

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.)

1. Golongan Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.)

Menurut Kementerian Pertanian (2020), buah ini aslinya berasal dari Amerika Selatan, dan dapat dibedakan menjadi lima berdasarkan bentuk daun dan buah yang berbeda, diantaranya:

- a. Nanas *Spanish* dengan bentuk daun panjang berukuran kecil, memiliki duri halus, serta bentuk buahnya bulat disertai mata datar.
- b. Nanas *Queen* dengan bentuk daun pendek disertai duri tajam, buahnya lonjong seperti kerucut.
- c. Nanas *Maipure*, yang buahnya berbentuk silinder dengan daging buah berwarna putih atau dapat juga berwarna kuning tua, serta rasanya juga lebih manis dibandingkan nanas *Cayenne* (Putri; dkk, 2017:118).
- d. Nanas *Abacaxi*, yang kurang cocok untuk diolah menjadi nanas kalengan. Ciri-ciri nanas ini ialah memiliki duri kecil di pinggiran daunnya, daging buahnya berwarna kuning pucat sampai putih, rasa buahnya asam dan manis, serta memiliki banyak air (Ningsih; dkk, 2023:263).
- e. Nanas *Cayenne* atau nanas madu, dimana daunnya halus tidak disertai duri, dan buahnya berbentuk silindris atau seperti piramid. Menurut Kementerian Pertanian (2020:2), nanas ini memiliki rasa manis dan asam. Hati dari buah ini berukuran medium, dan mengandung banyak air yang cocok untuk dimanfaatkan sebagai konsentrat atau *juice*. Golongan nanas yang umum dibudidayakan di Indonesia adalah nanas *Cayenne* atau nanas madu, serta nanas *Queen*.

Nanas yang digunakan pada penelitian ini ialah nanas madu atau nanas *Cayenne*, karena paling banyak diminati di pasar global untuk konsumsi segar maupun olahan. Berikut taksonomi, morfologi, kulit, serta pH nanas madu (*Ananas comosus* (L.) Merr.):

1) Taksonomi

Menurut Bartholomew *et. al.*, (2002) sebagaimana yang di utarakan oleh Rini (2016:4), berikut ini klasifikasi tanaman nanas :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Angiospermae
Ordo	: Farinosae
Famili	: Bromeliaceae
Genus	: <i>Ananas</i>
Species	: <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.



Sumber : Dokumentasi Pribadi

Gambar 2.1 Buah nanas madu (*Ananas comosus* (L.) Merr.)

2) Morfologi

Menurut Oktaviani (2009) dan Irfandi (2005) dalam Fatmawati (2019:12-13), bagian-bagian tanaman nanas terdiri atas daun, batang, akarnya berjenis serabut, dan buah. Batang tanaman nanas jarang dapat terlihat karena bagian-bagian lain seperti akar, daun, dan bunganya menempel pada batangnya. Bagian daun tanaman nanas umumnya sepanjang 130-150 cm dengan serta lebar 3-5 cm atau bisa lebih lebar lagi. Sementara bagian samping daunnya ada yang memiliki duri serta tidak berduri, dan permukaannya halus mengkilap disertai warna coklat kemerahan atau hijau tua ataupun merah tua. Jika dibalik, maka bagian bawah daunnya terdapat warna putih samar. Daun

nanas yang menempel pada batangnya ini dapat berkisar antara 70-80 helai di setiap tanamannya dan tumbuh mengelilingi batangnya dengan bentuk spiral.

Menurut Kementerian Pertanian (2020:2-3), salah satu varietas nanas, yaitu nanas madu atau nanas *Cayenne* memiliki karakter daun yang tidak berduri (kecuali ditepi ujungnya), mata buah besar dan datar, ketika matang daging buahnya berwarna kekuningan, dengan sedikit serat, disertai rasa manis dan asam. Hati dari buah ini berukuran medium, dan mengandung banyak air yang cocok untuk dimanfaatkan sebagai konsentrat atau *juice*.



Sumber : Dokumentasi Pribadi

Gambar 2.2 Tanaman buah nanas madu (*Ananas comosus* (L.) Merr.)

3) Kulit Nanas

Kulit luar nanas berbentuk seperti mata yang tidak rata, dengan duri-duri kecil pada permukaan terluarnya. Bagian mata nanas memiliki bentuk seperti mata dengan lubang-lubang kecil berwarna coklat, bentuknya agak rata (Fatmawati, 2019:14).

Kulit nanas mengandung alkaloid, protein, tanin, steroid, flavonoid, terpenoid dan saponin (Gunwantrao; *et. al.*, 2016:158). Salah satu dari senyawa tersebut, flavonoid, dapat dimanfaatkan untuk mengobati bakteri patogen, kanker, disfungsi kardio-vaskular, serta dapat juga menjadi antioksidan (Arifin & Ibrahim, 2018:21-22). Berdasarkan penelitian uji kadar flavonoid yang dilakukan oleh Fauzi, dkk, (2023:497) untuk sampel kulit buah nanas dari varietas Pemalang, kadar flavonoid yang berhasil teridentifikasi sebesar 50,43 mg QE/g.

Berdasarkan hasil penelitian yang dikemukakan oleh Setiawan, dkk (2016:132), menunjukan bahwa jenis flavonoid yang teridentifikasi dengan metode spektrofotometri dalam ekstrak tersebut merupakan golongan dihidroflavonol.



Sumber : Dokumentasi Pribadi

Gambar 2.3 Kulit nanas madu (*Ananas comosus* (L.) Merr.)

4) pH Kulit Nanas

Tingkat keasaman (pH) merupakan parameter yang dipakai guna mengindikasikan derajat keasaman atau kebasaan pada suatu larutan. pH memiliki skala yang berkisar 1 sampai dengan 14, dimana pH 7 dianggap netral, < 7 dianggap asam, dan > 7 merupakan basa (Karangan; dkk, 2019:67). Semakin kecil nilai pH maka akan semakin asam dan akan semakin besar pula nilai molaritas ion H^+ dalam suatu zat cair pada molaritas yang sama. Sebaliknya, semakin besar nilai molaritas ion H^+ dalam suatu zat cair, maka semakin kecil nilai molaritas H^+ dan akan semakin besar pula nilai pH-nya (Basuki, 2021:30). Untuk ekstrak kulit nanas sendiri termasuk ke dalam asam, karena memiliki nilai pH 4 (Rini; dkk, 2017:65).

B. Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang telah melewati proses pengeringan, dimanfaatkan untuk pengobatan dan belum mengalami proses pengolahan. Proses pengeringan dapat dilaksanakan secara langsung pada sinar matahari dengan metode penjemuran, di angin-anginkan di udara terbuka, maupun

menggunakan oven. Jika menggunakan oven, kecuali terdapat faktor lain, suhu pengeringan yang digunakan tidak lebih dari 60 °C (Farmakope Herbal Indonesia, 2022:4).

Menurut Farmakope Herbal Indonesia tahun 2022, simplisia dibagi menjadi dua, yakni simplisia segar dan simplisia nabati. Simplisia segar adalah bahan alam yang belum melewati proses pengeringan, sementara simplisia nabati merupakan seluruh tumbuhan, bagian tumbuhan, atau eksudat tumbuhan yang telah dikeringkan. Eksudat sendiri merupakan bagian sel tumbuhan yang dikeluarkan melalui proses tertentu ataupun keluar secara langsung, atau tumbuhan yang zat nabatinya dikeluarkan dengan cara tertentu.

Sebagai produk hasil budidaya maupun yang berasal dari hasil mengumpulkan di alam liar (*wild cop*), kandungan senyawa yang ada di dalam simplisia tidak selalu konstan. Hal ini dipengaruhi oleh adanya perbedaan bibit, lokasi tumbuh, cuaca, kondisi (usia dan proses) panen, maupun pada pasca panen dan preparasi di akhir (Depkes RI, 2000:4).

Sebagai bahan baku awal maupun siap konsumsi, simplisia memiliki parameter standar umum menurut Departemen Kesehatan tahun 2000, diantaranya:

1. Sebagai bahan kefarmasian, harus memenuhi tiga parameter mutu yaitu kebenaran simplisia yang digunakan (identifikasi), bebas dari kontaminan baik kimia maupun biologis (kemurnian), dan aturan mengenai kestabilan yang menyangkut aturan penggunaan wadah, cara penyimpanan, serta sarana transportasi.
2. Sebagai bahan serta produk konsumsi sebagai pengobatan, harus memenuhi tiga paradigma yaitu *quality* (mutu), *safety* (aman), dan *efficacy* (manfaat).
3. Sebagai bahan dengan senyawa yang berperan dalam respon biologis, maka harus memiliki spesifikasi kimia, berupa informasi mengenai komposisi seperti jenis dan kadar dari senyawa yang dikandungnya.

C. Ekstraksi

Ekstrak merupakan suatu sediaan berbentuk padat, kental, ataupun cairan yang didapatkan dari proses penyarian simplisia nabati dengan metode yang sesuai, terbebas dari efek cahaya matahari secara langsung (Farmakope Herbal Indonesia, 2022:5).

Ekstraksi merupakan suatu kegiatan pemisahan zat dari padatan atau larutan menggunakan pelarut yang sesuai. Karena kelarutan setiap senyawa berbeda, maka terjadilah pemisahan. Ada dua jenis cara ekstraksi yang umum digunakan, yaitu cara panas dan cara dingin. Ekstraksi menggunakan metode pemanasan misalnya destilasi, refluks, dan soxhlet. Sementara ekstraksi dengan metode dingin atau tanpa pemanasan adalah maserasi dan perkolasi (Surani, 2023:206).

1. Ekstraksi Cara Dingin

a. Maserasi

1) Maserasi Total

Maserasi ialah cara sederhana yang sangat umum dipakai, karena cocok untuk skala rumahan maupun industri. Cara melakukan maserasi total adalah dengan merendam serbuk simplisia dalam wadah inert yang tertutup rapat menggunakan pelarut yang sesuai dalam suhu ruang. Proses perendaman ini dilakukan selama beberapa hari, hingga mencapai keseimbangan konsentrasi antara senyawa terlarut dengan senyawa yang ada dalam sel tanaman. Setelah didapatkan maserat dari hasil ekstraksi, dilakukan proses penyaringan agar pelarut dan sampelnya dapat terpisah (Mukhriani, 2014:362).

Selain cara melakukannya yang sederhana, metode ini dianjurkan bagi senyawa yang sensitif terhadap panas, sehingga dapat terhindar dari kerusakan senyawa yang sifatnya termolabil. Meskipun begitu, kekurangan dari metode ekstraksi ini ialah menggunakan waktu ekstraksi yang cukup lama untuk proses perendaman, banyaknya jumlah pelarut yang digunakan, sehingga tingginya kemungkinan terdapat beberapa senyawa yang hilang (Mukhriani, 2014:362).

2) Maserasi Bertingkat

Metode ini dapat dilakukan secara bertingkat, dengan tujuan untuk memberikan hasil senyawa-senyawa tertentu yang tertarik keluar secara khusus oleh pelarut yang digunakan. Senyawa yang bersifat polar dapat tertarik keluar oleh pelarut polar, sementara senyawa non-polar dapat tertarik keluar oleh sesama pelarut non-polar, dan senyawa semi polar tertarik keluar oleh pelarut semi polar pula (Hamka; dkk, 2022:155-158).

Keuntungan dari metode ini secara garis besar sama seperti metode maserasi biasa, yaitu tidak memerlukan suhu tinggi dan hanya menggunakan wadah beserta penutupnya. Pelarut organik yang bisa dipakai untuk ekstraksi maserasi bertingkat adalah methanol, etanol, etil asetat dan n-heksana. Metode ini umumnya dimulai dengan mengekstraksi sampel dengan memakai pelarut non-polar lalu naik ke pelarut yang semakin polar (Widyasanti; dkk, 2019:294). Kelebihan lain dari metode ini ialah ekstrak yang dihasilkan lebih murni, senyawa yang dihasilkan lebih spesifik pada tiap pelarut, serta jumlah rendemen yang besar (Hasan; dkk, 2023:201).

Metode ini dapat dilakukan dengan cara memaserasi ekstrak dengan pelarut non-polar terlebih dahulu, kemudian simplisia yang telah disaring dari maseratnya tersebut dimaserasi lagi dengan pelarut semi polar menggunakan cara yang sama. Terakhir, barulah simplisia yang telah di ekstraksi dengan pelarut non polar dan semi polar tersebut diekstraksi lagi menggunakan pelarut polar menggunakan cara yang sama pula (Hamka; dkk, 2022:156).



Sumber : Marjoni (2024:42)

Gambar 2.4 Alat ekstraksi maserasi

Metode perkolasi dilaksanakan dengan merendam serbuk simplisia perlahan-lahan dalam wadah silinder yang memiliki kran pada bagian bawahnya atau disebut juga perkulator. Siklus pelarut pada metode ini dimulai dengan pelarut yang menetes perlahan-lahan dari atas serbuk sampel, kemudian pelarut tersebut akan melewati serbuk sampel sebelum terkumpul di bagian bawah (Mukhriani, 2014:363).

Siklus pelarut inilah yang kemudian menjadi kelebihan dari metode perkolasi, di mana serbuk sampel selalu dilewati oleh pelarut baru. Namun, pelarut tidak bisa mengalir seluruh bagian serbuk sampel apabila serbuk sampel tidak homogen. Karena pelarut menetes perlahan-lahan, maka metode ini membutuhkan waktu yang lumayan lama, juga jumlah pelarut yang banyak (Mukhriani, 2014:363).

2. Ekstraksi Cara Panas

a. Soxhletasi

Serbuk sampel pada metode ini diletakan di dalam kantung selulosa atau dapat juga menggunakan kertas saring yang dimasukan dalam klonsong, di mana klonsong tersebut berada di bawah kondensor dan juga di atas labu. Sama seperti metode ekstraksi lainnya, pelarut yang digunakan dalam metode ini juga menggunakan pelarut yang sesuai, lalu dimasukkan ke dalam labu di bawah klonsong, dengan suhu penangas diatur hingga kurang dari suhu refluks (Mukhriani, 2014:363).

Pelarut yang berada di dalam labu akan menguap dan terkondensasi oleh kondensor, sebelum mengekstraksi serbuk sampel. Hal ini menjadi keuntungan metode sohxletasi, yaitu kerja ekstraksi yang berkelanjutan atau kontinyu, dimana serbuk sampel terekstraksi oleh pelarut yang telah dimurnikan melalui proses kondensasi. Oleh karena itu, metode sohxletasi tidak memerlukan pelarut dalam jumlah yang banyak serta tidak membutuhkan waktu lama (Mukhriani, 2014:363).

b. Refluks dan Destilasi Uap

Metode Refluks dilakukan dengan cara memasukan sampel yang telah diberi pelarut ke dalam labu yang telah tersambung pada kondensor,

kemudian dididihkan pelarut hingga menjangkau titik didihnya, di mana uap yang terkondensasi akan masuk ke dalam labu (Mukhriani, 2014:363).

Selanjutnya, ekstraksi dengan metode destilasi uap dilakukan dengan cara yang serupa, namun umumnya digunakan untuk menarik minyak esensial yang berisi banyak senyawa yang dapat menguap. Pemanasan ini menghasilkan hasil ekstraksi berupa dua bagian terpisah yang tidak saling bercampur, terdiri dari destilat dan uap terkondensasi. Campuran ini ditampung dalam wadah yang tersambung dengan kondensor, dan memerlukan pemisahan lanjutan (Mukhriani, 2014:363).

Dari dua metode ini, keduanya menggunakan pemanasan untuk menarik senyawa dari dalam serbuk sampel ke pelarut, sehingga dapat mendegradasi senyawa yang termolabil atau tidak stabil dalam pemanasan (Mukhriani, 2014:363).

D. Pelarut

Umumnya, pelarut merupakan senyawa yang terdapat dalam larutan pada jumlah yang banyak, sementara zat yang lain disebut sebagai senyawa terlarut. Pelarut yang dipakai dalam ekstraksi harus pelarut yang baik untuk setiap senyawa aktif dalam sampel atau simplisia, agar senyawa aktif di dalamnya bisa dipisahkan dari sampel dan senyawa lain yang terdapat dalam simplisia. Sehingga pada akhirnya, proses ini menghasilkan ekstrak yang kebanyakan berisi senyawa aktif yang diharapkan (Marjoni, 2024:19).

Menurut (Marjoni, 2024:20-27), ada beberapa pelarut yang biasa dipakai dalam metode ekstraksi, dan dibedakan berdasarkan beberapa kelompoknya. Terdapat pelarut yang dibedakan berdasarkan kepolarannya, yaitu:

1. Pelarut Non-Polar

Pelarut non-polar adalah zat yang tidak larut dengan air dan memiliki konstanta dielektrik yang rendah. Pelarut ini baik dipakai untuk mengekstraksi senyawa yang tidak larut sama sekali dengan pelarut polar, contohnya minyak. Senyawa yang dapat diekstraksi oleh pelarut non-polar misalnya lemak, steroid dan terpenoid yang sama-sama senyawa non-polar (Pratiwi; dkk, 2021). Contoh pelarut non-polar diantaranya:

a. Heksana

Heksana merupakan pelarut yang diperoleh melalui proses penyulingan minyak bumi, sehingga pelarut ini baik untuk lemak dan minyak. Pelarut ini umumnya dipakai untuk membersihkan lemak pengotor pada simplisia sebelum diolah menjadi sediaan galenik.

Nama : Heksana

Sinonim : N-Heksana

Rumus Molekul : CH

Bobot molekul : 86,18

pH : Tidak diketahui.

Pemerian : Berupa cairan tidak berwarna, stabil. sangat mudah terbakar.

b. Kloroform

Kloroform tidak digunakan untuk sediaan dalam karena secara farmakologi bersifat toksik. Biasanya, kloroform dimanfaatkan untuk mengekstraksi bahan-bahan yang mengandung basa alkaloida, damar, minyak lemak dan minyak atsiri.

Nama : Chloroformum

Sinonim : Kloroform

Rumus Molekul : CHCL

Bobot molekul : 119,38

Pemerian : Cairan, mudah menguap; tidak berwarna, bau khas rasa manis dan membakar

2. Pelarut Semi Polar

Pelarut semi polar merupakan pelarut dengan molekul yang tidak memiliki ikatan O-H, dimana semuanya mempunyai ikatan dipole yang besar. Ikatan ini umumnya berupa ikatan rangkap antara karbon dengan oksigen atau nitrogen, dan mempunyai polaritas yang lebih rendah daripada pelarut polar. Meskipun begitu, pelarut ini baik digunakan dalam mengekstraksi senyawa yang juga bersifat semi polar dari tumbuhan. Senyawa semi polar yang dapat dilarutkan oleh pelarut ini misalnya aglikon flavonoid, alkaloid, dan polifenol (Pratiwi; dkk, 2021). Contoh pelarut semi polar diantaranya :

a. Aseton

Aseton mempunyai kemampuan yang hampir serupa dengan n-heksana, yakni mampu melarutkan berbagai jenis lemak dengan baik, minyak atsiri dan damar. Namun, aseton tidak dipergunakan untuk sediaan galenik yang diperuntukkan pemakaian dalam. Selain itu, aroma dari aseton cenderung kurang sedap dan sulit dihilangkan dari sediaan.

Nama : Aseton

Sinonim : Propanon, B-ketopropana, Dimetil keton, dimetilformaldehida, DMK

Rumus Molekul : $(CH_3)_2CO$

Bobot molekul : 58,08 gram/mol

Pemerian : Cairan jernih tidak berwarna, mudah menguap, bau khas, mudah terbakar, dapat bercampur dengan air, dengan etanol (95%) P dan dengan kloroform P membentuk larutan jernih.

b. Etil Asetat

Etil asetat adalah senyawa ester asetat yang tercipta antara asam asetat dengan etanol. Senyawa ini berperan dalam penghambat piroglutamyl-peptidase I, dan metabolit *Saccharomyces cerevisiae*, serta senyawa organik volatil (NCBI, 2024 <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ethyl-acetate>).

Nama : Etil asetat

Sinonim : Etil etanoat, etil ester asam asetat, asetoksietana

Rumus molekul : $CH_3COOC_2H_5$

Bobot molekul : 88,11 gram/mol

Pemerian : Cairan bening tak berwarna dengan aroma buah, titik nyala terdapat pada $24^\circ F$, kurang padat daripada air dan uapnya lebih berat daripada udara.

pH : tidak diketahui.

3. Pelarut Polar

Pelarut polar adalah zat yang memiliki rumus umum $R-O-H$ dan menandakan adanya atom hidrogen yang berinteraksi dengan atom elektronegatif (Oksigen). Pelarut yang memiliki kepolaran tinggi dianggap

sebagai pelarut universal yang sesuai dengan semua jenis zat aktif, karena selain mengekstraksi zat aktif yang bersifat polar, pelarut ini juga dapat menarik senyawa dengan polaritas yang lebih rendah. Senyawa polar yang dapat ditarik dengan pelarut ini misalnya glikosida, flavonoid, karbohidrat, dan tanin (Pratiwi; dkk, 2021). Contoh pelarut polar diantaranya:

a. Air

Air adalah salah satu pelarut yang mudah didapat, tidak mahal, dan banyak digunakan oleh masyarakat. Pada suhu ruang, air adalah pelarut yang baik untuk melarutkan berbagai senyawa, contohnya glikosida, garam alkaloid, asam tumbuhan, pewarna dan garam mineral lainnya. Pada umumnya suhu air yang meningkat dapat meningkatkan kelarutan suatu senyawa pula, kecuali senyawa tertentu seperti kondurangin, garam Glauber, Ca hidrat, dan lain-lain.

Nama : Air

Sinonim : Aquadest

Rumus Molekul : H_2O

Bobot molekul : 18,01 gram/mol

Pemerian : Jernih, tidak berwarna, tidak berasa

pH : 5,0 – 7,5

b. Etanol

Berbeda dengan air yang dapat melarutkan berbagai macamsenyawa aktif, etanol hanya mampu mengekstraksisenyawa-senyawa tertentu seperti alkaloida, glikosida, damar-damar dan minyak atsiri. Etanol tidak dapat digunakan untuk menarik senyawa dengan bahan dari beberapa albumin, gula, dan gom. Selain itu, etanol dapat juga memperlambat kerja enzim, menghambat perkembangan jamur dan sebagian besar bakteri. Keuntungan dari digunakannya etanol ialah ekstrak yang didapatkan lebih spesifik, memiliki waktu penyimpanan yang lama karena etanol selain sebagai pelarut, dapat juga berfungsi sebagai pengawet.

Pelarut ini mudah larut dalam senyawa lainnya seperti air atau senyawa polar lainnya, sehingga dapat membentuk ikatan hydrogen seperti senyawa hidofilik dan tidak mempedulikan senyawa non-polar. Karena kecenderungan

untuk berikatan dengan gugus hidroksil atau gugus lainnya dalam ikatan hydrogen, membuat etanol memiliki interaksi yang ketercenderungan pada senyawa dengan gugus hidroksil.

Nama : Aethanolum

Sinonim : Alkohol, Etil alkohol

Rumus Molekul : CHO

Bobot molekul : 46,07 gram/mol

Pemerian : Cairan mudah menguap, jernih, tidak berwarna, bau khas dan menyebabkan rasa terbakar pada lidah. Mudah menguap walaupun pada suhu rendah dan mendidih pada suhu 78°C , mudah terbakar. Bercampur dengan air dan praktis bercampur dengan semua pelarut organik Dalam wadah tertutup rapat, jauh dari api.

Kelarutan : Larut dalam air, tapi juga larut dalam pelarut organik lain.

pH : 7

c. Methanol

Metanol merupakan ikatan paling sederhana dari alkohol. Pada tekanan dan suhu normal. Methanol berupa cairan ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar dan beracun dengan bau yang khas. Metanol didapatkan secara alami dari bakteri melalui metabolisme anaerobik.

Nama : Metanol

Sinonim : Metil alcohol, wood alcohol, spiritus

Rumus Molekul : CH_3OOH

Bobot molekul : 32,04 gram/mol

Pemerian : Cairan tidak berwarna, jernih, bau khas

E. Metabolit Sekunder

Tidak seperti senyawa metabolit primer yang memiliki peran penting dalam keseluruhan proses pembentukan, perombakan, serta metabolisme sel dan zat-zat yang digunakan untuk keberlangsungan makhluk hidup, senyawa metabolit sekunder yang terutama dihasilkan oleh tumbuhan tidak berperan langsung pada proses fotosintesis, respirasi, pengangkutan zat, pembentukan protein, sintesis karbohidrat dan lipid (Nuraeni dan Darwiati, 2021:2).

Senyawa yang ada di dalam tumbuhan adalah hasil metabolisme sekunder dari tanaman itu sendiri, sehingga metabolit sekunder menjadi sangat banyak jumlah dan jenisnya pada setiap tanaman. Dari banyaknya senyawa tersebut, beberapa diantaranya telah diisolasi dan diketahui dapat memberikan efek fisiologi serta farmakologi, atau dapat disebut sebagai zat aktif. Senyawa-senyawa ini merupakan golongan flavonoid, tanin, alkaloid, steroid, terpenoid, saponin, dan fenol (Nuraeni dan Darwiati, 2021:2).

1. Flavonoid

Flavonoid, yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan, dimana sebagian besarnya yang tidak termasuk flavan-3-ol, diwakilkan oleh aglikon dan glikosida lainnya. Glikosida ini melekat pada oksigen yang lebih menyukai posisi 3, 7, 3', atau 4'. Glikosida pada umumnya memiliki satu atau lebih dari satu residu karbohidrat piranosid atau furanosida (Tarahovsky *et. al.*, 2014:1236).

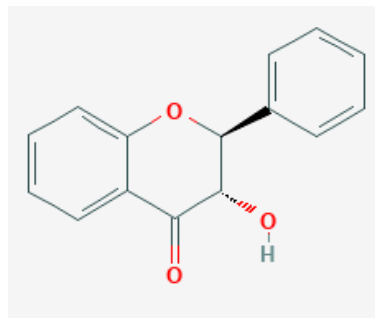
Flavonoid merupakan bagian dari polifenol, yaitu sebagai metabolit sekunder yang ditemukan di banyak tanaman serta makanan, disertai dengan efek bioaktif seperti antifirus, kardioprotektif, anti-inflamasi, antioksidan, anti penuaan, antikanker, antidiabetes, serta lain sebagainya. Senyawa ini memiliki lima belas atom karbon yang terdiri dari ikatan C6-C3-C6, dimana ikatan karbonnya tersusun atas dua gugus cincin benzene tersubstitusi, dan dismbungkan oleh ikatan alifatik tiga karbon (Arifin dan Ibrahim, 2018:21).

Senyawa ini hampir terkandung dalam semua tumbuhan hijau, apalagi ekstraknya. Flavonoid biasanya dapat dijumpai pada tanaman yang menghasilkan pigmen berwarna kuning, merah, oranye, biru, maupun ungu yang berasal dari bagian buah, bunga, serta daun (Arifin dan Ibrahim, 2018:22). Terdapat 9000 flavonoid yang telah diketahui hingga saat ini, sebagai senyawa yang secara umum telah disajikan di alam. Jumlah kebutuhan senyawa ini berkisar antara 20 mg dan 50 mg, apalagi dalam the dan suplemen makanan, tomat, bawang, anggur merah serta apel(Arifin dan Ibrahim, 2018:21). Flavonoid termasuk dalam senyawa yang memiliki bobot molekul rendah dengan intinya berbasis 2-fenil-kromon, berasal dari biosintesis turunan asam asetat atau fenilamin melalui asam shikimat. Secara

umum, senyawa ini diklasifikasikan berdasarkan tingkat oksidasi, amnularitas cincin C, serta posisi sambungan cincin B (Arifin dan Ibrahim, 2018:23). Flavonoid dapat terlarut pada pelarut semi polar dan polar (Pratiwi; dkk, 2021).

a. Flavonol dan Flavon

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Setiawan, dkk (2016:132) pada ekstrak kulit nanas, menunjukkan bahwa jenis flavonoid yang teridentifikasi dengan metode spektrofotometri dalam ekstrak tersebut merupakan golongan dihidroflavonol. Flavonol banyak terdapat dalam tumbuhan tingkat tinggi sebagai pigmen antosianin baik di dalam petal maupun daunnya. Senyawa ini umumnya berada dalam bentuk glikosida seperti mirisetin, kuersetin, kaemferol, sedangkan jenis glikosida yang paling sering ditemukan adalah rutin. Jenis flavonol terbaik adalah kuersetin, yang kerap di temukan dalam buah dan sayur, dengan struktur cincin dan konfigurasi aglikonnya berasal dari kelompok hidroksil sehingga kuersetin dikenal dalam kemampuannya yang luar biasa sebagai antioksidan (Arifin & Ibrahim, 2018:24).



Sumber : NCBI, 2024 https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2R_3R_-Dihydroflavonol

Gambar 2.5 Struktur kimia dihidroflavonol

Diantara flavonol dan flavon, perbedaan yang terlihat adalah tidak adanya gugus hidroksil pada atom C-3 milik flavon. Sama seperti flavonol, flavon memiliki bentuk yang sering ditemukan, yaitu apigenin dan luteolin. Bagian-bagian tanaman seperti buah dan sayur yang dapat terlibat sebagai

neurotrophin pada mamalia, resistensi terhadap penuaan, mengurangi angiogenesis, serta sebagai antioksidan biasanya ditemukan flavon di dalamnya (Arifin & Ibrahim, 2018:24).

b. Flavonon

Senyawa ini tidak memiliki warna, sehingga tidak dapat diidentifikasi dengan metode kromatografi jika tidak menggunakan penyempnot kromogen. Diantara beberapa flavonoid, terdapat flavonoid yang isomeric dimana salah satu jenisnya dapat diubah menjadi jenis yang lain, dan yang termasuk ke dalam flavonoid jenis ini salah satunya adalah flavonon dengan Calkon. Perbedaan keduanya terdapat pada pembentukannya, dimana flavonon dalam suasana asam dan calkon dalam suasana basa (Arifin & Ibrahim, 2018:24).

c. Isoflavonoid

Flavonoid memiliki subgroup yang sangat spesifik, terdapat secara khas pada kedelai dan tanaman polong-polongan lainnya, yaitu isoflavonoid. Isoflavonoid memiliki peranan yang penting sebagai prekursor dalam interaksi mikro tanaman sebagai pengembangan phytoalexin. Ketika disinari sinar UV setelah diuapi ammonia, isoflavonoid jenis daidzein akan memperlihatkan warna biru muda, sementara isoflavonoid jenis genistein akan terlihat seperti bercak lembayung pudar, sebelum beralih menjadi coklat pudar (Arifin & Ibrahim, 2018:25).

2. Tanin

Tanin merupakan senyawa yang berat molekulnya sebesar 500-3000 dan memiliki sebagian besar gugus hidroksi fenolik yang dapat berikatan silang dengan protein dan molekul lainnya secara efektif, misalnya dengan asam amino, polisakarida, asam nukleat, dan asam lemak (Hidayah, 2016:91). Senyawa ini dapat terlarut dalam pelarut polar (Pratiwi; dkk, 2021).

3. Alkaloid

Alkaloid ada di dalam tumbuhan, senyawa ini mengandung nitrogen. Dimana sebagian besar dari alkaloid memiliki struktur siklik yang kompleks, umumnya muncul sebagai basa alkaline, dan berikatan dengan asam untuk menjadi garam (Yubin *et. al.*, 2014:338). Pelarut semi polar dapat melarutkan senyawa ini dari sampel (Pratiwi; dkk, 2021).

4. Steroid

Sama seperti metabolit sekunder lainnya, steroid juga dapat ditemukan dalam tumbuhan, dan memiliki peran dalam menghambat kerontokan daun dengan cara menghambat penuaannya. Selain pada tumbuhan, steroid juga dapat ditemukan pada hewan sebagai hormon yang berperan dalam pertumbuhan dan perkembangbiakan (Suryelita; dkk, 2017:87). Pelarut non-polar dikatakan dapat menarik senyawa ini dari dalam sampel (Pratiwi; dkk, 2021).

5. Terpenoid

Terpenoid merupakan turunan dari senyawa terpen yang terdehidrogenasi dan teroksidasi. Terpen sendiri merupakan hidrokarbon yang terdapat di dalam tanaman dan hewan seperti serangga. Senyawa ini memiliki rumus molekul $(C_5H_8)_n$. Terpenoid memiliki nama lain isoprenoid karena memiliki kerangka karbon yang serupa dengan isoprena. Terpenoid juga memiliki turunan, yaitu triterpenoid (Nola; dkk, 2021:1613). Sama seperti steroid, pelarut non-polar dikatakan juga dapat menarik senyawa ini dari dalam sampel (Pratiwi; dkk, 2021).

6. Saponin

Saponin banyak di temukan pada bagian akar, kulit, daun, biji, dan buah tanaman, yang ditandai dengan timbulnya rasa pahit, timbulnya busa yang konsisten, dan dapat menghasilkan molekul saat berinteraksi dengan kolesterol. Senyawa ini berfungsi sebagai sistem pertahanan (Hidayah, 2016:94). Saponin bisa larut dalam air, tapi tidak dapat larut dengan alkohol absolute, eter, kloroform, serta non-polar lainnya (Putri; dkk, 2023:254)

F. Skrining Fitokimia

Menurut Marjoni, R. (2016) sebagaimana yang diutarakan oleh (Sulistyarini; dkk, 2020:57), Skrining fitokimia berisi uji reaksi warna beserta pengendapan yang dilakukan untuk mengidentifikasi beberapa golongan senyawa, seperti:

1. Uji Flavonoid, dilakukan dengan menimbang 1 gram sampel kemudian ditambahkan 10 ml air panas. Lalu diambil 5 ml filtrat yang telah di dapat,

untuk ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg beserta 1 ml asam klorida pekat dan 2 ml amil alkohol. Campuran kemudian di kocok dan di diamkan agar terpisah, lalu diamati warna yang terbentuk pada lapisan amil alkohol. Sampel dinyatakan positif apabila terbentuk warna kuning atau jingga, dan merah.

2. Uji Tanin, dilakukan dengan cara melarutkan 100 mg sampel dalam 10 ml pelarut yang sesuai, kemudian di saring. Filtrat kemudian ditambahkan dengan 2 ml gelatin 1% yang mengandung NaCl, dan dinyatakan positif apabila terbentuk endapan putih.
3. Uji Alkaloid, dilakukan dengan menambahkan 0,5 gram sampel yang telah di timbang dengan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml *aquadest*. Campuran ini lalu di panaskan di atas penangas air selama 2 menit, barulah didinginkan terlebih dahulu sebelum disaring. Filtrat yang telah di dapat kemudian dimasukkan ke dalam tiga tabung reaksi yang berbeda, masing dimasukkan 0,5 ml filtrat, dan ditambahkan pereaksi mayer, dragendorff, dan bouchardat. Reaksi ini disebut juga reaksi pengendapan, sebab hasil positif dari uji ini dinyatakan dengan pereaksi mayer menghasilkan endapan putih, pereaksi bouchardat menghasilkan endapan coklat-hitam, dan pereaksi dragendorff menghasilkan endapan merah bata.
4. Uji Steroid atau Terpenoid, dilakukan menggunakan cara memasukkan 0,5 gram sampel yang telah dilarutkan dengan etanol ke dalam cawan porselen, dan ditambahkan dengan eter yang kemudian di uapkan hingga kering. Hasil penguapan yang telah kering itu lalu diberikan 5 tetes H_2SO_4 pekat dan 3 tetes asetat anhidrat. Menurut Depkes RI, 1995 yang dikemukakan oleh (Sulistyarini; dkk, 2020:60), uji ini dilakukan dengan metode Liebermann-Burchard. Dimana, adanya triterpenoid ditandai oleh munculnya warna merah atau ungu, sementara steroid ditandai dengan terbentuknya warna hijau.
5. Uji Saponin, dilakukan dengan cara mencampur 0,5 gram sampel dengan 10 ml *aquadest* panas, di dinginkan, kemudian di kocok kuat selama 10 detik hingga timbul buih. Saat timbul buih, ditambahkan 1 tetes HCl 2 N, jika masih terdapat buih, maka sampel dinyatakan positif mengandung saponin.

G. Spektrofotometer

Ada beberapa metode identifikasi senyawa, dapat menggunakan uji warna, menentukan kelarutan, bilangan Rf dari hasil kromatografi, hingga menggunakan spectrum UV. Diantara kelimanya, pengukuran spektrum dengan spektrofotometer merupakan metode yang paling banyak digunakan secara luas, dan menjadi identifikasi yang penting. Hal ini dikarenakan kecilnya resiko rusaknya senyawa saat pengukuran, sehingga dapat dipakai lagi untuk uji selanjutnya (Mukhriani, 2014:366). Beberapa jenis spectrum serapan :

1. Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri serapan merupakan teknik pengukuran radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang sempit yang mendekati monokromatik dan diserap oleh suatu zat. Pengukuran ini dapat dilakukan pada daerah ultraviolet (190 nm-380 nm) maupun pada daerah cahaya visibel (380 nm-780 nm). Walaupun spektrum pada daerah ultraviolet dan daerah cahaya visibel tidak bersifat spesifik untuk suatu zat, metode ini sangat sesuai untuk penetapan kuantitatif dan pada beberapa zat sangat cocok untuk membantu identifikasi (Depkes RI, 1979:772).

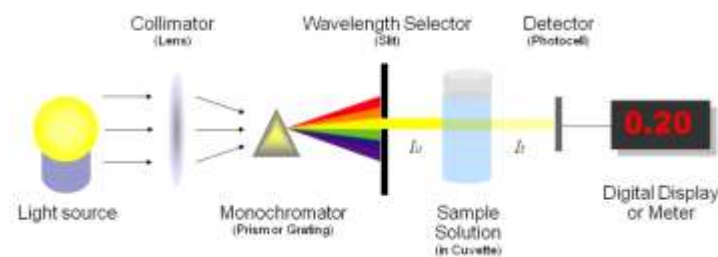
Spektrofotometer umumnya terdiri dari sumber cahaya monokromator, wadah sel untuk sampel yang dianalisis, detektor, penguat sinyal dan alat ukur atau pencatat. Sel serapan yang digunakan untuk pengukuran terbuat dari silica yang memiliki tebal satu cm (Depkes RI, 1979:772).

Spektrofotometer jenis ini memiliki rentang pengukuran pada panjang gelombang 200-400 nm dan disebut juga spektrum elektronik dikarenakan interaksi radiasi sinar UV dengan molekul menyebabkan terjadinya transisi elektronik. Ketika radiasi elektromagnetik diarahkan pada suatu molekul atau atom, maka molekul atau atom tersebut akan menyerap energy tersebut karena adanya gugus kromofor dalam strukturnya (Mukhriani, 2014:366).

Identifikasi sampel menggunakan spektrofotometri UV biasanya dilakukan dengan memetakan spektrum serapan larutan sampel dalam pelarut pada konsentrasi yang tercantum pada monografi untuk menentukan posisi serapan maksimum atau minimum. Spektrum serapan dari zat uji terkadang

perlu dibandingkan dengan zat pembanding yang sesuai. Dalam situasi ini, zat pembanding tersebut dipersiapkan dengan metode yang sama dan diukur dengan kondisi yang sama dengan sampel yang diperiksa (Depkes RI, 1979:772).

Penetapan secara kuantitatif dilakukan dengan mencari nilai serapan larutan zat dalam pelarut pada panjang gelombang tertentu. Umumnya, pengukuran serapan dilakukan pada panjang gelombang maksimum yang telah dicantumkan dalam monografi. Karena lokasi serapan maksimum dapat berbeda pada setiap alat, sebaiknya pengukuran dilaksanakan pada panjang gelombang serapan maksimum yang diperoleh dengan instrumen yang dipakai, selama perbedaan panjang gelombang yang diperoleh tidak lebih kurang dari 0,5 nm pada daerah 240 – 280 nm, tidak lebih dari lebih kurang 1 nm pada daerah 280 – 320 nm, serta tidak lebih kurang 2 nm di atas 320 nm dari panjang gelombang yang ditentukan (Depkes RI, 1979:773).



Sumber : Mubarok (2021)

Gambar 2.6 Prinsip kerja spektrofotometer

2. Spektrofotometer *Infrared* (IR)

Radiasi ini merupakan anggota dari spektrum elektromagnetik diantara gelombang cahaya tampak dengan gelombang mikrowafe. Bahan organik yang paling banyak dimanfaatkan adalah di panjang gelombang 4000-400 cm^{-1} . frekuensi radiasi IR kurang dari 100 cm^{-1} diserap oleh molekul organik dan diubah menjadi energi putaran nuklir. Sementara itu, radiasi pada rentang 1000-100 cm^{-1} diserap dan diubah menjadi energi getaran molekul oleh atom karbon. Entri ini akan dihitung ulang, namun signifikansi getaran lebih disukai karena perubahan energi getaran tunggal yang disertai oleh sebagian

besar energi perputaran. Frekuensi serapan bergantung pada massa atom, kekuatan ikatan, serta geometri atom (Mukhriani, 2014:367).

H. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Menurut Chang, *et al.*, (2002) penetapan kadar flavonoid total dengan spektrofotometri UV-Vis, dilakukan secara kolimetri dengan aluminium klorida dan pembanding kuersetin. Penetapan kadar ini dapat juga dilakukan menggunakan metode kolorimetri dengan 2,4-dinitrofenilhidrazin dan naringenin sebagai pembandingnya. Metode kolorimetri dengan AlCl_3 hanya spesifik untuk flavon dan flavonol, sementara metode kolorimetri yang menggunakan 2,4-dinitrofenilhidrazin diketahui spesifik untuk flavanon.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Setiawan, dkk (2016:132) pada ekstrak kulit nanas, menunjukkan bahwa jenis flavonoid yang teridentifikasi dengan metode spektrofotometri dalam ekstrak tersebut merupakan golongan dihidroflavonol, bukan flavanon. Karena berdasarkan panjang gelombang yang dihasilkan oleh setiap pereaksi gesernya, menunjukkan gugus dihidroksil pada $\text{C4}'$ dan $\text{C5}'$ serta gugus hidroksil pada atom C3 yang diindikasikan sebagai golongan dihidroflavonol. Keberadaan gugus hidroksil pada atom C3 inilah yang kemudian ditarik kesimpulan bahwa ekstrak kulit nanas memiliki flavonoid golongan dihidroflavonol. Maka, metode kolorimetri yang cocok digunakan untuk menentukan kadar flavonoid total ekstrak kulit nanas ialah menggunakan aluminium klorida (AlCl_3) dan pembanding kuersetin. Menurut Azizah, dkk (2014) dalam Fauzi, dkk (2023), kuersetin juga digunakan sebagai pembanding karena kuersetin termasuk ke dalam flavonoid golongan flavonol yang gugus ketonnya terletak pada atom C4 dan juga gugus hidroksil pada atom C3 serta C5 yang saling berdekatan. Sehingga, bahan yang digunakan pada penetapan kadar flavonoid adalah sebagai berikut:

1. Aluminium Klorida (AlCl_3)

Aluminium klorida memiliki rumus kimia AlCl_3 yang ketika terkontaminasi oleh besi klorida akan membentuk warna kuning dari yang sebelumnya berwarna putih. Senyawa ini dikenal sebagai basa Lewis yang

banyak digunakan dalam aplikasi kimia, dengan alumunium triklorida anhidrat sebagai asam Lewisnya (NCBI,2025

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Aluminum-chloride>).

Rumus Molekul : AlCl_3

Sinonim : trikloroalumunium, alumunium klorida anhidrat

Berat molekul : 133,34 gram/mol

Pemerian : bubuk putih hingga abu-abu, bau menyengat, korosif terhadap jaringan dan beracun apabila tertelan.

2. Kalium Asetat (CH_3COOK)

Kalium asetat merupakan bentuk garam asetat dari kalium, dengan potensi efek antihipertensi dan dapat mencegah hipokalemia jika dikonsumsi sebagai suplemen nutrisi (NCBI, 2025 <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Potassium-acetate>).

Rumus molekul : CH_3COOK

Sinonim : Potassium asetat, alkalium etanoat

Berat molekul : 98,14 gram/mol

Pemerian : Kristal tidak berwarna atau bubuk kristal putih, tidak berbau atau dengan sedikit bau asetat.

3. Kuersetin

Kuersetin merupakan pentahidroksiflavon yang mempunyai lima gugus hidroksil yang berada pada lokasi C3, C3', C4', C5', dan C7. Senyawa ini adalah salah satu flavonoid golongan flavonol yang banyak terdapat dalam tanaman, dapat bermandaaft sebagai antioksidan seperti senyawa fenolik heterosiklik lainnya. Selain itu, dapat juga menjadi agen antibakteri (NCBI, 2025 <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/quercetin>).

Rumus molekul : $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$

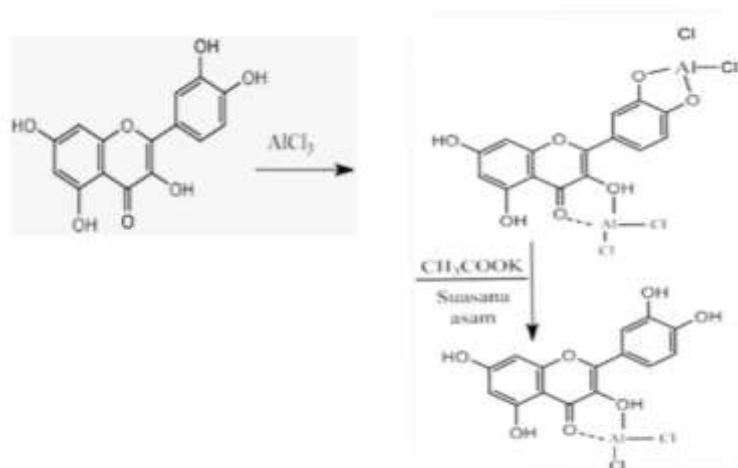
Sinonim : Meletin, sophoretin

Berat molekul : 302,23 gram/mol

Pemerian : bubuk berwarna kuning, rasanya sangat pahit.

Metode ini dikemukakan oleh Chang, *et al.*, (2002) menggunakan prinsip reaksi alumunium klorida (AlCl_3) dan flavonoid, dimana adanya proses

pembentukan kompleks asam yang stabil pada cincin-A atau B dari struktur flavonoid dengan gugus orthohidroksil. Alumunium klorida (AlCl_3) akan membangun kompleks antara gugus hidroksil dan keton yang berdekatan serta antar gugus hidroksil yang berdekatan pada senyawa flavon atau flavonol, yaitu pada gugus keton C4 dan gugus OH pada C3 atau C5 sehingga akan membentuk warna kuning (Sari dan Ayuchecaria, 2017:333) yang menimbulkan perubahan panjang gelombang ke arah visibel atau tampak. Untuk menstabilkan dan mempertahankan panjang gelombang ini, maka dilakukan penambahan kalium asetat (CH_3COOK) (Lindawati dan Ma'ruf, 2020:88-89).



Sumber : Lindawati & Ma'ruf (2020:89)

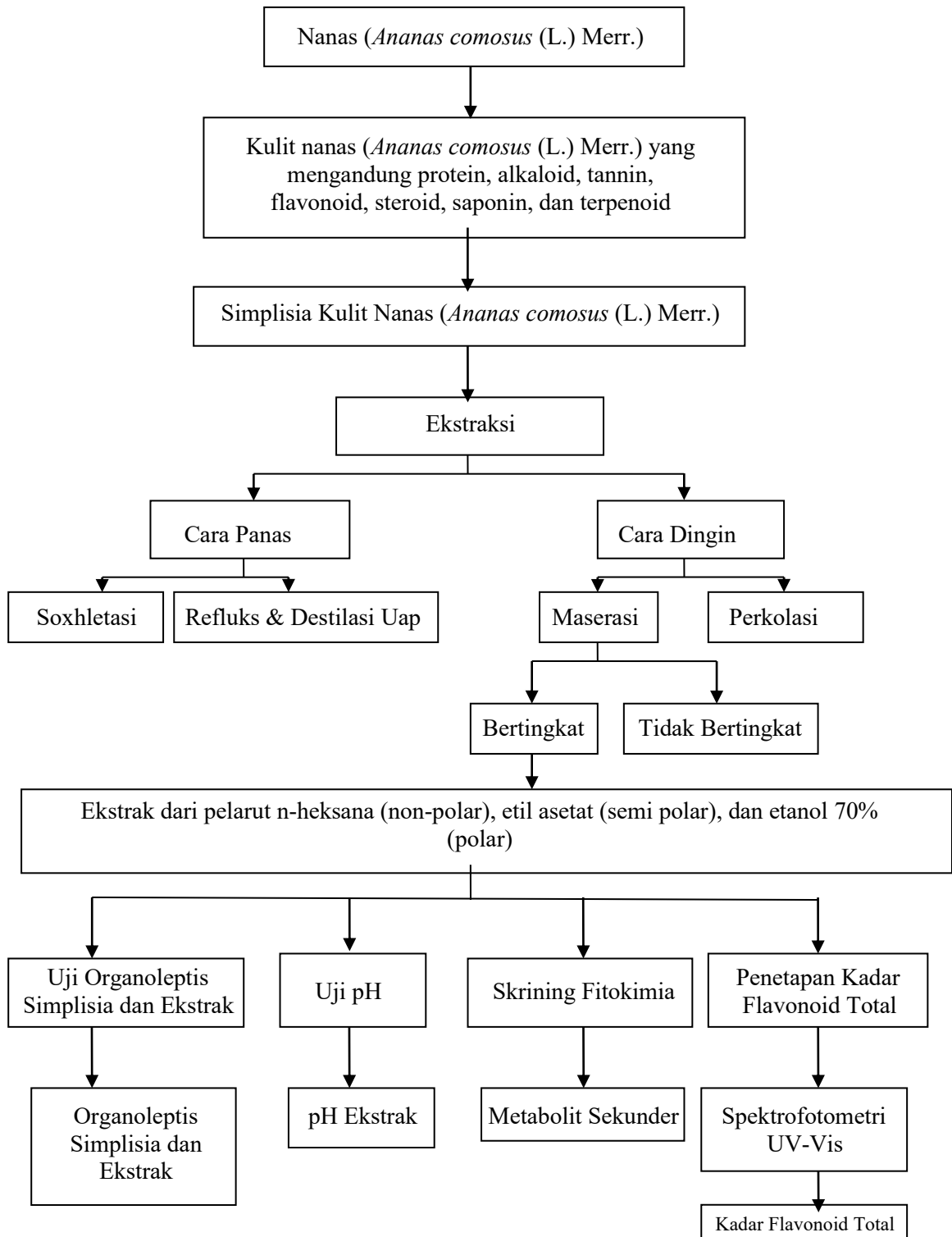
Gambar 2.7 Reaksi alumunium klorida (AlCl_3) dan flavonoid

Penetapan kadar ini diawali dengan membuat larutan induk kuersetin, larutan seri standar, penentuan panjang gelombang, penentuan absorbansi kadar flavonoid dan kalibrasi hasil pengukuran dengan standar yang sudah dibuat (Syamsul; dkk, 2019:16). Pembuatan kurva kalibrasi kuersetin dilakukan dengan melarutkan sepuluh mg kuersetin dengan etanol 80% dan diencerkan menjadi 25, 50, dan 100 $\mu\text{g/ml}$. Dalam wadah lain, larutan standar encer (0,5 ml) digabungkan dengan 1,5 ml etanol 95%, 0,1 ml alumunium klorida 10%, 0,1 ml kalium asetat 1 M serta 2,8 ml air suling. Larutan tersebut lalu diinkubasi selama 30 menit sebelum dilakukan pengukuran

serapannya pada 415 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kemudian dibuat larutan blanko menggunakan cara yang sama, namun terdapat penggantian alumunium klorida 10% dengan *aquadest*. Untuk mencari kandungan flavonoidnya bisa dilakukan pencampuran 0,5 ml ekstrak etanol atau 15 larutan standar flavonoid (100 ppm) bersama alumunium klorida dengan cara yang sama seperti sebelumnya (Chang; *et. al.*, 2002:179).

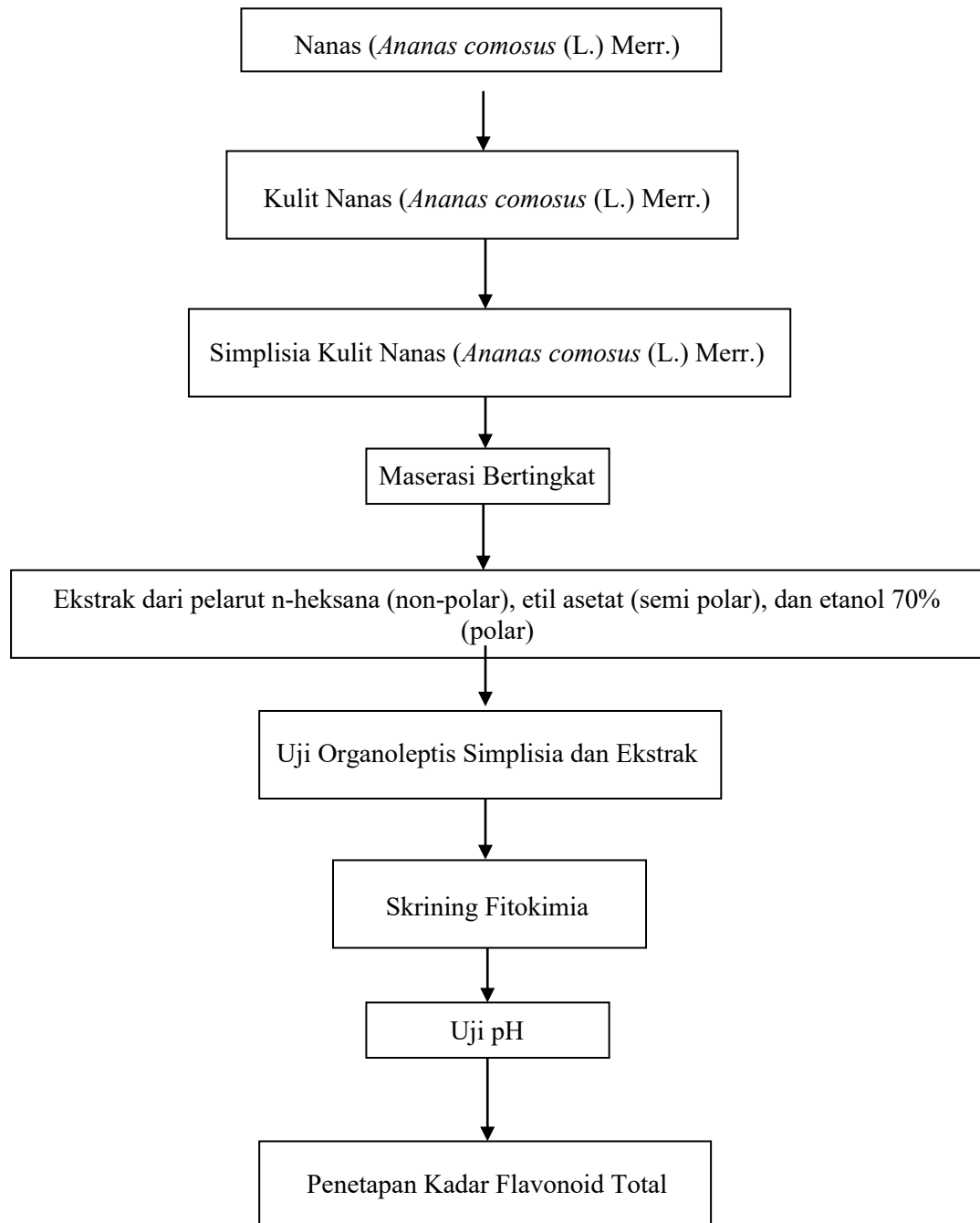
Pada metode Chang *et. al.* (2002), pembuatan kurva kalibrasi kuersetin menggunakan etanol 80% dan pembuatan larutan blankonya menggunakan etanol 95%. Namun, sudah ada metode kolorimetri yang telah dimodifikasi menggunakan etanol 70%, seperti beberapa diantaranya penentuan kadar flavonoid kulit nanas oleh Fauzi, dkk(2023), penentuan kadar flavnoid total ekstrak etil asetat daun kersen oleh Puspitasari dan Wulandari (2017), dan penetapan kadar flavonoid total ekstrak daun sirsak oleh Yani, Nastiti dan Noval(2023). Modifikasi ini diperkuat dengan adanya penelitian oleh Khairunnisa, Hakin, dan Audina (2022) yang melakukan perbandingan kadar flavonoid total ekstrak daun pegagan berdasarkan perbedaan konsentrasi pelarut yang digunakan dalam pembuatan larutan standar kuersetin hingga pembuatan larutan sampel. Masing-masing larutan dibuat dengan menggunakan etanol 96% dan 70%, kemudian dilakukan pengukuran absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Dari pengujian tersebut, didapatkan kesimpulan bahwa kadar flavonoid total ekstrak menggunakan etanol 70% lebih tinggi daripada yang menggunakan etanol 96%, sehingga etanol 70% diketahui paling efektif untuk uji flavonoid total.

I. Kerangka Teori



Sumber : Mukhriani, (2014:362-367) , Gunwantrao, *et. al.*, (2016:158)

Gambar 2.8 Kerangka Teori

J. Kerangka Konsep

Gambar 2.9 Kerangka Konsep

K. Definisi Operasional

Tabel 2.1 Definisi Operasional

No.	Variabel Penelitian	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
1.	Organoleptis simplisia kulit nanas (<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.).	Warna, aroma, dan bentuk dari simplisia kulit nanas (<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.).	Observasi	Panca indra	Warna, aroma, dan bentuk dari simplisia.	Nominal
2.	Ekstrak kulit nanas (<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.) hasil maserasi.	Ekstrak yang dihasilkan dari maserasi bertingkat dengan pelarut n-heksana (non-polar), etil asetat (semi polar), dan etanol 70% (non-polar).	Ekstraksi maserasi bertingkat dengan pelarut n-heksana (non-polar), etil asetat (semi polar), dan etanol 70% (non-polar).	Bejana maserasi, <i>rotary evaporator</i> , pengaduk	Ekstrak hasil maserasi dengan pelarut N-Heksana (non-polar), Etil Asetat (semi polar), dan Etanol 70% (non-polar).	Nominal
3.	Organoleptis ekstrak kulit nanas (<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.) dari pelarut n-heksana (non-polar), etil asetat (semi polar), dan etanol 70% (polar).	Warna, aroma, dan konsistensi dari ekstrak kulit nanas (<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.) dengan pelarut n-heksana (non-polar), etil asetat (semi polar), dan etanol 70% (non-polar).	Observasi	Panca indra	Warna, aroma, dan konsistensi dari ketiga ekstrak.	Nominal
4.	Metabolit sekunder ekstrak kulit nanas (<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.) dari	Suatu molekul organik dalam kulit nanas (<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.) yang tidak berperan	Observasi	Dengan indra penglihatan	a. Flavonoid terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga.	Nominal

No.	Variabel Penelitian	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
	pelarut n-heksana (non-polar), etil asetat (semi polar), dan etanol 70% (non-polar).	langsung bagi perkembangan nya.			<p>b. Tanin ditandai dengan terbentuk endapan putih.</p> <p>c. Alkaloid, terbentuknya endapan putih, kuning, coklat atau merah bata.</p> <p>d. Steroid atau Triterpenoid, terbentuknya warna merah, ungu, atau hijau.</p> <p>e. Saponin, ditandai adanya buih.</p>	
5.	pH ekstrak kulit nanas (<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.) dari pelarut n-heksana (non-polar), etil asetat (semi polar), dan etanol 70% (polar).	Tingkat keasaman atau kebasaaan ekstrak.	Uji pH	pH meter	pH ekstrak kulit nanas yang menunjukkan keasaman dan kebasaannya	Rasio
6.	Kadar flavonoid total ekstrak kulit nanas (<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.) dari pelarut n-heksana (non-polar),	Banyaknya flavonoid yang terkandung dalam ekstrak kulit nanas (<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.) dari pelarut n-	Uji Spektrofotometri	Spektrofotometer UV-Vis	Kadar flavonoid total	Rasio

No.	Variabel Penelitian	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
	etil asetat (semi polar), dan etanol 70% (polar).	heksana (non-polar), etil asetat (semi polar), dan etanol 70% (polar).				