

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAUN BERENUK
(*Crescentia cujete* L.) DENGAN OPTIMASI KONSENTRASI PELARUT
DAN LAMA EKSTRAKSI MENGGUNAKAN *RESPONSE SURFACE
METHODOLOGY***

Skripsi

**Untuk melengkapi syarat-syarat guna memperoleh gelar
Sarjana Farmasi**

**Disusun oleh:
Nia Permatasari
1604015053**





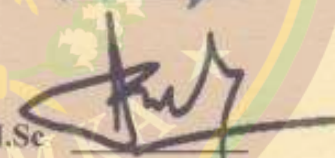



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
JAKARTA
2020**

Skripsi dengan Judul
**PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAUN BERENUK
(*Crescentia cujete* L) DENGAN OPTIMASI KONSENTRASI PELARUT
DAN LAMA EKSTRAKSI MENGGUNAKAN *RESPONSE SURFACE
METHODOLOGY***

Telah disusun dan dipertahankan di hadapan penguji oleh:
Nia Permatasari, NIM 1604015053

Penguji:

	Tanda Tangan	Tanggal
Ketua Wakil Dekan I Drs. apt. Inding Gusmayadi, M.Si		<u>1/3 21</u>
Penguji I Prof. Dr. apt. Endang Hanani SU		<u>30-11-2020</u>
Penguji II apt. Vivi Anggia M. Farm		<u>10-12-2020</u>
Pembimbing:		
Pembimbing I apt. Vera Ladeska, M. Farm		<u>18-12-2020</u>
Pembimbing II apt. Landyyun Rahmawan Sjahid, M.Sc		<u>25-12-2020</u>
Mengetahui:		
Ketua Program Studi Farmasi apt. Kori Yati, M.Farm		<u>6-1-2021</u>

Dinyatakan Lulus pada tanggal : **9 November 2020**

ABSTRAK

PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAUN BERENUK (*Crescentia cujete* L.) DENGAN OPTIMASI KONSENTRASI PELARUT DAN LAMA EKSTRAKSI MENGGUNAKAN *RESPONSE SURFACE METHODOLOGY*

Nia Permatasari
1604015053

Crescentia cujete L. memiliki beragam metabolit sekunder salah satunya yaitu flavonoid yang dapat dijadikan antioksidan. Faktor yang mempengaruhi kuantitas metabolit sekunder dari suatu ekstrak yaitu konsentrasi pelarut dan lama ekstraksi. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kondisi optimal kadar flavonoid total daun berenuk terhadap 2 faktor menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) dengan pendekatan *Central Composite Design* (CCD). Metode ekstraksi yang dipakai adalah *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) yang dibantu oleh gelombang ultrasonik, kemudian pada penetapan kadar flavonoid total metode yang digunakan adalah metode Chang dengan penambahan $AlCl_3$ dan kalium asetat. Selanjutnya, dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode fosfomolibdat pada ekstrak yang disarankan RSM untuk mengetahui aktivitas antioksidannya. Hasil yang terbaik didapatkan pada ekstrak etanol 85% dalam waktu 60 menit dengan model yang cocok yaitu kuadratik, kadar flavonoid total yang diperoleh sebesar 1,13%. Hasil konfirmasi data didapatkan kadar flavonoid total sebesar 1,04%, hal ini masih dalam rentang prediksi dari RSM sehingga hasil tersebut dapat diterima. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 85% dengan waktu 60 menit tertinggi didapatkan pada konsentrasi 10 ppm yaitu sebesar 2550 mgQE/g.

Kata Kunci: *Crescentia cujete* L., Flavonoid, Metode Fosfomolibdat, *Response Surface Methodology* (RSM).

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah, Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat-Nya kepada penulis, sehingga dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan judul: **“PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAUN BERENUK (*Crescentia cujete* L.) DENGAN OPTIMASI KONSENTRASI PELARUT DAN LAMA EKSTRAKSI MENGGUNAKAN *RESPONSE SURFACE METHODOLOGY*”**.

Penulisan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi persyaratan guna memperoleh gelar sarjana farmasi pada Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka, Jakarta.

Terselesaikannya penelitian serta skripsi ini tidak lepas dari dorongan dan uluran tangan berbagai pihak, terima kasih kepada yang terhormat:

1. Bapak Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si. selaku Dekan FFS UHAMKA.
2. Bapak Drs. apt. Inding Gusmayadi, M.Si. selaku Wakil Dekan I FFS UHAMKA.
3. Ibu Dra. Sri Nevi Gantini, M.Si. selaku Wakil Dekan II FFS UHAMKA.
4. Ibu apt. Ari Widayanti, M.Farm. selaku Wakil Dekan III FFS UHAMKA.
5. Bapak Anang Rohwiyono, M.Ag. selaku Wakil Dekan IV FFS UHAMKA.
6. Ibu apt. Kori Yati, M.Farm. selaku Ketua Program Studi FFS UHAMKA.
7. Ibu apt. Vera Ladeska, M.Farm. selaku pembimbing I yang telah senantiasa memberikan bimbingan, waktu, arahan, nasehat, serta dukungan yang sangat berarti selama berlangsungnya penelitian ini.
8. Bapak apt. Landyyun Rahmawan Sjahid, M.Sc. selaku pembimbing II yang telah senantiasa memberikan bimbingan, waktu, arahan, nasehat, serta dukungan yang sangat berarti selama berlangsungnya penelitian ini.
9. Bapak Drs. Sri Harsodjo Wijono Soewandi, M.Si. selaku Pembimbing Akademik atas bimbingan dan dukungan Selma ini.
10. Seluruh Dosen dan Karyawan FFS UHAMKA yang telah membantu
11. Terima kasih khususnya untuk kedua orang tua serta keluarga saya atas dukungannya selama ini.
12. Tak lupa juga teman-teman yang selama ini membantu. Terkhusus Awlia, Nofriza, Lisa, Ratu, Putri, Dinda, Eva, dan Lulu.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih memiliki kekurangan karena keterbatasan ilmu dan kemampuan penulis, untuk itu kritik dan saran dari pembaca sangat diharapkan. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak

Jakarta, November 2020

Penulis

DAFTAR ISI

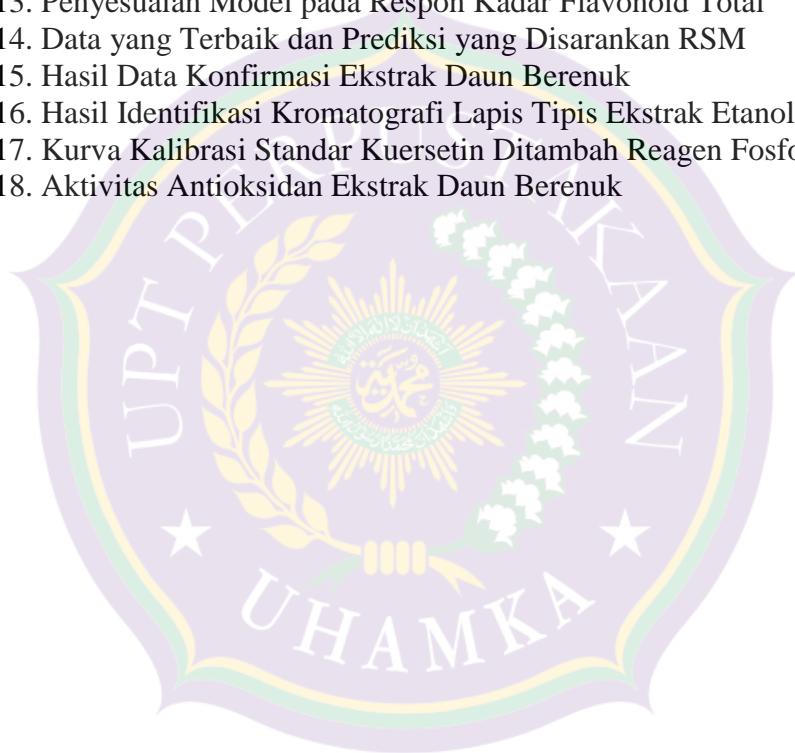
	Hlm
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Permasalahan Penelitian	2
C. Tujuan Penelitian	2
D. Manfaat Penelitian	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
A. Landasan Teori	3
1. Tanaman Berenuk	3
2. Simplisia	4
3. Ekstraksi	5
4. Pelarut	5
5. Flavonoid	6
6. Antioksidan	7
7. Spektrofotometer UV-Vis	8
8. <i>Respon Surface Methodology</i> (RSM)	8
B. Kerangka Berpikir	9
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	10
A. Tempat dan Waktu	10
1. Tempat	10
2. Waktu	10
B. Alat dan Bahan	10
1. Alat	10
2. Bahan	10
C. Pola Penelitian	10
D. Cara Kerja	11
1. Determinasi	11
2. Pembuatan Simplisia (Depkes RI 1985)	11
3. Rancangan Percobaan dengan <i>Response Surface Methodology</i> (RSM) serta Pembuatan Ekstrak	12
4. Pemeriksaan Sifat Ekstrak Etanol Daun Berenuk	13
5. Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Berenuk	14
6. Penetapan Kadar Flavonoid Total	16
7. Uji Aktivitas Antioksidan	18
E. Analisis Data	20
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	21
A. Hasil Determinasi Tanaman	21
B. Hasil Ekstraksi Daun Berenuk	21
C. Pemeriksaan Sifat Ekstrak Etanol Daun Berenuk	22

D. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun Berenuk	23
E. Hasil Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Berenuk	27
F. Analisis Data dengan Menggunakan Design Expert 7.1.5	28
G. Konfirmasi Data Kondisi Terbaik	34
H. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode Fosfomolibdat	35
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	38
A. Simpulan	38
B. Saran	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN-LAMPIRAN	44



DAFTAR TABEL

	Hlm
Tabel 1. Rancangan Percobaan dengan Design-Expert 7.1.5	12
Tabel 2. Hasil Ekstraksi Daun Berenuk	21
Tabel 3. Data Hasil Organoleptik Ekstrak Daun Berenuk	22
Tabel 4. Data Hasil Susut Pengeringan dan Kadar Abu Ekstrak Daun Berenuk	23
Tabel 5. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun Berenuk	25
Tabel 6. Identifikasi Senyawa Flavonoid dengan Kromatografi Lapis Tipis	26
Tabel 7. Hasil Absorbansi Larutan Standar Kuersetin (λ 430 nm)	27
Tabel 8. Hasil Penetapan Flavonoid Kadar Ekstrak Daun Berenuk	28
Tabel 9. Hasil Pemilihan Model pada Respon Kadar Flavonoid Total	30
Tabel 10. Pemilihan Model Berdasarkan Pengujian Ketidakcocokan Model	30
Tabel 11. Pemilihan Model Berdasarkan Ringkasan Model Secara Statistik	31
Tabel 12. Uji Analisis Variansi (ANOVA)	32
Tabel 13. Penyesuaian Model pada Respon Kadar Flavonoid Total	32
Tabel 14. Data yang Terbaik dan Prediksi yang Disarankan RSM	34
Tabel 15. Hasil Data Konfirmasi Ekstrak Daun Berenuk	34
Tabel 16. Hasil Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol 85%	35
Tabel 17. Kurva Kalibrasi Standar Kuersetin Ditambah Reagen Fosfomolibdat	36
Tabel 18. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Berenuk	37



DAFTAR GAMBAR

	Hlm
Gambar 1. Pohon Berenuk (<i>Crescentia cujete</i> L.)	3
Gambar 2. Struktur Umum Flavonoid	6
Gambar 3. Kurva Kalibrasi Kuersetin Ditambah $AlCl_3$ Dan Kalium Asetat	28
Gambar 4. Plot 3 Dimensi Respon Kadar Flavonoid Total	33
Gambar 5. Kurva Kalibrasi Kuersetin Ditambah Fosfomolibdat	36



DAFTAR LAMPIRAN

	Hlm
Lampiran 1. Skema Pola Penelitian	44
Lampiran 2. Surat Determinasi Tumbuhan	45
Lampiran 3. Perhitungan % Rendemen Ekstrak Daun Berenuk	46
Lampiran 4. Penapisan Fitokimia	49
Lampiran 5. Hasil Rf Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	51
Lampiran 6. Hasil Identifikasi Senyawa Flavonoid Menggunakan KLT	52
Lampiran 7. Hasil Susut Pengerinan	55
Lampiran 8. Hasil Uji Kadar Abu Total	57
Lampiran 9. Perhitungan Larutan pada Penetapan Kadar Flavonoid Total	61
Lampiran 10. Panjang Gelombang Maksimum Standar Kuersetin Ditambah dengan AlCl ₃ dan Kalium Asetat	62
Lampiran 11. <i>Operating Time</i> Kuersetin Ditambah dengan AlCl ₃ dan Kalium Asetat	63
Lampiran 12. Pembuatan Kurva Kalibrasi Standar Kuersetin Ditambah dengan AlCl ₃ dan Kalium Asetat	64
Lampiran 13. Absorbansi Kadar Flavonoid Total	65
Lampiran 14. Perhitungan Kadar Flavonoid Total	66
Lampiran 15. Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total Daun Berenuk	81
Lampiran 16. Hasil Kondisi Terbaik dengan RSM	82
Lampiran 17. Konfirmasi Data Kondisi Terbaik Ekstrak Daun Berenuk	83
Lampiran 18. Skema Kerja Uji Antioksidan dengan Metode Fosfomolibdat	87
Lampiran 19. Pembuatan Larutan Fosfomolibdat	88
Lampiran 20. Panjang Gelombang Fosfomolibdat	89
Lampiran 21. Panjang Gelombang Standar Kuersetin Ditambah Fosfomolibdat	90
Lampiran 22. <i>Operating Time</i> Standar Kuersetin Ditambah Fosfomolibdat	91
Lampiran 23. Kurva Kalibrasi Standar Kuersetin Ditambah Fosfomolibdat	92
Lampiran 24. Absorbansi Ekstrak Etanol 85% Ditambah Fosfomolibdat	93
Lampiran 25. Pembuatan Kurva Kalibrasi Standar Kuersetin Ditambah Fosfomolibat	94
Lampiran 26. Perhitungan Pembuatan Seri Konsentrasi Larutan Uji	96
Lampiran 27. Data Absorbansi Uji Aktivitas Antioksidan	97
Lampiran 28. Perhitungan Kesetaraan Aktivitas Antioksidan	98
Lampiran 29. Dokumentasi Penelitian	99
Lampiran 30. Sertifikat Standar Kuersetin	101

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Crescentia cujete L. atau berenuk merupakan tanaman obat yang tersebar luas dengan berbagai macam metabolit sekunder yang digunakan sebagai senyawa obat (Murch *et al* 2004). Salah satunya senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada berenuk yaitu flavonoid. Flavonoid adalah senyawa golongan fenol alam terbesar yang terdapat dalam semua tumbuhan hijau (Markham 1988). Oputu (2016) melaporkan isolat ekstrak metanol daun berenuk menunjukkan adanya senyawa flavonoid golongan flavon, flavonol (3-OH tersubstitusi) dan flavonol (3-OH bebas). Das *et al* (2014) membuktikan adanya senyawa flavonoid pada ekstraksi etanol daun dan batang berenuk pada uji antioksidan.

Dalam mendapatkan senyawa metabolit sekunder terutama flavonoid, faktor yang mempengaruhi kuantitas dan komposisi metabolit sekunder dari suatu ekstrak tergantung pada jenis ekstraksi, waktu ekstraksi, suhu, sifat pelarut, konsentrasi pelarut, polaritas (Tiwari *et al* 2011). Menurut Zhang *et al* (2009) konsentrasi pelarut mempengaruhi hasil ekstraksi. Perbedaan konsentrasi etanol dapat mengakibatkan perubahan polaritas pelarut sehingga mempengaruhi kelarutan senyawa bioaktif salah satunya ialah flavonoid. Liu *et al* (2018) membuktikan etanol dengan konsentrasi 40% adalah kondisi ekstraksi optimal pada penentuan flavonoid daun *Camellia fascicularis*. Suhendra dkk (2019) menunjukkan bahwa kadar total flavonoid pada ekstrak rimpang ilalang akan semakin meningkat hingga konsentrasi etanol 70% yaitu sebesar 90,91 mgQE/g ekstrak. Selain konsentrasi pelarut, waktu ekstraksi juga mempengaruhi kuantitas dan komposisi dari senyawa flavonoid.

Buanasari dkk (2019) menyimpulkan kandungan total flavonoid dari daun jambu air didapatkan pada kondisi operasi rasio padatan : pelarut (1:10 g/mL) dengan waktu ekstraksi 30 menit yaitu sebesar $4,80 \pm 0,01$ %. Sedangkan untuk daun melinjo pada kondisi operasi rasio padatan : pelarut (1:10 g/mL) dengan waktu ekstraksi 10 menit yaitu $3,99 \pm 0,01$ %. Kebutuhan solven didapatkan rata-rata 1:10 g/mL dengan waktu 10-30 menit sudah mampu memberikan hasil optimal.

Pada penelitian ini dilakukan penetapan kadar flavonoid dengan bantuan *Response Surface Methodology* (RSM). RSM adalah sekumpulan teknik matematika dan statistika dengan tujuan akhirnya adalah untuk mengoptimalkan respon (Montgomery 2001). Penelitian Liu *et al* (2018) melaporkan penggunaan *Central Composite Design* (CCD) pada RSM digunakan untuk mengoptimalkan ekstraksi senyawa flavonoid dari daun *Camellia fascicularis*. Azahar *et al* (2017) melaporkan bahwa RSM dengan CCD berhasil dikembangkan untuk menentukan parameter yang optimal serta membantu dalam memprediksi respon yang diperoleh dari optimalisasi kondisi ekstraksi fenolik dan flavonoid daun *Curcuma zedoaria*.

Berdasarkan penelitian di atas diketahui bahwa perlakuan lama ekstraksi serta variasi konsentrasi pelarut sangat mempengaruhi hasil ekstraksi, oleh karena itu penelitian ini dilakukan penentuan kadar flavonoid total pada daun berenuk dengan menggunakan variasi lama ekstraksi dan konsentrasi pelarut menggunakan ultrasonik dengan bantuan *Response Surface Methodology* (RSM) agar mendapatkan hasil yang optimum.

B. Permasalahan Penelitian

Masih sedikit penelitian mengenai penetapan kadar flavonoid terhadap berbagai faktor. Terutama terhadap lama ekstraksi dan konsentrasi pelarut untuk mendapatkan kadar flavonoid yang optimum. Permasalahan penelitian ini adalah pada lama dan konsentrasi pelarut manakah yang menghasilkan kadar total flavonoid yang optimal.

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi manakah yang optimum untuk mendapatkan flavonoid total yang baik berdasarkan lamanya ekstraksi dan konsentrasi pelarut menggunakan metode ultrasonik dengan bantuan *Response Surface Methodology* (RSM).

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan tambahan informasi mengenai daun berenuk seberapa besar pengaruh variasi lama ekstraksi dan konsentrasi pelarut yang optimum terhadap kandungan kadar flavonoid total.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A. B., Muhammad, N. A., Idris, M. B., Jhanwar, N., & Boranada, R. (2016). Short Communication Phytochemicals Screening And Acid- Base Indicator Property Of Ethanolic Extract. *Journal of Advanced Scientific Research*, 7(2), 30–32.
- Ardianti, A., & Kusnadi, J. (2014). Extraction of Antibacterial from Berenuk (*Crescentia cujete* Linn.) Leaves Using Ultrasonic Method. *Journal Pangan dan Agroindustri*, 2(2), 28–35.
- Arel, A., Wardi, E. S., & Oktaviani, Y. (2018). Profil Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Berenuk (*Crescentia Cujete* L.) dan Uji Sitotoksik Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Jurnal Katalisator*, 3(2), 82-88.
- Arifin, H., Anggraini, N., Handayani, D. & Rasyid, R. (2006). Standarisasi Ekstrak Etanol Daun *Eugenia cumini* Merr. *Journal Sains Teknologi Farmasi*, 11(2): 88-93. 11(2), 88–93.
- Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21–29.
- Azahar, N. F., Gani, S. S. A., & Mohd Mokhtar, N. F. (2017). Optimization Of Phenolics and Flavonoids Extraction Conditions Of *Curcuma zedoaria* Leaves Using Response Surface Methodology. *Chemistry Central Journal*, 11(1), 1–10.
- Azizah, D. N., Kumolowati, E., & Faramayuda, F. (2014). Penetapan Kadar Flavonoid Metode $AlCl_3$ Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(2), 45–49.
- Buanasari, Yahya Febrianto, Cholifah, A. C. (2019). Potensi Metode Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE) Dalam Mengekstrak Senyawa Aktif Dari Bahan Alam. *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*, 2(1), 106–112.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation Of Total Flavonoid Content In Propolis By Two Complementary Colometric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178–182.
- Das, N., Islam, M. E., Jahan, N., Islam, M. S., Khan, A., Islam, M. R., & Parvin, M. S. (2014). Antioxidant Activities Of Ethanol Extracts And Fractions Of *Crescentia cujete* Leaves And Stem Bark And The Involvement Of Phenolic Compounds. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(45), 1-9.
- Dawodu, O. A., Lawal, O. A., Ogunwande, I. A., & Giwa, A. A. (2016). Volatile Constituents of *Crescentia cujete* L. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 4(4), 1–3.
- Depkes. (1985). *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 4-8

- Depkes. (1995). *Materia Medika Indonesia* (Jilid VI). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 333
- Depkes RI. (2000). *Buku Panduan Teknologi Ekstrak*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Hlm 11-12
- Ebringerová, A., & Hromádková, Z. (2010). An Overview On The Application of Ultrasound In Extraction, Separation And Purification of Plant Polysaccharides. *Central European Journal of Chemistry*, 8(2), 243–257.
- Fajriaty, I., Ih, H., & Setyaningrum, R. (2018). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Dari Ekstrak Etanol Daun Bintangur (*Calophyllum soulattri* Burm. F). *Jurnal Pendidikan Informatika Dan Sains*, 7(1), 54–67.
- Hanani, E. (2015). *Analisis Fitokimia*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 10-11, 13, 103
- Harborne, J. (1987). *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Terjemahan: Dr. Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB. Hlm 1,9,71
- Harmita. (2014). *Analisis Fisikokimia*. Jakarta: EGC. Hlm 1-2
- Heyne, K. (1987). *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid III*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Hlm 1747
- Hidayati, D. N., Sumiarsih, C., & Mahmudah, U. (2018). Standarisasi Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Batang Berenuk (*Crescentia cujete* Linn). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 1(19), 19–23.
- ITIS. (2019). *Taxonomi Crescentia cujete*. Integrated Taxonomic Information System. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=34332#null. Diakses pada tanggal 26 November 2019
- Kemenkes RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 528-531
- Khayet, M., Cojocar, C., & Zakrzewska-trznadel, G. (2008). Response Surface Modelling and Optimization In Pervaporation. *Journal of Membrane Science*, 321, 272–283.
- Kunarto, B., Sutardi, S., Supriyanto, S., & Anwar, C. (2019). Optimasi Ekstraksi Berbantu Gelombang Ultrasonik pada Biji Melinjo Kerikil (*Gnetum gnemon* L., ‘Kerikil’) Menggunakan Response Surface Methodology. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 8(3), 104-111.
- Kusuma, A. M., Sulisty, A. N., Susanti, S., & Sabikis, S. (2014). Aktivitas Penghentian Pendarahan Luar Ekstrak Etanol Daun Berenuk (*Crescentia cujete* L) Secara In-Vivo. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 1(2), 134–140.

- Lemke, T. L., D. A. W. (2008). *Foye's Principles of Medicinal Chemistry* (6th ed.). Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. Hlm 44-45
- Liu, Y., Luo, X., Lan, Z., Tang, J., Zhao, P., & Kan, H. (2018). Ultrasonic-Assisted Extraction And Antioxidant Capacities Of Flavonoids From *Camellia fascicularis* Leaves. *CYTA - Journal of Food*, 16(1), 105–112.
- Mahmiah, M. (2010). Isolation And Identification Flavonoid Compound From The Stem Bark of *Saccopetalum horsfieldii* BENN. *Indonesian Journal of Chemistry*, 6(3), 312–315.
- Marija R, Z, Stela Jokićb, S. V. (2012). Determination Of Optimal Extraction Parameters Of Mulberry Leaves Using *Response Surface Methodology* (RSM) Materials and Methods. *Romanian Biotechnological Letters*, 17(3), 7295–7308.
- Markham, K. R. (1988). *Cara mengidentifikasi flavonoid*, Terjemahan: Dr. Kosasih Padmawinata dan Dr. Iwang Soediro. Bandung: ITB. Hlm 1, 19
- Marliana, S. D., Suryanti, V., & Suyono. (2005). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq . Swartz .) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*, 3(1), 26–31.
- Montgomery, D. C. (2001). *Design and Analysis of Experiments* (5th ed.). New York: John wiley & Sons INC. Hlm 427-429
- Moonmun, D., Majumder, R., & Lopamudra, A. (2017). Quantitative Phytochemical Estimation And Evaluation Of Antioxidant And Antibacterial Activity Of Methanol And Ethanol Extracts Of *Heliconia rostrata*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 79(1), 79–90.
- Mulja, M. (1995). *Analisis Instrumental*. Surabaya: Airlangga University Press. Hlm 26
- Muñiz-márquez, D. B., Martínez-ávila, G. C., Wong-paz, J. E., Belmares-cerda, R., Rodríguez-herrera, R., & Aguilar, C. N. (2013). Ultrasonics Sonochemistry Ultrasound-Assisted Extraction Of Phenolic Compounds From *Laurus nobilis* L. and Their Antioxidant Activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(5), 1149-1154
- Murch, S. J., Liu, C., Romero, R. M., & Saxena, P. K. (2004). In Vitro Culture And Temporary Immersion Bioreactor Production of *Crescentia Cujete*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 78(1), 63–68.
- Olaniyi, M. B., Lawal, I. O., & Olaniyi, A. A. (2018). Proximate, Phytochemical Screening And Mineral Analysis of *Crescentia Cujete* L. Leaves. *Journal of Medicinal Plants for Economic Development*, 2(1), 1–7.

- Oputu, A. (2016). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Metanol Daun Berenuk (*Crescentia Cujete L.*) Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Skripsi*. Fakultas Olahraga dan Kesehatan. Universitas Negeri Gorontalo, Gorontalo. Hlm 36
- Parvin, M. S., Das, N., Jahan, N., Akhter, M. A., Nahar, L., & Islam, M. E. (2015). Evaluation Of In Vitro Anti-Inflammatory And Antibacterial Potential Of *Crescentia kujete* Leaves And Stem Bark Pharmacology And Toxicology. *BMC Research Notes*, 8(1), 1–7.
- Priyanto. (2018). *Toksikologi* (4th ed). Jakarta: LESKONFI. Hlm 87-99
- Rahayu, M. (2006). Traditonal Use of Medicinal Herbs By Local Community Of Wawonii Island, Southeast Sulawesi. *Biodiversitas, Journal of Biological Diversity*, 7(3), 245–250.
- Rahmaningsih, S., Prajitno, A., & Aulanni, am. (2017). Bioactive Compounds From Majapahit Fruit (*Crescentia kujete*) As a Potential Natural Antibacterial. *Journal of Chemistry Technology*, 10(3), 90–99.
- Sahin, S. (2018). Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction Parameters For Antioxidants From *Curcuma longa L.* *Journal of Natural Sciences*, 19(2), 121–128.
- Salamah, Nina, S., & Liani, F. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Herba Pegagan (*Centella asiatica(L.)Urb*) Dengan Metode Fosfomolibdat Antioxidant Activity Assay Of Ethanolic Extract Of *Centella asiatica (L.)*. *Pharmaciana*, 4(1), Hlm. 23-30.
- Salamah Nina & Lina Hanifah. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Ji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Suruhan (*Peperomia Pellucida L H.B & K*) Dengan Metode Fosfomolibdat. *PERHIPBA*.
- Suhendra, Corry P, I Wayan Rai Widarta, A. A. I. S. W. (2019). Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Ilalang (*Imperata cylindrica (L) Beauv.*) Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 8(1), 27–35.
- Syamsul S, E., Yunita Hakim, Y., Nurhasnawati, H. Wahab Syahrane, A. A. (2019). Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Kelakai (*Stenochlaena palustris (Burm. F.) Bedd.*) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Riset KEfarmasian Indonesia*, 1(1), 11–20.
- Steenis. (2006). *Flora*. Jakarta: Pradnya Paramita. Hlm 474
- Tiwari P, Bimlesh Kumar, Mandeep Kaur, Gurpreet Kaur, H. K. (2011). Phytochemical Screening And Extraction: A Review. *International Pharmaceutical Science*, 1(1), 98–106.

- Toledo, M. (2011). *Operating Instruction Moisture Balance Analyzer HB43-S*. Mettler Toledo. Jakarta: Laboratory and Weighing Technologies. Hlm 30-32
- Zengin, G., Aktumsek, A., Guler, G. O., Cakmak, Y. S., & Yildiztugay, E. (2011). Antioxidant Properties Of Methanolic Extract And Fatty Acid Composition Of *Centaurea urvillei* DC. Subsp. Hayekiana Wagenitz. *Records of Natural Products*, 5(2), 123–132.
- Zhang, L., Shan, Y., Tang, K., & Putheti, R. (2009). Ultrasound-Assisted Extraction Flavonoids From Lotus (*Nelumbo nuficera* Gaertn) Leaf and Evaluation Of Its Anti-Fatigue Activity. *International Journal of Physical Sciences*, 4(8), 418–422.

