

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil**

##### **1. Pengambilan Sampel dan Determinasi**

Tanaman daun pandan wangi dalam penelitian ini diambil dari dusun Prapak Kulon, Sendangmulyo, Minggir, Sleman, Yogyakarta. Daun diambil pada bulan Juli dengan satu kali waktu untuk meminimalisir perbedaan kualitas bahan kimia yang terkandung di dalam daun. Proses identifikasi tanaman dilaksanakan pada tanggal 7 Mei 2024 di Laboratorium Pembelajaran Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan dengan nomor pendaftaran 273/Lab.Bio/B/V/2024. Hasil determinasi pada **Lampiran 2**. menunjukkan bahwa tanaman tersebut adalah benar daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* (Roxb.)).

##### **2. Penyiapan Sampel**

2 kg daun pandan wangi dipanen pada pagi hari pukul 09.00-11.00 dengan kriteria berwarna hijau tua dari bagian dalam baris 4-5. Setelah panen dilakukan sortasi basah proses ini bertujuan untuk membersihkan bahan baku dari kontaminan seperti tanah atau bagian tumbuhan yang tidak diinginkan (Susanti & Safrina, 2021). Tahap ini sangat penting untuk menjaga kualitas bahan baku sebelum proses pengolahan selanjutnya seperti pencucian. Proses pengeringan selama 48 jam pada suhu 60°C dalam oven. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kandungan air dalam sampel, mencegah pertumbuhan mikroorganisme, dan menghasilkan simplisia berkualitas baik (Lady & Pranoto, 2020). Kemudian simplisia kering digrinder hingga berbentuk serbuk halus dan disaring dengan ayakan nomor 40 mesh. Proses penyerbukan ini dilakukan dengan tujuan untuk memperkecil ukuran partikel agar dapat meningkatkan kontak dengan pelarut (Asworo & Widwastuti, 2023). Dari hasil penyerbukan simplisia kering diperoleh serbuk halus 229,5 gram.

### 3. Ekstraksi Daun Pandan Wangi

Hasil ekstraksi daun pandan wangi pada **Tabel 3.** menunjukkan hasil rendemen ekstrak etanol 96% adalah 19,2% yang memenuhi persyaratan rendemen Farmakope Herbal Indonesia edisi II tahun 2017 yaitu tidak kurang dari 10% (Wijayanti *et al.*, 2023).

**Tabel 3. Hasil Rendemen Ekstrak Kental Daun Pandan Wangi**

Ekstrak	Berat simplisia (g)	Berat wadah+ ekstrak (g)	Berat wadah kosong (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
Etanol 96%	200	99,9	61,5	38,4	19,2

### 4. Fraksinasi Daun Pandan Wangi

Fraksinasi dalam penelitian ini dilakukan dengan metode corong pisah ekstraksi cair-cair (ECC). Ekstrak etanol 96% difraksinasi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan air. Berdasarkan data rendemen pada **Tabel 4.** fraksi air menghasilkan % rendemen tertinggi dibandingkan fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat.

**Tabel 4. Hasil Rendemen Fraksi Daun Pandan Wangi**

Sampel	Fraksi Kental (g)	Rendemen (%)
Fraksi Air	9,96	39,84
Fraksi Etil Asetat	2,69	10,76
Fraksi n-Heksan	2,98	11,92

### 5. Uji Organoleptik

**Tabel 5.** menunjukkan hasil uji organoleptik pada ekstrak etanol 96% dan fraksi daun pandan wangi.

**Tabel 5. Hasil Uji Organoleptik**

Parameter	Ekstrak Etanol 96% Daun Pandan Wangi	Fraksi Air Daun Pandan Wangi	Fraksi Etil Asetat Daun Pandan Wangi	Fraksi n-Heksan Daun Pandan Wangi
Warna	Hijau kecoklatan	Kecoklatan	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman
Bau	Khas pandan	Khas pandan	Sedikit berbau khas pandan	Sedikit berbau khas pandan
Tekstur	Kental	Kental	Kental	Kental

## 6. Uji Fitokimia

Sekelompok metabolit sekunder tanaman pandan wangi dapat diidentifikasi melalui skrining fitokimia. Analisis fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi metabolit sekunder pada ekstrak etanol 96% dan fraksi dari daun pandan wangi. Berdasarkan hasil uji, ditemukan berbagai jenis senyawa bioaktif yang tercantum pada **Tabel 6** dan **Lampiran 7**.

**Tabel 6. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 96% Dan Fraksi**

Golongan	Ekstrak etanol 96%	Fraksi		
		Air	Etil Asetat	n-Heksan
Alkaloid				
a. Mayer	-	-	-	-
b. Wagner	+	-	+	-
c. Dragendroff	+	+	+	-
Fenolik	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+
Saponin	+	+	+	+
Tanin	+	+	+	+

Hasil uji fitokimia ekstrak etanol 96% dan fraksi daun pandan wangi pada uji flavonoid memberikan hasil positif pembentukan warna kuning atau jingga. Uji alkaloid ekstrak etanol 96% dan fraksi etil asetat memberikan hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna merah muncul saat ditambahkan pereaksi Dragendroff, endapan coklat muncul saat ditambahkan pereaksi Wagner, dan endapan putih saat ditambahkan pereaksi Mayer. Hasil uji alkaloid fraksi n-heksan dan etil asetat menunjukkan negatif karena tidak terjadi reaksi pembentukan endapan berwarna endapan coklat pada pereaksi Wagner, dan tidak terjadi pembentukan endapan berwarna putih pada pereaksi Mayer. Uji saponin dan tanin menunjukkan hasil positif pada ekstrak etanol 96% dan fraksi daun pandan wangi ditandai dengan uji saponin terbentuk busa, sedangkan uji tanin terjadi pembentukan warna hijau kehitaman.

## 7. Penentuan Kadar Flavonoid Total

- a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin dan Penetapan *Operating Time*

Penentuan panjang gelombang maksimum diperoleh pada 415 nm dengan nilai absorbansi 0,328 dan penetapan *operating time* diperoleh pada menit ke 23 dengan nilai absorbansi 0,460. Hasil *operating time* dan panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada **Lampiran 8**.

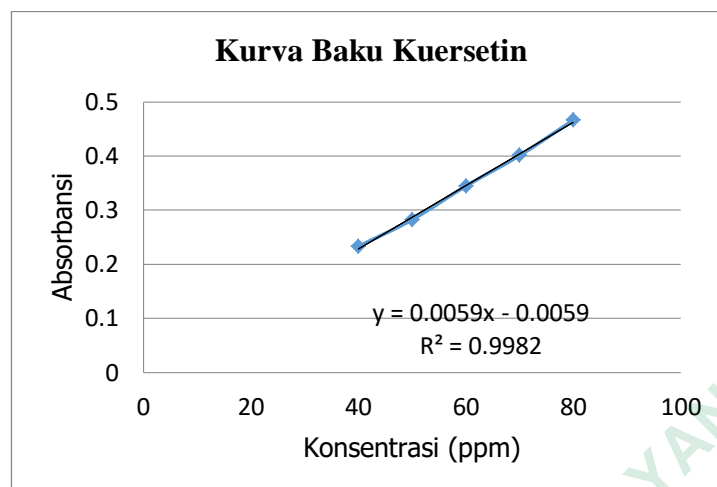
- b. Pembuatan Kurva Baku Kuersetin

Hubungan antara absorbansi larutan dan konsentrasinya diukur dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Pada penelitian ini kuersetin konsentrasi 40, 50, 60, 70, dan 80 ppm digunakan untuk mendapatkan kurva baku. Setiap seri kadar direaksikan dengan  $\text{AlCl}_3$  10% dan  $\text{CH}_3\text{COOH}$  5%, kemudian diinkubasi selama 23 menit dan diukur pada panjang gelombang maksimum 415 nm. Hasil absorbansi kurva baku kuersetin dapat dilihat pada **Tabel 7**.

**Tabel 7. Hasil Absorbansi Kurva Baku Kuersetin**

Konsentrasi Standar Kuersetin (ppm)	Absorbansi
40	0,233
50	0,283
60	0,344
70	0,401
80	0.466

Pada **Gambar 13**, menunjukkan hasil regresi  $y = 0.0059x - 0.0059$ . koefisien korelasi ( $r$ ) 0,9982 dimana tergolong linier atau baik karena hasilnya mendekati satu.



**Gambar 13. Kurva Baku Kuersetin**

c. Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 96% dan Fraksi Daun Pandan Wangi

Larutan ekstrak etanol 96% dan fraksi daun pandan wangi direaksikan dengan  $\text{AlCl}_3$  10% dan  $\text{CH}_3\text{COOH}$  5%. Larutan tersebut dilakukan inkubasi dalam waktu 23 menit kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 415 nm, dan nilai absorbansi (**Tabel 8**) pada masing-masing sampel ditentukan sebagai hasil kadar flavonoid.

**Tabel 8. Nilai Absorbansi Sampel**

Sampel	Replikasi	Absorbansi
Ekstrak Etanol 96% Daun Pandan Wangi	1	0,402
	2	0,396
	3	0,403
Fraksi Air Daun Pandan Wangi	1	0,309
	2	0,339
	3	0,332
Fraksi Etil Asetat Daun Pandan Wangi	1	0,352
	2	0,356
	3	0,353
Fraksi n-Heksan Daun Pandan Wangi	1	0,227
	2	0,228
	3	0,224

## 8. Perhitungan Kadar Flavonoid Total

Kadar flavonoid total didapatkan dengan mensubstitusikan nilai absorbansi sampel ke dalam persamaan regresi linier  $y = 0.0059x - 0.0059$ , dan diperoleh nilai  $x$  atau nilai konsentrasi. Dimana nilai  $y$  adalah hasil absorbansi sampel dalam persamaan regresi sehingga diperoleh kadar flavonoid total yaitu nilai  $x$ . Nilai  $x$  yang didapat digunakan untuk menghitung kadar flavonoid total dalam sampel. Perhitungan ini melibatkan perkalian antara kadar terhitung (mg/L) dikali volume total (L) dikali fp dibagi berat sampel (g). **Tabel 9.** menyajikan hasil kadar flavonoid total tertinggi pada fraksi etil asetat dilanjutkan dengan ekstrak etanol 96%, kemudian fraksi n-heksan dan fraksi air daun pandan wangi.

**Tabel 9. Hasil Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 96% dan Fraksi Daun Pandan Wangi**

Sampel	Replikasi	Kadar Flavonoid Total (mg/QE)	Kadar Flavonoid Total rata-rata (mg/QE) $\pm$ SD
Ekstrak Etanol 96% Daun Pandan Wangi	1	68.059	67,793 $\pm$ 0,635
	2	67.068	
	3	68.252	
Fraksi Air	1	10.482	11,061 $\pm$ 0,515
	2	11.468	
	3	11.232	
Fraksi Etil Asetat	1	119.056	119.320 $\pm$ 0,555
	2	119.958	
	3	118.947	
Fraksi n-Heksan	1	63.755	63,567 $\pm$ 0,585
	2	64.035	
	3	62.912	

## 9. Metode Pengolahan Data dan Analisis Data

Analisis data kuantitatif dalam penelitian ini menggunakan perangkat lunak SPSS versi 25. Sebelum melakukan uji *One-Way* ANOVA, dilakukan uji normalitas data *Shapiro-Wilk*. Uji ini dipilih karena jumlah sampel kurang dari 50. Data dianggap terdistribusi normal jika nilai  $p > 0,05$  (Rahma *et al.*, 2017). Pada **Tabel 10** hasil uji normalitas setiap sampel menunjukkan data terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ).

**Tabel 10. Hasil Uji Stastitik Data Kadar Flavonoid Total**

Sampel	Uji Normalitas	Uji Homogenitas Varian	One Way ANOVA
Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi	0,291*	0,956*	0,000*
Fraksi Air	0,442*	0,998*	
Fraksi Etil Asetat	0,188*	0,998*	
Fraksi n Heksan	0,462*	0,964*	

Keterangan. Sig. >0,05 : Data terdistribusi normal; Sig. <0,005 : Data tidak homogen. Asym. Sig. <0,05 : Terdapat perbedaan yang signifikan.

Setelah data normal, selanjutnya dilakukan uji homogenitas varians *Levene Statistic*. Hasil uji menunjukkan homogen dengan nilai sig > 0,05, dan dilanjutkan dengan uji *One-Way ANOVA* untuk membandingkan signifikansi rata-rata dari beberapa kelompok data. Hasil *One-Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan (sig < 0,05) antar kelompok.

## B. Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan konsentrasi flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol 96% dan fraksi daun pandan wangi dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Sampel diambil pada pagi hari pukul 09.00 – 11.00 WIB di dusun Prapak Kulon, Sendangmulyo, Minggir, Sleman, Yogyakarta. Pemilihan waktu panen pada pagi hari karena pada saat itu daun masih segar dan kandungan zat aktifnya belum banyak berkurang akibat penguapan (Evifania *et al.*, 2020). Sebelum penyiapan sampel determinasi tanaman dilakukan. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa sampel yang diteliti adalah daun pandan wangi (*Pandanus Amaryllifolius* (Roxb.)). Tujuan dilakukan determinasi tanaman adalah memastikan apakah benar tanaman tersebut benar daun pandan wangi.

Proses pengeringan daun pandan wangi dilakukan selama dua hari dalam oven pada suhu 60°C. Tujuan dari proses ini adalah untuk mengurangi jumlah air dalam sampel sehingga meminimalkan pertumbuhan mikroorganisme (Utami & Rosa, 2021). Suhu 60°C digunakan dalam proses pengeringan karena senyawa flavonoid tahan pemanasan pada suhu kurang dari 60°C (Widayanti *et al.*, 2023). Simplisia daun pandan wangi dihaluskan dan diayak dengan tujuan untuk

memperluas permukaan kontak partikel dengan pelarut, sehingga mendapatkan hasil ekstrak yang lebih banyak (Suhendar & Sogandi, 2019). Daun pandan wangi diekstraksi menggunakan metode maserasi. Prinsip maserasi didasarkan pada kemampuan larutan penyari untuk menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel, sehingga senyawa aktif dapat diekstraksi (Handoyo, 2020). Kelebihan dari metode ini adalah kemampuannya untuk mengekstrak secara selektif dan efisien untuk senyawa yang tidak tahan panas, sehingga dapat menghindari risiko kerusakan senyawa akibat suhu tinggi. Metode maserasi dipilih karena sifat termolabil dari flavonoid (Tetti, 2014). Oleh karena itu, metode maserasi adalah pilihan terbaik untuk ekstraksi senyawa flavonoid. Proses ekstraksi diulang satu kali dengan tujuan untuk memaksimalkan hasil ekstraksi (Fatwami & Royani, 2023). Pelarut etanol bersifat polar dan memiliki kemampuan penyarian yang tinggi, tujuan menggunakan pelarut etanol 96% adalah untuk menyari senyawa polar seperti flavonoid (Wahyuni *et al.*, 2022). Hasil maserasi diuapkan pada suhu 60 °C untuk menghasilkan ekstrak yang kental. Pemilihan suhu tersebut karena senyawa flavonoid tahan pemanasan pada suhu 60 °C (Widayanti *et al.*, 2023).

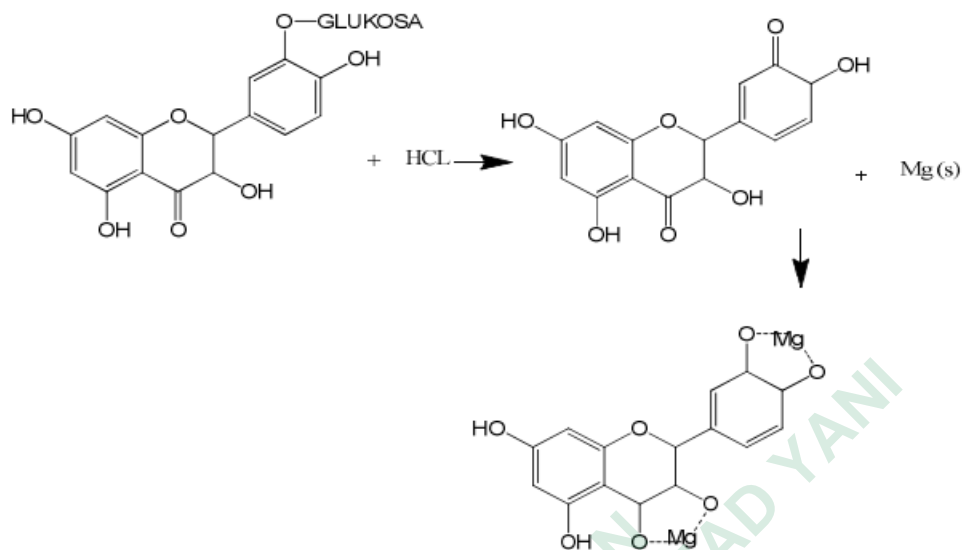
Hasil dari proses ekstraksi diperoleh sebanyak 38,4 g ekstrak etanol 96% daun pandan wangi dengan rendemen 19,2%. Nilai rendemen yang baik yaitu tidak kurang dari 10% (Kemenkes, 2017). Semakin tinggi rendemen yang diperoleh semakin banyak senyawa aktif yang berhasil ditarik dari bahan. Besar kecilnya rendemen merupakan parameter yang menentukan keberhasilan suatu proses ekstraksi. Efektivitas ekstraksi dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti jenis pelarut, ukuran partikel, metode ekstraksi, dan waktu ekstraksi (Vifta *et al.*, 2017).

Ekstrak etanol kemudian difraksinasi menggunakan tiga pelarut dengan polaritas berbeda: n-heksan (non polar), etil asetat (semi polar), dan air (polar). Proses fraksinasi menggunakan metode corong pisah. Prinsip kerja corong pisah yaitu untuk memisahkan zat atau senyawa tertentu dalam sampel berdasarkan kelarutan dalam pelarut tertentu yang memiliki perbedaan fase. Pemisahan ini didasarkan pada perbedaan massa jenis zat (Febrianti *et al.*, 2019). Fraksinasi merupakan proses pemisahan komponen senyawa dari ekstrak berdasarkan tingkat



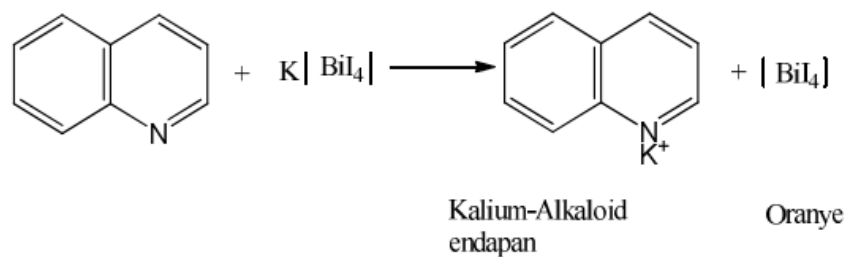
kepolarannya (Pratiwi *et al.*, 2021). Fraksinasi menggunakan berbagai pelarut dengan kepolaran yang berbeda-beda sehingga masing-masing pelarut mengandung senyawa dengan kepolaran yang sama dengan pelarutnya (Pratiwi *et al.*, 2021). Senyawa-senyawa yang tertarik pada fraksi n-heksan merupakan senyawa yang bersifat non polar, pada fraksi etil asetat senyawa semi polar, dan fraksi air merupakan senyawa polar. Hasil fraksinasi menunjukkan rendemen fraksi n-heksan 11,92%; fraksi etil asetat 10,76%; dan fraksi air 39,84%. Pada penelitian ini, fraksi air menghasilkan nilai rendemen paling tinggi dibandingkan dengan fraksi lainnya. Hal ini kemungkinan karena, daun pandan wangi mengandung banyak senyawa flavonoid glikon. Senyawa polar seperti flavonoid glikon akan lebih mudah larut dalam pelarut polar seperti air, selain itu senyawa lain seperti fenolik, tanin saponin. Daun pandan wangi memiliki aroma khas yang diduga berasal dari senyawa turunan asam amino fenil alanine yaitu *2-acetyl-1-pyrrolin* (Faras dkk., 2014). Komponen 2-asetil-1-pirolin (2 AP) merupakan senyawa yang sangat larut pada air dan alkohol sehingga pada fraksi air diduga banyak terekstrak senyawa tersebut yang memberikan nilai rendemen tinggi (Fabra dkk., 2009).

Analisis fitokimia ekstrak etanol 96% dan fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun pandan wangi dalam penelitian ini dilakukan untuk mengetahui jenis-jenis senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin, dan saponin. Berdasarkan hasil uji fitokimia yang tertera pada **Tabel 6**, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 96% dan fraksi etil asetat positif mengandung kelompok senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin, dan saponin. Fraksi air dan fraksi n-heksan positif mengandung senyawa flavonoid, fenolik, tanin, saponin. Pada uji senyawa flavonoid reaksi antara sampel dengan HCl pekat dan serbuk magnesium menghasilkan perubahan warna dari hijau muda menjadi kuning, reaksi dapat dilihat pada **Gambar 14** (Hanifa *et al.*, 2021).

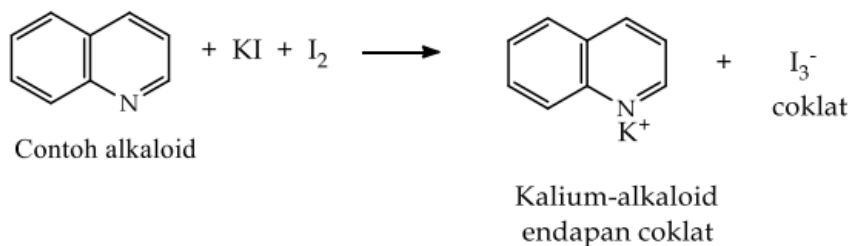


**Gambar 14. Reaksi Identifikasi Flavonoid**

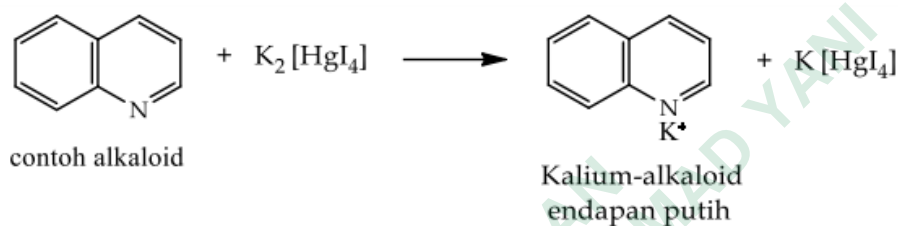
Uji alkaloid memberikan hasil positif pada sampel apabila dari tiga reagen minimal ada dua reagen yang menunjukkan hasil positif. Ekstrak etanol 96% dan fraksi etil asetat menghasilkan endapan berwarna jingga pada uji Dragendroff. Pembentukan endapan ini terbentuk karena nitrogen pada alkaloid membentuk ikatan kovalen dengan ion  $K^+$  dari kalium-tetraiodobismutat membentuk endapan kalium-alkaloid berwarna jingga (**Gambar 15**) (Hanifa *et al.*, 2021). Ekstrak etanol 96% dan fraksi etil asetat juga menghasilkan endapan berwarna coklat pada uji Wagner. Endapan coklat terbentuk karena ion  $K^+$  pada kalium iodide menghasilkan ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid sehingga membentuk kompleks kalium-alkaloid (**Gambar 16**). Hasil uji alkaloid fraksi n-heksan dan etil asetat menunjukkan negatif karena tidak terjadi pembentukan endapan berwarna (Muaja *et al.*, 2017).



**Gambar 15. Reaksi Identifikasi Alkaloid Reagen Dragendroff**

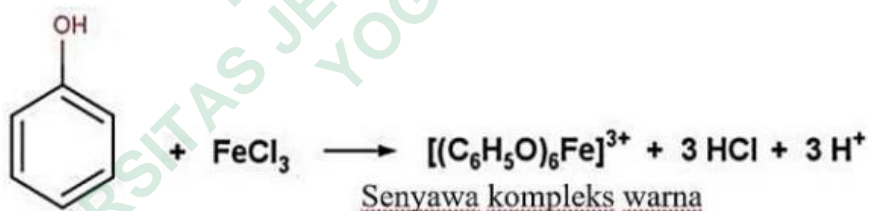


**Gambar 16. Reaksi Identifikasi Alkaloid Reagen Wagner**



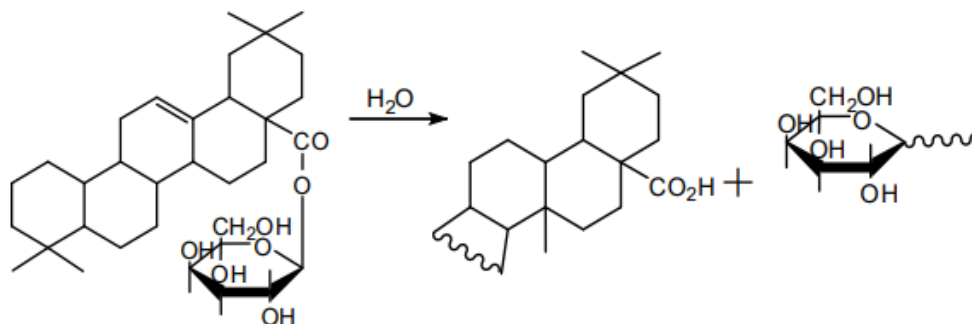
**Gambar 17. Reaksi Identifikasi Alkaloid Reagen Mayer**

Pada uji fenolik seluruh sampel positif mengandung fenolik ditandai dengan terbentuknya warna hijau tua setelah penambahan reagen FeCl<sub>3</sub>. Senyawa kompleks tersebut terjadi karena ada reaksi antara ion besi (Fe<sup>3+</sup>) dengan gugus keto pada senyawa fenolik seperti pada **Gambar 18** (Muaja *et al.*, 2017).



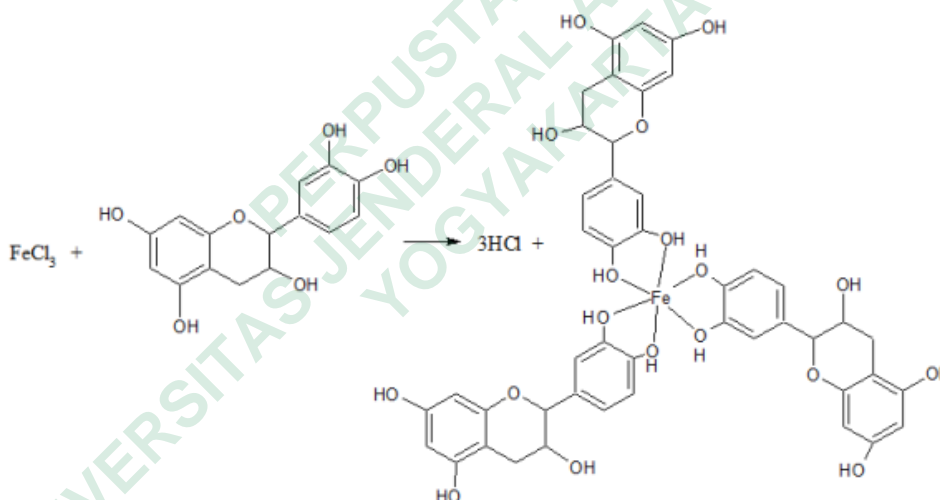
**Gambar 18. Reaksi Identifikasi Fenolik**

Hasil uji saponin menunjukkan bahwa keempat sampel positif mengandung senyawa saponin dengan ditandai timbulnya buih yang stabil tingginya 1 cm dalam waktu ± 10 menit. Terbentuknya buih disebabkan oleh struktur senyawa saponin berupa glukosida yang memiliki senyawa sapogenin non polar dan rantai samping polar yang larut dalam air. Pada saat dilakukan pengocokan saponin membentuk misel karena adanya gugus polar dan non polar yang akan membentuk busa (**Gambar 19**) (Hanifa *et al.*, 2021).



**Gambar 19. Reaksi Identifikasi Saponin**

Hasil uji tanin menunjukkan bahwa keempat sampel positif mengandung senyawa tanin. Hal ini ditandai dengan terbentuknya kompleks berwarna hijau kehitaman setelah penambahan  $\text{FeCl}_3$  seperti yang terlihat pada **Gambar 20** (Hanifa *et al.*, 2021)



**Gambar 20. Reaksi Identifikasi Tanin**

Penetapan kadar flavonoid pada sampel daun pandan wangi menggunakan metode kolometri yaitu larutan sampel dalam etanol direaksikan dengan  $\text{AlCl}_3$  dan  $\text{CH}_3\text{COOH}$ . Prinsip kerja metode ini didasarkan pada pembentukan kompleks berwarna antara gugus-gugus spesifik pada molekul flavonoid (seperti gugus keto dan hidroksi) dengan ion aluminium dari  $\text{AlCl}_3$ . Pembentukan kompleks ini menyebabkan perubahan warna yang dapat diukur secara spektrofotometri. Penambahan asam asetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) berfungsi untuk menstabilkan warna yang terbentuk (Kumalasari *et al.*, 2023). Standar yang digunakan dalam penelitian ini

adalah kuersetin yang merupakan senyawa flavonoid golongan flavonol. Kuersetin memiliki gugus keto pada posisi C-4 dan dua gugus hidroksil pada posisi C-3 dan C-5 yang saling berdekatan. Gugus keto dan hidroksil pada kuersetin bereaksi dengan  $\text{AlCl}_3$  membentuk senyawa berwarna kuning. Reaksi inilah yang menjadi dasar metode kolometri- $\text{AlCl}_3$  untuk mengukur kadar kuersetin.

Penentuan kadar flavonoid total diawali dengan penetapan panjang gelombang maksimum. Pada penelitian ini diperoleh panjang gelombang maksimum 415 nm yang dapat dilihat pada **Lampiran 8**. Hasil dari pengukuran panjang gelombang maksimum sudah sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Sukmawati *et al.*, (2018) yaitu panjang gelombang maksimum kuersetin 415 nm. Penetapan *operating time* sangat penting dalam analisis spektrofotometri, terutama untuk senyawa kompleks seperti kuersetin- $\text{AlCl}_3$ . *Operating time* adalah waktu yang dibutuhkan untuk mencapai kesetimbangan reaksi pembentukan kompleks, sehingga menghasilkan warna yang stabil dan intensitas absorbansi yang maksimal. Hasil analisis pada **Lampiran 8**. menunjukkan bahwa waktu *operating time* yang optimal untuk sampel penelitian ini adalah 23 menit. Hasil yang diperoleh sudah mendekati penelitian yang dilakukan oleh Sukmawati *et al.*, (2018), yang memiliki nilai *operating time* menit ke 20. Dengan demikian, pengukuran absorbansi dilakukan pada menit ke-23 untuk mendapatkan hasil yang akurat (Suharyanto & Prima, 2020).

Sebelum dilakukan pengukuran kadar flavonoid dalam sampel, terlebih dahulu dibuat kurva baku kuersetin. Kurva baku ini diperoleh dengan mengukur absorbansi larutan kuersetin dengan berbagai konsentrasi. Tujuannya adalah untuk mendapatkan persamaan regresi linier yang menghubungkan antara konsentrasi dan absorbansi (Wulandari *et al.*, 2022). Berdasarkan hasil pengukuran, diperoleh persamaan regresi linier  $y = 0.0059x - 0.0059$  dengan nilai  $r$  0,9982. Nilai koefisien korelasi ( $r$ ) yang mendekati 1 mengindikasikan korelasi yang linier antara kedua variabel. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi kuersetin, maka semakin tinggi absorbansi yang terukur (Wulandari *et al.*, 2022)

Hasil pengukuran nilai absorbansi sampel dimasukkan kedalam persamaan regresi linier standar kuersetin hingga diperoleh nilai konsentrasi yang kemudian dihitung kadar flavonoid total dalam satuan mgQE/g. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki kadar flavonoid total tertinggi ( $119.320 \pm 0,555$  mg/QE) diikuti oleh ekstrak etanol 96% ( $67,793 \pm 0,635$  mg/QE), fraksi n-heksan ( $63,567 \pm 0,585$  mg/QE), dan fraksi air ( $11,061 \pm 0,515$  mg/QE).

Berdasarkan penelitian sebelumnya dikatakan bahwa daun pandan wangi mengandung senyawa flavonoid golongan flavonol yaitu kuersetin, rutin, kaempferol, myrisetin, golongan flavon yaitu luteolin dan golongan flavanon yaitu naringenin (Sinata *et al.*, 2022). Masing-masing senyawa flavonoid tersebut memiliki kepolaran yang berbeda-beda. Kuersetin, kaempferol, myrisetin, luteolin, naringenin merupakan flavonoid aglikon yang cenderung bersifat non polar hingga semi polar, sedangkan rutin memiliki gugus glukosa yang termasuk dalam flavonoid glikon yang bersifat polar (Wahyusi *et al.*, 2021). Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa flavonoid dalam daun pandan wangi cenderung bersifat non polar hingga semi polar.

Dari hasil uji kadar flavonoid total fraksi etil asetat mempunyai kadar flavonoid total yang paling tinggi dibandingkan sampel lainnya. Kandungan flavonoid total pada fraksi etil asetat paling besar menjelaskan bahwa karakteristik senyawa flavonoid pada ekstrak daun pandan wangi mempunyai kepolaran yang sama dengan etil asetat. Sifat etil asetat adalah semi polar yang menandakan bahwa kemungkinan daun pandan wangi mengandung flavonoid semi polar. Flavonoid kuersetin, kaempferol, myrisetin, luteolin, naringenin memiliki afinitas yang lebih besar terhadap pelarut seperti etil asetat (Wahyusi *et al.*, 2020). Kadar flavonoid total tertinggi kedua adalah ekstrak etanol 96% karena pelarut etanol bersifat universal yang memiliki gugus non polar ( $-CH_3$ ) dan gugus polar ( $-OH$ ) sehingga etanol dapat menarik senyawa flavonoid seperti kuersetin, kaempferol, myrisetin, luteolin, naringenin yang ada dalam daun pandan wangi (Qonitah *et al.*, 2022). Kadar flavonoid total tertinggi ketiga adalah fraksi n-heksan karena senyawa flavonoid dalam daun pandan wangi dapat berupa dalam bentuk bebas

(aglikon) yaitu aglikon polimetoksi yang bersifat non polar. Kadar flavonoid total fraksi air paling sedikit karena flavonoid dalam daun pandan wangi yang memiliki gugus glukosa hanya rutin yang bersifat polar (Qonitah *et al.*, 2022). Jika dihubungkan dengan nilai rendemen, fraksi air memiliki rendemen paling tinggi dari fraksi lainnya, tetapi kadar flavonoidnya paling rendah. Hal tersebut dapat disebabkan karena senyawa yang larut dalam pelarut air bukan hanya senyawa flavonoid saja melainkan senyawa metabolit sekunder lainnya yaitu fenolik, saponin, dan tanin seperti pada **Tabel 6**.

Analisis data kadar flavonoid total ekstrak etanol 96% dan fraksi daun pandan wangi menggunakan *SPSS* versi 25. Data hasil uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* menunjukkan terdistribusi normal dengan nilai  $p > 0,05$  dan hasil uji homogenitas dengan *Levene-Statistic* menghasilkan data yang homogen  $p > 0,05$ . Data yang normal dan homogen dianalisis menggunakan *One-Way ANOVA*. Berdasarkan hasil analisis *One-Way ANOVA* menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kadar flavonoid total ekstrak etanol 96% dan fraksi etil asetat dengan nilai  $p < 0,05$ .