

**PENGARUH KONSENTRASI PELARUT DAN LAMA WAKTU
MASERASI TERHADAP SIFAT FISIKOKIMIA DAUN BLACK
MULBERRY (*Morus nigra L.*)**

TUGAS AKHIR

*Diajukan Untuk Memenuhi Syarat Sidang Tugas Akhir
Program Studi Teknologi Pangan*

Oleh

Mochamad Galih Purnama
11.30.20050



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS TEKNIK
UNIVERSITAS PASUNDAN
BANDUNG
2018**

**PENGARUH KONSENTRASI PELARUT DAN LAMA WAKTU
MASERASI TERHADAP SIFAT FISIKOKIMIA DAUN *BLACK*
MULBERRY (*Morus nigra L.*)**

TUGAS AKHIR

*Diajukan Untuk Memenuhi Syarat Sidang Tugas Akhir
Program Studi Teknologi Pangan*

Oleh:

Mochamad Galih Purnama

11.302.0050

Menyetujui :

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

Dr. Ir. Yusman Taufik., M.P

Ir. Sumartini., M.P

**PENGARUH KONSENTRASI PELARUT DAN LAMA WAKTU
MASERASI TERHADAP SIFAT FISIKOKIMIA DAUN *BLACK*
MULBERRY (*Morus nigra L.*)**

TUGAS AKHIR

*Diajukan Untuk Memenuhi Syarat Sidang Tugas Akhir
Program Studi Teknologi Pangan*

Oleh:

Mochamad Galih Purnama

11.302.0050

Mengetahui :

Koordinator Tugas Akhir

Ira Endah Rohima, ST., M.Si

KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaikum wr.wb.

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir dengan judul “Pengaruh Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Maserasi Terhadap Sifat Fisikokimia Daun *Black Mulberry (Morus nigra L.)*”.

Laporan tugas akhir ini diajukan untuk memenuhi syarat dalam menempuh ujian sarjana teknik pada Program Studi Teknologi Pangan Fakultas Teknik Universitas Pasundan Bandung. Laporan tugas akhir ini tidak mungkin terwujud tanpa bantuan dan dorongan dari berbagai pihak, oleh karenanya pada kesempatan ini tidak lupa penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. Ir. Yusman Taufik, MP., selaku dosen pembimbing utama yang telah banyak meluangkan waktu memberikan bimbingan dan arahan pada penulis.
2. Ir. Sumartini, MP., selaku dosen pembimbing pendamping yang telah banyak meluangkan waktu memberikan bimbingan dan arahan pada penulis.
3. Dr. Ir. Yusep Ikrawan, M. ENG., selaku dosen penguji yang telah memberikan saran-saran selama penyusunan laporan tugas akhir ini.
4. Ira Endah Rohima, ST., M.Si. selaku koordinator Tugas Akhir di Program Studi Teknologi Pangan Fakultas Teknik Universitas Pasundan Bandung.
5. Ayah dan Ibu tercinta Herry Sulistiono, ST dan Elly Suryani, Amkg, kakak & adik penulis tersayang Arif Bagus Prasetya, Reza Fauzi Akbar dan Gina Ayu Novianingsih, beserta keluarga besar yang selalu memberikan doa, motivasi,

dan dukungan secara moral dan moril yang tiada henti kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan ini.

6. Kepada Atin Kustriani, yang memberikan dukungan dan bantuan kepada penulis selama menyelesaikan laporan.
7. Sahabat selama ini dan membantu penulis dalam menyelesaikan masalah yang ada. Penulis, Gugum Gumilar Wijaya, Noorman Adhi Tridhar, Indra Budi Pratama, Agung S, Irsa Akmal Fauzan, Fajar Nugraha, Yogie Ibrahim, Fajar Eka Prabawa, Rinaldi Prawira, Rija Ramdhani, Jepri A Machdim, Ansori Abdurahman, Nadya Rahmawati, Tanty S, Sari Maryam B, Annisa Dwi Tami, Asep Saepul Kurnia, Tyas Agung M, Aditya Bayu Devangga, M Rifai Tarmizi, Syaiful Ramadhan, Bunbun Ali Bauni, Pika A.
8. Keluarga besar Chocolatech 2011 dan semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu-persatu yang telah membantu dalam penyelesaian laporan tugas akhir ini.

Penulis menyadari bahwa laporan yang dibuat belum sempurna, sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran yang sifatnya untuk membangun memperbaiki kekurangan pada laporan tugas akhir ini. Penulis berharap semoga laporan ini dapat bermanfaat untuk penulis khususnya dan untuk kita secara umumnya. Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan yang telah kita perbuat.

Akhir kata semoga laporan tugas akhir ini bisa bermanfaat bagi semua pihak teman-teman Program Studi Teknologi Pangan pada umumnya dan penulis

khususnya. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan petunjuk dan perlindungan kepada kita semuanya sebagai hambanya, Amin ya robballamin.

Wassalamu 'alaikum Wr. Wb.

Bandung, April 2018

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
ABSTRAK.....	x
ABSTRACT.....	xi
I PENDAHULUAN.....	1
1.1.Latar Belakang	1
1.2.Identifikasi Masalah.....	6
1.3.Maksud dan Tujuan Penelitian.....	7
1.4.Manfaat Penelitian	7
1.5.Kerangka Pemikiran.....	7
1.6.Hipotesis Penelitian	10
1.7.Tempat dan Waktu Penelitian.....	11
II TINJAUAN PUSTAKA	12
2.1. Daun Mulberry.....	12
2.2. Kanker.....	15
2.3. Flavonoid	16
2.4. Antioksidan.....	22
2.5. Ekstraksi.....	24
III METODOLOGI PENELITIAN	29
3.1. Bahan dan Alat Penelitian.....	29
3.1.1. Bahan-bahan yang digunakan	29
3.1.2. Alat yang digunakan	29

3.2. Metode Penelitian	29
3.2.1. Penelitian Pendahuluan	30
3.2.2. Penelitian Utama	30
3.2.3. Rancangan Perlakuan	30
3.2.4. Rancangan Percobaan	30
3.2.5. Rancangan Analisis	32
3.2.6. Rancangan Respon	33
3.3. Deskripsi Penelitian	34
3.3.1. Penelitian Pendahuluan Proses Pembuatan Ekstrak Daun Mulberry	34
3.3.2. Penelitian Utama Proses Pembuatan Ekstrak Daun Mulberry	36
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	41
4.1. Hasil Penelitian Pendahuluan	41
4.1.1. Analisis Senyawa Flavonoid Secara Kualitatif	41
4.1.1. Penentuan Kadar Air Metode Gravimetri	42
4.1.2. Penentuan Jenis Pelarut	42
4.2. Hasil Penelitian Utama	43
4.2.1. Respon Kimia	45
4.2.1.1. Analisis Kadar Total Flavonoid Metode $AlCl_3$	45
4.2.2. Respon Fisika	51
4.2.2.1. Analisa Viskositas	51
4.2.2.2. Penentuan Rendemen Maserasi	53
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	57
5.1. Kesimpulan	57
5.2. Saran	57
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Daun Murbei.....	12
2. Kerangka C ₆ – C ₃ – C ₆ Flavonoid	17
3. Diagram Alir Pendahuluan Pembuatan Ekstrak Daun Mulberry ...	39
4. Diagram Alir Utama Pembuatan Ekstrak Daun Mulberry	40
5. Kurva Standar Kuersetin Absorban 425.0	47
6. Struktur Dasar Flavonoida.....	49
7. Mekanisme Peredaman Radikal oleh Flavonoid	50

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Flavonoid yang Terkandung dalam Tanaman	18
2. Rancangan Faktorial 3 x 3 Dalam RAK Dengan 3 Kali Ulangan	31
3. Tata Letak RAK Dengan 3 Kali Ulangan.....	32
4. Analisis Variansi.....	33
5. Hasil Analisis Senyawa Flavonoid Secara Kualitatif	42
6. Hasil Penelitian Pendahuluan Nilai Rendemen Maserasi.....	43
7. Hasil Penelitian Pendahuluan Penentuan Viskositas.....	43
8. Pengaruh Interaksi Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Maserasi Terhadap Kadar Total Flavonoid Ekstrak Daun <i>Black Mulberry</i> .	45
9. Pengaruh Interaksi Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Maserasi Terhadap Viskositas Ekstrak Daun <i>Black Mulberry</i>	51
10. Pengaruh Interaksi Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Maserasi Terhadap Nilai Rendemen Maserasi Ekstrak Daun <i>Black Mulberry</i>	54
11. Hasil Analisis Flavonoid Secara Kualitatif	68
12. Hasil Penelitian Pendahuluan Nilai Rendemen Maserasi.....	70
13. Hasil Penelitian Pendahuluan Penentuan Viskositas	73
14. Hasil Penentuan Standar Kuersetin Absorbansi 425.0 Ulangan 1	73
15. Absorbansi Sampel (425.0) Ulangan 1	74
16. Hasil Penentuan Standar Kuersetin Absorbansi 425.0 Ulangan 2	76
17. Absorbansi Sampel Ulangan 2	76

18. Hasil Penentuan Standar Kuersetin Absorbansi 425.0 Ulangan 3	78
19. Absorbansi Sampel Ulangan 3	79
20. Pengaruh Interaksi Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Maserasi Terhadap Kadar Total Flavonoid Ekstrak Daun <i>Black Mulberry</i> .	86
21. Pengaruh Interaksi Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Maserasi Terhadap Viskositas Ekstrak Daun <i>Black Mulberry</i>	91
22. Pengaruh Interaksi Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Maserasi Terhadap Nilai Rendemen Maserasi Ekstrak Daun <i>Black Mulberry</i>	96

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Prosedur Analisis Flavonoid Secara Kualitatif.....	63
2. Prosedur Penentuan Pengenceran Pelarut.....	63
3. Prosedur Penentuan Nilai Rendemen Maserasi.....	63
4. Prosedur Analisis Penentuan Kadar Air dengan Metode Gravimetri	64
5. Prosedur Penentuan Kadar Total Flavonoid secara Kuantitatif.....	65
6. Prosedur Penentuan Tingkat Kekentalan Ekstrak	66
7. Hasil Penelitian Pendahuluan Analisis Flavonoid Kualitatif	68
8. Hasil Penelitian Pendahuluan Pengenceran Pelarut	68
9. Hasil Penelitian Pendahuluan Penentuan Nilai Rendemen Maserasi	69
10. Hasil Penelitian Pendahuluan Penentuan Kadar Air	70
11. Hasil Penelitian Pendahuluan Analisis Tingkat Kekentalan	71
12. Hasil Penelitian Utama Kadar Total Flavonoid.....	74
13. Data Perhitungan Analisis Kimia dan Fisika.....	82
14. Proses Pembuatan Ekstrak Daun <i>Black Mulberry</i>	97
15. Prosedur Analisis Kadar Total Flavonoid	98

ABSTRAK

Ekstrak daun mulberry dilaporkan berkhasiat sebagai antikanker, karena memiliki kandungan fitokimia seperti quercetin dan anthosianin. Quercetin dan antosianin adalah zat yang terdapat dalam berbagai tanaman murbei, yang memiliki potensi sebagai agen kemopreventif. Selain sebagai agen kemopreventif, quercetin juga dilaporkan dapat berperan sebagai agen ko-kemoterapi.

Tujuan penelitian yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah untuk mendapatkan pengaruh konsentrasi pelarut dan lama waktu maserasi yang optimal terhadap sifat fisikokimia pada daun *black mulberry*.

Metode yang dilakukan meliputi penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan yaitu uji fitokimia untuk memastikan keberadaan senyawa flavonoid didalam sampel dan menentukan pelarut mana yang terpilih antara etanol 70% dan metanol 70% dalam pembuatan ekstrak daun *black mulberry* dengan perbandingan masing-masing pelarut 8:1 dan dilakukan proses evaporasi untuk mendapatkan ekstrak daun *black mulberry*. Ekstrak daun *black mulberry* ditentukan dengan hasil nilai rendemen maserasi dan hasil kekentalan tertinggi untuk dilanjutkan penelitian utama. Penelitian utama dilakukan dengan menggunakan rancangan percobaan rancangan acak kelompok (RAK) dan menggunakan rancangan perlakuan yang terdiri dari 2 faktor, yaitu faktor P (konsentrasi pelarut) dan faktor M (lama waktu maserasi).

Respon yang digunakan dalam penelitian utama adalah respon kimia dan respon fisika. Respon kimia yang dilakukan yaitu analisis kadar total flavonoid, penentuan nilai rendemen maserasi dan respon fisika yang dilakukan adalah penentuan viskositas.

Hasil penelitian utama ekstrak daun mulberry yang terpilih dinyatakan bahwa pengaruh konsentrasi dan lama waktu maserasi berpengaruh nyata terhadap kadar total flavonoid. Hasil penelitian utama ekstrak daun *black mulberry* yang terpilih dinyatakan bahwa pengaruh konsentrasi berpengaruh nyata terhadap sifat fisikokimia daun *black mulberry*. Hasil penelitian utama ekstrak daun *black mulberry* yang terpilih dinyatakan bahwa lama waktu maserasi berpengaruh nyata terhadap sifat fisikokimia daun *black mulberry*.

Kata kunci: Daun *Black Mulberry*, Maserasi, Sifat Fisikokimia dan Flavonoid.

ABSTRACT

Mulberry leaf extract was reported having anticancer phytochemicals such as quercetin and anthocyanin. Quercetin and anthocyanin are substances contained that are found in various plant mulberry, which has potential as an agent of chemo preventive. Besides from being a chem preventive agent, quercetin is also reported to play a role as a co-chemotherapy agent.

This study aims to determine the effect of solvents concentration and optimal maceration time on the physicochemical properties of black mulberry leaf.

This study include preliminary study and main study. Preliminary study is phytochemical test to confirm the presence of flavonoid compound in the sample and determine which is selected between ethanol 70% and methanol 70% in making extract of black mulberry leaves by comparison of each solvent 8:1 and process evaporation to get black mulberry leaf extract. The extract of black mulberry leaves was determined by the results of the highest yield of maceration and viscosity to continue the main study. The main study was conducted by using a randomized design group (RAK) and using a treatment design consisting of factors, namely P (solvent concentration) and M (maceration time). The response used in the main study are chemical response and physical response. Chemical response done analysis of the levels of total flavonoids, the determination of maceration value and physics response done the determination of viscosity.

The response used in the main research is chemical response and physics response. Chemical response that is done is total flavonoid content analysis, determination of the value of maceration and physics response done is the determination of viscosity.

The main research results selected mulberry leaf extract revealed that the influence of concentration and duration of maceration significantly affect the total flavonoids. The main research result of black mulberry leaf extract which was chosen stated that the influence of concentration had significant effect on the physicochemical properties of black mulberry leaf. The main research result of the extract of leaf black mulberry which was chosen stated that the duration of maceration has significant effect on the physicochemical properties of black mulberry leaf.

Keywords: Black Mulberry Leaf, Maceration, Physicochemical Properties and Flavonoids.

I PENDAHULUAN

Bab ini akan menguraikan mengenai : (1) Latar Belakang, (2) Identifikasi Masalah, (3) Maksud dan Tujuan Penelitian, (4) Manfaat Penelitian, (5) Kerangka Pemikiran, (6) Hipotesis Penelitian, dan (7) Tempat dan Waktu Penelitian.

1.1. Latar Belakang

Mulberry/murbei merupakan tanaman dengan daun penghasil klorofil yang awalnya dikenal sebagai makanan istimewa ulat sutra. Jika tidak makan daun ini, ulat sutra tidak menghasilkan sutra yang baik. Penyebaran tanaman murbei di Indonesia terdapat di Jawa Barat, Jawa Timur, Sulawesi Utara, dan Sulawesi Selatan. Produksi tanaman murbei yang sering dimanfaatkan adalah bagian daunnya. Daun tanaman murbei ini dimanfaatkan sebagai makanan ulat sutera. Daun tanaman murbei jarang dimanfaatkan untuk pembuatan produk pangan. (Samsijah, 1992).

Buah berwarna merah kehitaman ini kaya akan zat besi, yang penting bagi pertumbuhan sel darah merah dan mencegah penyakit anemia. Pada setiap 100 gram mulberry terkandung 1,85 mg, 23% dari asupan harian yang direkomendasikan atau setara dengan sepotong daging sirlion. Buah ini juga merupakan buah yang kaya vitamin C dan memiliki resveratrol yang tinggi, sebuah antioksidan yang juga ditemukan pada anggur merah yang dapat membersihkan polutan dalam tubuh. Buah murbei hitam (*Morus nigra L.*) kaya akan vitamin, seperti vitamin B1, B2, vitamin C dan juga mengandung antosianin yang dapat berperan sebagai antioksidan bagi tubuh manusia (Utomo, 2012).

Black mulberry merupakan buah yang dapat dimakan, diproduksi oleh beberapa spesies dalam genus *Rubus* dari suku *Rosaceae*. Buah ini sebenarnya bukanlah merupakan berry, secara botani itu disebut buah agregat, terdiri dari *drupelet* kecil. Tanaman biasanya berumur dwitahunan dan akar tongkat abadi. *Black mulberry* dan *raspberry* juga disebut *caneberries* atau semak berduri. Ini adalah kelompok besar, dan dikenal lebih dari 375 spesies (Dalimartha, 2002).

Murbei merupakan tumbuhan asli pegunungan Himalaya. Sekarang, murbei menyebar baik di daerah tropik maupun daerah sub tropik mulai dari ketinggian 0 – 4000 mdpl. *Morus nigra* merupakan nama latin dari tumbuhan murbei hitam atau *black mulberry*. Tumbuhan ini merupakan salah satu spesies dari genus *Morus* dan termasuk ke dalam famili *Moraceae*. Genus *Morus* merupakan genus yang kecil karena terdiri hanya sekitar 15 spesies dan dapat tumbuh dengan baik di daerah beriklim sedang di wilayah Asia, Afrika dan Amerika. Tumbuhan ini mempunyai nilai ekonomi yang tinggi karena daunnya merupakan pakan utama bagi ulat sutra. Secara tradisional, tumbuhan ini juga telah digunakan dalam pengobatan khususnya spesies *M. alba* seperti untuk membersihkan darah, pengobatan bisul dan gangguan kulit. Telah dilaporkan bahwa turunan fenol merupakan kandungan utama genus *Morus* diantaranya adalah dari kelompok stilben, 2-arilbenzofuran, flavonoid dan adduct Diels Alder. Senyawa-senyawa tersebut diantaranya mempunyai aktivitas sebagai antimalaria, antiviral, antiinflamasi, antitumor. Antihipertensi. Kajian fitokimia dari *M. nigra* juga telah dilaporkan oleh beberapa peneliti sebelumnya. Beberapa senyawa yang telah diisolasi dari tumbuhan ini adalah morunigrol dari

bagian kulit batang, kuwanon C, morusin, kuwanon L dan kuwanon O dari kulit akar serta isokuersitin dari daun.

Tanaman murbei mempunyai tinggi kurang lebih 4-5 meter, batangnya ditumbuhi bintik-bintik putih kekuningan dengan penampangnya mencapai 15 cm, berdaun tunggal dengan bentuk segitiga atau bulat telur dengan tekstur agak kasar, tepinya bergerigi, ujungnya runcing dan pangkalnya tumpul, pertulangan daun menyirip. Panjang daun kurang lebih 20 cm dan lebarnya 10 cm, kelopak bunga berebentuk segitiga sedang mahkota bunganya berbentuk taji.

Etanolik dari ekstrak daun murbei dilaporkan berkhasiat sebagai antikanker, karena memiliki kandungan fitokimia seperti quercetin dan anthosianin. Quercetin dan antosianin adalah zat yang terdapat dalam berbagai tanaman murbei, yang memiliki potensi sebagai agen kemopreventif. Selain sebagai agen kemopreventif, quercetin juga dilaporkan dapat berperan sebagai agen ko-kemoterapi.

Quercetin dapat meningkatkan indeks terapi agen kemoterapi doxorubicin serta memiliki efek sebagai kardioprotektif dan *hepatoprotective*, sehingga dapat menurunkan kemungkinan terjadinya efek samping yaitu *cardiotoxic*. Sehingga diketahui bahwa quercetin dapat dijadikan sebagai terapi pendamping pada kemopreventif.

Bidang farmasi, khususnya dalam penemuan obat, peran kultur sel mamalia sangatlah penting. Sel mamalia banyak digunakan untuk pengembangan teknik-teknik pengujian secara *in vitro*. Sebut saja penelitian antikanker, pengujian umum yang dilakukan untuk mengetahui potensi suatu senyawa atau bahan adalah uji sitotoksitas pada sel kanker. Parameter IC_{50} digunakan sebagai parameter untuk

melihat potensi kandidat antikanker tersebut. Untuk menguji suatu kandidat antikanker, parameter IC_{50} hanyalah data awal saja. Parameter lain yang umum diamati adalah jenis kematian sel yang diakibatkan oleh kandidat antikanker.

Berdasarkan parameter IC_{50} pada tanaman murbei *Morus alba L.* yang mengandung flavonoid, berpeluang untuk dikembangkan menjadi tanaman obat, khususnya antikanker. Berdasarkan kandungan metabolit sekunder flavonoid dan ketersediaan tanaman obat lokal *Morus alba L.* serta untuk pengembangan potensinya sebagai alternatif sumber antikanker alami, perlu dilakukan penelitian isolasi dan elusidasi struktur kimia senyawa alkaloid dari daun murbei (*Morus alba L.*) yang bersifat antikanker. Pengembangan dan penelitian bahan obat berbasis tanaman ini sangat diperlukan selain karena sumber bahan alamnya cukup tersedia, juga untuk mengatasi efek samping dan mahalnya obat sintetik dan antibiotik serta meningkatnya kematian yang disebabkan oleh penyakit kanker (Saiz-Urra *et al.*, 2009).

Senyawa bioaktif hasil metabolisme sekunder dapat diperoleh melalui proses ekstraksi. Proses ekstraksi dapat menggunakan 3 jenis pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda, yaitu n-heksana (nonpolar), etil asetat (semipolar) dan etanol/metanol (polar). Perbedaan jenis pelarut ini akan mempengaruhi karakteristik dari senyawa bioaktif yang terdapat pada daun mulberry yang dimungkinkan memiliki aktivitas sebagai antioksidan.

Metanol daun murbei mengandung flavonoid (anti inflamasi alami yang bermanfaat mengurangi resiko aterosklerosis/pengerasan arteri), salah satunya morusin yang ampuh melawan sel HeLa karsinoma serviks (Sel Kanker Serviks)

manusia. Riset Seorang Profesor Departemen Gizi Institut Pertanian Bogor, murbei mengandung beragam senyawa antioksidan seperti kuersetin, isokuersetin, vitamin C, dan antosianin. Konsentrasi antosianin buah murbei mencapai 348,98 mg/l yang akan meningkat hingga 544,83 mg/l pada penyimpanan hari ke-15. Kuersetin (salah satu jenis flavonoid) mencapai 1,12% per 100 gram buah segar.

Kondisi maserasi menggunakan pelarut etanol 65% dan diulang sebanyak 3 kali. Hal ini berdasarkan kondisi optimal untuk ekstraksi daun murbei. Beberapa pelarut telah digunakan dalam berbagai penelitian untuk mengekstraksi senyawa bioaktif dalam daun murbei seperti air, aseton, dan metanol. Pelarut berperan dalam mengekstraksi metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia berdasarkan prinsip *like dissolve like*. Metabolit sekunder yang bersifat polar akan terekstrak oleh pelarut polar, sebaliknya senyawa nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar. Pelarut organik seperti aseton dan etanol dapat meningkatkan ekstraksi senyawa bioaktif yang didapatkan sebanyak dua kali lipat. Total flavonoid dan asam fenolik daun murbei lebih tinggi pada ekstrak etanol 65% dibandingkan aseton 65%. Kandungan flavonoid yang tinggi dapat meningkatkan aktivitas antioksidan (Du *et al.* 2008).

Etanol 70% sebagai pelarut diharapkan dapat menarik zat-zat berkhasiat yang terdapat dalam simplisia. Hasil uji golongan kimia terbukti bahwa ekstrak etanol daun mulberry 70% mengandung beberapa senyawa yang berkhasiat seperti alkaloid, tannin, sterol, saponin, flavonoid, triterpenoid, dan glikosida. Dimana senyawa flavonoid tersebut dapat dijadikan parameter zat antikanker dan antioksidan. Hasil uji kandungan flavonoid menunjukkan daun mulberry memiliki

kandungan flavonoid sebesar 3,363% dan buah mulberry memiliki kandungan flavonoid sebesar 3,061%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa daun mulberry memiliki kandungan fenol dan flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan buah mulberry. Kadar flavonoid yang lebih tinggi pada ekstrak etanol daun mulberry menyebabkan ekstrak etanol daun mulberry memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar dibandingkan ekstrak etanol buah mulberry. Ekstrak etanol daun mulberry memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar $77,8565\mu\text{g/mL}$, sedangkan buah mulberry sebesar $283,3591\mu\text{g/mL}$.

Proses maserasi dengan pengadukan selama 5 jam dan didiamkan selama 24 jam pada suhu ruang dengan pelarut air dan heksana, rendemen yang dihasilkan sebesar 16,25%. Nilai ini lebih rendah dibandingkan ekstraksi menggunakan pelarut etanol 65% yang memiliki rata-rata 24,52% dengan rata-rata kadar air sebesar 7,26%.

1.2. Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian maka dapat diidentifikasi permasalahan penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi pelarut terhadap sifat fisikokimia daun *black mulberry (Morus nigra L.)* ?
2. Bagaimana pengaruh lama waktu maserasi terhadap sifat fisikokimia daun *black mulberry (Morus nigra L.)* ?
3. Bagaimana interaksi antara pengaruh konsentrasi pelarut dan lama waktu maserasi terhadap sifat fisikokimia daun *black mulberry (Morus nigra L.)* ?

1.3. Maksud dan Tujuan Penelitian

Maksud dari penelitian ini adalah ingin memanfaatkan kandungan flavonoid yang terdapat di dalam daun *black mulberry*.

Tujuan penelitian yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah untuk mendapatkan pengaruh konsentrasi pelarut dan lama waktu maserasi yang optimal terhadap sifat fisikokimia pada daun *black mulberry*.

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi mengenai ekstrak daun *black mulberry* yang berperan aktif pada golongan senyawa flavonoid.

1.5. Kerangka Pemikiran

Antioksidan alami dapat diperoleh dari buah dan sayuran yang mengandung senyawa antioksidan. Senyawa yang terkandung dalam tumbuhan yang memiliki aktivitas antioksidan adalah vitamin C, E, A, karotenoid, polifenol, asam fenolat, flavonoid, tanin, dan lignan (Pietta, 2000).

Hasil penelitian Kumar *et al* (2001) menunjukkan bahwa klorofil dan beberapa turunannya memiliki kemampuan antioksidatif baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Pernyataan ini didukung oleh penelitian Ferruzzi *et al* (2002) dan Marquez *et al* (2005) yang menunjukkan bahwa klorofil dan turunannya memiliki kemampuan antioksidan dan antimutagenik serta antikanker. Menurut Kusharto (2006) daun murbei varietas Kanca termasuk daun yang mengandung klorofil relatif tinggi yaitu sebesar 844 ppm.

Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun murbei menunjukkan daun murbei mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik, dan triterpenoid, sedangkan buah murbei mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik, dan steroid. Hasil uji kandungan flavonoid menunjukkan daun sebesar 3,363% dan buah murbei sebesar 3,061%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa daun murbei memiliki kandungan fenol dan flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan buah murbei. Kadar flavonoid yang lebih tinggi pada ekstrak etanol daun murbei menyebabkan ekstrak etanol daun murbei memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar dibandingkan ekstrak etanol buah murbei. Ekstrak etanol daun murbei memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar $77,8565\mu\text{g/mL}$, sedangkan buah murbei sebesar $283,3591\mu\text{g/mL}$ (Hilwiyah, 2007).

Menurut penelitian Lestari (2016) daun murbei mengandung berbagai senyawa aktif yang berperan sebagai antioksidan. Ekstraksi daun murbei dengan etanol 65% menghasilkan kadar flavonoid dan fenolik tertinggi dibandingkan pelarut lain seperti aseton. Penelitian ini bertujuan menentukan konsentrasi optimum antioksidan ekstrak etanol daun murbei dengan mengukur konsentrasi malondialdehid menggunakan metode TBA, serta membandingkan aktivitas antioksidannya dengan α -tokoferol. Rendemen ekstrak yang diperoleh sebesar 24.52% dan rata-rata kadar air 7.26%. Hasil uji fitokimia positif pada flavonoid, tanin, steroid.

Penelitian Amma (2009) juga menggunakan proses maserasi dengan pengadukan selama 5 jam dan didiamkan selama 24 jam pada suhu ruang dengan pelarut air dan heksana, rendemen yang dihasilkan sebesar 16.25%. Nilai ini lebih

rendah dibandingkan ekstraksi menggunakan pelarut etanol 65% yang memiliki rata-rata 24.52%. Penggunaan pelarut yang berbeda membuat nilai rendemen yang didapatkan berbeda meskipun berasal dari bahan yang sama. Hal ini disebabkan metabolit sekunder yang terekstrak bergantung dengan jenis pelarut yang digunakan.

Menurut penelitian Wahyudi (2009) Pemilihan etanol 70% sebagai pelarut diharapkan dapat menarik zat-zat berkhasiat yang terdapat dalam simplisia. Dari hasil uji identifikasi golongan kimia terbukti bahwa ekstrak etanol 70% mengandung beberapa senyawa yang berkhasiat, seperti alkaloid, tanin, sterol, saponin, flavonoid, triterpenoid, dan glikosida. Etanol 70% juga dianggap lebih optimal karena proses maserasi dari bahan kering memerlukan pembasahan terhadap simplisia sehingga lebih optimal dibandingkan etanol 96% karena mengandung jumlah air yang lebih banyak.

Menurut penelitian Oktavia (2011) daun salam diketahui mengandung senyawa flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan mencari kondisi optimum ekstraksi flavonoid daun salam dengan meragamkan metode ekstraksi, polaritas pelarut, dan waktu ekstraksi. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dan sonikasi, polaritas pelarut yang digunakan adalah nisbah antara metanol dan air, serta waktu ekstraksi untuk sonikasi berada dalam rentang 5 hingga 15 menit, sedangkan untuk maserasi berada dalam rentang 6 hingga 24 jam. Kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan menjadi parameter keberhasilan ekstraksi. Kondisi optimum tersebut diperoleh saat kondisi ekstraksi sonikasi dengan pelarut metanol 96% selama 15 menit yang memiliki aktivitas

antioksidan dengan nilai IC_{50} 13,1593 $\mu\text{g/ml}$ dan kadar flavonoid total 0,0127 mg QE/mg ekstrak.

Menurut penelitian Du *et al* (2008) kondisi maserasi menggunakan pelarut etanol 65% dan diulang sebanyak 3 kali. Hal ini berdasarkan kondisi optimal untuk ekstraksi daun murbei. Beberapa pelarut telah digunakan dalam berbagai penelitian untuk mengekstraksi senyawa bioaktif dalam daun murbei seperti air, aseton, dan metanol. Pelarut berperan dalam mengekstraksi metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia berdasarkan prinsip *like dissolve like*, yaitu pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut nonpolar akan melarutkan senyawa nonpolar. Metabolit sekunder yang bersifat polar akan terekstrak oleh pelarut polar, sebaliknya senyawa nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar. Total flavonoid dan asam fenolik daun murbei lebih tinggi pada ekstrak etanol 65% dibandingkan aseton 65%. Kandungan flavonoid yang tinggi dapat meningkatkan aktivitas antioksidan.

1.6. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka pemikiran, maka dapat dibuat suatu hipotesis sebagai berikut diduga konsentrasi pelarut berpengaruh terhadap sifat fisikokimia daun *black mulberry*, diduga waktu maserasi berpengaruh terhadap sifat fisikokimia daun *black mulberry* sehingga diduga adanya interaksi antara pengaruh konsentrasi dan lama maserasi berpengaruh terhadap sifat fisikokimia daun *black mulberry* (*Morus nigra L.*).

1.7. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian, Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Pasundan. Jl. Dr. Setiabudi No. 193, Bandung. Penelitian dimulai dari bulan September 2017 sampai dengan selesai.

II TINJAUAN PUSTAKA

Bab ini akan menguraikan mengenai: (1) Daun Mulberry, (2) Kanker, (3). Flavonoid, (4) Antioksidan, dan (5) Ekstraksi.

2.1. Daun Mulberry

Murbei (*Morus nigra L.*) Murbei termasuk genus *Morus* dari family *Moraceae*. Murbei pada dasarnya mempunyai bunga kelamin tunggal, meskipun kadang-kadang juga berkelamin rangkap (Atmosoedarjo dkk., 2000).

Menurut Sunanto (1997) murbei berasal dari Cina dan mempunyai klasifikasi sebagai berikut :

Divisio : *Spermathophyta*

Sub-divisio : *Angiospermae*

Kelas : *Dicotyledonae*

Ordo : *Urticalis*

Famili : *Moreceae*

Genus : *Morus*

Species : *Morus nigra L.*



Gambar 1. Daun murbei

Black mulberry merupakan buah yang dapat dimakan, diproduksi oleh beberapa spesies dalam genus *Rubus* dari suku Rosaceae. Buah ini sebenarnya bukanlah merupakan berry, secara botani itu disebut buah agregat, terdiri dari *drupelet* kecil. Tanaman biasanya berumur dwitahunan dan akar tongkat abadi. *Black mulberry* dan *raspberry* juga disebut *caneberries* atau semak berduri. Ini adalah kelompok besar, dan dikenal lebih dari 375 spesies (Dalimartha, 2002).

Buah berwarna merah kehitaman ini kaya akan zat besi, yang penting bagi pertumbuhan sel darah merah dan mencegah penyakit anemia. Pada setiap 100 gram mulberry terkandung 1,85 mg, 23% dari asupan harian yang direkomendasikan atau setara dengan sepotong daging sirlion. Buah ini juga merupakan buah yang kaya vitamin C dan memiliki resveratrol yang tinggi, sebuah antioksidan yang juga ditemukan pada anggur merah yang dapat membersihkan polutan dalam tubuh. Buah murbei hitam (*Morus nigra L.*) kaya akan vitamin, seperti vitamin B1, B2, vitamin C dan juga mengandung antosianin yang dapat berperan sebagai antioksidan bagi tubuh manusia (Utomo, 2012).

Daun murbei mengandung ecdisterone, inkosterone, lupeol, β -sitosterol, ritin, moracatein, isoquersetin, scopoletin, scopolin, α -heksenal, β -heksenal, cis- β heksenol, cis- β -heksenol, cis-t-heksenol, benzaldehid, eugenol, linalool, benzil alkohol, butilamin, trigonelin, cholin, adenin, asam amino, vitamin A, vitamin B, vitamin C, karoten, asam fumarat, asam folat, asam formiltetrahidrofoli, mioinositol, logam seng dan tembaga. Daun murbei memiliki efek farmakologi dapat menurunkan tekanan darah anjing percobaan bila diberikan secara intravena dengan tekanan 1 ml/kg berat badan. Dalam bentuk ramuan, daun murbei banyak

digunakan untuk memperlancar gas dari saluran pencernaan (karmunatif), memperlancar pengeluaran keringat (diaforetik), memperlancar pengeluaran air kencing (diuretik), menurunkan panas badan (antipiretik), meningkatkan kemampuan melihat dan menurunkan tekanan darah (Mursito, 2001).

Tanaman spesies *Morus* memberikan peran besar dalam bidang medis, ekonomi, industri, klinis, dan domestik. Bagian dari tanaman murbei yang biasa digunakan adalah daun, ranting, buah, dan kulit akar yang dapat digunakan sebagai obat. Daun murbei juga diketahui sebagai ramuan kuno obat tradisional Cina untuk mengobati berbagai macam penyakit. Sebagai contoh, daun murbei digunakan untuk menurunkan demam dan melindungi hati (Mursito, 2001).

Daun murbei memiliki beberapa manfaat yang berasal dari kandungan kimia daun murbei (*morus nigra L.*) yaitu Ecdysterone; menurunkan glukosa darah (hiperglikemik), B-sitosterone sebagai antioksidan dan antidiabetes, Moracetin dan Isoquercetin sebagai antioksidan, Scopoletin sebagai terapeutik terhadap diabetes mellitus, Eugenol sebagai antioksidan (menghambat proses autooksidasi lemak jenuh), Linalool berfungsi untuk mengendorkan dan melemaskan system kerja urat-urat syaraf dan otot-otot yang tegang, Trigonelline sebagai antimikroba (*enterobacteria*), Zinc untuk meningkatkan jumlah sel spermatozoa, Vitamin B sebagai koenzim dalam berbagai metabolisme termasuk metabolisme glukosa dan lemak, Vitamin C dan karoten sebagai antioksidan, asam klorogenik untuk mengurangi penyerapan glukosa dan memelihara konsentrasi glukosa darah, asam fumarate untuk menghambat bakteri pathogen dalam saluran pencernaan, dan asam

folat untuk meningkatkan jumlah sel spermatozoa dan sebagai antioksidan (Tri, 2002).

2.2. Kanker

Pada dasarnya, kanker adalah pembelahan sel yang tidak normal dan tidak terkendali. Umumnya kanker berbentuk tumor, walaupun tidak semua tumor adalah kanker. Kanker berawal dari kerusakan materi genetik (DNA) sel. Satu saja sel yang mengalami kerusakan genetik sudah cukup untuk menghasilkan jaringan kanker atau neoplasma, sehingga kanker disebut juga penyakit seluler. Kerusakan atau mutase genetik yang menyebabkan kanker dapat terjadi karena factor dalam (endogen), yaitu melalui kesalahan replikasi pada saat sel-sel yang telah aus digantikan oleh sel baru, atau kesalahan genetik yang diturunkan oleh orang tua. Kemungkinan terjadinya kanker karena factor dalam ini sebesar 10-15%. Kanker juga dapat disebabkan oleh factor luar atau eksternal (sekitar 85%) melalui perubahan struktur DNA akibat virus, infeksi berkelanjutan, polusi udara, radiasi, dan bahan-bahan kimia lainnya yang tidak diperlukan oleh tubuh. Secara kimia, mutasi gen atau DNA dapat terjadi karena DNA berikatan dengan karsinogen seperti benz[a]pyren dan melalui oksidasi oleh oksidan seperti radikal bebas (Silalahi, 2006).

Kanker merupakan penyakit tidak menular yang terjadi akibat kondisi fisik yang tidak normal dan pola hidup yang tidak sehat. Kanker dapat menyerang berbagai jaringan di dalam organ tubuh (Mangan, 2003), sehingga kebanyakan kanker menyebabkan kematian. Fakta mengatakan bahwa 1 di antara 10 kematian di dunia disebabkan oleh kanker, dimana setiap tahunnya diperkirakan 4,3 juta

penduduk meninggal karena kanker dan diperkirakan pula ditemukan 5,8 juta penderita kanker yang baru setiap tahunnya (Sarjadi, 1992).

Kanker merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal dan tidak terkendali. Drs. Wildan Yatim dalam bukunya Biologi (1996:100) menilai kanker sebagai berikut:

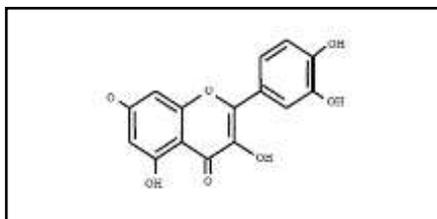
”Kanker mengandung sel-sel yang membelah terus secara cepat dan tak terkontrol. Sel-selnya memiliki sifat seperti sel muda yang aktif bermitosis. Seperti sel-sel embrio, sel-sel kanker berinti besar, nukleus pun besar, dan dalam plasma terdapat banyak butiran dan membran tipis. Sel kanker bisa merusak sel-sel yang lain dan dapat pindah ke jaringan dan daerah lain”. Senyawa Flavonoid sebagai Antikanker.

Senyawa bioaktif flavonoid yang merupakan ekstrak metanol ini dikatakan sebagai antikanker karena dapat menghambat tumbuhnya sel-sel kanker itu sendiri. Sebagai antioksidan, senyawa flavonoid dapat mencegah reaksi bergabungnya molekul karsinogen dengan DNA sel sehingga mencegah kerusakan DNA sel. Di sini lah komponen bioaktif flavonoid dapat mencegah terjadinya proses awal pembentukan sel kanker. Bahkan flavonoid dapat merangsang proses perbaikan DNA sel yang telah termutasi sehingga sel menjadi normal kembali. Selain itu, dapat mencegah pembentukan pembuluh darah buatan sel kanker (proses angiogenesis) sehingga sel-sel kanker tidak dapat tumbuh menjadi besar karena saluran untuk pertumbuhannya terhambat.

2.3. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk

dalam golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia $C_6-C_3-C_6$ (White dan Xing, 1951; Madhavi *et al.*, 1985; Maslarova, 2001). Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya (Hess, tt). Sistem penomoran digunakan untuk membedakan posisi karbon di sekitar molekulnya (Cook dan Samman, 1996).



Gambar 2. Kerangka $C_6 - C_3 - C_6$ Flavonoid

Berbagai jenis senyawa, kandungan dan aktivitas antioksidatif flavonoid sebagai salah satu kelompok antioksidan alami yang terdapat pada sereal, sayur-sayuran dan buah, telah banyak dipublikasikan. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Cuppett *et al.*, 1954).

Flavonoid adalah family besar senyawa yang disintesis oleh tanaman dengan struktur kimia dasar yang sama. Flavonoid dapat dibagi menjadi beberapa sub-kelas yaitu antosianin, flavanol, flavanone, flavonol, flavon, dan isoflavon (Tabel 1). Secara *in vitro*, flavonoid merupakan “pembersih” (*scavenger*) radikal bebas yang efektif (Heijnen *et al.*, 2001; Chun *et al.*, 2003). Akan tetapi, meskipun dengan

konsumsi flavonoid dalam jumlah tinggi, konsentrasi flavonoid dalam plasma dan intraseluler manusia hanya sekitar 100 – 1000 kali lebih rendah dengan konsentrasi antioksidan lain seperti asam askorbat (vitamin C), asam urat atau glutathione. Lebih lanjut, sebagian besar flavonoid yang bersirkulasi dalam darah sebenarnya merupakan metabolit flavonoid, di mana beberapa diantaranya mempunyai aktivitas antioksidan lebih rendah dibandingkan dengan tetuanya. Oleh karena itu, nampaknya kontribusi flavonoid yang dikonsumsi terhadap fungsi antioksidan dalam plasma maupun jaringan secara *in vivo* sangat kecil atau dapat diabaikan (Williams et al., 2004; Frei dan Higdon, 2003; Lotito dan Frei, 2006).

Tabel 1. Flavonoid yang Terkandung dalam Tanaman

Sub-Kelas Flavonoid	Contoh	Sumber
Antosianidin	Sianidin, delphinidin, malvidin, pelargonidin, peonidin, petunidin	Buah beri berwarna merah, biru, ungu, buah anggur berwarna merah dan ungu
Flavanol	Monomer (katekin): katekin, epikatekin, epigalokatekin, epikatekin galat, epigalokatekin galat	Katekin: teh (terutama teh hijau dan putih), coklat (koko), buah anggur, buah berry, apel
	Dimer dan polimer: teaflavin, tearubigin, proantosianidin	Teaflavin dan tearubigin: teh (terutama teh hitam dan oolong), proantosianidin: coklat (koko), apel, buah berry, buah anggur merah
Flavanon	Hesperitin, naringenin, eriodiktol	Buah dan saribuah jeruk (<i>oranges, grapefruits, lemons</i>)

Flavonol	Kuersetin, kaempferol, mirisetin, isoramnetin	Terdapat secara luas: bawang kuning, bawang daun, kale (sejenis kubis), brokoli, apel, buah berry, teh
Flavon	Apegenin, luteolin	Peterseli (<i>parsley</i>), <i>thyme</i> (timi), seledri, cabai
Isoflavon	Daidzein, Genistein, Glycitein	Kedelai, produk olahan kedelai, kacang-kacangan

(Sumber : Muchtadi, 2012)

Kandungan flavonoid ini memberi harapan sebagai pencegah antikanker. Penyakit yang sangat ditakuti saat ini adalah kanker. Kalau dahulu orang takut penyakit pes, kolera, cacar, TBC, tipus, dan jenis-jenis penyakit lain yang sekarang sudah tidak ditakuti lagi, sekarang orang selalu takut akan bahaya kanker yang sewaktu-waktu dapat timbul (Braam, 1980). Saat ini, cara pengobatan kanker yang biasa dilakukan oleh masyarakat pada umumnya adalah pembedahan, radioterapi, dan kemoterapi. Tujuan dari cara pengobatan tersebut adalah membunuh sel-sel kanker. Akan tetapi, perlu kita ketahui bahwa tidak sedikit dari cara-cara tersebut yang justru menimbulkan efek samping. Efek samping yang ditimbulkan tersebut akan menjadi beban baru bagi para penderita kanker. Oleh sebab itu, masyarakat mulai beralih pada pengobatan yang tidak menimbulkan efek samping atau mungkin ada efek samping tetapi dengan efek yang ringan (Swardana, 2012).

Senyawa golongan flavonoid mampu menghambat proses karsinogenesis baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Penghambatan terjadi pada tahap inisiasi, promosi maupun progresi melalui mekanisme molekuler antara lain inaktivasi senyawa karsinogen, antiproliferatif, penghambatan angiogenesis dan daur sel,

induksi apoptosis, dan aktivitas antioksidan (Ren *et al.*, 2003). (Meiyanto *et al.* 2007) melaporkan bahwa ekstrak etanolik daun *G. procumbens* mampu menghambat pertumbuhan tumor payudara tikus yang diinduksi karsinogen DMBA (7,12-dimetil benz(*a*)ntrazena). Pemberian ekstrak sebelum dan selama fase inisiasi mampu meningkatkan aktivitas enzim GST. Dengan demikian, detoksifikasi metabolit DMBA (epoksida) akan meningkat dan dapat diekskresikan dalam bentuk merkapturat (bentuk yang lebih polar) ke dalam urin atau feses. Penurunan metabolit reaktif DMBA menyebabkan penurunan insidensi ikatan dengan DNA (*DNA adduct*) sehingga proses karsinogenesis dapat dihambat.

Bahkan flavonoid merupakan antioksidan yang jauh lebih baik dari pada antioksidan lainnya, seperti pada vitamin E dan vitamin C. Hal ini membuktikan bahwa flavonoid sebagai antioksidan memiliki potensi yang lebih tinggi sebagai obat antikanker dari pada vitamin dan mineral. Kandungan flavonoid ini memberi harapan sebagai pencegah antikanker. Penyakit yang sangat ditakuti saat ini adalah kanker. Kalau dahulu orang takut penyakit pes, kolera, cacar, TBC, tipus, dan jenis-jenis penyakit lain yang sekarang sudah tidak ditakuti lagi, sekarang orang selalu takut akan bahaya kanker yang sewaktu-waktu dapat timbul. Saat ini, cara pengobatan kanker yang biasa dilakukan oleh masyarakat pada umumnya adalah pembedahan, radioterapi, dan kemoterapi. Tujuan dari cara pengobatan tersebut adalah membunuh sel-sel kanker. Akan tetapi, perlu kita ketahui bahwa tidak sedikit dari cara-cara tersebut yang justru menimbulkan efek samping. Efek samping yang ditimbulkan tersebut akan menjadi beban baru bagi para penderita kanker. Oleh sebab itu, masyarakat mulai beralih pada pengobatan yang tidak

menimbulkan efek samping atau mungkin ada efek samping tetapi dengan efek yang ringan (Braam, 1980).

Fungsi flavonoid sebagai antioksidan kuat juga sudah banyak diketahui sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Penelitian-penelitian mutakhir telah mengungkap fungsi-fungsi lain dari flavonoid, tidak saja untuk pencegahan namun juga untuk pengobatan kanker. Banyak mekanisme kerja dari flavonoid yang sudah terungkap, misalnya inaktivasi karsinogen, antiproliferasi, penghambatan siklus sel induksi apoptosis dan diferensiasi, inhibisi angiogenesis dan pembalikan resistensi multi-obat atau kombinasi dari mekanisme-mekanisme tersebut.

Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air. Mereka dapat diekstraksi dengan metanol 70 % dan tetap ada dalam lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter minyak bumi. Flavonoid berupa senyawa fenol, karena itu warnanya berubah bila ditambah basa atau amonia, jadi mereka mudah dideteksi pada kromatogram atau dalam larutan (Harborne, 1987).

Isolasi flavonoid umumnya dilakukan dengan metode ekstraksi, yakni dengan cara maserasi atau sokletasi menggunakan pelarut yang dapat melarutkan flavonoid. Flavonoid pada umumnya larut dalam pelarut polar, kecuali flavonoid bebas seperti isoflavan, flavon, flavanon, dan flavonol termetoksilasi lebih mudah larut dalam pelarut semipolar. Oleh karena itu pada proses ekstraksinya, untuk tujuan skrining maupun isolasi, umumnya menggunakan pelarut methanol atau etanol. Hal ini disebabkan karena pelarut ini bersifat melarutkan senyawa-senyawa mulai dari yang kurang polar sampai dengan polar. Ekstrak methanol atau etanol

yang kental, selanjutnya dipisahkan kandungan senyawanya dengan teknik fraksinasi, yang biasanya berdasarkan kenaikan polaritas pelarut (Monache *et al*, 1996).

Senyawa flavonoid diisolasi dengan teknik maserasi, mempergunakan pelarut methanol teknis. Ekstraksi methanol kental kemudian dilarutkan dalam air. Ekstrak methanol–air kemudian difraksinasi dengan n-heksan dan etil asetat. Masing–masing fraksi yang diperoleh diuapkan, kemudian diuji flavonoid. Untuk mendeteksi adanya flavonoid dalam tiap fraksi, dilakukan dengan melarutkan sejumlah kecil ekstrak kental setiap fraksi kedalam etanol. Selanjutnya ditambahkan pereaksi flavonoid seperti : natriumhidroksida, asam sulfat pekat, bubuk magnesium–asam klorida pekat, atau natrium amalgam–asam klorida pekat. Uji positif flavonoid ditandai dengan berbagai perubahan warna yang khas setiap jenis flavonoid (Geissman, 1962).

Analisis kualitatif flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Spektrum serapan ultra violet dan serapan tampak merupakan cara tunggal yang paling bermanfaat untuk mengidentifikasi struktur flavonoid (Markham, 1988). Flavonoid mengandung sistem aromatis yang terkonjugasi dan dapat menunjukkan pita serapan kuat pada daerah UV-Vis (Rohyami, 2007; Rohyami dan Shabur, 2003; Copriyadi, 2002; Harborne, 1987).

2.4. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menghilangkan, membersihkan, menahan pembentukan oksigen aktif dan radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil karena tidak memiliki elektron yang

tidak berpasangan dalam orbital luarnya sehingga sangat reaktif untuk mendapatkan pasangan elektron dengan mengikat sel-sel tubuh. Apabila hal tersebut terjadi secara terus menerus dapat menyebabkan kerusakan dan kematian sel (Lautan, 1997; Sies, 1993). Molekul-molekul antioksidan di dalam tubuh bertugas untuk melindungi sel-sel tubuh dan komponen tubuh lainnya dari radikal bebas, baik yang berasal dari metabolisme tubuh ataupun yang berasal dari lingkungan. Antioksidan diduga juga dapat mencegah terjadinya kanker karena kemampuannya dalam menetralkan radikal bebas yang merupakan salah satu penyebab kanker.

Fungsi utama antioksidan digunakan untuk memperkecil terjadinya proses oksidasi lemak dan minyak, memperkecil terjadinya proses kerusakan dalam makanan, memperpanjang masa pemakaian dalam industri makanan, meningkatkan stabilitas lemak yang terkandung dalam makanan. Antioksidan tidak hanya digunakan dalam industri farmasi, tetapi juga digunakan secara luas dalam industri makanan, industri petroleum, industri karet dan sebagainya (Tahir dkk, 2003).

Antioksidan dapat bersumber dari zat-zat sintesis atau zat-zat alami hasil isolasi. Adanya antioksidan alami maupun sintetis dapat menghambat oksidasi lipid, mencegah kerusakan, perubahan degradasi komponen organik dalam bahan makanan. Beberapa senyawa antioksidan sintetis yang umum digunakan adalah *butylated hydroxytoluen* (BHT), *butylated hydroxyanisole* (BHA), *tertbutylhydroxyquinone* (TBHQ), asam galat dan propil galat. Antioksidan alami dapat diperoleh dari makanan sehari-hari seperti sayuran, buah-buahan, kacang-kacangan dan tanaman lainnya yang mengandung antioksidan bervitamin (seperti

vitamin A, C, dan E) asam-asam fenolat (seperti asam ferulat, asam klorogerat, asam elagat, dan asam kafeat) dan senyawa flavonoid seperti kuersetin, mirisetin, apigenin, luteolin, dan kaemferol (Rohdiana, 2001; Pokorny *et al*, 2001).

Antioksidan termasuk flavonoid dan alfa-tokoferol, telah dikenal sangat baik untuk pencegahan berbagai penyakit degenerative seperti penyakit jantung dan kanker. Asupan sehari-hari flavonoid dan alfa-tokoferol dapat dengan mudah diperoleh dari konsumsi buah-buahan dan sayuran. Perkembangan penelitian di bidang farmakologi telah pula menunjukkan bukti-bukti yang semakin kuat bahwa flavonoid dan alfa-tokoferol memiliki multi-fungsi. Tidak hanya berperan sebagai antioksidan untuk penangkalan radikal bebas (kemopreventif), namun juga memiliki fungsi sebagai anti-kanker (kemoterapi).

Alfa-tokoferol merupakan salah satu dari delapan bentuk vitamin E, merupakan antioksidan larut lemak yang paling kuat. Semula alfa-tokoferol hanya dikenal berfungsi sebagai penangkal radikal lipida peroksid, khususnya oxLDL (oxidized low-density lipoprotein) sehingga sangat baik untuk pencegahan aterosklerosis. Namun belakangan banyak fungsi dari alfa-tokoferol yang diungkap, tidak hanya fungsi antioksidan, tetapi juga sebagai pro-oksidan, penyandian sel dan pengaturan gen, sehingga terungkap pula fungsinya dalam pencegahan dan pengobatan penyakit jantung, kanker dan alzheimer.

2.5. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan substansi dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Metode ekstraksi yang dipilih untuk digunakan dalam suatu penelitian fitokimia sangat bergantung pada tekstur dan

kandungan air bahan tumbuhan yang diekstraksi pada jenis senyawa yang akan diisolasi. Pada umumnya yang perlu dilakukan dalam mengekstraksi adalah “membunuh” jaringan tumbuhan untuk mencegah terjadinya oksidasi atau hidrolisis oleh enzim. Disamping itu, metode ekstraksi berguna untuk melarutkan senyawa-senyawa yang terdapat dalam jaringan tanaman ke dalam pelarut yang dipakai untuk ekstraksi tersebut (Ansel, 1989).

Alkohol mempunyai pelarut universal yang baik untuk mengekstraksi semua golongan senyawa metabolit sekunder. Untuk mengisolasi suatu senyawa dari bahan tanaman segar, keberhasilan ekstraksi dengan alkohol berkaitan langsung dengan seberapa jauh klorofil tertarik oleh pelarut tersebut sedangkan prosedur klasik untuk mengekstraksi berkesinambungan menggunakan alat sokhlet.

Ekstraksi biasanya menggunakan pelarut organik secara berurutan dengan kepolaran yang semakin meningkat. Pelarut heksana, eter, petroleum eter, dan kloroform digunakan untuk mengambil senyawa dengan kepolaran rendah sedangkan pelarut yang lebih polar misalnya alkohol dan etil asetat digunakan untuk mengambil senyawa yang lebih polar.

Maserasi merupakan cara ekstraksi paling sederhana yang dilakukan dengan merendam serbuk kasar simplisia dengan cairan pengekstraksi selama 4-10 hari dan disimpan terlindung dari cahaya yang langsung (mencegah reaksi yang dikatalis cahaya atau perubahan warna). Keuntungan dari maserasi adalah hasil ekstraksi banyak serta dapat menghindarkan perubahan kimia terhadap senyawa-senyawa tertentu oleh karena pemanasan, namun demikian proses maserasi membutuhkan waktu yang relatif lama. Kerugian cara maserasi adalah penyaringan kurang

sempurna karena terjadi kejenuhan cairan penyari dan membutuhkan waktu yang lama.

Dengan pengocokan, keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi lebih cepat dalam cairan. Keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif. Walaupun demikian, maserasi merupakan proses ekstraksi yang masih umum digunakan karena cara pengerjaan dan peralatannya sederhana dan mudah.

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani. Kemudian, semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan.

Berdasarkan atas sifatnya, ekstrak dapat dikelompokkan menjadi 3 yaitu :

- 1) Ekstrak encer (*extractum tennue*), sediaan ini memiliki konsentrasi seperti madu dan dapat dituang.
- 2) Ekstrak kental (*extractum spissum*), sediaan ini liat dalam keadaan dingin dan tidak dapat dituang.
- 3) Ekstrak kering (*extractum siccum*) sediaan ini memiliki konsentrasi kering dan mudah digunakan. Melalui penguapan cairan pengekstraksi dan pengeringan, sisanya akan membentuk suatu produk yang sebaliknya memiliki kandungan lembab tidak lebih dari 5 %.

Ada beberapa metode untuk membuat ekstrak yaitu sebagai berikut :

a. Maserasi

Istilah *maceration* berasal dari bahasa latin *macerare*, yang artinya “merendam”, merupakan proses paling tepat ketika obat yang sudah halus

memungkinkan untuk direndam dalam menstrum sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut. Dasar dari maserasi adalah melarutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuknya pada saat penghalusan, ekstraksi (difusi) bahan kandungan dari sel yang masih utuh. Setelah selesai waktu maserasi artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan masuk kedalam cairan, telah tercapai maka proses difusi segera berakhir. Selama maserasi atau proses perendaman dilakukan pengocokan berulang-ulang. Upaya ini menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat didalam cairan. Sedangkan keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunannya perpindahan bahan aktif. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengestraksi, akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Voigh, 1994).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru dan sempurna (*Exhaustiva extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperature ruangan. Prinsip perkolasi adalah dengan menempatkan serbuk simplisia pada suatu bejana silinder yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Proses terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

c. Soxhletasi

Soxhletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut yang relative konstan dengan adanya pendingin balik. Biomassa ditempatkan dalam wadah soklet yang dibuat dengan kertas saring, melalui alat ini pelarut akan terus direfluks. Alat soklet akan mengkosongkan isinya kedalam labu dasar bulat setelah pelarut mencapai kadar tertentu. Setelah pelarut segar melewati alat ini melalui pendingin refluks, ekstraksi berlangsung sangat efisien dan senyawa dari biomassa secara efektif ditarik kedalam pelarut karena konsentrasi awalnya rendah kedalam pelarut.

III METODOLOGI PENELITIAN

Bab ini akan menguraikan mengenai : (1) Bahan dan Alat Penelitian, (2) Metode Penelitian, dan (3) Deskripsi Penelitian.

3.1. Bahan dan Alat Penelitian

3.1.1 Bahan-bahan yang digunakan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian daun *black mulberry* (*Morus nigra L.*) adalah daun *black mulberry* (*Morus nigra L.*) berusia 3-5 bulan (daun muda) yang berasal dari perkebunan mulberry Cibodas, Lembang, Bandung, etanol, metanol, *aquadest*, HCl pekat, magnesium, HCl 25%, aseton, dan AlCl₃ 5%.

3.1.2. Alat-alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak daun *black mulberry* (*Morus nigra L.*) adalah *tunnel dryer*, *tray*, *blander*, *rotary evaporator*, *vacuum desiccator*, gelas kimia, gelas ukur, erlenmeyer, batang pengaduk, corong, *water bath*, kertas saring, mikropipet, pipet volumetri, *filler*, timbangan digital, spatula, *sentrifugator*, *stopwatch*, *viscometer ostwald* dan spektrofotometer UV-Vis.

3.2. Metode Penelitian

Pelaksanaan penelitian dalam pembuatan ekstrak daun *black mulberry* ini terbagi dalam dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama.

3.2.1 Penelitian pendahuluan

Penelitian pendahuluan bertujuan untuk menetapkan perlakuan-perlakuan pada penelitian utama. Penelitian pendahuluan yang dilakukan adalah uji fitokimia untuk memastikan keberadaan senyawa flavonoid didalam sampel dan menentukan pelarut mana yang terbaik antara etanol 70% dan metanol 70% dalam pembuatan

ekstrak daun *black mulberry* (*Morus nigra L.*) dengan perbandingan masing-masing pelarut 8:1 dan dilakukan proses evaporasi untuk mendapatkan ekstrak daun *black mulberry*. Ekstrak daun *black mulberry* (*Morus nigra L.*) ditentukan dengan hasil nilai rendemen maserasi dan hasil kekentalan tertinggi untuk dilanjutkan penelitian utama.

3.2.2 Penelitian Utama

Penelitian utama dilakukan dengan menggunakan ekstrak daun *black mulberry* (*Morus nigra L.*) dari hasil penelitian pendahuluan dan untuk mendapatkan pengaruh konsentrasi pelarut dan lama waktu maserasi yang optimal terhadap sifat fisikokimia daun *black mulberry* (*Morus nigra L.*) selanjutnya dilakukan rancangan perlakuan, rancangan percobaan, rancangan analisis, dan rancangan respon.

3.2.3. Rancangan Perlakuan

Rancangan ini terdiri dari dua faktor, yaitu faktor variasi konsentrasi pelarut terpilih (P) terdiri dari tiga taraf yaitu : $p_1(65\%)$, $p_2(70\%)$, $p_3(75\%)$. Faktor kedua, variasi waktu maserasi ekstrak daun mulberry (M) terdiri dari 3 taraf yaitu : m_1 (1x24 jam), m_2 (2x24 jam), m_3 (3x24 jam).

3.2.4. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah pola faktorial 3 x 3 dalam rancangan acak kelompok (RAK) dan ulangan sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 27 plot percobaan. Kombinasi perlakuan bisa dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rancangan Faktorial 3 x 3 Dalam RAK Dengan 3 Kali Ulangan

Konsentrasi Pelarut (P)	Lama Waktu Maserasi (M)	Kelompok Ulangan		
		1	2	3
p ₁ (65%)	m ₁ (1x24 jam)	p ₁ m ₁	p ₁ m ₁	p ₁ m ₁
	m ₂ (2x24 jam)	p ₁ m ₂	p ₁ m ₂	p ₁ m ₂
	m ₃ (3x24 jam)	p ₁ m ₃	p ₁ m ₃	p ₁ m ₃
p ₂ (70%)	m ₁ (1x24 jam)	p ₂ m ₁	p ₂ m ₁	p ₂ m ₁
	m ₂ (2 x24 jam)	p ₂ m ₂	p ₂ m ₂	p ₂ m ₂
	m ₃ (3 x24 jam)	p ₂ m ₃	p ₂ m ₃	p ₂ m ₃
p ₃ (75%)	m ₁ (1x24 jam)	p ₃ m ₁	p ₃ m ₁	p ₃ m ₁
	m ₂ (2 x24 jam)	p ₃ m ₂	p ₃ m ₂	p ₃ m ₂
	m ₃ (3 x24 jam)	p ₃ m ₃	p ₃ m ₃	p ₃ m ₃

Membuktikan adanya perbedaan pengaruh perlakuan dan interaksinya terhadap semua respon variabel yang diamati, maka dilakukan analisis data dengan model percobaan sebagai berikut :

$$Y_{ijk} = \mu + K_k + P_i + M_j + (PM)_{ijk} + \epsilon_{ijk}$$

Keterangan :

- i = 1,2,3 banyaknya variasi konsentrasi penstabil (p₁, p₂, p₃)
- j = 1,2,3 banyaknya variasi lama waktu maserasi (m₁,m₂,m₃)
- k = banyaknya ulangan 1,2,3

Y_{ijk} = nilai pengamatan dari kelompok ke-k yang memperoleh taraf ke-i dari faktor konsentrasi pelarut dan taraf ke-j dari faktor lama waktu maserasi dengan ekstrak daun mulberry.

μ = nilai rata-rata sesungguhnya

K_k = Pengaruh ulangan ke-k

P_i = pengaruh perlakuan dari taraf ke-i faktor konsentrasi pelarut

M_j = pengaruh perlakuan dari taraf ke-j dari faktor lama waktu maserasi dengan ekstrak daun mulberry.

$(PM)_{ijk}$ = pengaruh interaksi taraf ke-i faktor konsentrasi pelarut dan taraf ke-j faktor lama waktu maserasi dengan ekstrak daun mulberry.

ϵ_{ijk} = pengaruh galat percobaan pada taraf ke-i faktor konsentrasi pelarut dan taraf ke-j faktor lama waktu maserasi dengan ekstrak daun mulberry.

Tabel 3. Tata Letak RAK Dengan 3 Kali Ulangan

Kelompok Ulangan 1

p_2m_3	p_1m_2	p_3m_1	p_2m_2	p_1m_1	p_3m_3	p_2m_1	p_3m_2	p_1m_3
----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------

Kelompok Ulangan 2

p_2m_1	p_1m_1	p_3m_2	p_1m_3	p_2m_2	p_3m_3	p_3m_1	p_2m_3	p_1m_2
----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------

Kelompok Ulangan 3

p_3m_2	p_1m_2	p_2m_3	p_2m_1	p_1m_1	p_3m_3	p_2m_2	p_1m_3	p_3m_1
----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------

3.2.5. Rancangan Analisis

Berdasarkan rancangan percobaan tersebut diatas untuk memudahkan pengujian maka dilanjutkan uji analisis variasi (ANAVA) dan selanjutnya ditentukan hipotesis, yaitu :

1. Jika $F_{hitung} > F_{tabel}$ pada taraf 5 %, maka perlakuan konsentrasi pelarut dan lama waktu maserasi ekstrak daun mulberry. Dengan demikian hipotesis penelitian diterima dan dilakukan uji lanjut jarak berganda Duncan.
2. Jika $F_{hitung} \leq F_{tabel}$ pada taraf 5%, maka perlakuan konsentrasi pelarut dan lama waktu maserasi ekstrak daun mulberry. Dengan demikian hipotesis penelitian ditolak (Gasperz, 1995).

Tabel 4. Analisis Variansi

Sumber Keceragaman	Derajat bebas (DB)	Jumlah kuadrat (JK)	Kuadrat tengah (KT)	F Hitung	F Tabel 5 %
Kelompok	r-1	JKK	-		
Perlakuan	pa-1	JKP	-		
P	p-1	JK (p)	KT (p)	KT (p)/KTG	
M	m-1	JK (m)	KT (m)	KT (m)/KTG	
PM	(p-1)(m-1)	JK (pm)	KT (pm)	KT (pm)/KTG	
Galat	(pm)(r-1)	JKG	KTG		
Total	pmr-1	JKT			

Sumber : (Gasperz, 1995)

3.2.6. Rancangan Respon

Rancangan respon penelitian utama dilakukan pada minuman ekstrak daun mulberry terdiri dari respon kimia.

1. Respon Kimia

Respon kimia yang akan dilakukan pada ekstrak daun *black mulberry* adalah analisis flavonoid secara kuantitatif dengan metode $AlCl_3$ yang dikemukakan oleh Lamaison dan Carnet (1990) yang terdapat di dalam daun mulberry, analisis warna

secara kualitatif dengan menggunakan metode Robinson (1995) sebagai pembuktian adanya kandungan flavonoid di dalam daun *black mulberry* (*Morus nigra L.*), dan penentuan nilai rendemen maserasi daun *black mulberry*.

2. Respon Fisik

Respon fisik yang akan dilakukan pada ekstrak daun *black mulberry* adalah penentuan viskositas dengan alat *Viskometer Ostwald*.

3.3. Deskripsi Penelitian

Deskripsi penelitian terdiri dari dua tahapan yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama pembuatan ekstrak daun mulberry meliputi beberapa tahap, yaitu:

3.3.1. Penelitian Pendahuluan Proses Pembuatan Ekstrak Daun *Black Mulberry* (*Morus nigra L.*)

Berikut adalah deskripsi penelitian pendahuluan proses pembuatan ekstrak daun *black mulberry*:

1. Pemilihan bahan baku (Sortasi)

Langkah pertama yang dilakukan adalah mempersiapkan bahan yang akan digunakan yakni daun *black mulberry*. Daun *black mulberry* yang digunakan adalah daun mulberry varietas *Morus nigra L* yang berumur 3-5 bulan, bahan baku didapat dari perkebunan mulberry Cibodas, Lembang, Jawa Barat.

2. Pencucian

Setelah itu daun *black mulberry* dilakukan pencucian untuk menghilangkan kotoran atau benda asing dengan air mengalir yang bersih, setelah itu dilakukan penirisan dan penimbangan.

3. Penyusunan di *Tray*

Setelah daun *black mulberry* bersih, lalu dilakukan penyusunan dan penataan rapi di atas *tray* yang selanjutnya akan dilakukan pengeringan.

4. Pengeringan

Pengeringan dilakukan dengan menggunakan bantuan alat *tunnel dryer* dengan suhu 50°C selama 2-3 jam. Hasil daun mulberry yang telah dikeringkan kemudian dilakukan penghancuran.

5. Penghancuran

Setelah dilakukan penghancuran, kemudian daun *black mulberry* yang telah hancur di ekstraksi secara maserasi.

6. Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak daun *black mulberry* dilakukan dengan metode maserasi yaitu merendam, daun *black mulberry* yang telah bersih kemudian dihancurkan untuk mempermudah proses ekstraksi dan agar senyawa aktif senyawa kimia dalam daun lebih mudah keluar dan terekstrak. Sampel sebanyak 50 gram serbuk simplisia daun *black mulberry* ke dalam botol gelap, tambahkan 400 mL pelarut etanol 70% atau metanol 70% dengan perbandingan masing-masing pelarut 8:1, kemudian simpan selama 1x24 jam. Setelah didapat ekstrak daun mulberry kemudian dilakukan proses evaporasi dengan suhu 45°C selama 60 menit yang bertujuan untuk menghilangkan pelarut dengan cara diuapkan dan menghilangkan bau pelarut. Proses ekstraksi dilakukan hingga diperoleh ekstrak yang masih dapat dituang, lalu ekstrak dikeringkan atau dipisahkan dengan menggunakan *vacuum desikator* untuk menghilangkan air dan diperoleh ekstrak daun mulberry.

7. Penentuan Kadar Air Metode Gravimetri

Simplisia daun *black mulberry* yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 1-2 gram, lalu masukkan ke dalam cawan konstan yang sudah ditimbang terlebih dahulu. Kemudian cawan yang telah berisi sampel dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105°C selama 2-3 jam. Selanjutnya didiamkan di suhu ruang selama 5 menit dan disimpan dalam eksikator selama 10 menit. Setelah dingin cawan yang berisi sampel tersebut ditimbang, lalu dimasukkan kembali ke dalam oven selama 30 menit sampai didapatkan bobot konstan (selisih penimbangan maksimal 0,02 gram).

8. Analisis Warna secara Kualitatif

Uji flavonoid dilakukan dengan memanaskan ekstrak daun black mulberry selama lima menit kemudian ditambah 1 ml HCl pekat, 0,1 mg serbuk Mg dan 2 ml amil alkohol, dikocok dan dibiarkan memisah. Hasil ditunjukkan dengan munculnya warna merah tua (Robinson, 1995).

3.3.2. Penelitian Utama Proses Pembuatan Ekstrak Daun Mulberry

Berikut adalah deskripsi penelitian utama proses pembuatan ekstrak daun *black mulberry*:

1. Pemilihan bahan baku (Sortasi)

Langkah pertama yang dilakukan adalah mempersiapkan bahan yang akan digunakan yakni daun *black mulberry*. Daun *black mulberry* yang digunakan adalah daun mulberry varietas *Morus nigra L* yang berumur 3-5 bulan, bahan baku didapat dari perkebunan mulberry Cibodas, Lembang, Jawa Barat.

2. Pencucian

Setelah daun *black mulberry* siap, lalu dilakukan pencucian untuk menghilangkan kotoran atau benda asing dengan air mengalir yang bersih, setelah itu dilakukan penirisan dan penimbangan.

3. Penyusunan di *Tray*

Setelah daun *black mulberry* bersih, lalu dilakukan penyusunan dan penataan rapi di atas *tray* yang selanjutnya akan dilakukan pengeringan.

4. Pengeringan

Pengeringan dilakukan dengan menggunakan bantuan alat *tunnel dryer* dengan suhu 50°C selama 2-3 jam. Hasil daun *black mulberry* yang telah dikeringkan kemudian dilakukan penghancuran.

5. Penghancuran

Setelah dilakukan penghancuran, kemudian daun *black mulberry* yang telah hancur di ekstraksi secara maserasi.

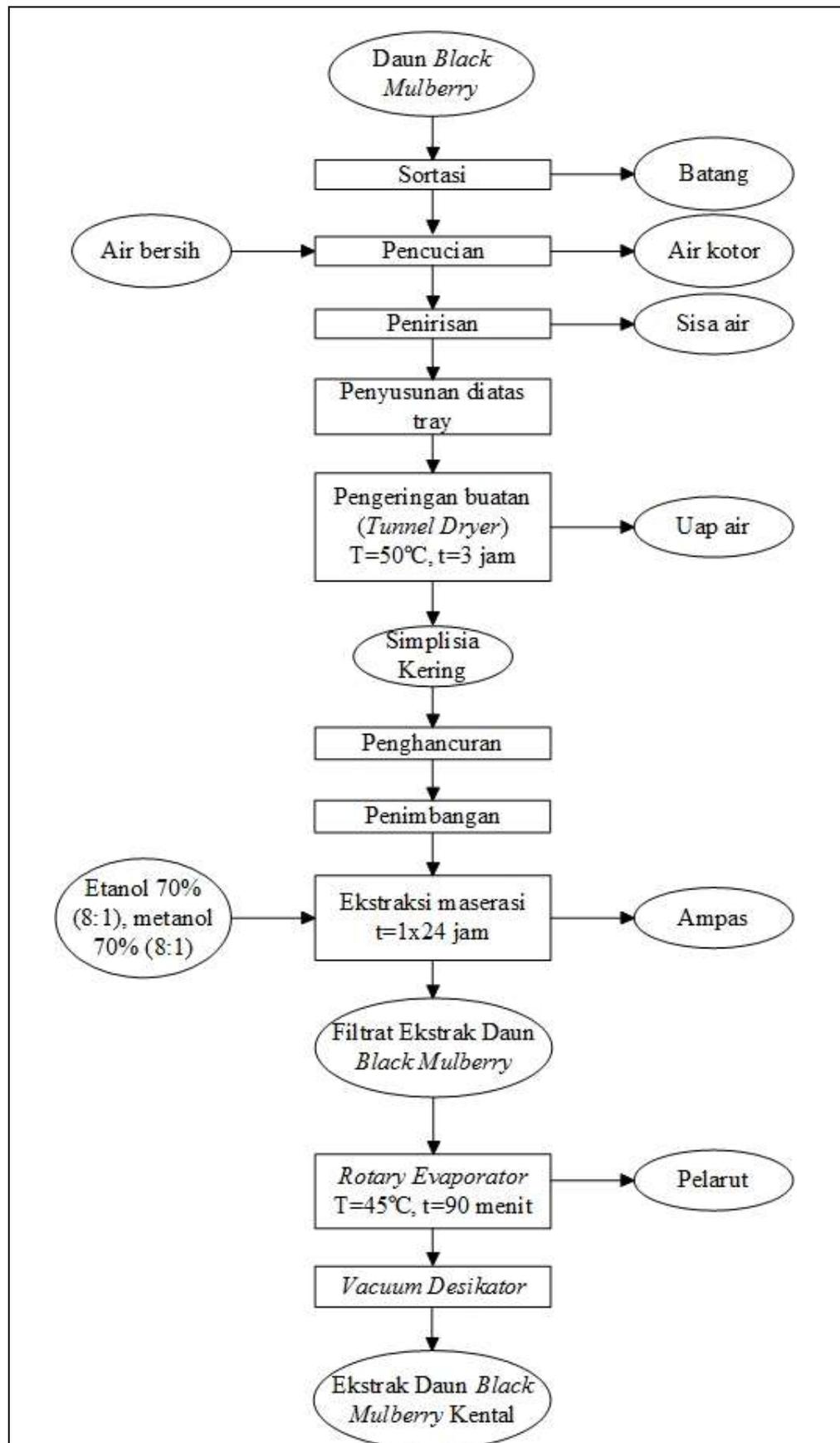
6. Pembuatan Ekstrak

Daun *black mulberry* yang telah bersih kemudian dihancurkan untuk mempermudah proses ekstraksi dan agar senyawa aktif senyawa kimia dalam daun lebih mudah keluar dan terekstrak. Sampel sebanyak 50 gram serbuk simplisia daun *black mulberry* ke dalam botol gelap, tambahkan 400 mL pelarut terpilih. Metode yang digunakan untuk proses pembuatan ekstrak daun *black mulberry* menggunakan metode maserasi dengan pelarut terpilih menggunakan konsentrasi 65%, 70%, dan 75% dengan perbandingan masing-masing 8:1, serta waktu yang digunakan untuk maserasi yaitu 1x24 jam, 2x24 jam, dan 3x24 jam di wadah

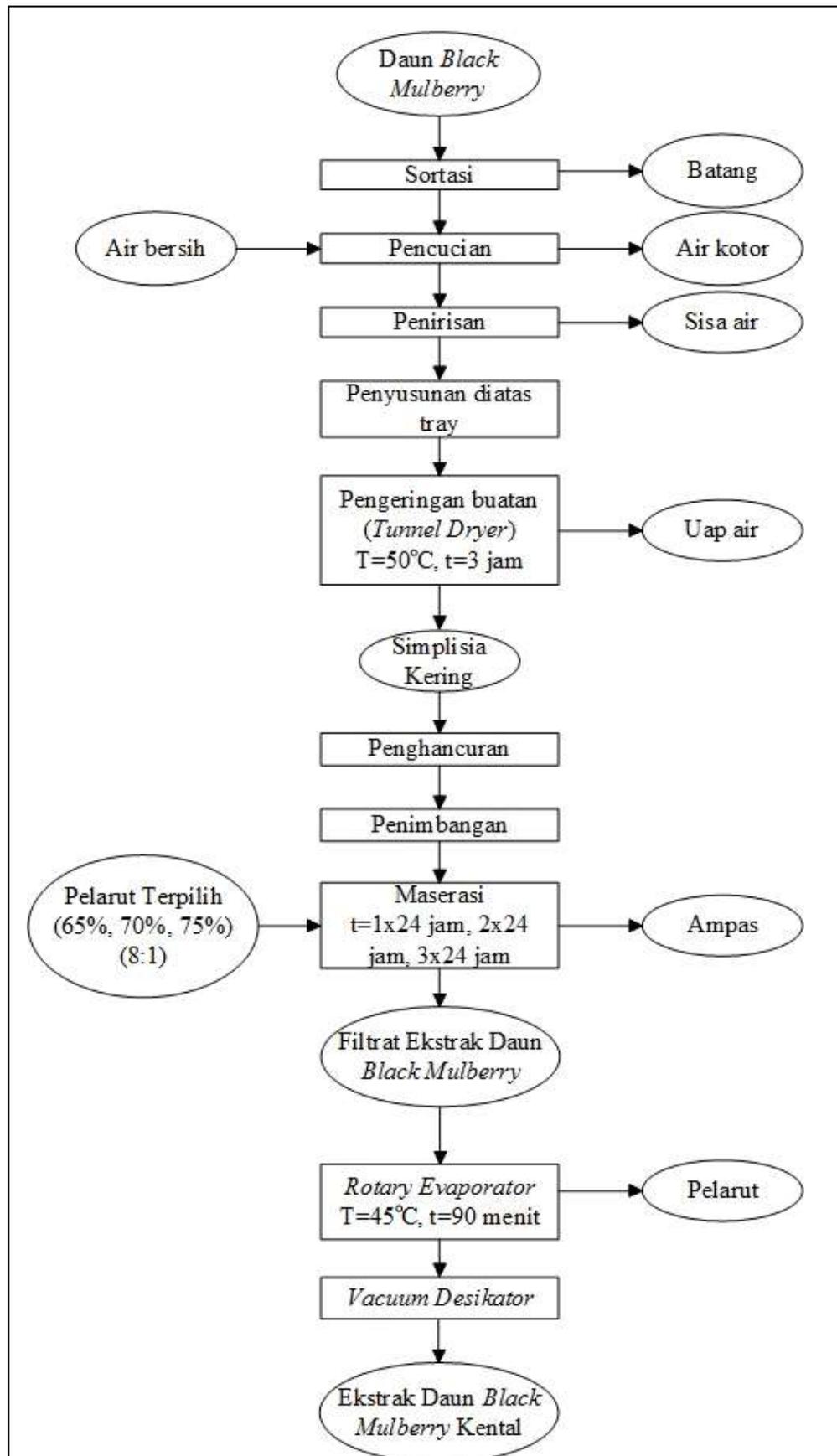
tertutup dan terhindar dari sinar matahari. Setelah didapat ekstrak daun *black mulberry* kemudian dilakukan proses evaporasi dengan suhu 45°C selama 60 menit yang bertujuan untuk menghilangkan pelarut dengan cara diuapkan dan menghilangkan bau pelarut. Proses ekstraksi dilakukan hingga diperoleh ekstrak yang masih dapat dituang, lalu ekstrak dikeringkan atau dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* untuk menghilangkan air dan didapat ekstrak daun *black mulberry*.

7. Analisis Kadar Total Flavonoid

Larutan standar berupa quercetin dibuat berbagai konsentrasi. ekstrak etanol daun *black mulberry* sebanyak 10 mL dilarutkan dalam metanol sampai 25 mL, kemudian dihomogenisasi dan didiamkan selama 30 menit, kemudian disentrifus pada 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh sebanyak 25 mL kemudian ditambah dengan 25 mL HCl 25% dalam aseton dan diletakkan dalam pendingin balik, selanjutnya dipanaskan pada suhu 100°C selama 30 menit, dan kemudian segera didinginkan. 5 mL filtrat selanjutnya diambil dan ditambahkan dengan 5 mL AlCl₃ 5% dalam metanol, kemudian diencerkan sampai 25 mL metanol. Sampel selanjutnya dihomogenisasi dan didiamkan 5 menit. Sampel selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 425 nm.



Gambar 3. Diagram Alir Pendahuluan Pembuatan Ekstrak Daun Mulberry



Gambar 4. Diagram Alir Utama Pembuatan Ekstrak Daun Mulberry

IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Bab ini akan menguraikan mengenai : (1) Hasil Penelitian Pendahuluan, dan (2) Hasil Penelitian Utama.

4.1. Hasil Penelitian Pendahuluan

Pada penelitian pendahuluan yang dilakukan adalah analisis senyawa flavonoid daun *black mulberry* secara kualitatif, penentuan kadar air metode gravimetri, dan penentuan pelarut terbaik ekstrak daun *black mulberry* yang akan digunakan selanjutnya pada penelitian utama.

4.1.1 Analisis Senyawa Flavonoid Secara Kualitatif

Analisis bahan baku utama daun *black mulberry* yaitu uji fitokimia. Sampel yang digunakan adalah simplisia daun *black mulberry* varietas *Morus nigra L.* yang berasal dari perkebunan mulberry Cibodas, Lembang, Jawa Barat. Simplisia dilakukan uji fitokimia untuk memastikan keberadaan senyawa flavonoid didalam sampel. Pada uji fitokimia flavonoid, penambahan serbuk Mg dan HCl pekat untuk mereduksi agar ikatan gula pecah sehingga mudah ditarik oleh amil alkohol. Pada uji identifikasi flavonoid, penambahan amil alkohol untuk menarik aglikon dari senyawa flavonoid, dimana sebelumnya flavonoid dihidrolisa dengan HCl menjadi glikon dan aglikon. Hasil uji flavonoid menghasilkan warna merah tua. Warna merah yang dihasilkan menandakan adanya flavonoid akibat dari reduksi oleh asam klorida pekat dan magnesium (Robinson, 1995).

Tabel 5. Hasil Analisis Senyawa Flavonoid Secara Kualitatif

Komponen yang Dianalisis	Hasil Uji
Flavonoid	+

4.1.2 Penentuan Kadar Air Metode Gravimetri

Hasil penentuan kadar air sampel sebesar 5%. Hal ini sesuai dengan SNI (Standar Nasional Indonesia) 01-2891-1992 butir 5.1 mengenai Bubuk dan Rempah-rempah yang menyatakan bahwa simplisia bahan makanan dan obat diharapkan memiliki kadar air maksimal 12%. Hal ini dilakukan untuk mencegah terjadinya perubahan kimia yang tidak diinginkan pada sampel. Suhu ini relatif aman serta mencegah terjadinya kerusakan pada senyawa metabolit sekunder tertentu, khususnya flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang memiliki sistem aromatik yang terkonjugasi (Harbone, 1996). Sistem aromatik terkonjugasi mudah rusak pada suhu tinggi. Selain itu, beberapa golongan flavonoid memiliki ikatan glikosida dengan molekul gula. Ikatan glikosida akan mudah rusak atau putus pada suhu tinggi (Poedjiadi, 1994).

4.1.3 Penentuan Jenis Pelarut

Pada penelitian pendahuluan ini dilakukan penentuan jenis pelarut. Jenis pelarut yang digunakan adalah etanol dan metanol dengan konsentrasi masing-masing 70%. Untuk mengetahui jenis pelarut terbaik dilakukan pengujian dengan metode maserasi, rendam selama 24 jam setelah itu disaring dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh kemudian dipisahkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 45⁰C dalam waktu 90 menit dan dilakukan pengujian viskositas dengan menggunakan *viscometer* Ostwald.

Tabel 6. Hasil Penelitian Pendahuluan Nilai Rendemen Maserasi (%)

Komponen yang Dianalisis	Jenis Pelarut	
	Etanol 70%	Metanol 70%
Rendemen	16,29	18,69

Tabel 7. Hasil Penelitian Pendahuluan Penentuan Viskositas (kg/ms)

Komponen yang Dianalisis	Jenis Pelarut	
	Etanol 70%	Metanol 70%
Viskositas	18,93	21,53

Hasil penentuan jenis pelarut dapat dilihat dari nilai rendemen maserasi dan nilai viskositas ekstrak daun *black mulberry* didapat pelarut terpilih yaitu pelarut metanol. Dimana hasil yang didapat lebih tinggi dibandingkan pelarut etanol.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Metode ekstraksi maserasi dipilih karena maserasi merupakan metode yang sering digunakan untuk mengekstraksi bahan alam. Ekstraksi dengan maserasi merupakan teknik merendam sampel dengan pelarut yang sesuai dalam waktu tertentu. Waktu ekstraksi untuk maserasi adalah selama 24 jam dengan sesekali diaduk. Metode ekstraksi yang digunakan didasarkan pada penelitian Amma (2009) juga menggunakan proses maserasi dengan pengadukan selama 5 jam dan didiamkan selama 24 jam pada suhu ruang dengan pelarut etanol 65% yang memiliki rata-rata 24.52%. Penggunaan pelarut yang berbeda membuat nilai rendemen yang didapatkan berbeda meskipun berasal dari bahan yang sama. Hal ini disebabkan metabolit sekunder yang terekstrak bergantung dengan jenis pelarut yang digunakan.

Ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut metanol dan etanol dengan konsentrasi masing-masing sebesar 70%. Pemilihan konsentrasi pelarut didasarkan pada penelitian Wahyudi (2009) yang menyatakan bahwa diharapkan dapat menarik zat-zat berkhasiat yang terdapat dalam simplisia, seperti alkaloid, tanin, sterol, saponin, flavonoid, triterpenoid, dan glikosida. Berdasarkan sifat flavonoid, maka untuk ekstraksi dapat menggunakan metanol 70% sebagai bahan penyarinya, karena metanol 70% bersifat semi polar yang dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar maupun non-polar. Selain itu, metanol 70% tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut (Harbone, 1987).

Rendemen ekstraksi tertinggi diperoleh saat menggunakan pelarut metanol 70% yang bersifat polar. Pelarut tersebut dapat mengekstrak senyawa polar maupun nonpolar dalam sampel sehingga menghasilkan rendemen paling tinggi di antara penggunaan pelarut lainnya. Pelarut metanol 70% dapat mengambil senyawa flavonoid terikat dengan glikosida maupun flavonoid yang tidak memiliki ikatan glikosida. Lama waktu ekstraksi juga sangat mempengaruhi rendemen ekstraksi yaitu menggunakan metode maserasi. Hal ini dikarenakan pada metode maserasi terjadi kontak lebih lama dan intensif antara pelarut dan sampel yang menyebabkan komponen dalam sampel berpindah ke dalam pelarut sehingga rendemen ekstraksi semakin tinggi (Oktavia, 2011).

4.2. Hasil Penelitian Utama

Penelitian utama merupakan lanjutan dari penelitian pendahuluan. Penelitian utama dilakukan untuk mendapatkan pengaruh konsentrasi pelarut dan

lama waktu maserasi yang optimal terhadap sifat fisikokimia pada daun *black mulberry* (*Morus nigra L.*).

Rancangan respon yang dilakukan pada penelitian utama adalah respon kimia dan respon fisika. Respon kimia yang dilakukan pada penelitian utama adalah analisis flavonoid metode $AlCl_3$ dan analisa fisika. Analisa fisika yang dilakukan adalah viskositas.

4.2.1. Respon Kimia

4.2.1.1. Analisis Kadar Total Flavonoid Metode $AlCl_3$

Berdasarkan hasil analisis variansi (lampiran 8), diketahui bahwa terdapat pengaruh nyata terhadap kadar flavonoid ekstrak daun *black mulberry* (*Morus nigra L.*) pada interaksi antara konsentrasi pelarut (P) dan lama waktu maserasi (M) ekstrak daun *black mulberry* (*Morus nigra L.*). Hasil dari uji kadar flavonoid dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Pengaruh Interaksi Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Maserasi Terhadap Kadar Total Flavonoid Ekstrak Daun *Black Mulberry* (%).

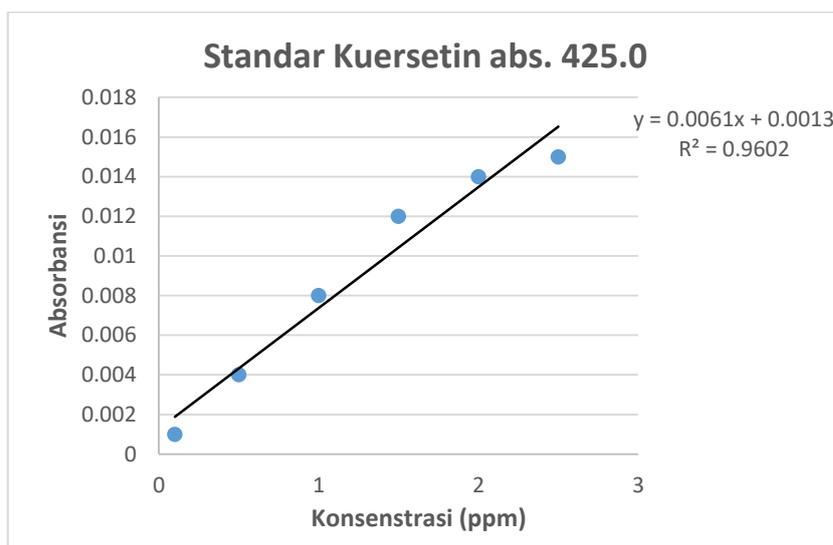
Konsentrasi Pelarut (P)	Lama Waktu Maserasi (M)		
	m ₁ (1 hari)	m ₂ (2 hari)	m ₃ (3 hari)
p ₁ (65%)	1.37 a	3.86 b	4.12 c
p ₂ (70%)	1.50 a	1.83 b	2.63 c
p ₃ (75%)	1.24 a	2.17 b	2.78 c

Keterangan : Rata-rata perlakuan yang ditandai oleh huruf kapital yang berbeda (arah vertikal) dan huruf kecil yang berbeda (arah horizontal) menunjukkan perbedaan nyata menurut uji Duncan pada taraf nyata 5%.

Berdasarkan tabel 8 menunjukkan bahwa interaksi pengaruh konsentrasi pelarut dan lama waktu maserasi berpengaruh nyata terhadap kadar total flavonoid ekstrak daun *black mulberry*. Kadar total flavonoid cenderung lebih tinggi pada konsentrasi pelarut metanol 65% dengan waktu maserasi 3 hari (p_1m_3) yaitu sebesar 4.12%, sedangkan kadar flavonoid terendah ditunjukkan pada konsentrasi pelarut metanol 75% dan waktu maserasi 1 hari (p_3m_1) yaitu sebesar 1.24%. Dapat disimpulkan bahwa semakin lama waktu maserasi yang dilakukan maka akan semakin tinggi kadar flavonoid yang didapat. Dimana senyawa flavonoid tersebut dapat dijadikan parameter zat antikanker dan antioksidan. Hilwiyah (2007), hasil uji kandungan flavonoid menunjukkan daun dan buah murbei berturut-turut mengandung flavonoid sebesar 3,363% dan 3,061%. Kadar flavonoid yang lebih tinggi pada ekstrak etanol daun murbei menyebabkan ekstrak etanol daun murbei memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar dibandingkan ekstrak etanol buah murbei. Oktavia (2011), teknik maserasi memberikan kadar flavonoid lebih tinggi dibandingkan teknik sonikasi. Semakin polar pelarut organik yang digunakan, semakin tinggi pula kadar flavonoid yang diperoleh. Semakin lama waktu ekstraksi yang digunakan, maka semakin tinggi pula kadar flavonoidnya.

Untuk menentukan kadar flavonoid total digunakan kuersetin (QE) sebagai larutan standar. Pada pengukuran kadar flavonoid total dilakukan penambahan $AlCl_3$ yang dapat membentuk kompleks, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah *visible* (nampak) ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning.

Larutan standar kuersetin diukur dengan variasi konsentrasi 0,1 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm, 2 ppm, dan 2,5 ppm diukur pada panjang gelombang maksimal 425 nm.



Gambar 5. Kurva Standar Kuersetin Absorban 425.0

Menurut metode ini, larutan standar kuersetin dengan berbagai konsentrasi diukur pada panjang gelombang 425 nm. Kurva standar yang diperoleh memiliki persamaan garis $y = 0.0061x + 0.0013$ dengan $R^2 = 0.9602$ yang menunjukkan konsentrasi mampu menerangkan keragaman absorbans sebesar 96.02% dan sekitar 3.98% oleh faktor lain. Berdasarkan kurva standar, dapat ditentukan kadar flavonoid dari sampel sesuai perlakuan yang dicobakan. Nilai kadar flavonoid ditunjukkan oleh sampel p₁m₁ yaitu sebesar 4.0893%.

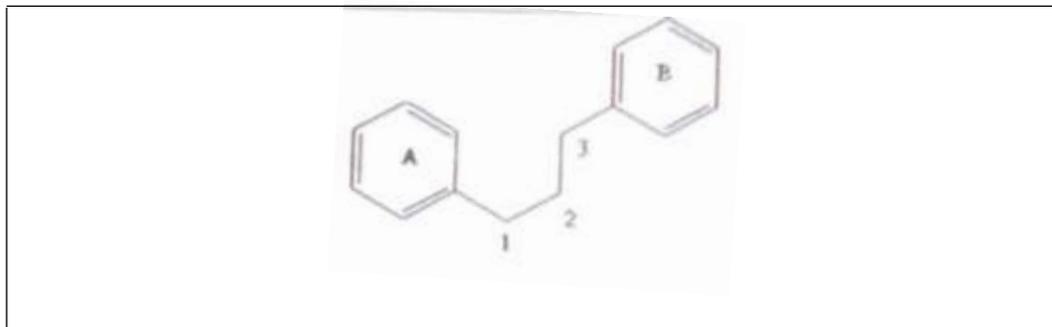
Pembuatan kurva standar flavonoid didasarkan pada metode AlCl₃. Analisis ini didasarkan pada reaksi pembentukan kompleks antara flavonoid dan aluminium klorida (AlCl₃). Gugus orto dihidroksi dan gugus hidroksi keton dari flavonoid ini membentuk kompleks dengan AlCl₃ sehingga memberikan efek batokromik

(Harbone, 1996) dan kemudian diukur dengan menggunakan spektrofotometri UV-vis sebagai ekivalen kuersetin. Kuersetin digunakan sebagai standar karena senyawa ini merupakan senyawa flavonoid kuat golongan flavonol. Flavonol diketahui sebagai senyawa penciri adanya flavonoid karena keberadaanya yang banyak tersebar dalam tumbuhan. Selain itu, kebanyakan tumbuhan obat memperlihatkan aktivitas kandungan kuersetin yang tinggi.

Kuersetin adalah golongan flavonol yang mempunyai efek yang positif dalam membantu mencegah kanker, penyakit hati, katarak, alergi, inflamasi dan penyakit pada saluran pernafasan seperti bronchitis dan asma (Balabhadrapathruni, 2004). Kuersetin (*quercetin*) adalah salah satu zat aktif kelas flavonoid yang secara biologis amat kuat. Bila vitamin C mempunyai aktivitas antioksidan 1, maka kuersetin memiliki aktivitas antioksidan 4,7. Kuersetin adalah senyawa kelompok flavonol terbesar, kuersetin dan glikosidanya berada dalam jumlah sekitar 60-70% dari flavonoid. Ketika flavonol kuersetin bereaksi dengan radikal bebas, kuersetin mendonorkan protonnya dan menjadi senyawa radikal, tapi elektron tidak berpasangan yang dihasilkan didelokalisasi oleh resonansi, hal ini membuat senyawa kuersetin radikal memiliki energi yang sangat rendah untuk menjadi radikal yang reaktif. (Waji, 2009)

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar, mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi $C_6-C_3-C_6$ artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C_6 (Cincin benzene tersubstitusi) yang dihubungkan oleh alifatik tiga karbon dan sering ditemukan

diberbagai macam tumbuhan dalam bentuk glikosida atau gugusan gula bersenyawa pada satu atau lebih grup hidroksil fenolik (Sirait, 2007).

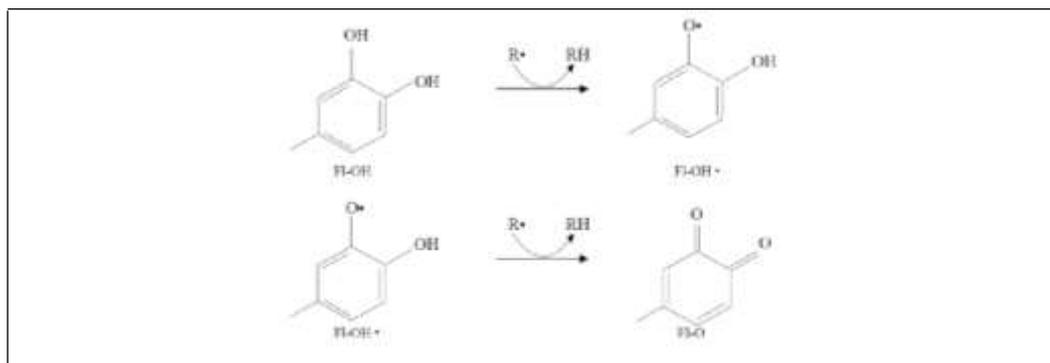


Gambar 6. Struktur Dasar Flavonoida

Flavonoid merupakan golongan metabolit sekunder yang disintesis dari asam piruvat melalui metabolisme asam amino. Flavonoid adalah senyawa fenol, sehingga warnanya berubah bila ditambah basa atau amoniak. Terdapat sekitar 10 jenis flavonoid yaitu antosianin, proantosianidin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavonil, khalkon, auron, flavanon, dan isoflavon. Flavonoid sering terdapat sebagai glikosida. Flavonoid merupakan kandungan khas tumbuhan hijau yang terdapat pada bagian tumbuhan daun, akar, kayu, kulit, tepungsari, nektar, bunga, buah buni dan biji. Flavonoid bersifat polar karena mengandung sejumlah hidroksil yang tak tersulih atau suatu gula (Harborne, 1987). Flavonoid memiliki banyak aktivitas biologis, diantaranya sebagai antiinflamasi, antibakteri, antialergi (Cushnie dan Lamb, 2005; Cook dan Samman, 1996). Flavonoid memiliki efek antioksidan dan mampu meredam radikal bebas. Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dengan kemampuan flavonoid dalam mendonasikan atom hidrogen (Patil dan Jadhav, 2013).

Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang dapat menghambat banyak reaksi oksidasi. Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena

mampu mentransfer sebuah elektron kepada senyawa radikal bebas, dimana R^{\bullet} merupakan senyawa radikal bebas, FI-OH merupakan senyawa flavonoid sedangkan FI-OH $^{\bullet}$ merupakan radikal flavonoid. Reaksi perendaman radikal bebas oleh senyawa flavonoid seperti dalam gambar berikut :



Gambar 7. Mekanisme Peredaman Radikal oleh Flavonoid

Fungsi flavonoid sebagai antioksidan kuat juga sudah banyak diketahui sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Penelitian-penelitian mutakhir telah mengungkap fungsi-fungsi lain dari flavonoid, tidak saja untuk pencegahan namun juga untuk pengobatan kanker. Banyak mekanisme kerja dari flavonoid yang sudah terungkap, misalnya inaktivasi karsinogen, antiproliferasi, penghambatan siklus selm induksi apoptosis dan diferensiasi, inhibisi angiogenesis dan pembalikan resistensi multi-obat atau kombinasi dari mekanisme-mekanisme tersebut.

Antioksidan termasuk flavonoid dan alfa-tokoferol, telah dikenal sangat baik untuk pencegahan berbagai penyakit degenerative seperti penyakit jantung dan kanker. Perkembangan penelitian di bidang farmakologi telah pula menunjukkan bukti-bukti yang smekin kuat bahwa flavonoid dan alfa-tokoferol memiliki multi-fungsi. Tidak hanya berperan sebagai antioksidan untuk penangkalan radikal bebas

(kemopreventif), namun juga memiliki fungsi sebagai anti-kanker (kemoterapi). Bahkan flavonoid merupakan antioksidan yang jauh lebih baik daripada antioksidan lainnya, seperti pada vitamin E dan vitamin C. Hal ini membuktikan bahwa flavonoid memiliki potensi yang lebih tinggi sebagai obat antikanker dari pada vitamin dan mineral (Braam, 1980).

4.2.2. Respon Fisika

4.2.2.1. Analisa Viskositas

Berdasarkan hasil analisis variansi (lampiran 8), diketahui bahwa terdapat pengaruh nyata terhadap viskositas ekstrak daun *black mulberry* (*Morus nigra L.*) pada interaksi antara konsentrasi pelarut (P) dan lama waktu maserasi (M) ekstrak daun *black mulberry* (*Morus nigra L.*). Hasil dari analisa viskositas dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Pengaruh Interaksi Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Maserasi Terhadap Viskositas Ekstrak Daun *Black Mulberry* (kg/ms).

Konsentrasi Pelarut	Lama Waktu Maserasi		
	m ₁ (1 hari)	m ₂ (2 hari)	m ₃ (3 hari)
p ₁ (65%)	15.43 a	19.03 b	20.61 c
p ₂ (70%)	19.31 a	21.63 b	30.22 c
p ₃ (75%)	14.14 a	16.40 b	21.96 c

Keterangan : Rata-rata perlakuan yang ditandai oleh huruf kapital yang berbeda (arah vertikal) dan huruf kecil yang berbeda (arah horizontal) menunjukkan perbedaan nyata menurut uji Duncan pada taraf nyata 5%.

Berdasarkan tabel 9 menunjukkan bahwa interaksi pengaruh konsentrasi pelarut dan lama waktu maserasi berpengaruh nyata terhadap viskositas ekstrak

daun *black mulberry*. Viskositas cenderung lebih tinggi pada konsentrasi pelarut metanol 70% dengan waktu maserasi 3 hari (p_2m_3) yaitu sebesar 30.22 Kg/ms, sedangkan viskositas terendah ditunjukkan pada konsentrasi pelarut metanol 70% dan waktu maserasi 1 hari (p_3m_1) yaitu sebesar 14.14 Kg/ms. Dapat disimpulkan bahwa semakin lama waktu maserasi yang dilakukan maka akan semakin tinggi nilai viskositas yang dihasilkan.

Viskositas adalah sifat ketahanan terhadap aliran suhu bahan yang berwujud cair, pasta atau dalam bentuk gel atau bubur. Viskositas menunjukkan tingkat kekentalan suatu produk. Viskositas adalah resistensi atau ketidakmampuan suatu bahan untuk mengalir bila dikenai gaya hambat. Bahan pangan pada umumnya dalam bentuk cairan dan padatan. Bahan pangan yang memiliki sifat alir tidak mengalir disebut viskositas. Hal ini terjadi karena adanya gaya gesek internal yang menghambat alirannya (Sri Kanoni, 1999 didalam Herlina, 2007).

Kekentalan merupakan daya tahan aliran fluida. Untuk memahami perilaku aliran fluida diperlukan persamaan gerak fluida seperti viskometer. Kekentalan dapat terjadi pada cairan maupun gas. Dalam cairan, kekentalan disebabkan oleh gaya kohesif antar molekul. Dalam gas, kekentalan berasal dari tumbukan antar molekul tersebut. Produk pangan dikatakan kental jika nilai viskositasnya tinggi dan sebaliknya jika nilai viskositasnya rendah disebut encer. Perubahan kekentalan merupakan petunjuk adanya kerusakan, penyimpanan, atau penurunan mutu pangan (Anindya, 2010).

Berdasarkan tabel 9 menunjukkan bahwa pengaruh konsentrasi pelarut dan lama waktu maserasi memberikan pengaruh nyata pada viskositas ekstrak daun

black mulberry. Nilai viskositas tertinggi dihasilkan oleh kode sampel p₂m₃ (konsentrasi pelarut metanol 70% dan waktu maserasi 3 hari) sebesar 30.22 kg/m.s. Hal ini diduga karena pada konsentrasi metanol 70% dan waktu maserasi 3 hari komponen padatan yang terlarut oleh metanol 70% lebih banyak, sehingga menyebabkan peningkatan viskositas pada bahan. Menurut Bourne (1982), komponen terlarut yang semakin besar dalam suatu larutan akan meningkatkan nilai viskositasnya. Salah satu faktor yang mempengaruhi viskositas suatu larutan adalah kandungan bahan yang terlarut didalamnya.

Analisis kekentalan (viskositas) yang digunakan dalam pengujian ekstrak daun *black mulberry* adalah menggunakan viskometer *Ostwald*. Viskometer *Ostwald* digunakan untuk mengukur sampel yang encer atau kurang kental. Berdasarkan persamaan *poisseulle*, dengan membandingkan waktu alir cairan sampel dan cairan pembanding menggunakan alat yang sama (Anonim, 2013).

4.2.2.2. Penentuan Rendemen Maserasi

Berdasarkan hasil analisis variansi (lampiran 8), diketahui bahwa terdapat pengaruh nyata terhadap nilai rendemen ekstrak daun *black mulberry* (*Morus nigra* L.) pada interaksi antara konsentrasi pelarut (P) dan lama waktu maserasi (M) ekstrak daun *black mulberry* (*Morus nigra* L.). Hasil dari penentuan nilai rendemen maserasi dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Pengaruh Interaksi Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Maserasi Terhadap Nilai Rendemen Maserasi Ekstrak Daun *Black Mulberry* (%).

Konsentrasi Pelarut	Lama Waktu Maserasi		
	m ₁ (1 hari)	m ₂ (2 hari)	m ₃ (3 hari)
p ₁ (65%)	24.75 a	27.13 b	31.19 c
p ₂ (70%)	19.81 a	23.81 b	26.00 c
p ₃ (75%)	12.54 a	21.80 b	28.03 c

Keterangan : Rata-rata perlakuan yang ditandai oleh huruf kapital yang berbeda (arah vertikal) dan huruf kecil yang berbeda (arah horizontal) menunjukkan perbedaan nyata menurut uji Duncan pada taraf nyata 5%.

Berdasarkan tabel 10 menunjukkan bahwa pengaruh interaksi konsentrasi pelarut dan lama waktu maserasi memberikan pengaruh nyata pada nilai rendemen maserasi ekstrak daun *black mulberry*. Nilai rendemen maserasi tertinggi dihasilkan oleh kode sampel p₁m₃ (konsentrasi pelarut metanol 65% dan waktu maserasi 3 hari) sebesar 31.19%, sedangkan nilai rendemen terendah ditunjukkan pada konsentrasi pelarut metanol 75% dan waktu maserasi 1 hari (p₃m₁) yaitu sebesar 12.54%. Dapat disimpulkan bahwa semakin lama waktu maserasi yang dilakukan maka akan semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan. Hasil yang didapat didasarkan dari penelitian Du *et all* (2008), kondisi maserasi menggunakan pelarut konsentrasi 65% dan diulang sebanyak 3 kali. Hal ini berdasarkan kondisi optimal untuk ekstrask daun murbei. Pelarut berperan dalam mengekstraksi metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia berdasarkan prinsip *like dissolve like*, yaitu metabolit sekunder yang bersifat polar akan terekstrak oleh pelarut polar, sebaliknya senyawa nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar. Sehingga total

flavonoid daun murbei akan lebih tinggi. Kandungan flavonoid yang tinggi dapat meningkatkan aktivitas antioksidan.

Istilah *maceration* berasal dari bahasa latin *macerare*, yang artinya “merendam”, merupakan proses paling tepat ketika obat yang sudah halus memungkinkan untuk direndam dalam menstrum sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut. Dasar dari maserasi adalah melarutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuknya pada saat penghalusan, ekstraksi (difusi) bahan kandungan dari sel yang masih utuh. Setelah selesai waktu maserasi artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan masuk kedalam cairan, telah tercapai maka proses difusi segera berakhir. Selama maserasi atau proses perendaman dilakukan pengocokan berulang-ulang. Upaya ini menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat didalam cairan. Sedangkan keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunannya perpindahan bahan aktif. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengestraksi, akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Voigh, 1994).

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi yang merupakan metode ekstraksi yang paling sederhana. Pelarut yang digunakan untuk maserasi yaitu pelarut metanol, digunakan pelarut metanol karena pelarut ini dapat melarutkan hampir semua senyawa organik yang ada pada sampel, mudah menguap sehingga mudah dibebaskan dari ekstrak. Setelah proses ekstraksi ekstrak cair kemudian dikumpulkan lalu diuapkan dengan menggunakan alat rotavapor (*rotary*

vacuum evaporator) dengan tujuan untuk mendapatkan ekstrak metanol kental. Penentuan rendemen berfungsi untuk mengetahui kadar metabolit sekunder yang terbawa oleh pelarut tersebut namun tidak dapat menentukan jenis senyawa yang terbawa tersebut (Ukieyanna, 2012).

Wibowo dan Sudi (2004) dalam Alfiana (2013), menegaskan bahwa lamanya waktu proses ekstraksi sangat berpengaruh terhadap ekstrak yang dihasilkan. Dalam tabel diketahui bahwa rendemen ekstrak yang dihasilkan berbeda dalam berbagai waktu. Kenaikan waktu proses yang digunakan akan menghasilkan kenaikan nilai rendemen, begitu pula lamanya waktu ekstraksi akan meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam bahan baku.

Rendemen ekstraksi tertinggi diperoleh saat menggunakan pelarut metanol 65% yang bersifat polar. Pelarut tersebut dapat mengekstrak senyawa polar maupun nonpolar dalam sampel sehingga menghasilkan rendemen paling tinggi di antara penggunaan pelarut lainnya. Pelarut metanol 65% dapat mengambil senyawa flavonoid yang terikat dengan glikosida maupun flavonoid yang tidak memiliki ikatan glikosida. Lama waktu ekstraksi juga sangat mempengaruhi rendemen ekstraksi. Hal ini dikarenakan pada teknik maserasi terjadi kontak yang lebih lama dan intensif antara pelarut dan sampel yang menyebabkan komponen dalam sampel berpindah ke dalam pelarut sehingga nilai rendemen semakin tinggi.

V KESIMPULAN DAN SARAN

Bab ini akan membahas mengenai : (1) Kesimpulan dan (2) Saran.

5.1. Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Pengaruh konsentrasi pelarut berpengaruh nyata terhadap sifat fisikokimia daun *black mulberry* (*Morus nigra* L.).
2. Lama waktu maserasi berpengaruh nyata terhadap sifat fisikokimia daun *black mulberry* (*Morus nigra* L.).
3. Interaksi konsentrasi pelarut dan lama waktu maserasi berpengaruh nyata terhadap sifat fisikokimia daun *black mulberry* (*Morus nigra* L.).

5.2. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai jenis pelarut lain yang lebih bervariasi dan mencoba variasi konsentrasi yang berbeda serta penambahan waktu maserasi lebih dari 3 hari agar hasil yang didapat lebih optimal.
2. Perlu dilakukan uji golongan senyawa flavonoid selain golongan flavonol seperti isoflavon untuk penelitian selanjutnya.
3. Perlu dilakukan pengujian sifat fisikokimia yang lebih bervariasi dan penggunaan bahan baku selain menggunakan daun mulberry varietas *Morus nigra* L. supaya didapat hasil yang lebih bervariasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfiana D. H. 2013. **Ekstraksi Minyak Melati (*Jasminum Sambac*) (Kajian Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi)**. Skripsi Jurusan Teknologi Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.
- Anindya, Fariza. 2010. **Karakteristik Fisik dan Nilai Derajat Keasaman Jus Buah Naga yang Dimasukkan di Botol Berwarna**. Institut Pertanian Bogor.
- Anonim. 2013. **Viskositas Ostwald**.
<http://kimiatip.blogspot.co.id/2013/07/Penentuan-Viskositas-Cairan-Dengan-Alat-Viskometer-Ostwald.html>. Diakses : 2 Oktober 2017.
- Ansel, H. C. 1989. **Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi**. Edisi 4, Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Amma, NR. 2009. **Efek Hipoglikemik Ekstrak Daun Murbei (*Morus multicaulis*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus DM [Disertasi]**. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Atmosoedarjo, S., J. Kartasubrata, M. Kaomini, W. Saleh, dan W. Moerdoko. 2000. **Sutera Alam Indonesia**. Yayasan Sarana Jaya, Jakarta.
- Braam, W. 1980. **100 Pertanyaan Mengenai Kanker**. Penerbit Sinar Harapan, Jakarta.
- Borne, M.C., 1982. *Food Texture and Viscosity*, Academic Press Inc., New York.
- Chun OK, DO Kim dan CY Lee. 2003. *Superoxide Radical Scavenging Activity of the Major Polyphenols in Fresh Plums*. J Agric Food Chem, 51 (27):8067-8072.
- Cook, N. C. and S. Samman. 1996. *Review Flavonoids-Chemistry, Metabolism, Cardioprotective Effect, and Dietary Sources*. J. Nutr. Biochem (7): 66-76.
- Copriyadi, J. 2002. **Gallokatekin: Senyawa Flavonoid Lainnya dari Kulit Batang Rengas (*Glutarengas, Linn.*)**. Jurnal Natur Indonesia, 4 (1).
- Cordell, V.V. 2000. *Fundamental of Financial Planning*. Pennsylvania USA: The American College. 4th eds.
- Cuppert, S., M. Schrepf and C. Hall III. 1954. *Natural Antioxidant – Are They Reality. Dalam Foreidoon Shahidi: Natural Antioxidants, Chemistry, Health Effect and Applications*. AOCS Press, Champaign, Illinois: 12-24.
- Cushnie, T.P.T. & Lamb, A.J. 2005. **Antimicrobial Activity of Flavonoids**. *International Journal Of Antimicrobial Agents*, 26: 343-356.

- Dalimartha, Setiawan. 2002. **Atlas tumbuhan obat Indonesia jilid 2**. Jakarta: Trubus Agriwidya. p. 71-4, 76-7.
- Depkes, RI, 1995. **Farmakope Indonesia, ed. 4**. Depkes RI, Jakarta, 4, 449-450.
- Du Q, Zheng J, Xu Y. 2008. **Composition of anthocyanins in mulberry and their antioxidant activity**. Journal of Food Composition and Analysis. 21:390-395.
- Frei B dan JV Higdon. 2003. **Antioxidant Activity of Tea Polyphenols In Vivo: Evidence from Animals Studies**. J Nutr, 133(10):3275S-3284S.
- Gasperz, V. 1995. **Teknik Analisis Dalam Penelitian Percobaan**. Cetakan kedua. Penerbit Tarsito. Bandung.
- Geissman, T.A. 1962. **The Chemistry of Flavonoid Compound, 3-5**. The Mac Millan Company, New York.
- Harbone, J.B. 1987. **Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan (Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro)**. Penerbit ITB, Bandung.
- Heijnen CG, GR Haenen, FA van Acker, WJ van der Vijgh dan A Bast. 2001. **Flavonoids as Peroxynitrite Scavengers: the Role of the Hidroxyl Groups**. Toxicol In Vitro, 15(1):3-6.
- Hess, D, tt. **Plant Physiology, Molecular, Biochemical, and Physiological Fundamentals of Metabolism and Development**. Toppan Company (S) Pte Ltd, Singapore: 117-118.
- Hilwiyah, A. 2007. **Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan serta Kadar Total Fenol-Flavonoid Ekstrak Etanol Murbei (Morus alba L.)**. Tugas Akhir, Biologi. Universitas Negeri Malang.
- Kakizoe and tadao, 2003. **'Chemoprevention of cancer Focusing on Clinical Trials'**, Jpn J. Clin. Oncol. 33(9). 421-442.
- Kusharto, C. 2006. **Serat Makanan dan Peranannya bagi Kesehatan. Jurnal Gizi dan Pangan 2 (3) p: 45-54**.
- Lamaison, J. L. C. dan A. Carnet. 1990. **Teneurs en principaux flavonoids desfleurs de crataegeusmonogyna jacq et de cratageus laevigata en fonction de la vegetation**. Pharm. Acta. Helv, 65: 315-320.
- Lautan, J. 1997. **Radikal Bebas Pada Eritrosit dan Leukosit**. Cermin Dunia Kedokteran, 116, 49-52.
- Lestari, W. A. 2016. **Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Murbei (Morus alba L.) Dengan Metode Thiobarbituric Acid (TBA)**. Tugas Akhir, Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Intitut Pertanian Bogor, Bogor.

- Lisdawati, V., S. Wiryowidagdo dan L. B. S. Kardono. 2006. ***Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)***. Buletin Panel Kesehatan, 34 (3) : 111-118.
- Lotito SB dan B Frei. 2006. ***Consumption of Flavonoid-Rich Foods and Increased Plasma Antioxidant Capacity in Humans: Cause, Consequence, or Epiphenomenon?*** Free Radic Biol Med, 41(12):1727:1746.
- Madhavi, D.L., R.S. Singhal, P.R. Kulkarni. 1985. ***Technological Aspects of Food Antioxidants dalam D.L. Madhavi, S.S. Deshpande dan D.K. Salunkhe: Food Antioxidant, Technological, Toxicological and Health Perspectives***. Marcel Dekker Inc., Hongkong: 161-265.
- Mangan, Y. 2003. **Cara Bijak Menaklukkan Kanker**. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Markham, K.R. 1988. **Cara Mengidentifikasi Flavonoid, 1-3, 10-25, 39-46**, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Intstitut Teknolog Bandung Press, Bandung.
- Marquez UML, Barros RMC, Sinnecher RP. 2005. ***Antioxidant Activity of Chlorophylls and Their Derivates***. Brazil: *Departement of Food and Experimental Nutrition*.
- Maslarova, N.V. Yanishlieva. 2001. ***Inhibiting oxidation dalam Jan Pokorny, Nedyalka Yanislieva dan Michael Gordon: Antioxidants in food, Practical applications***. Woodhead Publishing Limited, Cambridge: 22-70.
- Meiyanto, E., Susilowati, S., Tasminatun, S., Murwanti, R., and Sugiyanto. 2007. **Efek kemopreventif ekstrak etanolik *Gynura procumbens* (Lour), Merr pada karsinogenesis kanker payudara tikus**, MFI, 18, 154-161.
- Monache, F.D., Waterman, P.G., Cricton, E.G., dan De Lima, R.A. 1996. ***Minor Xanthones from Rheedea gardneriana***. Phytochemsity, 23 (8), pp. 1757-1759.
- Murniasih, T. 2003. **Metabolit Sekunder dari Spons sebagai Bahan Obat-obatan**. Oseana, 28 (3) : 27-33.
- Mursito, B. 2001. **Ramuan Tradisional untuk Pengobatan Jantung**. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Oktavia, Julia Devy. 2011. **Pengoptimuman Ekstraksi Flavonoid Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dan Analisis Sidik Jari dengan Metode Kromatofragi Lapis Tipis**. Tugas Akhir, Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Intitut Pertanian Bogor.
- Pietta, P. G. 2000. ***Reviews: Flavonoids as Antioxidants***. Journal of Natural Products, 63 (7): 1035-1042.

- Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M. 2001. **Antioxidant in Food. Practical Applications**. Woodhead Publishing Ltd and CRC Press LLC.
- Ren, W, Qiao, Z, Wang, H, Zhu, L and Zhang L. 2003. **Flavonoids : Promising Anticancer Agents**, Medicinal Research Review, vol. 23, no 4, pp. 519-34.
- Rohdiana, D. 2001. **Aktivitas Daya Tangkap Radikal Polifenol Dalam Daun Teh**. Majalah Jurnal Indonesia.
- Rohyami, Y dan Shabur, T.J. 2003. **Isolasi dan Identifikasi Flavonoud dari Ekstrak Metanol Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa Boerl*) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis**. Prosiding Seminar Nasional Farmasi UII, Yogyakarta. Hal 35.
- Rohyami, Y. 2007. **Identifikasi Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa Boerl*) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FT-IR**. Penelitian PDM DIKTI.
- Redha, A. 2010. **Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis**. Tugas Akhir, Teknologi Pertanian. Politeknik Negeri Pontianak.
- Robinson, T. 1995. **Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi**. Bandung: ITB.
- Saiz-Urra, L., Perez-Castillo, Y., Gonzalez, M.P., Ruiz, R.M., Corderio, M.N.D.S., Rodriguez-Borges, J.E. Garcia, X.G. 2009. **Theoretical Prediction On Antiproliferative Activity Againts Murine Leukemia Tumor Cell Line (L1210). 3D-Morse Descriptor And Its Application in Computational Chemistry**. QSAR Combinational Sci. 28 (1). pp 98-110.
- Samsijah. 1992. **Pemilihan tanaman murbei *morus sp* yang sesuai dengan daerah sindang resmi Sukabumi, Jawa Barat**. Buletin Penelitian Hutan. 547:45-59.
- Sarjadi. 1992. **Karsinoma, Epidermoid Serviks Uterus**. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Sies, H. 1993. **Strategies of Antioxidant Defense**. European Journal of Biochemistry, 213, 215-219.
- Silalahi, J. 2006. **Makanan Fungsional**. Kanisius. Yogyakarta.
- SNI 01-2891-1992. **Bubuk dan Rempah-Rempah**. Halaman 5.
- Sunanto, H. 1997. **Budidaya Murbei dan Usaha Persuteraan Alam**. Kanisius. Yogyakarta.
- Swardana, I. B. 2012. **Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid dari Madu Kelengkeng (*Nephelium longata L.*)**. FMIPA, Universitas Udayana. Bukit Jimbaran.

- Tahir, I., Wijaya, K., & Widyaningsih, D. 2003. **Terapan Analisis Hansch Untuk Aktivitas Antioksidan Senyawa Turunan Flavon/Flavonol**. *Seminar on Chemometrics*. Yogyakarta: Departemen Kimia Universitas Gajah Mada.
- Tri Windono. 2002. **Kajian Pustaka Kandungan Kimia Murbei**. <http://repository.ubaya.ac.id/307/murbei.pdf>. Diakses 14 Mei 2016.
- Ukheyanna, E. 2012. **Aktivitas Antioksidan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Tumbuhan Suruhan (*Peperomia pellucid L. Kunth*)**. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Utomo. Deny. 2013. **Komposisi Kimia Murbei**. *Jurnal Teknologi Pangan* Vol 5. No 1. Fakultas Pertanian. Universitas Yudharta. Pasuruan.
- Voight, R. 1994. **Buku Pelajaran Teknologi Farmasi edisi V**. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press.
- Wahyudi, P. 2009. **Pemakaian Sel HeLa dalam Uji Sitoksisitas Fraksi Kloroform dan Etanol Esktrak Daun *Annona squanosa***. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*.
- White, P.J. and Y. Xing. 1951. ***Antioxidants from Cereals and Legumes dalam Foreidoon Shahidi: Natural Antioxidants, Chemistry, Health Effect and Applications***. AOCS Press, Champaign, Illinois: 25-63.
- Williams RJ, JP Spencer dan C Rice-Evans, 2004. ***Flavonoids: antioxidants or signalling molecules***. *Free Radic Biol Med*, 36(7):838-849.

LAMPIRAN

Lampiran Prosedur Analisis

Prosedur dan contoh perhitungan analisis kimia dan fisika untuk ekstrak daun *black mulberry* adalah sebagai berikut :

Analisis Kimia

Lampiran 1. Analisis Flavonoid secara Kualitatif (Robinson,1995)

Uji flavonoid dilakukan dengan memanaskan ekstrak daun black mulberry selama lima menit kemudian ditambah 1 ml HCl pekat, ditambah 0,1 mg serbuk Mg dan 2 ml amil alkohol, dikocok dan dibiarkan memisah. Hasil ditunjukkan dengan munculnya warna merah tua (Robinson, 1995).

Lampiran 2. Penentuan Pengenceran Pelarut

Pelarut yang digunakan pada penelitian yaitu etanol dan metanol dilakukan pengenceran dengan volume 400 mL dan konsentrasi sebesar 70%. Pelarut etanol/metanol 96% di ukur dengan gelas ukur terkalibrasi. Kemudian dimasukkan kedalam gelas kimia dan dilakukan pengadukan dengan batang pengaduk sehingga larutan homogen.

Lampiran 3. Penentuan Nilai Rendemen Maserasi

Daun *black mulberry* yang telah bersih kemudian dihancurkan untuk mempermudah proses ekstraksi dan agar senyawa aktif senyawa kimia dalam daun lebih mudah keluar dan terekstrak. Sampel sebanyak 50 gram serbuk simplisia daun *black mulberry* ke dalam botol gelap, tambahkan 400 mL pelarut metanol. Metode yang digunakan untuk proses pembuatan ekstrak daun *black mulberry* menggunakan metode maserasi dengan pelarut terpilih menggunakan konsentrasi 65%, 70%, dan 75% dengan perbandingan masing-masing 8:1, serta waktu yang

digunakan untuk maserasi yaitu 1x24 jam, 2x24 jam, dan 3x24 jam di wadah tertutup dan terhindar dari sinar matahari. Setelah didapat ekstrak daun *black mulberry* kemudian dilakukan proses evaporasi dengan suhu 45°C selama 60 menit yang bertujuan untuk menghilangkan pelarut dengan cara diuapkan dan menghilangkan bau pelarut. Proses ekstraksi dilakukan hingga diperoleh ekstrak yang masih dapat dituang, lalu ekstrak dikeringkan atau dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* untuk menghilangkan air dan didapat ekstrak daun *black mulberry*.

Hitung hasil rendemen ekstrak metanol 70% daun *black mulberry* (*Morus nigra L*) dengan rumus berikut :

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{filtrat evaporasi}}{\text{filtrat maserasi}} \times 100\%$$

Lampiran 4. Penentuan Kadar Air dengan Metode Gravimetri (AOAC, 2005)

Simplisia daun *black mulberry* yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 1-2 gram, lalu masukkan ke dalam cawan konstan yang sudah ditimbang terlebih dahulu. Kemudian cawan yang telah berisi sampel dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105°C selama 2-3 jam. Selanjutnya didiamkan di suhu ruang selama 5 menit dan disimpan dalam eksikator selama 10 menit. Setelah dingin cawan yang berisi sampel tersebut ditimbang, lalu dimasukkan kembali ke dalam oven selama 30 menit sampai didapatkan bobot konstan (selisih penimbangan maksimal 0,02 gram).

Lampiran 5. Penentuan Kadar Total Flavonoid secara Kuantitatif (Lamaison dan Carnet 1990)

Pembuatan Larutan Standar

Kuersetin ditimbang sebanyak 10 mg, dimasukkan dalam gelas piala 50 mL dan dilarutkan dengan 25 mL metanol, kemudian diaduk hingga homogen. Setelah itu larutan dipindahkan kedalam labu takar 100 mL dan ditambahkan metanol sampai pada garis eksa, lalu digojok hingga homogen. Encerkan larutan baku induk untuk mendapatkan larutan baku kerja dengan konsentrasi 0,1 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm, 2 ppm dan 2,5 ppm.

Analisis Kadar Flavonoid

Larutan standar berupa kuersetin dibuat berbagai konsentrasi. Ekstrak (etanol/metanol) murbei sebanyak 10 mL dilarutkan dalam metanol sampai 25 mL, kemudian dihomogenisasi dan didiamkan selama 30 menit, kemudian disentrifus pada 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh sebanyak 25 mL kemudian ditambah dengan 25 mL HCl 25% dalam aseton dan diletakkan dalam pendingin balik, selanjutnya dipanaskan pada suhu 100°C selama 30 menit, dan kemudian segera didinginkan. 5 mL filtrat selanjutnya diambil dan ditambahkan dengan 5 mL AlCl₃ 5% dalam metanol, kemudian diencerkan sampai 25 mL metanol. Sampel selanjutnya dihomogenisasi dan didiamkan 5 menit. Sampel selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 425 nm. Data hasil absorbansi yang didapatkan dianalisis statistik untuk menentukan persamaan regresi linier sederhana yaitu sebagai berikut :

$$y = a + b(x)$$

Keterangan :

y = absorbansi

x = konsentrasi flavonoid

Selanjutnya hasil perhitungan regresi dimasukkan kedalam perhitungan kadar flavonoid dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$F = \frac{c \times V \times f \times 10^{-6}}{m} \times 100\%$$

Keterangan :

F : jumlah flavonoid metode AlCl_3

c : konsentrasi sampel (ppm)

V : Volume total ekstrak

f : faktor pengenceran

m : berat sampel (g)

Analisis Fisika

Lampiran 6. Penentuan Tingkat Kekentalan Ekstrak dengan Metode Viskometer Ostwald

Pipet 5 mL/10 mL sampel kemudian dimasukkan ke dalam alat viscometer. Tetapkan waktu alir sampel dan standar dengan cara sebagai berikut : Sampel dihisap menggunakan filler sampai melebihi tanda garis atas, lepaskan alat hisap. Jalankan *stopwatch* ketika cairan sampel berimpit dengan tanda garis atas alat viscometer dan matikan *stopwatch* ketika cairan sampel berimpit dengan tanda garis bawah alat viscometer. Catat waktu alir yang diperlukan standar (air suling) dan sampel. Catat suhu ruangan pengukuran.

Hitung hasil viskositas ekstrak dengan rumus sebagai berikut :

$$\frac{\mu_i}{\mu_A} = \frac{\rho_1 \times t_1}{\rho_2 \times t_2}$$

Keterangan :

μ_i = viskositas larutan standar (air suling)

μ_A = viskositas larutan sampel ekstrak

ρ_1 = densitas larutan standar (air suling)

ρ_2 = densitas larutan sampel ekstrak

t_1 = waktu larutan standar (air suling)

t_2 = waktu larutan sampel ekstrak

Lampiran 7. Hasil Penelitian Pendahuluan Analisis Flavonoid secara Kualitatif (Robinson, 1995)

Tabel 11. Hasil Analisis Flavonoid secara Kualitatif

Metabolit Sekunder	Metode Uji	Hasil Uji
Flavonoid	Pereaksi HCl pekat + Mg	+

Lampiran 8. Hasil Penelitian Pendahuluan Pengenceran Pelarut

- **Perhitungan Pengenceran Pelarut Etanol 70%**

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

$$V_1 \times 96 = 400 \times 70$$

$$V_1 = 400 \times 70 / 96$$

$$= 291.66 \text{ ml} \longrightarrow 292 \text{ ml etanol}$$

$$\text{Aquadest} = 108 \text{ mL}$$

- **Perhitungan Pengenceran Pelarut Metanol 70%**

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

$$V_1 \times 96 = 400 \times 70$$

$$V_1 = 400 \times 70 / 96$$

$$= 291.66 \text{ ml} \longrightarrow 292 \text{ ml metanol}$$

$$\text{Aquadest} = 108 \text{ mL}$$

Lampiran 9. Hasil Penelitian Pendahuluan Penentuan Nilai Rendemen

Maserasi (%)

- Perhitungan Nilai Rendemen Maserasi Pelarut Etanol 70%

Diketahui : Volume awal (8:1) = 400 ml

Filtrat hasil maserasi = 270 ml

Filtrat hasil evaporasi = 48 ml

Ditanyakan : %Rendemen ?

$$\%Rendemen = \frac{\text{filtrat evaporasi}}{\text{filtrat maserasi}} \times 100\%$$

$$\%Rendemen = \frac{44 \text{ mL}}{270 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$\%Rendemen = 16,29\%$$

- Perhitungan Nilai Rendemen Maserasi Pelarut Metanol 70%

Diketahui : Volume awal (8:1) = 400 mL

Filtrat hasil maserasi = 46 mL

Filtrat hasil evaporasi = 246 mL

Ditanyakan : %Rendemen ?

$$\%Rendemen = \frac{\text{filtrat evaporasi}}{\text{filtrat maserasi}} \times 100\%$$

$$\%Rendemen = \frac{46 \text{ mL}}{246 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$\%Rendemen = 18,69\%$$

Tabel 12. Hasil Penelitian Pendahuluan Penentuan Nilai Rendemen Maserasi (%)

Komponen yang Dianalisis	Jenis Pelarut	
	Etanol 70%	Metanol 70%
Rendemen	16,29	18,69

Lampiran 10. Hasil Penelitian Pendahuluan Penentuan Kadar Air Metode

Gravimetri

Hasil Perhitungan Penentuan Kadar Air (Ulangan I):

$$\text{Dik : } W_{\text{cawan konstan}} (W_0) = 22.50 \text{ g}$$

$$W_{\text{sampel}} (W_s) = 2.00 \text{ g}$$

$$W_{\text{cawan+sampel}} (W_1) = 24.50 \text{ g}$$

$$W_{\text{cawan+sampel konstan}} (W_2) = 24.40 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar Air (\%)} &= \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \times 100 \\ &= \frac{24.50 \text{ g} - 24.40 \text{ g}}{24.50 \text{ g} - 22.50 \text{ g}} \times 100 \\ &= 5 \text{ \%} \end{aligned}$$

Hasil Perhitungan Penentuan Kadar Air (Ulangan II):

$$\text{Dik : } W_{\text{cawan konstan}} (W_0) = 22.50 \text{ g}$$

$$W_{\text{sampel}} (W_s) = 2.02 \text{ g}$$

$$W_{\text{cawan+sampel}} (W_1) = 24.52 \text{ g}$$

$$W_{\text{cawan+sampel konstan}} (W_2) = 24.42 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar Air (\%)} &= \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \times 100 \\ &= \frac{24.52 \text{ g} - 24.42 \text{ g}}{24.52 \text{ g} - 22.50 \text{ g}} \times 100 \\ &= 4.95 \text{ \%} \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata kadar air (\%)} = \frac{5 + 4.95}{2} = 4.975\%$$

Lampiran 11. Hasil Penelitian Pendahuluan Analisis Tingkat Kekentalan

Metode Viskometer Ostwald (Kg/ms)

- **Pelarut Etanol 70%**

Diketahui : $W_{\text{pikno kosong}} = 13,50 \text{ gram} = 0,01350 \text{ kg}$

$W_{\text{pikno+sampel}} = 37,90 \text{ gram} = 0,03790 \text{ kg}$

$V_{\text{pikno}} = 25 \text{ mL} \longrightarrow 25 \times 10^{-6} \text{ m}^3$

Waktu (t_1) = 5,60 s

Waktu (t_2) = 12,50 s

Suhu air = 26,4°C

Ditanyakan : μ_A ?

$$\begin{aligned} \text{Densitas ekstrak sampel } (\rho_2) &= \frac{W_{\text{pikno ekstrak}} - W_{\text{pikno kosong}}}{V_{\text{pikno}}} \\ &= \frac{0,03790 \text{ kg} - 0,01350 \text{ kg}}{25 \times 10^{-6} \text{ m}^3} \\ &= 9760 \text{ kg/m}^3 \end{aligned}$$

Interpolasi Densitas air (ρ_1) :

$$\begin{aligned} x &= 997,08 + \left[\frac{26,4 - 25}{30 - 25} \right] (995,68 - 997,08) \\ &= 997,08 + (0,28 \times (-1,4)) \\ &= 996,68 \text{ kg/m}^3 \end{aligned}$$

Interpolasi Viskositas air (μ_i) :

$$\begin{aligned} x &= 0,8737 + \left[\frac{26,4 - 26}{28 - 26} \right] (0,8360 - 0,8737) \\ &= 0,8737 + (0,2 \times (-0,0377)) \\ &= 0,8661 \text{ kg/m.s} \end{aligned}$$

- Perhitungan viskositas sampel daun *black mulberry* dengan pelarut etanol

70%

$$\frac{\mu_i}{\mu_A} = \frac{\rho_1 \times t_1}{\rho_2 \times t_2}$$

$$\frac{0,8661 \text{ kg/ms}}{\mu_A} = \frac{996,68 \text{ kg/m}^3 \times 5,60 \text{ s}}{9760 \text{ kg/m}^3 \times 12,50 \text{ s}}$$

$$= 18,93 \text{ kg/ms}$$

- **Pelarut Metanol 70%**

Diketahui : W pikno kosong = 13,53 gram = 0,01353 kg

W pikno+sampel = 37,95 gram = 0,03795 kg

V pikno = 25 mL \longrightarrow $25 \times 10^{-6} \text{ m}^3$

Waktu (t_1) = 5,50 s

Waktu (t_2) = 13,77 s

Suhu air = 25,8°C

Ditanyakan : μ_A ?

$$\text{Densitas ekstrak sampel } (\rho_2) = \frac{W \text{ pikno ekstrak} - W \text{ pikno kosong}}{V \text{ pikno}}$$

$$= \frac{0,03795 \text{ kg} - 0,01353 \text{ kg}}{25 \times 10^{-6} \text{ m}^3}$$

$$= 9768 \text{ kg/m}^3$$

Interpolasi Densitas air (ρ_1) :

$$x = 997,08 + \left[\frac{25,8 - 25}{30 - 25} \right] (995,68 - 997,08)$$

$$= 997,08 + (0,16 \times (-1,4))$$

$$= 996,856 \text{ kg/m}^3$$

Interpolasi viskositas (air suling) :

$$\begin{aligned} x &= 0,8937 + \left[\frac{25,8-25}{26-25} \right] (0,8737-0,8937) \\ &= 0,8937 + (0,8 \times (-0,02)) \\ &= 0,8777 \text{ kg/m.s} \end{aligned}$$

- Perhitungan viskositas ekstrak sampel daun *black mulberry* dengan pelarut methanol 70%

$$\frac{\mu_i}{\mu_A} = \frac{\rho_1 \times t_1}{\rho_2 \times t_2}$$

$$\begin{aligned} \frac{0,8777 \text{ kg/ms}}{\mu_A} &= \frac{996,856 \text{ kg/m}^3 \times 5,50 \text{ s}}{9768 \text{ kg/m}^3 \times 13,77 \text{ s}} \\ &= 21,53 \text{ kg/ms} \end{aligned}$$

Tabel 13. Hasil Penelitian Pendahuluan Penentuan Viskositas (kg/ms)

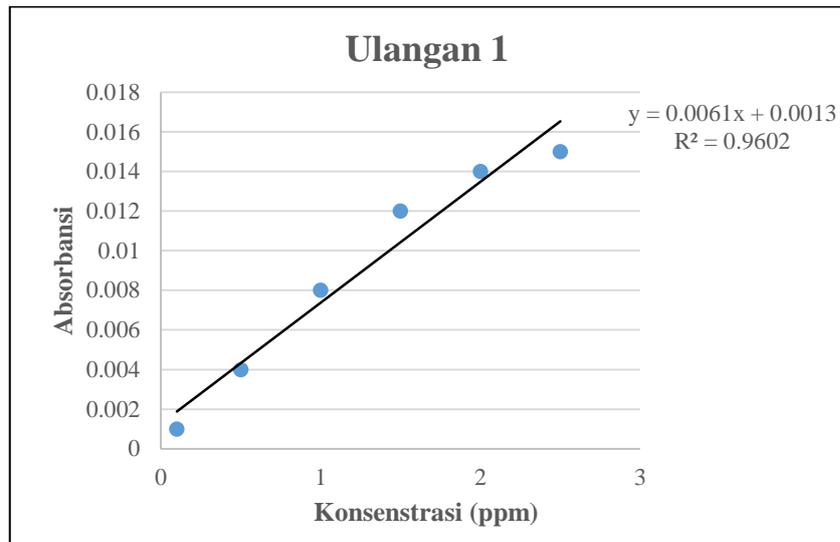
Komponen yang Dianalisis	Jenis Pelarut	
	Etanol 70%	Metanol 70%
Viskositas	18,93	21,53

Lampiran 12. Hasil Penelitian Utama Kadar Total Flavonoid Metode AlCl_3

(%)

Tabel 14. Hasil Penentuan Standar Kuersetin Absorbansi 425.0 Ulangan 1

Konsentrasi ppm	Nilai Absorbansi 425.0
0	0.001
0.5	0.004
1	0.008
1.5	0.012
2	0.014
2.5	0.015



$$a = 0.0013$$

$$b = 0.0061$$

y = nilai absorbansi sampel

$$r^2 = 0.9602$$

Tabel 15. Absorbansi Sampel (425.0) Ulangan 1

Kode Sampel	Nilai Absorbansi		
	y	a	b
P1m1	4.0220	0.0013	0.0061
P1m2	1.2710	0.0013	0.0061
P1m3	2.8190	0.0013	0.0061
P2m1	2.2020	0.0013	0.0061
P2m2	2.4070	0.0013	0.0061
P2m3	1.3960	0.0013	0.0061
P3m1	2.3030	0.0013	0.0061
P3m2	1.9930	0.0013	0.0061
P3m3	2.5830	0.0013	0.0061

- Perhitungan konsentrasi ppm

$$x = (y-a)/b$$

$$P1m1 = \frac{4.0220 - 0.0013}{0.0061} = 659.1311 \text{ ppm}$$

$$P1m2 = \frac{1.2710 - 0.0013}{0.0061} = 208.1475 \text{ ppm}$$

$$P1m3 = \frac{2.8190-0.0013}{0.0061} = 461.9180 \text{ ppm}$$

$$P2m1 = \frac{2.2020-0.0013}{0.0061} = 360.7704 \text{ ppm}$$

$$P2m2 = \frac{2.4070-0.0013}{0.0061} = 394.3770 \text{ ppm}$$

$$P2m3 = \frac{1.3960-0.0013}{0.0061} = 228.6393 \text{ ppm}$$

$$P3m1 = \frac{2.3030-0.0013}{0.0061} = 377.3278 \text{ ppm}$$

$$P3m2 = \frac{1.9930-0.0013}{0.0061} = 326.5081 \text{ ppm}$$

$$P3m3 = \frac{2.5830-0.0013}{0.0061} = 423.2295 \text{ ppm}$$

- Perhitungan Kadar Total Flavonoid

$$F = \frac{c \times v \times f \times 10^{-6}}{m} \times 100\%$$

$$P1m1 = \frac{659.1331 \times 62 \times 5 \times 10^{-6}}{5} \times 100\% = 4.0866\%$$

$$P1m2 = \frac{208.1475 \times 65 \times 5 \times 10^{-6}}{5} \times 100\% = 1.3530\%$$

$$P1m3 = \frac{461.9180 \times 83 \times 5 \times 10^{-6}}{5} \times 100\% = 3.8339\%$$

$$P2m1 = \frac{360.7704 \times 49 \times 5 \times 10^{-6}}{5} \times 100\% = 1.7678\%$$

$$P2m2 = \frac{394.3770 \times 70 \times 5 \times 10^{-6}}{5} \times 100\% = 2.7606\%$$

$$P2m3 = \frac{228.6393 \times 63 \times 5 \times 10^{-6}}{5} \times 100\% = 1.4404\%$$

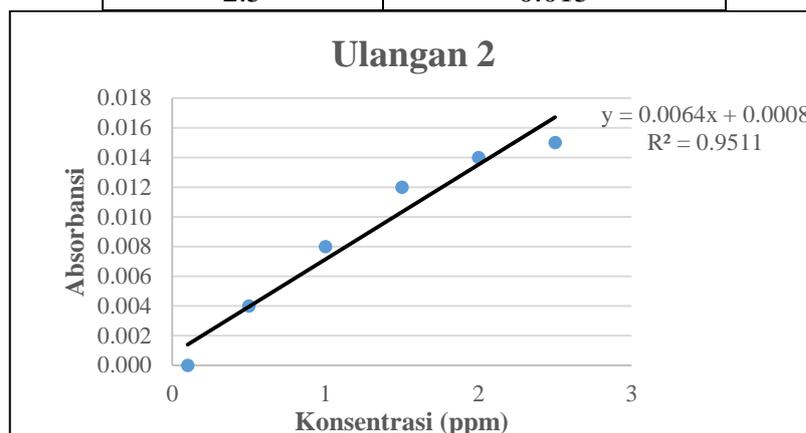
$$P3m1 = \frac{377.3278 \times 33 \times 5 \times 10^{-6}}{5} \times 100\% = 1.2452\%$$

$$P3m2 = \frac{326.5081 \times 68 \times 5 \times 10^{-6}}{5} \times 100\% = 2.2203\%$$

$$P3m3 = \frac{423.2295 \times 65 \times 5 \times 10^{-6}}{5} \times 100\% = 2.7510\%$$

Tabel 16. Hasil Penentuan Standar Kuersetin Absorbansi 425.0 Ulangan 2

Konsentrasi ppm	Nilai Absorbansi 425.0
0	0.000
0.5	0.004
1	0.008
1.5	0.012
2	0.014
2.5	0.015



$$a = 0.0008$$

$$b = 0.0064$$

y = nilai absorbansi sampel

$$r^2 = 0.9511$$

Tabel 17. Absorbansi Sampel (425.0) Ulangan 2

Kode Sampel	Nilai Absorbansi		
	y	a	b
P1m1	4.2670	0.0008	0.0064
P1m2	1.3967	0.0008	0.0064
P1m3	2.9650	0.0008	0.0064
P2m1	2.4160	0.0008	0.0064
P2m2	2.3590	0.0008	0.0064
P2m3	1.5640	0.0008	0.0064
P3m1	2.4090	0.0008	0.0064
P3m2	2.0120	0.0008	0.0064
P3m3	2.7610	0.0008	0.0064

- Perhitungan konsentrasi ppm

$$x = (y-a)/b$$

$$P1m1 = \frac{4.2670-0.0008}{0.0064} = 666.5938 \text{ ppm}$$

$$P1m2 = \frac{1.3967-0.0008}{0.0064} = 218.1094 \text{ ppm}$$

$$P1m3 = \frac{2.9650-0.0008}{0.0064} = 463.1563 \text{ ppm}$$

$$P2m1 = \frac{2.4160-0.0008}{0.0064} = 377.3750 \text{ ppm}$$

$$P2m2 = \frac{2.3590-0.0008}{0.0064} = 368.4688 \text{ ppm}$$

$$P2m3 = \frac{1.5640-0.0008}{0.0064} = 244.2500 \text{ ppm}$$

$$P3m1 = \frac{2.4090-0.0008}{0.0064} = 376.2813 \text{ ppm}$$

$$P3m2 = \frac{2.0120-0.0008}{0.0064} = 314.2500 \text{ ppm}$$

$$P3m3 = \frac{2.7610-0.0008}{0.0064} = 431.2813 \text{ ppm}$$

- Perhitungan Kadar Total Flavonoid

$$F = \frac{c \times v \times f \times x \times 10^{-6}}{m} \times 100\%$$

$$P1m1 = \frac{666.5938 \times 62 \times 5 \times 10^{-6}}{5} \times 100\% = 4.1329\%$$

$$P1m2 = \frac{218.1094 \times 65 \times 5 \times 10^{-6}}{5} \times 100\% = 1.4177\%$$

$$P1m3 = \frac{463.1563 \times 83 \times 5 \times 10^{-6}}{5} \times 100\% = 3.8442\%$$

$$P2m1 = \frac{377.3750 \times 49 \times 5 \times 10^{-6}}{5} \times 100\% = 1.8491\%$$

$$P2m2 = \frac{368.4688 \times 70 \times 5 \times 10^{-6}}{5} \times 100\% = 2.5793\%$$

$$P2m3 = \frac{244.2500 \times 63 \times 5 \times 10^{-6}}{5} \times 100\% = 1.5388\%$$

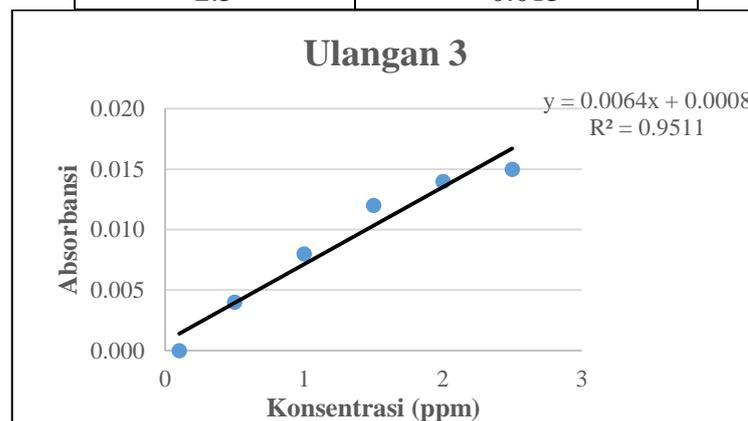
$$P3m1 = \frac{376.2813 \times 33 \times 5 \times 10^{-6}}{5} \times 100\% = 1.2417\%$$

$$P3m2 = \frac{314.2500 \times 68 \times 5 \times 10^{-6}}{5} \times 100\% = 2.1369\%$$

$$P3m3 = \frac{431.2813 \times 65 \times 5 \times 10^{-6}}{5} \times 100\% = 2.8033\%$$

Tabel 18. Hasil Penentuan Standar Kuersetin Absorbansi 425.0 Ulangan 3

Konsentrasi ppm	Nilai Absorbansi 425.0
0	0.000
0.5	0.004
1	0.008
1.5	0.012
2	0.014
2.5	0.015



$$a = 0.0008$$

$$b = 0.0064$$

y = nilai absorbansi sampel

$$r^2 = 0.9511$$

Tabel 19. Absorbansi Sampel (425.0) Ulangan 3

Kode Sampel	Nilai Absorbansi		
	y	a	b
P1m1	4.2810	0.0008	0.0064
P1m2	1.3967	0.0008	0.0064
P1m3	3.0139	0.0008	0.0064
P2m1	2.4836	0.0008	0.0064
P2m2	2.3590	0.0008	0.0064
P2m3	1.5640	0.0008	0.0064
P3m1	2.4130	0.0008	0.0064
P3m2	2.0310	0.0008	0.0064
P3m3	2.7610	0.0008	0.0064

- Perhitungan konsentrasi ppm

$$x = (y-a)/b$$

$$P1m1 = \frac{4.2810-0.0008}{0.0064} = 668.7813 \text{ ppm}$$

$$P1m2 = \frac{1.3967-0.0008}{0.0064} = 218.1094 \text{ ppm}$$

$$P1m3 = \frac{3.0139-0.0008}{0.0064} = 470.7969 \text{ ppm}$$

$$P2m1 = \frac{2.4836-0.0008}{0.0064} = 387.9375 \text{ ppm}$$

$$P2m2 = \frac{2.3590-0.0008}{0.0064} = 368.4688 \text{ ppm}$$

$$P2m3 = \frac{1.5640-0.0008}{0.0064} = 244.2500 \text{ ppm}$$

$$P3m1 = \frac{2.4130-0.0008}{0.0064} = 376.9063 \text{ ppm}$$

$$P3m2 = \frac{2.0310-0.0008}{0.0064} = 317.2188 \text{ ppm}$$

$$P3m3 = \frac{2.7610-0.0008}{0.0064} = 431.2813 \text{ ppm}$$

- Perhitungan Kadar Total Flavonoid

$$F = \frac{c \times v \times f \times 10^{-6}}{m} \times 100\%$$

$$P1m1 = \frac{668.7813 \times 62 \times 5 \times 10^{-6}}{5} \times 100\% = 4.1464\%$$

$$P1m2 = \frac{218.1094x65x5x10^{-6}}{5} x100\% = 1.4177\%$$

$$P1m3 = \frac{470.7969x83x5x10^{-6}}{5} x100\% = 3.9076\%$$

$$P2m1 = \frac{387.9375x49x5x10^{-6}}{5} x100\% = 1.9009\%$$

$$P2m2 = \frac{368.4688x70x5x10^{-6}}{5} x100\% = 2.5793\%$$

$$P2m3 = \frac{244.2500x63x5x10^{-6}}{5} x100\% = 1.5388\%$$

$$P3m1 = \frac{376.9063x33x5x10^{-6}}{5} x100\% = 1.2438\%$$

$$P3m2 = \frac{317.2188x68x5x10^{-6}}{5} x100\% = 2.1571\%$$

$$P3m3 = \frac{431.2813x65x5x10^{-6}}{5} x100\% = 2.8033\%$$

Lampiran 13 . Data Perhitungan Analisis Kimia dan Fisika

1. Analisis Kadar Total Flavonoid

Data Hasil Analisis Pengaruh Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Maserasi Ekstrak Daun *Black Mulberry* Terhadap Kadar Total Flavonoid (%)

Konsentrasi Pelarut (P)	Lama Waktu Maserasi (M)	Kelompok Ulangan			Total	Rata-rata
		I	II	III		
p1 (65%)	m1 (1 hari)	4.08	4.13	4.14	12.35	4.12
	m2 (2 hari)	1.30	1.41	1.41	4.12	1.37
	m3 (3 hari)	3.83	3.84	3.90	11.57	3.86
Sub Total		9.21	9.38	9.45	28.04	9.35
Rata-rata		3.07	3.12	3.15	9.34	3.11
p2 (70%)	m1 (1 hari)	1.76	1.84	1.90	5.50	1.83
	m2 (2 hari)	2.76	2.57	2.57	7.90	2.63
	m3 (3 hari)	1.44	1.53	1.53	4.50	1.50
Sub Total		5.96	5.94	6.00	17.90	5.96
Rata-rata		1.98	1.98	2.00	5.96	1.98
p3 (75%)	m1 (1 hari)	1.24	1.24	1.24	3.72	1.24
	m2 (2 hari)	2.22	2.13	2.15	6.50	2.17
	m3 (3 hari)	2.75	2.80	2.80	8.35	2.78
Sub Total		6.21	6.17	6.19	18.57	6.19
Rata-rata		2.07	2.05	2.06	6.19	2.06
Total		21.38	21.49	21.64	64.51	21.50
Rata-rata		2.38	2.39	2.40	7.17	2.39

Perhitungan Anava

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{(\text{total})^2}{r \times p \times m} = \frac{(64.51)^2}{3 \times 3 \times 3} = 154.13$$

- $\text{JKT} = [(p_1 m_1)^2 + \dots + (p_3 m_3)^2] - \text{FK}$
 $= [(4.08)^2 + \dots + (2.80)^2] - 154.13$
 $= 26.62$
- $\text{JKK} = \left[\frac{(\sum \text{Kel}1)^2 + (\sum \text{Kel}2)^2 + (\sum \text{Kel}3)^2}{p \times m} \right] - \text{FK}$
 $= \left[\frac{(21.38)^2 + (21.49)^2 + (21.64)^2}{3 \times 3} \right] - 154.13$
 $= 0.004$
- $\text{JK}(p) = \left[\frac{(\sum p_1)^2 + (\sum p_2)^2 + (\sum p_3)^2}{r \times m} \right] - \text{FK}$
 $= \left[\frac{(28.04)^2 + (17.90)^2 + (18.57)^2}{3 \times 3} \right] - 154.13$
 $= 7.15$
- $\text{JK}(m) = \left[\frac{(\sum m_1)^2 + (\sum m_2)^2 + (\sum m_3)^2}{r \times p} \right] - \text{FK}$
 $= \left[\frac{(21.57)^2 + (18.52)^2 + (24.42)^2}{3 \times 3} \right] - 154.13$
 $= 1.93$
- $\text{JK}(pm) = \left[\frac{(\sum p_1 m_1)^2 + \dots + (\sum p_3 m_3)^2}{r} \right] - \text{FK}$
 $= \left[\frac{(12.35)^2 + \dots + (8.35)^2}{3} \right] - 154.13$
 $= 17.48$
- $\text{JKG} = \text{JKT} - \text{JKK} - \text{JK}(p) - \text{JK}(m) - \text{JK}(pm)$
 $= 26.62 - 0.004 - 7.15 - 1.93 - 17.48$
 $= 0.05$

Hasil Analisis Variansi (Anava)

Sumber Variansi	dB	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Kelompok	2	0.00	0.00	-	
Faktor P	2	7.15	3.57	1045.51*	3.63
Faktor M	2	1.93	0.97	283.04*	3.63
Interaksi (PM)	4	17.48	4.37	1278.84*	3.01
Galat	16	0.05	0.00		
Total	26	26.62			

Keterangan : tn = tidak berbeda nyata

*= berbeda nyata

Kesimpulan : Berdasarkan tabel ANAVA, bahwa faktor P (konsentrasi pelarut) dan faktor M (lama waktu maserasi) serta interaksi PM (konsentrasi pelarut dan lama waktu maserasi ekstrak daun *black mulberry*) berbeda nyata terhadap kadar total flavonoid ekstrak daun black mulberry sehingga dilakukan uji lanjut Duncan.

Uji Jarak Berganda Duncan Untuk Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Maserasi Terhadap Kadar Total Flavonoid

$$\text{Standar Error (SE)} = \sqrt{\frac{0.0030}{3}} = 0.03$$

SSR 5%	LSR 5%	Rata-rata Perlakuan		Perlakuan									Taraf Nyata	
				1	2	3	4	5	6	7	8	9		
-	-	1.24	p ₃ m ₁	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	a
3.00	0.10	1.37	p ₁ m ₁	0.13*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	b
3.15	0.11	1.50	p ₂ m ₁	0.26*	0.13*	-	-	-	-	-	-	-	-	c
3.23	0.11	1.83	p ₂ m ₂	0.59*	0.46*	0.33*	-	-	-	-	-	-	-	d
3.30	0.11	2.17	p ₃ m ₂	0.93*	0.79*	0.67*	0.33*	-	-	-	-	-	-	e
3.34	0.11	2.63	p ₂ m ₃	1.39*	1.26*	1.13*	0.80*	0.47*	-	-	-	-	-	f
3.37	0.11	2.78	p ₃ m ₃	1.54*	1.41*	1.28*	0.95*	0.62*	0.15*	-	-	-	-	g
3.39	0.11	3.86	p ₁ m ₂	2.62*	2.48*	2.36*	2.02*	1.69*	1.22*	1.07*	-	-	-	h
3.41	0.12	4.12	p ₁ m ₃	2.88*	2.74*	2.62*	2.28*	1.95*	1.48*	0.26*	0.26*	-	-	i

Pengaruh konsentrasi pelarut (p) yang sama terhadap lama waktu maserasi (m) yang berbeda nyata

SSR 5%	LSR 5%	Rata-rata Perlakuan		Perlakuan			Taraf Nyata 5%
				1	2	3	
-	-	1.37	p ₁ m ₁	-			a
3.00	0.10	3.86	p ₁ m ₂	2.48*	-		b
3.15	0.11	4.12	p ₁ m ₃	2.74*	0.26*	-	c

SSR 5%	LSR 5%	Rata-rata Perlakuan		Perlakuan			Taraf Nyata 5%
				1	2	3	
-	-	1.50	p ₂ m ₁	-			a
3.00	0.10	1.83	p ₂ m ₂	0.33*	-		b
3.15	0.11	2.63	p ₂ m ₃	1.13*	0.80*	-	c

SSR 5%	LSR 5%	Rata-rata Perlakuan		Perlakuan			Taraf Nyata 5%
				1	2	3	
-	-	1.24	p ₃ m ₁	-			a
3.00	0.10	2.17	p ₃ m ₂	0.93*	-		b
3.15	0.11	2.78	p ₃ m ₃	1.54*	0.62*	-	c

Pengaruh lama waktu maserasi (m) yang sama terhadap konsentrasi pelarut (p) yang berbeda nyata

SSR 5%	LSR 5%	Rata-rata Perlakuan		Perlakuan			Taraf Nyata 5%
				1	2	3	
-	-	1.24	p ₃ m ₁	-			A
3.00	0.10	1.37	p ₁ m ₁	0.13*	-		B
3.15	0.11	1.50	p ₂ m ₁	0.26*	0.13*	-	C

SSR 5%	LSR 5%	Rata-rata Perlakuan		Perlakuan			Taraf Nyata 5%
				1	2	3	
-	-	1.83	p ₂ m ₂	-			A
3.00	0.10	2.17	p ₃ m ₂	0.33*	-		B
3.15	0.11	3.86	p ₁ m ₂	2.02*	1.69*	-	C

SSR 5%	LSR 5%	Rata-rata Perlakuan		Perlakuan			Taraf Nyata 5%
				1	2	3	
-	-	2.63	p ₂ m ₃	-			A
3.00	0.10	2.78	p ₃ m ₃	0.15*	-		B
3.15	0.11	4.12	p ₁ m ₃	1.48*	1.33*	-	C

Tabel 20. Pengaruh Interaksi Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Maserasi Terhadap Kadar Total Flavonoid Ekstrak Daun *Black Mulberry* (%).

Konsentrasi Pelarut	Lama Waktu Maserasi		
	m ₁ (1 hari)	m ₂ (2 hari)	m ₃ (3 hari)
p ₁ (65%)	B 1.37 a	C 3.86 b	C 4.12 c
p ₂ (70%)	C 1.50 a	A 1.83 b	A 2.63 c
p ₃ (75%)	A 1.24 a	B 2.17 b	B 2.78 c

Keterangan : Rata-rata perlakuan yang ditandai oleh huruf kapital yang berbeda (arah vertikal) dan huruf kecil yang berbeda (arah horizontal) menunjukkan perbedaan nyata menurut uji Duncan pada taraf nyata 5%.

2. Analisis Viskositas

Data Hasil Analisis Pengaruh Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Maserasi Terhadap Viskositas Ekstrak Daun *Black Mulberry* (kg/ms)

Konsentrasi Pelarut (P)	Lama Waktu Maserasi (M)	Kelompok Ulangan			Total	Rata-rata
		I	II	III		
p1 (65%)	m1 (1 hari)	15.40	15.42	15.45	46.28	15.43
	m2 (2 hari)	19.02	19.02	19.04	57.08	19.03
	m3 (3 hari)	20.60	20.56	20.68	61.84	20.61
Sub Total		55.02	55.00	55.17	165.20	55.07
Rata-rata		18.34	18.33	18.39	55.06	18.35
p2 (70%)	m1 (1 hari)	19.35	19.36	19.22	57.93	19.31
	m2 (2 hari)	21.53	21.67	21.69	64.89	21.63
	m3 (3 hari)	30.14	30.25	30.27	90.65	30.22
Sub Total		71.02	71.28	71.18	213.47	71.16
Rata-rata		23.67	23.76	23.73	71.15	23.72
p3 (75%)	m1 (1 hari)	14.12	14.16	14.16	42.43	14.14
	m2 (2 hari)	16.38	16.40	16.41	49.19	16.40
	m3 (3 hari)	21.90	21.99	22.00	65.89	21.96
Sub Total		52.40	52.55	52.57	157.51	52.50
Rata-rata		17.46	17.51	17.52	52.50	17.50
Total		178.43	178.83	178.92	536.18	178.73
Rata-rata		19.83	19.87	19.88	59.58	19.86

Perhitungan Anava

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{(\text{total})^2}{r \times p \times m} = \frac{(536.18)^2}{3 \times 3 \times 3} = 10647.63$$

- $\text{JKT} = [(p_1 m_1)^2 + \dots + (p_3 m_3)^2] - \text{FK}$
 $= [(15.40)^2 + \dots + (22.00)^2] - 10647.63$
 $= 542.30$
- $\text{JKK} = \left[\frac{(\sum \text{Kel1})^2 + (\sum \text{Kel2})^2 + (\sum \text{Kel3})^2}{p \times m} \right] - \text{FK}$
 $= \left[\frac{(178.43)^2 + (178.83)^2 + (178.92)^2}{3 \times 3} \right] - 10647.63$
 $= 0.02$
- $\text{JK(p)} = \left[\frac{(\sum p_1)^2 + (\sum p_2)^2 + (\sum p_3)^2}{r \times m} \right] - \text{FK}$
 $= \left[\frac{(165.20)^2 + (213.47)^2 + (157.51)^2}{3 \times 3} \right] - 10647.63$
 $= 204.51$
- $\text{JK(m)} = \left[\frac{(\sum m_1)^2 + (\sum m_2)^2 + (\sum m_3)^2}{r \times p} \right] - \text{FK}$
 $= \left[\frac{(146.63)^2 + (171.16)^2 + (218.39)^2}{3 \times 3} \right] - 10647.63$
 $= 295.57$
- $\text{JK(pm)} = \left[\frac{(\sum p_1 m_1)^2 + \dots + (\sum p_3 m_3)^2}{r} \right] - \text{FK}$
 $= \left[\frac{(46.28)^2 + \dots + (65.89)^2}{3} \right] - 10647.63$
 $= 42.18$
- $\text{JKG} = \text{JKT} - \text{JKK} - \text{JK(p)} - \text{JK(m)} - \text{JK(pm)}$
 $= 542.30 - 0.02 - 204.51 - 295.57 - 42.18$
 $= 0.02$

Hasil Analisis Variansi (ANAVA)

Sumber Variansi	dB	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Kelompok	2	0.02	0.01	-	
Faktor P	2	204.51	102.25	42179.22*	3.63
Faktor M	2	295.57	147.78	60960.17*	3.63
Interaksi (PM)	4	42.18	10.54	4349.32*	3.01
Galat	16	0.04	0.00		
Total	26	542.30			

Keterangan : tn = tidak berbeda nyata

*= berbeda nyata

Kesimpulan : Berdasarkan tabel ANAVA, bahwa faktor P (konsentrasi pelarut) dan faktor M (lama waktu maserasi) serta interaksi PM (konsentrasi pelarut dan lama waktu maserasi ekstrak daun *black mulberry*) berbeda nyata terhadap sifat fisikokimia viskositas ekstrak daun *black mulberry* sehingga dilakukan uji lanjut Duncan.

Uji Jarak Berganda Duncan Untuk Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Maserasi Terhadap Viskositas

Standar Error (SE) = $\sqrt{\frac{0.002}{3}} = 0.03$

SSR 5%	LSR 5%	Rata-rata Perlakuan		Perlakuan									Taraf Nyata	
				1	2	3	4	5	6	7	8	9		
-	-	14.14	p ₃ m ₁	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	a
3.00	0.09	15.43	p ₁ m ₁	1.28*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	b
3.15	0.09	16.40	p ₃ m ₃	2.25*	0.97*	-	-	-	-	-	-	-	-	c
3.23	0.09	19.03	p ₁ m ₂	4.88*	3.60*	2.63*	-	-	-	-	-	-	-	d
3.30	0.09	19.31	p ₂ m ₂	5.17*	3.88*	2.91*	0.28*	-	-	-	-	-	-	e
3.34	0.09	20.61	p ₁ m ₃	6.47*	5.19*	4.22*	1.59*	1.30*	-	-	-	-	-	f
3.37	0.10	21.63	p ₂ m ₁	7.49*	6.20*	5.23*	2.60*	2.32*	1.02*	-	-	-	-	g
3.39	0.10	21.96	p ₃ m ₂	7.82*	6.54*	5.57*	2.94*	2.65*	1.35*	0.33*	-	-	-	h
3.41	0.10	30.22	p ₂ m ₃	16.08*	14.79*	13.82*	11.19*	10.91*	9.60*	8.59*	8.25*	-	-	i

Pengaruh konsentrasi pelarut (p) yang sama terhadap lama waktu maserasi (m) yang berbeda nyata

SSR 5%	LSR 5%	Rata-rata Perlakuan		Perlakuan			Taraf Nyata 5%
				1	2	3	
-	-	15.43	p ₁ m ₁	-			a
3.00	0.09	19.03	p ₁ m ₂	3.60*	-		b
3.15	0.09	20.61	p ₁ m ₃	5.19*	1.59*	-	c

SSR 5%	LSR 5%	Rata-rata Perlakuan		Perlakuan			Taraf Nyata 5%
				1	2	3	
-	-	19.31	p ₂ m ₁	-			a
3.00	0.09	21.63	p ₂ m ₂	2.32*	-		b
3.15	0.09	30.22	p ₂ m ₃	10.91*	8.59*	-	c

SSR 5%	LSR 5%	Rata-rata Perlakuan		Perlakuan			Taraf Nyata 5%
				1	2	3	
-	-	14.14	p ₃ m ₁	-			a
3.00	0.09	16.40	p ₃ m ₂	2.25*	-		b
3.15	0.09	21.96	p ₃ m ₃	7.82*	5.57*	-	c

Pengaruh lama waktu maserasi (m) yang sama terhadap konsentrasi pelarut (p) yang berbeda nyata

SSR 5%	LSR 5%	Rata-rata Perlakuan		Perlakuan			Taraf Nyata 5%
				1	2	3	
-	-	14.14	p ₃ m ₁	-			A
3.00	0.09	15.43	p ₁ m ₁	1.28*	-		B
3.15	0.09	19.31	p ₂ m ₁	5.17*	3.88*	-	C

SSR 5%	LSR 5%	Rata-rata Perlakuan		Perlakuan			Taraf Nyata 5%
				1	2	3	
-	-	16.40	p ₃ m ₂	-			A
3.00	0.09	19.03	p ₁ m ₂	2.63*	-		B
3.15	0.09	21.63	p ₂ m ₂	5.23*	2.60*	-	C

SSR 5%	LSR 5%	Rata-rata Perlakuan		Perlakuan			Taraf Nyata 5%
				1	2	3	
-	-	20.61	p ₁ m ₃	-			A
3.00	0.09	21.96	p ₃ m ₃	1.35*	-		B
3.15	0.09	30.22	p ₂ m ₃	9.60*	8.25*	-	C

Tabel 21. Pengaruh Interaksi Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Maserasi Terhadap Viskositas Ekstrak Daun *Black Mulberry* (kg/ms).

Konsentrasi Pelarut	Lama Waktu Maserasi		
	m ₁	m ₂	m ₃
p ₁ (65%)	15.43 a	19.03 b	20.61 c
p ₂ (70%)	19.31 a	21.63 b	30.22 c
p ₃ (75%)	14.14 a	16.40 c	21.96 b

Keterangan : Rata-rata perlakuan yang ditandai oleh huruf kapital yang berbeda (arah vertikal) dan huruf kecil yang berbeda (arah horizontal) menunjukkan perbedaan nyata menurut uji Duncan pada taraf nyata 5%.

3. Analisis Nilai Rendemen Maserasi

Data Hasil Analisis Pengaruh Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Maserasi Terhadap Nilai Rendemen Ekstrak Daun *Black Mulberry* (%).

Konsentrasi Pelarut (P)	Lama Waktu Maserasi (M)	Kelompok Ulangan			Total	Rata-rata
		I	II	III		
p1 (65%)	m1 (1 hari)	24.71	24.76	24.79	74.26	24.75
	m2 (2 hari)	26.38	27.50	27.50	81.38	27.13
	m3 (3 hari)	30.97	31.11	31.48	93.56	31.19
Sub Total		82.06	83.37	83.77	249.20	83.07
Rata-rata		27.35	27.79	27.92	83.06	27.69
p2 (70%)	m1 (1 hari)	19.44	20.00	20.00	59.44	19.81
	m2 (2 hari)	22.74	24.07	24.63	71.44	23.81
	m3 (3 hari)	24.95	26.46	26.59	78.00	26.00
Sub Total		67.13	70.53	71.22	208.88	69.62
Rata-rata		22.37	23.51	23.74	69.62	23.20
p3 (75%)	m1 (1 hari)	12.18	12.59	12.86	37.62	12.54
	m2 (2 hari)	21.43	21.99	21.99	65.41	21.80
	m3 (3 hari)	28.10	28.00	28.00	84.10	28.03
Sub Total		61.71	62.58	62.85	187.13	62.37
Rata-rata		20.57	20.86	20.95	62.37	20.79
Total		210.91	216.47	217.82	645.21	215.06
Rata-rata		23.43	24.05	24.20	71.68	23.89

Perhitungan Anava

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{(\text{total})^2}{r \times p \times m} = \frac{(645.20)^2}{3 \times 3 \times 3} = 15418.80$$

- $\text{JKT} = [(p_1 m_1)^2 + \dots + (p_3 m_3)^2] - \text{FK}$
 $= [(26.38)^2 + \dots + (28.00)^2] - 15418.80$
 $= 712.76$
- $\text{JKK} = \left[\frac{(\sum \text{Kel}1)^2 + (\sum \text{Kel}2)^2 + (\sum \text{Kel}3)^2}{p \times m} \right] - \text{FK}$
 $= \left[\frac{(210.90)^2 + (216.48)^2 + (217.84)^2}{3 \times 3} \right] - 15418.80$
 $= 3.00$
- $\text{JK}(p) = \left[\frac{(\sum p_1)^2 + (\sum p_2)^2 + (\sum p_3)^2}{r \times m} \right] - \text{FK}$
 $= \left[\frac{(249.20)^2 + (208.88)^2 + (187.13)^2}{3 \times 3} \right] - 15418.80$
 $= 220.42$
- $\text{JK}(m) = \left[\frac{(\sum m_1)^2 + (\sum m_2)^2 + (\sum m_3)^2}{r \times p} \right] - \text{FK}$
 $= \left[\frac{(171.33)^2 + (218.23)^2 + (255.66)^2}{3 \times 3} \right] - 15418.80$
 $= 396.79$
- $\text{JK}(pm) = \left[\frac{(\sum p_1 m_1)^2 + \dots + (\sum p_3 m_3)^2}{r} \right] - \text{FK}$
 $= \left[\frac{(74.26)^2 + \dots + (84.10)^2}{3} \right] - 15418.80$
 $= 90.37$
- $\text{JKG} = \text{JKT} - \text{JKK} - \text{JK}(p) - \text{JK}(m) - \text{JK}(pm)$
 $= 712.76 - 3.00 - 220.42 - 396.79 - 90.37$
 $= 2.18$

Hasil Analisis Variansi (ANAVA)

Sumber Variansi	dB	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Kelompok	2	3.00	1.50	-	
Faktor P	2	220.42	110.21	809.24*	3.63
Faktor M	2	396.79	198.40	1456.80*	3.63
Interaksi (PM)	4	90.37	22.59	165.89*	3.01
Galat	16	2.18	0.14		
Total	26	712.76			

Keterangan : tn = tidak berbeda nyata

*= berbeda nyata

Kesimpulan : Berdasarkan tabel ANAVA, bahwa faktor P (konsentrasi pelarut) dan faktor M (lama waktu maserasi) serta interaksi PM (konsentrasi pelarut dan lama waktu maserasi ekstrak daun *black mulberry*) berbeda nyata terhadap nilai rendemen maserasi ekstrak daun *black mulberry* sehingga dilakukan uji lanjut Duncan.

Uji Jarak Berganda Duncan Untuk Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Maserasi Terhadap Nilai Rendemen Maserasi

$$\text{Standar Error (SE)} = \sqrt{\frac{0.14}{3}} = 0.21$$

SSR 5%	LSR 5%	Rata-rata Perlakuan		Perlakuan									Taraf Nyata	
				1	2	3	4	5	6	7	8	9		
-	-	12.54	p _{3m1}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	a
3.00	0.64	19.81	p _{2m1}	7.27*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	b
3.15	0.67	21.80	p _{3m2}	9.26*	1.99*	-	-	-	-	-	-	-	-	c
3.23	0.69	23.81	p _{2m2}	11.27*	4.00*	2.01*	-	-	-	-	-	-	-	d
3.30	0.70	24.75	p _{1m1}	12.21*	4.94*	2.95*	0.94*	-	-	-	-	-	-	e
3.34	0.71	26.00	p _{2m3}	13.46*	6.19*	4.20*	2.19*	1.25*	-	-	-	-	-	f
3.37	0.72	27.13	p _{1m2}	14.59*	7.31*	5.32*	3.31*	2.37*	1.13*	-	-	-	-	g
3.39	0.72	28.03	p _{3m3}	15.49*	8.22*	6.23*	4.22*	3.28*	2.03*	0.91*	-	-	-	h
3.41	0.73	31.19	p _{1m3}	18.65*	11.37*	9.38*	7.37*	6.43*	5.19*	4.06*	3.15*	-	-	i

Pengaruh konsentrasi pelarut (p) yang sama terhadap lama waktu maserasi (m) yang berbeda nyata

SSR 5%	LSR 5%	Rata-rata Perlakuan		Perlakuan			Taraf Nyata 5%
				1	2	3	
-	-	24.75	p ₁ m ₁	-			a
3.00	0.64	27.13	p ₁ m ₂	2.37*	-		b
3.15	0.67	31.19	p ₁ m ₃	6.43*	4.06*	-	c

SSR 5%	LSR 5%	Rata-rata Perlakuan		Perlakuan			Taraf Nyata 5%
				1	2	3	
-	-	19.81	p ₂ m ₁	-			a
3.00	0.64	23.81	p ₂ m ₂	4.00*	-		b
3.15	0.67	26.00	p ₂ m ₃	6.19*	2.19*	-	c

SSR 5%	LSR 5%	Rata-rata Perlakuan		Perlakuan			Taraf Nyata 5%
				1	2	3	
-	-	12.54	p ₃ m ₁	-			a
3.00	0.64	21.80	p ₃ m ₂	9.26*	-		b
3.15	0.67	28.03	p ₃ m ₃	15.49*	6.23*	-	c

Pengaruh lama waktu maserasi (m) yang sama terhadap konsentrasi pelarut (p) yang berbeda nyata

SSR 5%	LSR 5%	Rata-rata Perlakuan		Perlakuan			Taraf Nyata 5%
				1	2	3	
-	-	12.54	p ₃ m ₁	-			A
3.00	0.64	19.81	p ₂ m ₁	7.27*	-		B
3.15	0.67	24.75	p ₁ m ₁	12.21*	4.94*	-	C

SSR 5%	LSR 5%	Rata-rata Perlakuan		Perlakuan			Taraf Nyata 5%
				1	2	3	
-	-	21.80	p ₃ m ₂	-			A
3.00	0.64	23.81	p ₂ m ₂	2.01*	-		B
3.15	0.67	27.13	p ₁ m ₂	5.32*	3.31*	-	C

SSR 5%	LSR 5%	Rata-rata Perlakuan		Perlakuan			Taraf Nyata 5%
				1	2	3	
-	-	26.00	p ₂ m ₃	-			A
3.00	0.64	28.03	p ₃ m ₃	2.03*	-		B
3.15	0.67	31.19	p ₁ m ₃	5.19*	3.15*	-	C

Tabel 22. Pengaruh Interaksi Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Maserasi Terhadap Nilai Rendemen Maserasi Ekstrak Daun *Black Mulberry* (%).

Konsentrasi Pelarut	Lama Waktu Maserasi		
	m ₁	m ₂	m ₃
p ₁ (65%)	24.75 a	27.13 b	31.19 c
p ₂ (70%)	19.81 a	23.81 b	26.00 c
p ₃ (75%)	12.54 a	21.80 b	28.03 c

Keterangan : Rata-rata perlakuan yang ditandai oleh huruf kapital yang berbeda (arah vertikal) dan huruf kecil yang berbeda (arah horizontal) menunjukkan perbedaan nyata menurut uji Duncan pada taraf nyata 5%.

