

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID EKSTRAK
ETANOL KULIT BUAH PEPAYA CALIFORNIA
(*Carica Papaya L*) DENGAN METODE
SPEKTROFOMETRI UV-VIS**

PROPOSAL KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat
untuk mencapai gelar Ahli Madya Farmasi (A.Md.Farm)



Disusun oleh :

Fifi Indarwati Arif

21141025

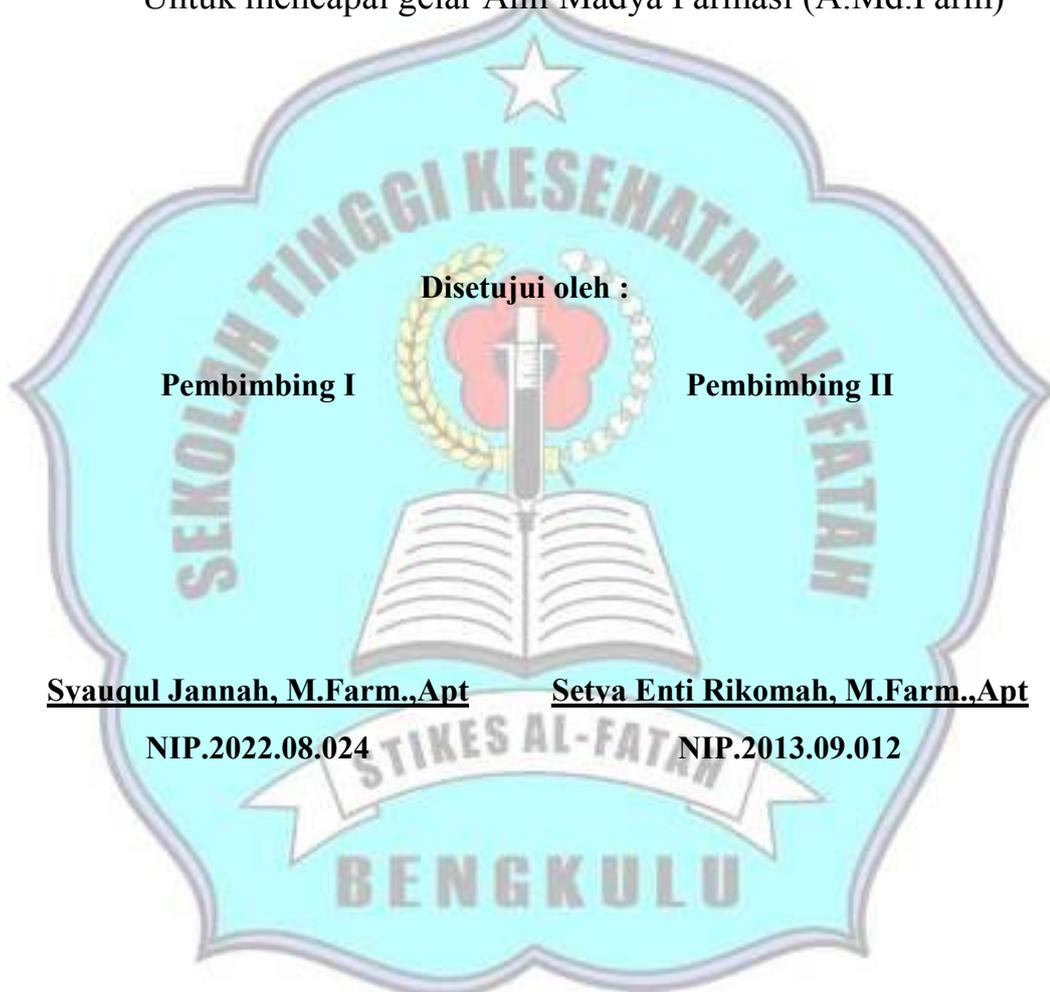
**YAYASAN AL-FATAH PROGRAM STUDI DIII FARMASI
SEKOLAH TINGGI KESEHATAN**

BENGKULU

2024

**LEMBAR PERSETUJUAN UJIAN PROPOSAL
PROPOSAL KARYA TULIS ILMIAH**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat
Untuk mencapai gelar Ahli Madya Farmasi (A.Md.Farm)



Disetujui oleh :

Pembimbing I

Pembimbing II

Syauqul Jannah, M.Farm.,Apt

Setva Enti Rikomah, M.Farm.,Apt

NIP.2022.08.024

NIP.2013.09.012

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (KTI) dengan judul “ **Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Kulit Buah Pepaya (*Carica papaya L*) dengan Metode Spektrofotometri**” ini tepat pada waktunya, Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Ahli Madya Farmasi di Sekolah Tinggi Kesehatan AL-Fatah Bengkulu. Dengan tidak mengurangi rasa hormat, penulis ucapkan terima kasih atas bantuan dan dukungannya kepada:

1. Bapak Drs. Djoko Triyono, Apt., MM selaku Ketua Yayasan Stikes Al-Fatah Bengkulu.
2. Ibu Yuska Noviyanty, S.Farm., M.Farm., Apt selaku Ketua Stikes Al-Fatah Bengkulu.
3. Ibu Dewi Winni Fauziah, M.Farm., Apt selaku Pembimbing Akademik.
4. Bapak Syauqul Jannah, M.Farm., Apt, M.Farm., Apt selaku Pembimbing 1 yang telah tulus memberikan bimbingan dan arahan kepada saya dalam penyusunan Proposal Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini.
5. Ibu Setya Enti Rikomah, M.Farm., Apt selaku Pembimbing 2 yang telah tulus memberikan bimbingan dan arahan kepada saya dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini.
6. Para Dosen dan Staf Karyawan Stikes Al-Fatah Bengkulu yang telah memberikan ilmu pengetahuan kepada penulis selama menempuh pendidikan di Stikes Al-Fatah Bengkulu. Rekan-rekan seangkatan di

Stikes Al-Fatah Bengkulu, yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu. Penulis menyadari masih banyak terdapat kekurangan oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun.

Bengkulu, Desember 2023

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Batasan masalah	3
1.3. Rumusan masalah.....	3
1.4. Tujuan penelitian.....	3
1.5. Manfaat penelitian.....	3
1.1.1 Bagi akademik	3
1.2.1 Bagi penelitian lanjut.....	4
1.3.1 Bagi masyarakat.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Kajian Teori.....	5
2.1.1 Buah Pepaya (<i>Carica papaya</i> L)	5
2.1.2 Senyawa Flavonoid.....	8
2.1.3 Esktrak	9
2.1.4 Metode Ekstraksi	9
2.1.5 Spektrofotometri UV-Vis	12
2.1.6 Prinsip kerja Spektrofotometri UV-Vis	12
2.2. Kerangka Konsep	15
BAB III METODE PENELITIAN	16
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	16
3.2. Alat dan Bahan	16
3.2.1 Alat.....	16

3.2.2 Bahan	16
3.3 Verifikasi tanaman pepaya (<i>Carica papaya</i> L)	16
3.4 Prosedur kerja penelitian	17
3.4.2 Peroses Pembuatan Simplisia	17
3.4.3 Pembuatan Ekstrak kulit buah pepaya (<i>Carica papaya</i> L)	18
3.4.4 Karakteristik Ekstrak	19
3.4.5 Uji Skrinning Fitokimia	19
3.4.6 Uji penegasan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	20
3.4.7 Analisa Kualitatif Kandungan Flavonoid	21
3.4.8 Penetapan Kadar Senyawa Flavonoid Total	21
3.5 Analisis data	23
DAFTAR PUSTAKA	24

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kulit pepaya (*Carica Papaya L.*) mempunyai kandungan yang sama dengan buahnya, yakni. mengandung enzim yang berbeda-beda, yang kadarnya berbeda antara kulit buah muda dan matang. Kulit buah muda lebih banyak mengandung enzim, vitamin (A, B1 dan C) yang sangat penting untuk melawan radikal bebas, mineral (kalsium, fosfor, kalium dan zat besi), protein 0,5 gram, 12 lemak dan karbohidrat. 20 gram (gula termasuk sukrosa, glukosa dan fruktosa), flavonoid, alkaloid dan fenol. Kulit pepaya memiliki aktivitas antioksidan kuat sebesar 50-70 $\mu\text{g/ml}$, setara dengan benzofenon 11,419-12,717 $\mu\text{g/ml}$ (Maulidina, 2019).

Tanaman pepaya mempunyai banyak kandungan yang sangat bermanfaat bagi tubuh. Tanaman pepaya merupakan sumber vitamin yang baik, beberapa vitamin yang terdapat pada buah pepaya adalah vitamin A, vitamin C, vitamin E dan vitamin B kompleks. Tanaman pepaya kaya akan antioksidan, antara lain vitamin C, folat, vitamin A, asam pantotenat, mineral, magnesium, vitamin E, kalium, serat, vitamin B, dan flavonoid (Primadhamanti *et al.*, 2022).

Flavonoid adalah senyawa yang larut dalam air. Flavonoid tumbuhan berikatan sebagai glikosida dan aglikon. Klasifikasi jenis flavonoid dalam jaringan tumbuhan pada awalnya didasarkan pada studi kelarutan dan reaksi warna. Kelompok flavonoid yaitu antosianin, proantosianin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavonil, kalkon, auron, flavonon, dan isoflavon. Flavonoid mengandung sistem aromatik terkonjugasi, sehingga mempunyai pita serapan

yang kuat pada daerah spektrum UV dan sinar tampak. (Haeria, 2016). Flavonoid merupakan senyawa organik alami yang banyak ditemukan pada tumbuhan dan biasa digunakan sebagai antioksidan, antikanker, antiinflamasi, antialergi, dan antihipertensi (Latifah, 2015).

Spektrofotometer UV-Vis adalah alat untuk mengukur panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diserap suatu sampel. Spektroskopi banyak digunakan untuk mengukur molekul dan ion anorganik atau kompleks dalam larutan. Spektrum UV-Vis luas dan memberikan sedikit informasi tentang struktur sampel. Namun bentuk spektrum ini sangat berguna untuk pengukuran kuantitatif yaitu untuk mengukur konsentrasi analit atau sampel menggunakan nilai serapan pada rentang panjang gelombang tertentu berdasarkan penerapan hukum Lambert-Beer. Rentang panjang gelombang sinar ultraviolet adalah 200-400 nm, sedangkan rentang panjang gelombang cahaya tampak adalah 400-800 nm (Aguayo, 2021).

Berdasarkan latar belakang diatas peneliti sangat tertarik untuk melakukan penelitian mengenai penetapan kadar ekstrak etanol dari kulit buah pepaya . Sehingga penelitian ini diberikan judul “Penetapan kadar flavonoid dengan menggunakan ekstrak etanol kulit buah papaya (*Carica papaya L.*) menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis”.

1.2. Batasan masalah

1. Penelitian ini hanya melakukan penetapan kadar dan identifikasi senyawa flavonoid kulit buah papaya (*Carica papaya* L.) dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis.
2. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kulit buah papaya (*Carica papaya* L.)

1.3. Rumusan masalah

1. Apakah kandungan kimia dari ekstrak etanol kulit buah pepaya (*Carica Papaya* L.) mengandung flavonoid ?
2. Berapakah kadar senyawa flavonoid dari ekstrak etanol kulit buah papaya menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis ?

1.4. Tujuan penelitian

1. Untuk mengetahui kandungan flavonoid dari ekstrak etanol Kulit Buah Pepaya (*Carica Papaya* L.)
2. Untuk mengetahui berapa kadar kandungan flavonoid ekstrak etanol kulit buah papaya (*Carica Papaya* L.) dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

1.5. Manfaat penelitian

1.1.1 Bagi akademik

Hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai gambaran dan menambah pengetahuan tentang pengembangan akademik serta dapat dijadikan sumber referensi bagi mahasiswa STIKES Al-Fatah Bengkulu.

1.2.1 Bagi penelitian lanjut

Penelitian ini dapat dijadikan dan dijadikan acuan untuk penelitian selanjutnya dan juga untuk menambah pengetahuan tentang ekstrak etanol kulit pepaya (*Carica Papaya* L.) sehingga dapat dijadikan informasi untuk penelitian selanjutnya.

1.3.1 Bagi masyarakat

Hal ini dapat meningkatkan pemahaman masyarakat terhadap manfaat senyawa aktif pada kulit pepaya (*Carica Papaya* L.) dan memperjelas kandungan pada kulit pepaya (*Carica Papaya* L.).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kajian Teori

2.1.1 Buah Pepaya (*Carica papaya L*)



Gambar 1. Buah Pepaya (*Carica papaya L*)

a. Klasifikasi buah pepaya (*Carica papaya L*)

Klasifikasi ilmiah dari tumbuhan, pepaya adalah sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*
Sub kingdom : *Tracheobionta*
Super divisio : *Spermatophyta*
Divisi : *Magnoliophyta*
Kelas : *Magnoliopsida*
Subkelas : *Dilleniidae* 8
Ordo : *Violales*
Famili : *Caricaceae*
Genus : *Carica*
Spesies : *Carica pepaya L.*

b. Nama Umum

a) Nama Daerah

Dalam bahasa jawa disebut “kates” dan bahasa sunda disebut “gedang”. Nama daerah lain dari pepaya yaitu peute, betik, ralempaya, punti kayu (Sumatra), pisang malaka, bandas, manjan (Kalimantan), kalajawa, padu (Nusa Tenggara), kapalay, kaliki, unti jawa (Sulawesi).

b) Nama Asing

Nama asing pepaya antara lain papaya (Inggris) dan fan mu gua (Cina) (Kusumayanti, 2015).

c. Deskripsi Tanaman Pepaya

Pohon pepaya umumnya tidak bercabang atau bercabang sedikit, tumbuh hingga setinggi 5-10 m dengan daun-daunan yang membentuk serupa spiral pada batang pohon bagian atas. Daunnya menyirip lima dengan tangkai yang panjang dan berlubang dibagian tengah. Bunga pepaya memiliki mahkota bunga berwarna kuning pucat dengan tangkai pada batang. Bunga biasanya ditemukan pada daerah sekitar pucuk. Bentuk buah bulat hingga memanjang, dengan ujung biasanya runcing. Warna buah ketika muda hijau gelap dan setelah masak hijau muda hingga kuning. Daging buah berasal dari karpela yang menebal, berwarna kuning hingga merah tergantung varietasnya. Bagian tengah berongga. Biji-biji pada buah yang masih muda berwarna putih dan pada buah yang sudah masak berwarna hitam atau kehitaman dan terbungkus semacam lapisan berlendir untuk mencegahnya dari kekeringan (Kusumayanti, 2015).

d. Morfologi Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L)

a) Batang

Ciri khas batang pepaya (*Carica Papaya* L.) berbentuk bulat, lurus, dan bulat (beruas). Bentuknya berongga atau berlubang di tengahnya, tidak berkayu dan berwarna hijau. Ruas batang merupakan tempat menempelnya batang. Biasanya tanaman ini mempunyai satu batang dan hanya bercabang jika pucuk dipotong. Mengandung banyak sari

dan air, sari ini terdapat di seluruh bagian tanaman kecuali akar dan bijinya. Ketinggian tanaman mencapai 10 m.

b) Akar

Akarnya tidak berkayu sehingga memerlukan tanah yang gembur dan air yang cukup pada musim kemarau dan sedikit air pada musim hujan (air tidak boleh menggenang).

c) Buah

Buah berkulit tipis yang tidak mudah lepas dari daging buahnya. Daging buahnya tebal, bijinya banyak. Kulit buahnya berwarna hijau ketika buah masih muda dan mengandung biji berwarna putih. Warna kulit buah berubah dari kuning, merah menjadi jingga bila buah sudah masak atau rasanya agak manis sampai sangat manis dan bijinya berwarna hitam.

d) Daun

Berdaun tunggal dan memiliki ruas, bentuknya hampir sama dengan jari-jari tangan yang terentang. Selain itu, daun pepaya memiliki warna lebih terang dan sedikit keputihan.

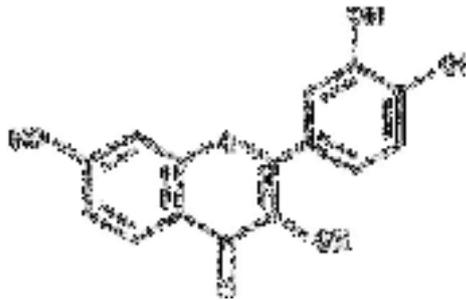
e. Kandungan kimia tanaman pepaya (*Carica papaya* L)

Kandungan kimia tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) adalah sebagai berikut :

1. Bunga : mengandung senyawa flavonoid, tanin, steroid-titropenoid dan karbohidrat
2. Daun : mengandung enzim papain, alkaloid karpain, pseudo-karpaina, glikosid, karposid, saponin, sakarosa, dektrosa, dan levulosa.

3. Buah : mengandung β -karotena, d-galaktosa, pektin, papain, fitokinase
4. Getah : mengandung papain, kemopapain, lisozim, lipase, dan silotransferase
5. Biji : mengandung glucoside caririn dan karpain, glucoside cacirin
(Dalimartha, 2005).

2.1.2 Senyawa Flavonoid



Gambar 2. Struktur Kimia Flavonoid

merupakan senyawa metabolit sekunder dengan struktur inti C6-C3-C6, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh 3 atom C, biasanya atom O, dalam bentuk ikatan oksigen heterosiklik. Senyawa ini bisa termasuk senyawa polifenol karena mengandung dua atau lebih gugus hidroksil, bersifat sedikit asam, sehingga dapat larut dalam basa. Secara umum, flavonoid ditemukan berikatan dengan gula membentuk glikosida, yang membuat senyawa ini lebih larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, butanol, 23 etil asetat. Bentuk glikosida warnanya lebih terang dibandingkan bentuk aglikon. Dalam bentuk aglikon, ia kurang polar dan cenderung lebih mudah larut dalam larutan kloroform dan eter.

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar ditemukan di alam. Banyaknya senyawa flavonoid bukan disebabkan oleh banyaknya perubahan struktur, melainkan karena perbedaan tingkat hidroksilasi,

karboksilasi atau glikosilasi struktur tersebut. Di alam, flavonoid sering juga ditemukan dalam bentuk glikosida (Pratiwisari, 2022).

2.1.3 Ekstrak

Ekstrak adalah suatu produk yang diperoleh dengan cara mengekstraksi suatu bahan aktif dengan suatu pelarut, dimana pelarut yang digunakan diuapkan kembali sehingga bahan aktif dalam ekstrak tersebut pekat. Bentuk ekstrak yang diperoleh dapat berupa ekstrak kental maupun ekstrak kering, tergantung banyaknya pelarut yang diuapkan (Marjoni, 2016).

Ekstrak dapat dibedakan berdasarkan komposisi, komposisi dan bahan aktif yang dikandungnya.

- a. Ekstrak cair merupakan ekstrak yang diperoleh melalui penyulingan bahan alam yang juga mengandung pelarut.
- b. Ekstrak kental adalah ekstrak yang telah melalui proses penguapan dan tidak mengandung pelarut lagi, namun komposisinya tetap cair pada suhu kamar.
- c. Ekstrak kering merupakan ekstrak yang telah melalui proses penguapan, tidak mengandung pelarut lagi dan berbentuk padat (Salsabila, 2021).

2.1.4 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses menghilangkan kandungan kimia yang larut dengan cara memisahkannya dari bahan yang tidak larut dengan menggunakan pelarut cair. Kesederhanaan yang diekstraksi mengandung bahan aktif larut dan bahan aktif tidak larut seperti serat, karbohidrat,

protein, dll. Bahan aktif yang terkandung dalam Simplisia dapat digolongkan sebagai minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Struktur kimia yang berbeda mempengaruhi kelarutan dan stabilitas senyawa ini terhadap panas, udara, logam ringan dan berat, serta keasaman. Mengetahui bahan aktif Simplisia memudahkan dalam memilih pelarut dan metode ekstraksi yang tepat (Laila Nurhidayatus, 2016).

Berbagai metode ekstraksi yang umum digunakan adalah:

1. Cara dingin

- a. Maserasi

Maserasi atau perendaman merupakan suatu proses ekstraksi simplisia dengan suatu pelarut dengan cara diaduk berulang kali pada suhu ruangan. yang bersifat kontinyu (kontinyu). Maserasi ulang berarti mengulangi penambahan pelarut setelah filtrasi pertama maserasi dan seterusnya (Depkes RI, 2000).

- b. Perkolasi

Perkolasi merupakan ekstraksi dengan pelarut yang selalu segar sampai habis (ekstraksi sempurna), biasanya dilakukan pada suhu kamar. Prosesnya terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (meneteskan/menahan ekstrak) secara terus menerus hingga diperoleh ekstrak (perkolat) sebanyak 1-5 kali lipat jumlah bahan (Depkes RI, 2000).

2. cara panas

a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada titik didihnya selama waktu tertentu dengan adanya antipendinginan pelarut dalam jumlah yang relatif konstan dan terbatas. Proses tersebut biasanya diulang hingga 3-5 kali untuk residu pertama, sehingga dapat menutupi seluruh proses ekstraksi (Depkes RI, 2000).

b. Soxhlet

Soxhlet merupakan ekstraksi dengan pelarut segar, biasanya dilakukan dengan peralatan khusus, sehingga ekstraksi berlangsung secara kontinyu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan, disertai dengan pendinginan terbalik (Depkes RI, 2000).

c. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut berair pada suhu penangas air (wadah infus ditempatkan dalam penangas air mendidih, suhu 96-98°C selama waktu tertentu (15-20 menit) (Depkes RI, 2000).

d. Digesti

adalah perendaman kinetik (dengan pengadukan konstan) pada suhu diatas suhu kamar, biasanya dilakukan pada suhu 40-50°C. (Depkes RI, 2000).

e. Dekokta

Dekok atau Rebusan adalah perendaman dalam jangka waktu lama (≥ 30 menit) dengan suhu sampai titik didih air.

2.1.5 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis adalah alat untuk mengukur panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diserap suatu sampel. Spektroskopi banyak digunakan untuk mengukur molekul dan ion anorganik atau kompleks dalam larutan. Spektrum UV-Vis luas dan memberikan sedikit informasi tentang struktur sampel. Namun bentuk spektrum ini sangat berguna untuk pengukuran kuantitatif yaitu untuk mengukur konsentrasi analit atau sampel menggunakan nilai serapan pada rentang panjang gelombang tertentu berdasarkan penerapan hukum Lambert-Beer. Rentang panjang gelombang sinar ultraviolet adalah 200-400 nm dan rentang panjang gelombang cahaya tampak adalah 400-800 nm. Spektrofotometri ultraviolet (UV) didasarkan pada interaksi sampel dengan sinar UV dengan panjang gelombang 190-380 nm atau 200-400 nm. Sumber sinar UV yang umum digunakan berasal dari lampu deuterium. Lampu deuterium adalah isotop hidrogen stabil yang melimpah baik di laut maupun di darat. Keuntungan utama metode spektrofotometri adalah metode ini menyediakan cara yang mudah untuk menentukan jumlah zat yang sangat kecil. Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat karena detektor langsung mencatat pembacaan dan mencetaknya sebagai angka digital atau grafik yang diregresi (Aguayo, 2021).

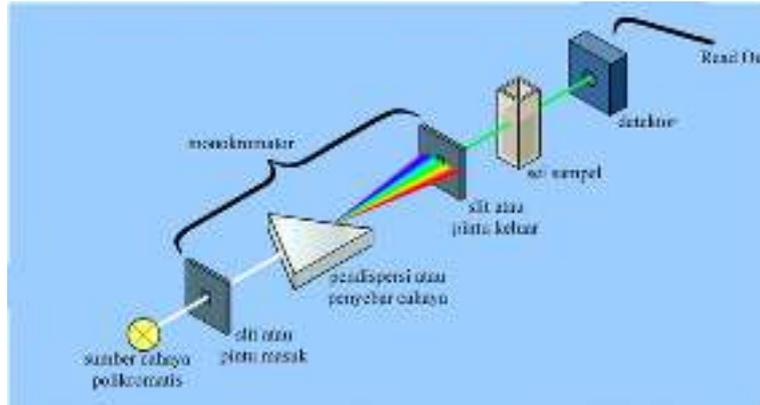
2.1.6 Prinsip kerja Spektrofotometri UV-Vis

Spektrum elektromagnetik dibagi dalam beberapa daerah cahaya. Suatu daerah akan diabsorpsi oleh atom atau molekul dan panjang

gelombang cahaya yang diabsorpsi dapat menunjukkan struktur senyawa yang diteliti. Spektrum elektromagnetik meliputi suatu daerah panjang gelombang yang luas dari sinar gamma gelombang pendek berenergi tinggi sampai pada panjang gelombang mikro (Marzuki Asnah 2012).

Spektrum serapan sinar ultraviolet dan sinar tampak biasanya terdiri dari satu atau lebih pita serapan lebar, semua molekul dapat menyerap radiasi dalam rentang UV tampak. Oleh karena itu, mereka mengandung elektron, baik digunakan bersama atau tidak, yang dapat berada pada tingkat yang lebih tinggi. Panjang gelombang terjadinya penyerapan bergantung pada seberapa erat ikatan elektron pada molekul. Elektron dalam ikatan kovalen tunggal terikat erat satu sama lain dan energi tinggi atau panjang gelombang pendek memerlukan eksitasi (Wunas, 2011).

Keuntungan utama metode spektrofotometri adalah bahwa metode ini memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana angka yang terbaca langsung dicatat oleh detector dan tercetak dalam bentuk 24angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan (Yahya S,2013).



Gambar 3. Pembagian Spektrofotometri Uv-Vis

Fungsi masing-masing bagian spektrofotometer adalah :

1. Sumber cahaya

Cahaya polikromatik digunakan sebagai sumber cahaya, yang bertindak sebagai sumber cahaya dalam rentang panjang gelombang yang berbeda.

2. Monokromator

Monokromator mempunyai fungsi penting yaitu mengubah cahaya dari sumber cahaya multiwarna menjadi cahaya monokromatik.

3. Sel Sampel

Sel sampel merupakan tempat menyimpan atau meletakkan sampel. Dalam spektrofotometri, ruang sampel ini disebut kuvet. Kuvet terbuat dari kuarsa atau kaca, tetapi kuvet silika memiliki kualitas lebih tinggi.

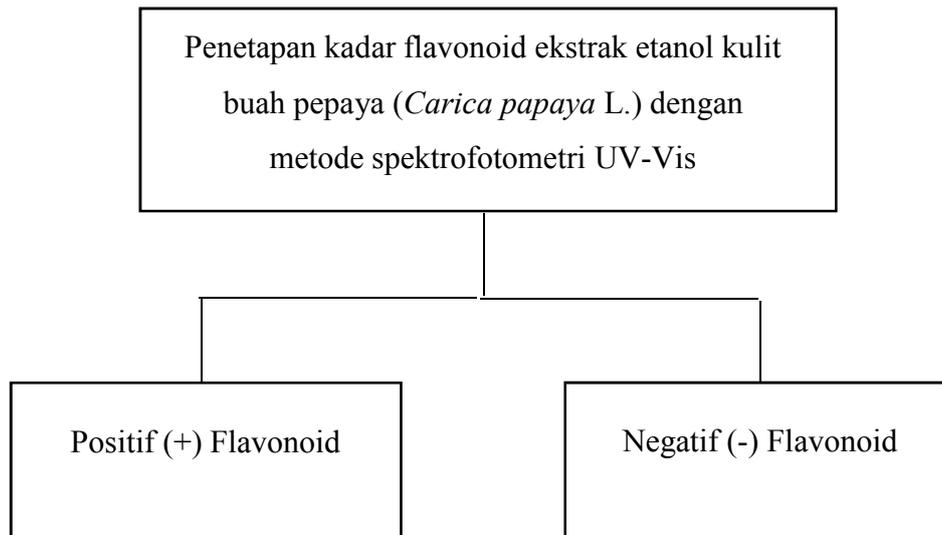
4. Detektor

Detektor spektrofotometer mendeteksi cahaya yang ditransmisikan oleh sampel dan mengubahnya menjadi energi listrik. Detektor berbahan silikon merupakan detektor yang paling umum digunakan dalam spektrofotometri UV-Vis, yang sensitif pada panjang gelombang 200-800 nm.

5. Read Out

Read Out merupakan sistem pembacaan yang mencatat kekuatan sinyal listrik yang berasal dari detektor (Aguayo, 2021).

2.2. Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka Konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia dan Laboratorium Fitokimia Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu. Pada bulan Februari sampai bulan April 2024.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat seperti tabung reaksi (Pyrex), beker gelas (Pyrex), erlemeyer (Pyrex), labu ukur (Pyrex), pipet tetes, gelas ukur (Pyrex), cawan penguap serta masker, sarung tangan, timbangan analitik (Shimadzu), kain flannel, seperangkat alat rotary evaporator (Biobase), spatel, botol bejana kaca gelap, buret, vial dan spektrofotometri UV-Vis (Genesys 10S uv-Vis)

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah pepaya, Aquadest (PT. Promedika Mitra Utama), etanol 96% (Merck) , alumunium (III) klorida 10 (Merck), natrium asetat 1M (Merck) dan bahan baku pembanding kuersetin (Merck).

3.3 Verifikasi tanaman pepaya (*Carica papaya L*)

Verifikasi ini dilakukan agar tidak terjadi kesalahan dalam pengambilan bahan utama yang akan digunakan. Verifikasi ini akan dilakukan di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Laboratorium Biologi Universitas Bengkulu.

3.4 Prosedur kerja penelitian

3.4.1 Pengambilan tanaman papaya

Tumbuhan yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit buah papaya (*Carica papaya* L.) yang diperoleh dari wilayah kota Bengkulu, pasar panorama.

3.4.2 Peroses Pembuatan Simplisia

a. Pengumpulan bahan baku

Pengumpulan bahan baku kulit buah pepaya (*Carica papaya* L.) diambil dan dipetik dari buah pepaya di wilayah kota Bengkulu.

b. Sortasi Basah

Sampel kulit buah pepaya (*Carica papaya* L.). Setelah dikumpulkan kemudian dilakukan pemisahan atau pemilahan ketika tanaman masih segar bebas dari sisa-sisa kotoran zat asing, ranting, bunga yang berbeda atau tanaman lain serta tanah yang menempel pada tanaman

c. Pencucian

Pencucian dilakukan dengan air bersih yaitu air keran atau air mengalir yang tidak terkontaminasi limbah atau bahan kimia lainnya, sehingga sampel yang digunakan bebas dari kotoran yang menempel.

d. Perajangan

Perajangan dilakukan dengan menggunakan pisau yang tajam tidak tumpul guna agar zat karat tidak menempel pada sampel yang akan digunakan. Perajangan ini dilakukan untuk memperluas permukaan bahan

baku agar mudah kering dalam proses pengeringan.

e. Pengeringan

Pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan pada suhu kamar 15-30°C.

f. Sortasi Kering

Sortasi kering dilakukan untuk memisahkan benda asing yang masih tertinggal pada simplisia setelah proses pengeringan

g. Penyimpanan

Penyimpanan simplisia yang sudah kering disimpan dalam wadah tertutup rapat agar mutu simplisia tetap terjaga dan tidak tercampur dengan simplisia yang lain

3.4.3 Pembuatan Ekstrak kulit buah pepaya (*Carica papaya* L)

Sampel kulit pepaya yang dihaluskan ditimbang sebanyak 300 gram lalu dimasukkan ke dalam wadah perendaman, kemudian ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 3000 ml . Serbuk kulit buah pepaya direndam dalam pelarut etanol selama 5 hari dengan pengadukan setiap 24 jam. Setelah 3 hari sampel disaring menggunakan corong dan kertas saring . Filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan kecepatan 50 rpm, sedangkan residu yang diperoleh diremaserasi dengan pelarut hasil *rotary evaporator* selama 24 jam. Filtrat hasil remaserasi dipekatkan kembali menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan kecepatan 50 rpm. Ekstrak kental yang diperoleh diambil dan dimasukkan ke dalam vial (Wardani, 2021).

3.4.4 Karakteristik Ekstrak

a. Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui bau, warna, konsistensi dari ekstrak kulit buah pepaya (*Carica papaya* L.) Pemeriksaan ini dilakukan secara visual dengan mengamati bentuk, warna, dan bau (Depkes, 2000).

b. Rendemen

Tujuan rendemen untuk mengetahui perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal (Depkes, 2000). Evaluasi rendemen dilakukan dengan cara menimbang berat simplisia kulit buah pepaya (*Carica papaya* L) yang dibuat, selanjutnya timbang juga berat ekstrak kulit buah pepaya (*Carica papaya* L) yang dihasilkan. Kemudian masukkan kedalam rumus rendemen :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat simplisia yang digunakan}} \times 100 \%$$

3.4.5 Uji Skrinning Fitokimia

1. Uji Flavonoid

Sebanyak 1 ml ekstrak yang di ambil dan di masukan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan pada sampel berupa serbuk magnesium 2 mg dan di berikan 3 tetes HCl pekat. Sampel dikocok dan di amatiperubahan yang akan terjadi, terbentuknya warna merah, atau jingga pada larutan yang menunjukkan adanya flavonoid.

2. Uji Alkaloid

Ekstrak sampel sebanyak 1 ml dimasukkan kedalam masing masing tabung reaksi, kemudian dimasukkan 2 tetes pada masing masing tabung dengan pereaksi dragendroff dan pereaksi mayer dan ditambahkan 12 tetes H₂SO₄. Apa bila terbentuk endapan warna merah jingga pada pereaksi dragendroff dan warna putih atau kuning pada pereaksi mayer maka positif mengandung alkaloid.

3. Uji Tanin

Sebanyak 1 ml ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, di tambahkan dengan 10 tetes FeCl₃ 10% .Ekstrak positif mengandung tanin apabila menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman (Lisa , 2022).

3.4.6 Uji penegasan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

penegasan dilakukan untuk mengetahui apakah ekstrak etanol kulit buah pepaya (*Carica papaya* L) mengandung senyawa flavonoid:

Fase gerak : n-Butanol : asam asetat : air (4:1:5)

Fase diam: : Silika gel GF 254

Penampak noda : Pereaksi semprot aluminium (II) Klorida 5% dalam etanol 96%

Baku pembanding : Kuarsetin

Jika noda berwarna kuning kehijauan muncul pada saat penyemprotan pereaksi aluminium (II) klorida 5%. Dengan tidak adanya pereaksi kimia di bawah sinar UV 254 nm, flavonoid mengeluarkan warna biru, kuning atau hijau tergantung strukturnya.

3.4.7 Analisa Kualitatif Kandungan Flavonoid

Ekstrak kulit buah pepaya diambil 1 mg dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi diuapkan sampai kering. setelah itu ditambah logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Hasil positif jika terbentuk larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk menunjukkan adanya flavonoid (Latifah, 2015).

3.4.8 Penetapan Kadar Senyawa Flavonoid Total

1. Pembuatan Larutan Baku Induk Kuersetin 1000 ppm

Pembuatan larutan induk dilakukan dengan menimbang kuersetin sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan dengan etanol 96% dalam labu ukur 100 ml. Sehingga diperoleh larutan kuersetin 100 ppm (Nurhasnawati , 2019)

2. Pembuatan larutan seri standar kuersetin

Pembuatan larutan standar dengan cara larutan induk dipipet sebanyak 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1 mL masing- masing ke dalam labu ukur 10 ml. Volume nya dicukupkan dengan etanol 96% sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm (Nurhasnawati , 2019).

3. Penentuan Panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara larutan standar (4 ppm) dipipet 0,5 ml ke dalam labu ukur 10 mL. Etanol 96% ditambahkan sebanyak 1,5 mL, aluminium klorida 10% sebanyak 0,1 mL, kalium asetat 1 M sebanyak 0,1 mL dan ditambahkan air suling sebanyak 2,8 ml, dikocok sampai homogen. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang 300-500 nm (Nurhasnawati , 2019).

4. Penetapan kadar flavonoid total dalam ekstrak

Penentuan Kadar Flavonoid pada ekstrak Sebanyak 25 mg Ekstrak Etanol kulit buah papaya dilarutkan kedalam etanol 96% sampai 25 ml. kemudian larutan dipipet 5 ml dari masing-masing ekstrak ke dalam labu ukur 25 ml. Lalu 1 mL dan dicukupkan volumenya sampai 10 ml. kemudian tambahkan 3 ml etanol 96%, 0,2 AlCl₃, 0,2 ml asam asetat glasial, dan 5,6 aquades. Dikocok homogen lalu dibiarkan selama waktu optimum, lalu serapan diukur pada panjang gelombang maksimal. Absorban yang dihasilkan dimasukkan ke dalam persamaan regresi dari kurva standar kuersetin, pengujian di lakukan secara triplo (Watuguly, dkk 2019).

Kadar flavonoid dapat dihitung menggunakan rumus berikut dengan sebagai kuersetin dalam ekstrak dengan kurva baku :

$$F = \frac{C. V. F. 10^{-6}}{m(g)} \times 100\%$$

Keterangan :

F : Jumlah flavonoid metode AlCl₃

c : Kesetaraan Quersetin (µg/ml)

V : Volume total ekstrak

f : Faktor pengenceran

m : Berat sampel (g)

3.5 Analisis data

Untuk menghitung kadar flavonoid yang terdapat pada ekstrak etanol kulit buah papaya (*Carica papaya* L.) dapat dihitung berdasarkan kurva kalibrasi hasil pembacaan dari alat spektrofotometer UV-Vis, dan persamaan regresi linear dengan menggunakan hukum Lambert-Beer seperti pada persamaan :

$$y = bx + a$$

Keterangan :

y = Absorbansi (Serapan)

x = Konsentrasi (C) $\mu\text{g/ml}$

b = Slope (kemiringan) kurva linier

a = Intersep (titik potong kurva terhadap sumbu y)

DAFTAR PUSTAKA

- Aguayo Torrez, M. V. 2021. Pengembangan dan validasi metode analisis tablet kandesartan sileksetil dengan metode spektrofotometri ultraviolet secara luas daerah dibawah kurva.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Cetakan Pertama, 3-11, 17-19, Dikjen POM, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional
- Haeria, Hermawati, P. A. 2016. Penentuan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bidara. *Journal of Pharmaceutical and Medical Sciences*, 1(2), 57–61.
- Haeria. 2013. Penetapan kadar flavonoid total dan uji daya antioksidan ekstrak etanol daun ungu (*Graptophyllum pictum* L.) Griff). *Jf Fik Uinam*, 1(1), 1–9.
- Kusumayanti, N. K. K. A. 2015. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji buah pepaya (*carica papaya* L.) Dengan variasi konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri klebsiella pneumoniae. 7–36.
- Laila Nurhidayatus. 2016. Identifikasi Fraksi Aktif Antivirus Hepatiitis C Dari Ekstrak Etanol 80% Herba *Scoparia dulcis* Linn. *Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Departemen Farmakognosi Dan Fatokimia : Surabaya*.
- Latifah. 2015. Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Rimpang Kencur (*Kampferia Galanga* L) dengan Metode DPPH. Universitas Islam Negeri. Malang. *Block Caving – A Viable Alternative?*, 21(1), 1–9.
- Lisa, P., Niwele, A., & soulisa mardiana, A. 2022. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Pepaya (*Carica Papaya* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dengan Menggunakan Metode Difusi Sumuran. *Jurnal Rumpun Ilmu Kesehatan*, 2(1), 2827–8372.
- Marjoni, R. (2016). *Dasar - Dasar fitokimia*, Trans InfoMedia, jakarta.
- Marzuki, Asnah. 2012. *Kimia Analisis Farmasi*. Makassar : Dua Satu Press
- Maulidina, H. 2019. Pengembangan krim antioksidan ekstrak kulit buah pepaya (*Carica papaya* L.) dan ekstrak kulit buah rambutan (*Nephelium lappaceum* L.). *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia*, 16(2), 1–13.
- Nurhidayati, L. G., Pramiastuti, O., & Ningrum, A. P. (2023). Analisis Kadar Vitamin C Buah Pepaya California Mentah (*Carica Papaya* L.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis Analysis Of Vitamin C Fruit Raw California Papaya (*Carica Papaya* L.) With Uv-Vis Spectrophotometry Method. 1, 72–81.
- Pratiwisari, J. M. 2022. Validasi Metode Analisis Spektrofotometri UV-VIS dan Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.). Universitas Dr.Soebandi Jember.

- Primadhamanti, A., Purnama, R. C., & Salsabilla, N. A. 2022. Penetapan kadar flavonoid pada batang pepaya (*carica papaya* l.) dengan metode spektrometri UV – VIS. *Jurnal Farmasi Malahayati*, 5(1), 64–75. <https://doi.org/10.33024/jfm.v5i1.6734>
- Salsabila, N. 2021. Pengaruh Perbedaan Pelarut Ekstraksi Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) Terhadap Hasil Rendaman. 46.
- Syamsul, E. S., Hakim, Y. Y., & Nurhasnawati, H. 2019. Penetapan kadar flavonoid ekstrak daun kelakai (*stenochlaena palustris* (burm. f.) bedd.) dengan metode spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 1(1), 11–20. <https://doi.org/10.33759/jrki.v1i1.46>
- Wunas.,Yeanny. and Susanti. 2011. *Analisa Kimia Farmasi Kuantitatif*. Makassar : Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi UNHAS
- Yahya, Sripatundita. 2013.*Jurnal Spektrofotometer-UV-Vis*. Jakarta