

UJI PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL PADA BUAH LADA PUTIH (*Piperis Albi Fructus*) DAN BUAH LADA HITAM (*Piperis Nigri Fructus*) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-Vis

DETERMINATION TEST OF TOTAL FLAVONOIDS IN WHITE PEPPERS (*Piperis Albi Fructus*) AND BLACK PEPPERS (*Piperis Nigri Fructus*) WITH UV-Vis SPECTROPHOTOMETRY METHOD

Aswandi¹, Tanwir Djafar²

¹Dosen S-1 Farmasi STIKES Bhakti Pertiwi Luwu Raya

²Dosen S-1 Keperawatan STIKES Bhakti Pertiwi Luwu Raya

Email: whaonennfc@yahoo.com

tanwirdjafar9@gmail.com

ABSTRAK

Buah lada (*Piper nigrum* L.) mengandung senyawa metabolit sekunder yang diduga bertanggung jawab terhadap efek farmakologi, salah satunya adalah flavonoid. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kadar flavonoid total yang terkandung pada ekstrak etanol buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) dan buah lada hitam (*Piperis Nigris Fructus*) serta untuk mengetahui kadar flavonoid total tertinggi yang terkandung diantara keduanya. Pada penelitian ini masing-masing simplisia buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) dan buah lada hitam (*Piperis Nigris Fructus*) diekstraksi secara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak 600 ppm dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 430 nm, dengan pembanding kuersetin. Hasil linearitas kuersetin dari 5 seri konsentrasi (2,5 ppm, 3,0 ppm, 3,5 ppm, 4,0 ppm dan 4,5 ppm) diperoleh nilai $r = 0,9973$. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar flavonoid total ekstrak etanol buah lada putih sebesar 0,0265 gQE/g ekstrak dengan presentasi 2,657%, dan buah lada hitam sebesar 0,02785 mgQE/g ekstrak dengan presentasi 2,785 %

Kata kunci : Buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) dan buah lada hitam (*Piperis Nigris Fructus*), Kadar flavonoid, kuersetin, spektrofotometri UV-Vis.

ABSTRACT

Pepper fruit (*Piper nigrum* L.) contains secondary metabolites which are thought to be responsible for pharmacological effects, one of which is flavonoids. The purpose of this study was to determine the total flavonoid content contained in the ethanol extract of white pepper (*Piperis Albi Fructus*) and black pepper (*Piperis Nigris Fructus*) and to determine the highest total flavonoid content contained between the two. In this study, each simplicia of white pepper (*Piperis Albi Fructus*) and black pepper (*Piperis Nigris Fructus*) was extracted by maceration using ethanol as a solvent. Determination of total flavonoid content of 600 ppm extract was carried out using UV-Vis spectrophotometry at a maximum wavelength of 430 nm, with quercetin as a comparison. The linearity results for quercetin from 5 concentration series (2.5 ppm, 3.0 ppm, 3.5 ppm, 4.0 ppm and 4.5 ppm) obtained a value of $r = 0.9973$. The results showed that the total flavonoid content of the ethanol extract white pepper fruit of 0.0265 gQE/g extract with a presentation of 2.657%, and black pepper fruit of 0.02785 mgQE/g extract with a presentation of 2.785%.

Keywords: white pepper (*Piperis Albi Fructus*) and black pepper (*Piperis Nigris Fructus*), levels of flavonoids, quercetin, UV-Vis spectrophotometry.

Pendahuluan

Penggunaan obat tradisional telah lama digunakan sejak zaman dahulu hingga sekarang, baik di negara maju maupun yang sedang berkembang. Menurut *World Health Organization* (WHO), hampir 80 % umat manusia memanfaatkan tumbuh-tumbuhan sebagai bahan obat dalam memelihara kesehatannya. Pemakaian bahan herbal alami untuk menangani penyakit dipercaya dapat membantu memberikan efek kesembuhan dengan memanfaatkan metabolit sekunder yang dihasilkan seperti, flavonoid (Choirul 2003, hal.14).

Senyawa flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan dalam semua tumbuhan berpembuluh (buah dan sayuran) (Indrawati & Razimin 2013, h.49)

Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder yang memiliki struktur inti C6-C3-C6 yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan dengan 3 atom C, biasanya dengan ikatan atom O yang berupa ikatan oksigen heterosiklik (Hanani 2015, h.103). Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit batang, kulit tepung sari, nectar, bunga, buah dan biji (Neldawati, Ratnawulan & Gusnedi 2013 h.77).

Menurut penelitian Artanti *et al.*, (2006) menyatakan bahwa sejumlah tanaman obat yang mengandung flavonoid telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, anti alergi, dan antikanker (Yulianti, Dahlia & Ahmad 2013, hal. 14)

Salah satu tanaman obat yang mengandung flavonoid adalah buah lada ((Nahak, Sahu & Trivedi 2011, h.153). Hasil

penelitian sebelumnya menyatakan bahwa berdasarkan skrining fitokimia diketahui dalam serbuk simplisia dari ekstrak etanol buah *Piper nigrum* L. terkandung senyawa flavonoid (Elfahmi *et al.* 2012).

Tumbuhan lada (*Piper nigrum* L.) termasuk tanaman yang banyak dibudidayakan di Sulawesi Selatan, di mana tanaman *Piper nigrum* L. atau lebih dikenal masyarakat sebagai bumbu dapur atau penambah rasa dan aroma makanan. Lada dapat dibedakan dalam dua macam yaitu buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) dan lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*) di mana yang membedakannya adalah pada saat proses pengolahan pasca panen.

Kandungan buah lada diantaranya adalah kamfena, boron, alkaloid, flavonoin, saponin, minyak atsiri dan sejumlah kecil mineral (Hariana 2013, h. 196). Masyarakat di Luwu Timur juga dapat menggunakan lada sebagai obat tradisional, seperti meredakan rematik, menurunkan demam, membantu sistem pernapasan sebagai anti inflamasi, dan mengobati perut kembung.

Berdasarkan data tersebut, maka perlu dilakukan penelitian kadar flavonoid total yang terkandung dalam tumbuhan lada, baik buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) dan buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*). Dengan demikian pemanfaatan tumbuhan lada (*Piper nigrum* L.) dapat lebih maksimal untuk dijadikan sebagai alternatif pengobatan herbal dalam penyembuhan berbagai macam penyakit, pengembangan IPTEK khususnya di bidang farmasi serta penggunaannya dapat di pertanggung jawabkan oleh produsen obat tradisional.

Metode Penelitian

1. Pengolahan Sampel

Pengambilan sampel di lakukan di desa Ujung Baru Kab. Luwu Timur, Sulawesi Selatan.

a. Buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*)

Buah segar yang diambil dari pohon dipisahkan dari pengotor, kemudian untuk pengolahan buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*), buah yang cukup matang direndam selama tujuh

sampai empat belas hari dalam air hingga kulit buah mengelupas sendiri setelah itu dicuci bersih, kemudian dikeringkan dengan cara ditutupi menggunakan kain hitam selama tiga sampai lima hari di bawah sinar matahari.

b. Buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*)

Untuk pengolahan buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*) setelah diambil dari pohonnya kemudian

dipisahkan dari cabang buah, kemudian dikeringkan bersama kulit buahnya dengan menggunakan kain hitam selama

Setelah kering, buah dihaluskan hingga didapatkan konsistensi ukuran buah yang lebih kecil

2. Ekstraksi buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) dan buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*).

Timbang 300 gram masing-masing sampel buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) dan buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*), dimasukkan ke dalam wadah maserasi. Kemudian ditambahkan dengan etanol 96% 500 ml sampai seluruh sampel terendam, kemudian ditutup dan dibiarkan selama 3 x 24 jam. Maserat disaring dengan menggunakan kertas saring. Filtrate diperoleh melalui penyaringan dengan corong, kemudian ampas dimaserasi kembali dengan etanol 96%, dimaserasi sampai tiga kali sehingga filtrate hampir tidak berwarna. Semua filtrate disatukan dan diuapkan dengan menggunakan rotavapor sampai tidak ada cairan yang menetas sehingga diperoleh ekstrak etanol kental buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) dan buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*). Ekstrak kental buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) dan buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*), digunakan untuk analisis selanjutnya.

3. Uji skrining dari Ekstrak Etanol buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) dan buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*)

a. Skrining Kandungan Flavonoid dengan menggunakan pereaksi kimia, mengacu pada metode Harbone (1987).

Sebanyak 1 mg masing masing ekstrak etanol buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) dan buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*) ditambahkan dengan 2 tetes FeCl_3 . Terbentuknya warna hijau, hijau biru atau hijau kekuning-kuningan menunjukkan adanya senyawa flavonoid dalam sampel.

b. Skrining Kandungan Flavonoid secara kromatografi lapis tipis,

lima sampai enam hari dibawah sinar matahari.

mengacu pada metode Mabry *et al.* (1970) yang di modifikasi.

Untuk uji kualitatif flavonoid, dilakukan analisis KLT. Masing masing ekstrak etanol buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*), buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*) dan kuersetin (sebagai pembanding) dilarutkan dengan etanol, kemudian ditotolkan pada lempeng KLT. Lempeng dimasukkan dalam *chamber* yang sama berisi eluen n-heksan : etil asetat dengan perbandingan 2 : 1. Bercak diamati dibawah sinar UV366 nm. Kemudian disemprot dengan pereaksi AlCl_3 yang akan memberikan warna kuning.

4. Penentuan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) kuersetin

Untuk konsentrasi larutan standar kuersetin, dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum dari larutan kuersetin pada range panjang gelombang 400 - 500 nm. Serapan maksimum yang diperoleh 430 nm menunjukkan panjang gelombang maksimum standar baku kuersetin. Panjang gelombang maksimum tersebut yang digunakan untuk mengukur serapan dari sampel ekstrak etanol buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) dan buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*).

5. Pembuatan kurva baku kuersetin

Masing-masing konsentrasi larutan baku kuersetin dipipet 1 mL. Kemudian ditambahkan etanol p.a 3 mL, 0,2 mL AlCl_3 2%, 0,2 mL kalium asetat 120 mM dan cukupkan volumenya dengan aquabides hingga batas tanda dan didapatkan konsentrasi 2,5 ppm, 3 ppm, 3,5 ppm, 4 ppm, dan 4,5 ppm. Sampel diinkubasi selama satu jam pada suhu. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 430 nm. Setelah diperoleh absorbansi dari masing-masing larutan pembanding. Dibuatlah

kurva kalibrasi dan diperoleh regresi persamaan linear.

6. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) dan buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*)

Ekstrak etanol buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) dan buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*) masing-masing ditimbang 60 mg, kemudian dilarutkan dalam 10 mL etanol p.a, sehingga diperoleh konsentrasi 6000 ppm. Dari larutan tersebut dipipet 1 mL kemudian ditambahkan 3 mL etanol p.a, 0,2 mL larutan $AlCl_3$ 2%, 0,2 mL kalium asetat 120 mM dan dicukupkan volumenya dengan aquabides hingga batas tanda sehingga di peroleh konsentrasi 600 ppm. Sampel diinkubasi selama satu jam pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 430 nm. Sampel dibuat dalam tiga replikasi untuk setiap analisis dan diperoleh nilai rata-rata absorbansi. Kadar total senyawa flavonoid dinyatakan sebagai equivalen quercetin (mg/ Eq).

Hasil dan Pembahasan

Sampel tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah buah lada (*Piperis nigrum Fructus*) yang diperoleh dari Luwu timur, dimana buah lada dapat dibedakan dalam dua macam berdasarkan cara pengolahan pasca panen yaitu buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) yang pengolahannya melalui perendaman sebelum di keringkan dan buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*) yang pengolahannya tanpa melalui proses perendaman. Buah lada berkhasiat mengobati kaki bengkak pada ibu hamil, memperbaiki sistem

pernafasan, demam, masuk angin, rematik, panas dalam, dan sakit kepala (Hariana 2013, h. 196-199). Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya bahwa dalam dalam serbuk simplisia dari ekstrak buah lada terkandung senyawa flavonoid (Elfahmi *et al.* 2012).

Pada penelitian ini simplisia buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) dan buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*), diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Pemilihan metode ekstraksi ini karena merupakan metode yang tanpa melalui proses pemanasan, sehingga kemungkinan rusaknya komponen senyawa kimia dapat diminimalisir khususnya senyawa flavonoid yang tidak tahan terhadap pemanasan dan merupakan metode yang sederhana, murah, dan mudah (Salmia 2016, hal. 47)

Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol 96%, karena dalam hal penyarian, etanol memiliki kelebihan dibandingkan dengan air dan metanol, senyawa kimia yang mampu disari dengan etanol lebih banyak dari pada penyari metanol dengan air. Setelah proses ekstraksi selesai, ekstrak cair di kumpulkan kemudian diuapkan dengan tujuan memperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental etanol dari buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) diperoleh yaitu 11,2974 g dan buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*) yaitu 9,9252 g. Kemudian dilakukan perhitungan rendamen, sehingga diperoleh rata-rata persen rendamen untuk ekstrak buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) yaitu 3, 7658 % dan buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*) yaitu 3,3084 %. Penentuan rendamen ini berfungsi untuk mengetahui kadar metabolit sekunder yang terbawa oleh pelarut (Ahmad *et al.*, 2015).

Tabel 1. Hasil ekstraksi dan % rendamen ekstrak etanol buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) dan buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*).

Jenis	Buah lada hitam (<i>Piperis Nigri Fructus</i>)	Buah lada putih (<i>Piperis Albi Fructus</i>)
Berat simplisia kering (g)	300	300
Jumlah pelarut (mL)	500	500
Jumlah ekstrak kental (g)	9,9252	11,2974
persen rendamen (%)	3,3084	3,7658

Analisis kualitatif dilakukan untuk mengetahui komponen kimia pada tumbuhan dengan menggunakan reagen besi (III) klorida (FeCl_3). Diamati perubahan yang terbentuk yaitu pada buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) warna kuning tua dan buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*) berwarna kuning kehijauan, dimana

berdasarkan literatur semakin banyak kandungan flavonoid pada suatu ekstrak maka secara visual warna kuning yang terbentuk akan semakin pekat (Neldawati 2013, h.77). Hasil identifikasi menunjukkan ekstrak etanol buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) dan buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*) positif mengandung flavonoid.

Tabel 2. Hasil analisis kualitatif ekstrak etanol buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) dan buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*) dengan menggunakan pereaksi kimia

Ekstrak etanol	Pereaksi	Warna		Keterangan
		Sebelum	Setelah	
Buah lada putih (<i>Piperis Albi Fructus</i>)	FeCl_3	Kuning pucat	Kuning tua	(+) flavonoid
Buah lada hitam (<i>Piperis Nigri Fructus</i>)		Kuning	Kuning kehijauan	(+) flavonoid

Dan pemeriksaan flavonoid dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Dimana KLT itu sendiri merupakan suatu metode pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF254, dan fase geraknya (eluen) n-heksan : etil asetat (2:1) pada buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) dan buah lada hitam (*Piperis Nigri*

Fructus) serta pada kuersetin digunakan pula eluen yang sama, Ketika diamati dibawah sinar diamati dibawah sinar UV 366 nm terlihat noda sedikit berfluoresensi atau berpendar, dan setelah disemprot dengan AlCl_3 noda semakin intensif berwarna kuning dengan nilai R_f masing-masing buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*), buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*) dan kuersetin yaitu 0,8 sehingga menunjukkan adanya flavonoid.

Tabel.3 Hasil analisis kualitatif ekstrak etanol buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) dan buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*) dengan menggunakan KLT

Ekstrak etanol	Kromatografi lapis tipis (UV366)	Pereaksi AlCl_3	Hasil	Nilai R_f
Kuersetin	Warna kuning	intensif berwarna kuning	(+)	0,8
Buah lada putih (<i>Piperis Albi Fructus</i>)	Warna kuning	Intensif berwarna kuning	(+)	0,8
Buah lada hitam (<i>Piperis Nigri Fructus</i>)	Warna kuning	Intensif berwarna kuning	(+)	0,8

Selanjutnya dilakukan uji kuantitatif senyawa flavonoid dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis untuk

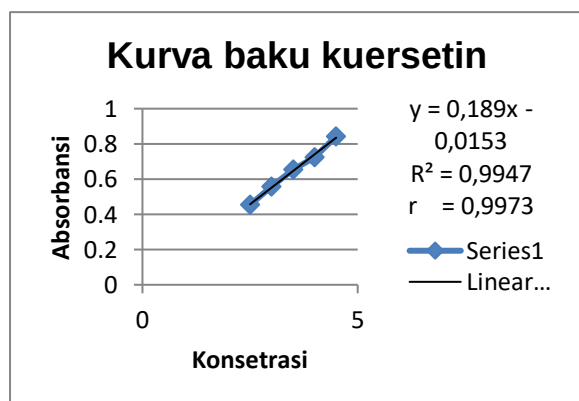
mengetahui seberapa besar kadar flavonoid yang terkandung pada ekstrak etanol buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) dan buah lada

hitam (*Piperis Nigri Fructus*). Analisis flavonoid dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis karena flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi sehingga menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum sinar ultraviolet dan spektrum sinar tampak (Aminah 2017, h. 228).

Pemilihan kuersetin sebagai larutan standar dikarenakan kuersetin merupakan senyawa yang paling luas penyebarannya yang terdapat pada tumbuhan. Kuersetin berada dalam jumlah sekitar 60-75% dari flavonoid. Dan juga karena merupakan salah satu senyawa golongan flavonoid yang dapat bereaksi dengan $AlCl_3$ membentuk kompleks (Salmia 2016, h. 49). Kemudian dilakukan optimasi panjang gelombang untuk menentukan λ maksimum yang akan digunakan dalam pengukuran pada spektrofotometri UV-Vis, penetapan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui besarnya panjang gelombang yang dibutuhkan untuk mencapai serapan maksimum. Hasil optimasi diperoleh panjang gelombang maksimum yaitu 430 nm.

Tabel 4. Hasil pengukuran absorbansi larutan standar kuersetin pada panjang gelombang maksimum 430 nm.

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
2,5	0,454
3,0	0,556
3,5	0,655
4,0	0,723
4,5	0,843



Gambar 1. Kurva baku standar kuersetin pada panjang gelombang 430 nm

Hasil pengukuran absorbansi larutan standar kuersetin pada panjang gelombang maksimum 430 nm menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi dari larutan pembanding kuersetin yang digunakan maka semakin tinggi pula absorbansi yang diperoleh (dapat dilihat pada gambar 8.). Hasil pengukuran absorbansi larutan standar kuersetin dari beberapa konsentrasi (ppm) yaitu 2,5 ppm, 3 ppm, 3,5 ppm, 4 ppm dan 4,5 ppm dibuat kurva baku linearitas sehingga diperoleh persamaan linear yang memenuhi syarat yaitu $y = 0,0189x + 0,0153$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) yang diperoleh sebesar 0,9947 dan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9973. Berdasarkan literatur bahwa hasil dari nilai koefisien korelasi dikatakan linearitas yang baik dengan nilai koefisien korelasi $>0,995$ (Purna 2018, h.1).

Pada pengukuran senyawa flavonoid total, larutan sampel ditambahkan $AlCl_3$ yang dapat membentuk kompleks, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah *visible* (tampak) yang ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning. Dan penambahan kalium asetat bertujuan untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah *visible* (tampak) (Chang *et al*, 2002). Perlakuan inkubasi selama 1 jam sebelum pengukuran dimaksudkan agar reaksi berjalan sempurna, sehingga intensitas warna yang dihasilkan lebih maksimal (Azizah dan Faramayuda 2014, h. 48). Sehingga dari hasil penelitian ini diperoleh kadar flavonoid total ekstrak etanol buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) sebesar 0,0265 gQE/g ekstrak dengan presentasi 2,657%, dan buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*) sebesar 0,02785 mgQE/g ekstrak dengan presentasi 2,785 %.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol buah lada putih (*Piperis Albi Fructus*) dan buah lada hitam (*Piperis Nigri Fructus*) mengandung senyawa flavonoid, dengan memiliki kadar flavonoid total ekstrak etanol buah lada putih sebesar 0,0265 gQE/g ekstrak dengan presentasi 2,657%, dan buah lada hitam sebesar 0,02785 mgQE/g ekstrak dengan presentasi 2,785 %.

Daftar Pustaka

- Ahmad, AR, Juwita, Ratulangi, SA, & Malik, A 2015, 'Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikan (*Elingera elatior* (Jack).R.M.SM)', *Pharmaceutical Science & Research*, Vol. 2, No. 1, pp. 6.
- Aminah, Tomahayu, N, & Abidin, Z 2017, 'Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea Americana* Mill.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis', *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, Vol. 4, No. 2, pp. 227,228.
- Choirul 2003, 'Pusat Penelitian Biologi ', *J Ilmiah Nasional*, Vol. 6 No. 4, hal. 14.
- Chang, CC, Yang, MH, Wen, HM, Chern, JC 2002, 'Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods', *J Food Drug Ana*, VOL. 10, hal. 179.
- Cronquist, A 1981, *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*, New York, Colombia University Press.
- Depkes RI 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, ITB, Bandung, hal. 10-11.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia 1980, *Materia Medika Indonesia Jilid IV*, Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta, Hal. 104-105.
- Elfahmi, Wirasutisna, KR, & Desyane, HK 2012, 'Isolasi Senyawa Aktif Lignan dari Buah Lada Hitam (*Piper nigrum* L.) dan Daun Sirih (*Piper betle* L.)', *Acta Pharmaceutica Ina*, Vol. XXXVII, No. 1, hal. 2.
- Gandjar, IG & Rohman 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, hal. 196, 200.
- Gandjar, IG dan Rohman, A 2010, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, hal. 80.
- Gandjar, IG dan Rohman, A 2015, *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta, Pustaka Pelajar, Hal 159.
- Gandjar, IG & Rohman, A 2018, *Spektroskopi Molekuler Untuk Analisis Farmasi*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Gupta, Pranay K, Pulapalli S, and Srikanth 2015, *Research and Review: Journal of Medicinal Chemistry, Tulsi, An Elixir For Human Life*, Volume 4 , hal 2.
- Gustandy, M, & Soegihardjo, CJ 2013, 'Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Radikal 1, 1-Difenil-2-Pikrihidrazil dan Penetapan Kandungan Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Buah Anggur Bali (*Vitis vinifera* L.)', *J Farmasi Sains dan Komunitas*, VOL.10, NO. 2, hal. 110.
- Hanani, E 2015, *Analisis Fitokimia*, EGC, Jakarta. hal: 9, 10, 13, 103, 124
- Harmita 2014, *Analisis Kuantitatif Bahan Baku Dan Sediaan Farmasi*, Departemen Farmasi Indonesia, Depok, hal 19,20, 23
- Harborne, JB 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Edisi kedua, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soedira, ITB Press, Bandung, hal. 70.
- Hariana A 2013, *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*, penebar swadaya : Jakarta, hal. 73, 196 - 199 , viewed 31 oktober 2018 <https://books.google.co.id/books?isbn=9790026137>
- Indrawati, N, Razimin 2013, *Bawang Dayak Si Umbi Ajaib Penakluk Aneka penyakit*, Penerbit, PT Agromedia pustaka, Jakarta, hal. 49.
- Jusuf, E 2010, 'Kandungan Kuarsetin Dan Pola Proteomic Varietas Jambu Batu

- (*Psidium guajava* L.) Tumbuh Liar Di Kawasan Cibinong Bogor', *J Berita Biologi*, Vol. 10, No. 3, hal. 402.
- Kementerian Kesehatan RI 2014, *Farmakope Indonesia Edisi V*, Direktorat Jendral Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan.
- Khomsatun, LN 2018, 'Pengaruh Lama Perendaman IAA (*Indoleacetic Acid*) dan Komposisi Media Tanam Yang Berbeda Terhadap Keberhasilan Stek Lada Perdu (*piper nigrum* L.)', S.Si Skripsi, Fakultas MIPA, Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Purwokerto.
- Lau, E 2009, *Healty Express Super Sehat dalam 2 Minggu*, PT Gramedia Pustaka, Jakarta, hal. 178.
- Mabry, TJ, Markham, KR & Thomas, MB 1970, *The systematic identification of flavonoid*, Berlin: Springer-Verlag, The Quarterly Review of Biology, hal. 387.
- Marzuki, A 2012, *Kimia Analisis Farmasi*, Dua Satu Press, Makassar. Hal. 346.
- Minarno, EB 2015, 'Skrining Fitokimia dan Kandungan Total Flavonoid pada buah Carica Pubescens Lenne & K. Koch Di Kawasan Bromo, Cangar, dan Dataran Tinggi Dieng', *J of biologi el-Hayah*, Vol. 5, no 2, hal 74.
- Mukhriani 2014, 'Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif', *J Kesehatan*, vol. VII, no. 2, hal. 362.
- Mukhriani, Nonci, FY & Munawarah, S 2015, ' Analisis kadar flavonoid total pada ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.)', *JF FIK UINAM*, Vol. 3, No. 2, hal. 38- 39.
- Nahak, G, & Sahu, RK 2011, Phytochemical evaluation and antioxidant activity of *Piper cubeba* and *Piper nigrum*, *J of Applied Pharmaceutical Science*, Vol. 1, No. 8, hal. 153-157.
- Neldawati, Ratnawulan, Gusnedi 2013, 'Analisis nilai absorbansi dalam penentuan kadar flavanoid berbagai jenis daun tanaman obat', *Pillar of Physics*, Vol 2 Hal 77-78.
- Nurhasnawati, H, Sukarmi, & Handayani, F 2017, 'Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu bol (*syzygium malaccense* l.)', *j ilmiah manuntung*, VOL. 3, NO. 1, hal. 93.
- Nurjanah, Izzati, L & Asadatun, A 2011, 'Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kerang Pisau (solen s pp)', *J Ilmu kelautan*, Vol. 16, No. 3, hal. 120.
- Purna, P, Miftahur, R, & Rinawati 2018, 'Verifikasi metode analisis logam Pb,Cd,Cr,Cu,Ni,Co,fe, Mn dan Ba pada air menggunakan *Inductivly coupled plasma-optical emission spectrometer* (ICP-OES)', *J anal.environ.chem*, Vol.3, No.01, hal.1.
- Putra, MS 2017, *Teknik Budidaya Lada kualitas Ekspor*, Jakarta, hal. 2-4, viewed 31 oktober 2018, <https://books.google.co.id/books?isbn=6026510419>
- Redha, A 2010, 'Struktur Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis', *J Belian*, Vol. 9, NO. 2 hal 197.
- Robinson, T 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi ke-4 Terjemahan Kosasih Padmawinata. ITB Press. Bandung.
- Salamah, N, & Widyasari 2015, 'Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) Dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2'-Dipenil-1-Pikrilhidrazil', *Pharmaciana*, Vol. 5, No.1, hal 26.
- Salmia, 2016, 'Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Kulit Batang Kedondong Bangkok (*Spondias dulcis*) dengan metode Spektrofotometri UV-Vis', Skripsi, Fakultas Kedokteran,

Universitas Islam Negri Alauddin,
Makassar.

Skripsi, Universitas Hasanudin,
Makassar.

Sarpian, T 2003, *Pedoman Berkebun Lada dan Analisis Usaha Tani*, Yogyakarta, hal.1, <https://books.google.co.id/books?isbn=979210626X>

Tanaya, V, Retnowati, R & Suratmo 2015, 'Fraksi semi polar dari daun mangga kasturi (*mangifera casturi* kosterm)', *kimia.student j*, Vol.1, No. 1, hal. 780.

Stankovic, MS 2011, 'Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts', *Kragujevac J Sci*, 33, hal. 63-72.

Voight, R 1994, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Gajah Mada University Press, Yogyakarta, hal 565-566, 572.

Winarti, & Sri 2010, *Makanan Fungsional*, Graha Ilmu, Yogyakarta, hal 207.

Sudjadi 2008, *Analisis Kuantitatif Obat*, Gajah Mada University press, Yogyakarta, Hal. 23.

Yulianti, R, Dahlia, A, & Ahmad, AR 2013, 'Penetapan Kadar Flavonoid Total Dari Ekstrak Etanolik Daun Benalu Mangga', *jurnal.farmasi.umi.ac.id/index.php/fitofarmakaindo* (online), *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, Vol 1, No.1, diakses 26 November 2018.

Sutir, F 2012, 'Analisis Kandungan Senyawa Flavonoid Total dalam Sediaan Cair Kasumba Turate (*Carthamus tinctorius* Linn.) secara Spektrofotometri UV-Vis, S.Farm