilmiah Program Studi DIII Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.
- Usman, Y., & Muin, R. (2023). Uji kualitatif dan perhitungan nilai Rf senyawa flavonoid dari ekstrak daun gulma siam. *Journal of Pharmaceutical Science and Herbal Technology*, 1(1), 12.
- Wiradiestia, D., & Trionggono, P. J. (2018). Optimasi ekstraksi senyawa fitokimia dari temulawak menggunakan fluida CO₂ superkritis dan etanol sebagai entrainer dengan metodologi respon permukaan Box-Behnken Design (BBD). Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
- Yuda, P. E. S. K., Cahyaningsih, E., & Winariyanthi, N. P. Y. (2017). Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis ekstrak tanaman patikan kebo (*Euphorbia hirta* L.). *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 3(2), 61–70. <https://doi.org/10.36733/medicamento.v3i2.891>
- Rahma, Y. P. A., & Sari, Y. (2020). Aktivitas antioksidan dari limbah kulit pisang muli (*Musa acuminata* Linn) dan kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca* formatypica). Pekanbaru: Pendidikan Kimia, Fakultas Pendidikan dan Pelatihan Guru, Universitas Islam Riau.
- Zhang, Q.-W., Lin, L.-G., & Ye, W.-C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine*, 13(1–26).