

OPTIMASI DAN VALIDASI METODE ANALISIS DALAM PENENTUAN KANDUNGAN TOTAL FENOLIK PADA EKSTRAK DAUN GEDI HIJAU (*Abelmoschus manihot* L.) YANG DIUKUR DENGAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS

Thesalonika Grinifh Arikalang¹⁾, Sri Sudewi¹⁾, Johnly A. Rorong²⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

¹⁾Jurusan Kimia FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

*This study aims to optimize and validate the analytical methods in determining the total phenolic content of green gedi leaf extract (*Abelmoschus manihot* L.). Optimization is done by varying the volume of Folin-Ciocalteu reagents is 1.5; 2; and 2.5 mL with some concentration variation is 25; 50; and 75 % and Sodium Carbonate (Na_2CO_3) with variation of solvent volume 1.2; 2.0; and 4.0 mL with some variation of concentration 5.0; 7.5; and 10 %. Validation parameter of analysis method is done by determining accuracy, precision, LOD and LOQ, and linearity. The optimization result of analysis method showed that 1.5 mL of Folin-Ciocalteu reagent 25 % and 1.2 mL of Sodium Carbonate (Na_2CO_3) 5 % showed maximum absorbance of 0.432. Validity values of validation parameters of analytical methods obtained accuracy results at concentrations of 30, 40, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively is 88.786; 93.635; 83.636 %, precise with the value of Relative Standard Deviation (RSD) equal to 0.06 %, LOD equal to 22.363 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and LOQ 74.545 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and linearity obtained correlation coefficient $r^2 = 0.993$. The total content of phenolic in the green gedi leaf extract of Manado, North Minahasa, and Southeast Minahasa respectively are 913.65 ± 0.005 ; 788.16 ± 0.009 ; and 286.35 ± 0.001 μg GAE/g. While the total phenolic content in the fraction of n-hexane, ethyl acetate and aquadest were Manado 129.09 ± 0.017 ; 440.9 ± 0.009 ; and 55.45 ± 0.003 μg GAE/g, North Minahasa 88.18 ± 0.002 ; 260 ± 0.002 ; and 38.18 ± 0.003 μg GAE/g and Southeast Minahasa 82.72 ± 0.014 ; 168.18 ± 0.037 ; and 20 ± 0.004 μg GAE/g. As concluded that the concentration, volume and solvent used produce the optimal total phenolic content and validity values that meet the requirements to give reliable results.*

Keywords: Optimization, Validation of Analysis Methods, Total Phenols, Green Gedi.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimasi dan memvalidasi metode analisis dalam penetapan kandungan total fenolik ekstrak daun gedi hijau (*Abelmoschus Manihot* L). Optimasi dilakukan dengan memvariasikan volume reagen Folin-Ciocalteu yaitu 1,5; 2; dan 2,5 mL dengan beberapa variasi konsentrasi yaitu 25; 50; dan 75 % dan Natrium Karbonat (Na_2CO_3) dengan variasi volume pelarut 1,2; 2; dan 4,0 mL dengan beberapa variasi konsentrasi 5; 7,5; dan 10 %. Parameter validasi metode analisis dilakukan dengan menentukan nilai akurasi, presisi, LOD dan LOQ, serta linearitas. Hasil optimasi metode analisis menunjukkan bahwa 1,5 mL reagen Folin-Ciocalteu 25 % dan 1,2 mL Natrium Karbonat (Na_2CO_3) 5 % menunjukkan absorbansi yang maksimal yaitu sebesar 0,432. Nilai validitas dari parameter-parameter validasi metode analisis memperoleh hasil akurasi pada konsentrasi 30, 40, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ secara berturut-turut yaitu 88,786; 93,635; 83,636 %, presisi dengan nilai Relatif Standar Deviasi (RSD) sebesar 0,06 %, LOD sebesar 22,363 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan LOQ 74,545 $\mu\text{g}/\text{mL}$ serta linearitas diperoleh koefisien korelasi $r^2 = 0,993$. Kandungan total fenolik pada ekstrak daun gedi hijau kota Manado, Minahasa Utara dan Minahasa Tenggara secara berturut-turut yaitu $913,65 \pm 0,005$; $788,16 \pm 0,009$; dan $286,35 \pm 0,001$ μg GAE/g. Kandungan total fenolik pada fraksi n-heksan, etil asetat dan aquades secara berturut-turut yaitu Manado $129,09 \pm 0,017$; $440,9 \pm 0,009$; dan $55,45 \pm 0,003$ μg GAE/g, Minahasa Utara $88,18 \pm 0,002$; $260 \pm 0,002$; dan $38,18 \pm 0,003$ μg GAE/g serta Minahasa Tenggara $82,72 \pm 0,014$; $168,18 \pm 0,037$; dan $20 \pm 0,004$ μg GAE/g. Konsentrasi, volume serta pelarut yang digunakan menghasilkan kandungan total fenolik yang optimal dan nilai validitas yang memenuhi persyaratan.

Kata kunci: Optimasi, Validasi Metode Analisis, Total fenol, Gedi hijau.

PENDAHULUAN

Tanaman gedi (*Abelmoschus manihot* L.) suku Malvaceae, merupakan tumbuhan tahunan yang berbatang tegak dengan tinggi sekitar 1,2 – 1,8 m. Tanaman gedi mudah tumbuh dengan cara stek batang pada tanah gembur. Daun gedi hijau dapat dimanfaatkan oleh masyarakat Manado sebagai bahan makanan (Mamahit dan Soekarno, 2010).

Senyawa fenolik adalah senyawa yang memiliki gugus hidroksil yang menempel pada cincin aromatik (Vermerris dan Nicholson, 2006). Penetapan kadar fenol total dalam ekstrak dapat dilakukan dengan pereaksi Folin Ciocalteu (Ravangpai, 2011). Metode Folin-Ciocalteu merupakan metode yang umum digunakan sebagai standar penentuan kandungan fenolik total karena merupakan metode yang cepat dan sederhana yang dinyatakan sebagai masa ekuivalen asam galat tiap mg sampel (Fu *et al.*, 2011).

Untuk melakukan pengembangan metode analisis, perlu dilakukan optimasi metode analisis untuk menghasilkan kondisi yang ideal. Setelah suatu metode analisis dioptimasi dan berbagai variabel yang akan ditentukan telah disesuaikan dengan kriteria yang diharapkan, metode analisis selanjutnya divalidasi untuk memastikan bahwa metode analisis sesuai dengan tujuannya. Validasi metode analisis dilakukan terhadap ketepatan (*accuracy*), presisi, Batas Deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ), serta Linieritas. Suatu metode analisis harus divalidasi untuk melakukan verifikasi bahwa parameter-parameter kinerjanya mampu untuk mengatasi problem analisis (Rohman, 2007).

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 00780), Komputer pengolah data (Hp), timbangan analitik (ADAM), alat-alat gelas (iwaki), Blender (Nanotec), corong

pisah, Vortex (Mixer Hwashin), Rotary Evaporator (RV 10 gigital V), *Rotary shaker* (Infors HT), dan mikropipet (Ecopipete).

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu: simplisia kering daun gedi hijau Kota Manado, Kabupaten Minahasa Utara, Kabupaten Minahasa Tenggara, Asam Galat, reagen Folin-Ciocalteu, Etanol teknis 96 %, Natrium Karbonat (Na_2CO_3) Pro analisis (Merck), n-heksan, etil asetat, dan akuades.

METODE PENELITIAN

1. Pengambilan Sampel

Sampel daun Gedi Hijau (*Abelmoschus manihot* L.) diambil dari perkebunan Kota Manado, Kabupaten Minahasa Utara dan Kabupaten Minahasa Tenggara, Selanjutnya setiap sampel daun gedi hijau (*Abelmoschus manihot* L.) dibuat simplisia.

2. Ekstraksi

Sebanyak 250 gram simplisia dari masing-masing daerah dimasukkan ke dalam labu alas bulat, selanjutnya ditambahkan etanol 96 %. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi selama 24 jam dengan menggunakan *rotary shaker*. Ekstrak hasil maserasi kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga terbentuk ekstrak kental daun gedi hijau.

3. Optimasi Metode Analisis

Sebanyak 10,0 mg asam galat diencerkan dengan akuades sampai volume 10,0 mL. Larutan asam galat sebanyak 300 μL ditambahkan beberapa variasi volume reagen Folin-Ciocalteu yaitu 1,5; 2; dan 2,5 mL dengan beberapa variasi konsentrasi yaitu 25; 50; dan 75 % kemudian digojog dan didiamkan selama 3 menit. Selanjutnya ditambahkan Natrium karbonat dengan variasi volume pelarut 1,2; 2; dan 4 mL dengan beberapa variasi konsentrasi 5; 7,5; dan 10 % pada masing-masing campuran.

Larutan diinkubasi selama 30 menit dan absorbansi larutan dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 750 nm. Setelah absorbansi larutan dibaca, volume dan konsentrasi reagen Folin-Ciocalteu dan pelarut Natrium karbonat yang hasil absorbansinya paling baik akan digunakan sebagai standar pada penentuan kandungan total fenolik.

4. Validasi Metode Analisis

a. Ketepatan (*Accuracy*)

Ke dalam sampel ekstrak daun geddi hijau ditambahkan asam galat baku sebanyak 30, 40, dan 50 µg/mL dari rerata kadar asam galat yang terdapat pada sampel, kemudian dianalisis dengan prosedur yang sama seperti pada sampel. Hasil dinyatakan dalam persen perolehan kembali (% *recovery*). Persen perolehan kembali dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\begin{aligned} & \% \text{ perolehan kembali} \\ &= \frac{A_2 - A_1}{B} \times 100 \% \end{aligned}$$

Keterangan:

A_1 = Kadar analit sebelum penambahan Asam galat baku

A_2 = Kadar analit yang diperoleh setelah penambahan Asam galat baku

B = Kadar Asam galat baku yang ditambahkan

b. Presisi

Larutan asam galat 1000 µg/mL dibuat konsentrasi 20 µg/mL, selanjutnya larutan baku asam galat dengan konsentrasi 20 µg/mL tersebut didiamkan selama waktu *operating time* kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 750 nm. Uji ketelitian ini dilakukan sebanyak 5 kali pengulangan. Uji presisi ditentukan dengan parameter RSD (Relatif Standard Deviasi) berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \%$$

Keterangan:

SD = Standar deviasi/simpangan baku

\bar{x} = Kadar rerata

c. Batas Deteksi (*Limit of Detection*, LOD) dan Batas Kuantifikasi (*Limit of Quantification*, LOQ)

Batas deteksi dan batas kuantifikasi dapat dihitung secara statistik melalui regresi linier dari kurva kalibrasi dengan membuat larutan baku kerja dengan konsentrasi 20; 30; 40; 50; dan 60 µg/mL lalu dipipet masing-masing 300 µL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1,5 mL reagen Folin Ciocalteu 25 % dan digojog. Didiamkan selama 3 menit kemudian ditambah 1,2 mL larutan Natrium Karbonat 5 %, setelah itu diinkubasi selama 30 menit, absorbansi dari larutan pembanding diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 750 nm. Setelah diukur absorbansinya kemudian dihitung nilai *Limit Of Detection* dan *Limit Of Quantitation*.

Limit Of Detection dan *Limit Of Quantitation* ditentukan dengan rumus yang sebagai berikut:

$$LOD = \frac{3 \times SB}{\text{slope}(b)}$$

$$LOQ = \frac{10 \times SB}{\text{slope}(b)}$$

d. Linearitas (Kurva Baku)

Linearitas dilakukan dengan membuat larutan stok dengan larutan asam galat dengan konsentrasi 20; 30; 40; 50 dan 60 µg/mL. Kemudian dipipet 300 µL selanjutnya ditambahkan 1,5 mL reagen Folin-Ciocalteu 25 %, 1,2 mL natrium karbonat 5 % setelah itu diinkubasi selama 30 menit, absorbansi dari larutan pembanding diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Kurva kalibrasi dibuat kemudian ditentukan persamaan regresi linier serta koefisien korelasi untuk mengevaluasi linearitas. Berdasarkan nilai

koefisien korelasi dapat diketahui linieritasnya baik atau tidak.

5. Penentuan Kandungan Fenolik Total Ekstrak Daun Gedi Hijau (*Abelmoschus manihot* L.)

a. Penentuan *Operating Time*

Sebanyak 300 µL larutan asam galat konsentrasi 30 µg/mL ditambah 1,5 mL reagen Folin Ciocalteu 25 %, kemudian digojog dan didiamkan selama 3 menit. Ke dalam larutan tersebut ditambahkan 1,2 mL larutan Natrium Karbonat (Na₂CO₃) 5 %, digojog homogen, dan diukur absorbansinya dalam rentang waktu 0-90 menit pada panjang gelombang 750 nm.

b. Penentuan panjang gelombang absorbansi maksimum

Sebanyak 300 µL larutan asam galat konsentrasi 30 µg/mL ditambah 1,5 mL reagen Folin-Ciocalteu 25 %, kemudian digojog dan didiamkan selama 3 menit. Ke dalam larutan tersebut ditambah 1,2 mL larutan Natrium karbonat 5 %, digojog homogen, dan didiamkan pada suhu kamar pada range *operating time*, kemudian absorbansinya diukur pada panjang gelombang 700-800 nm.

c. Pembuatan kurva baku asam galat

Sebanyak 300 µL larutan asam galat konsentrasi 20, 30, 40, 50, dan 60 µg/mL masing-masing dimasukkan ke dalam tabung, kemudian ditambah 1,5 mL reagen Folin Ciocalteu 25 % dan digojog. Setelah didiamkan selama 3 menit, masing-masing larutan ditambah 1,2 mL larutan Natrium Karbonat 5 %, digojog homogen dan didiamkan pada range *operating time* pada suhu kamar. Semua larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang absorbansi maksimum, kemudian di buat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat (µg/mL) dengan absorbansi.

d. Penentuan kandungan total fenolik ekstrak daun gedi hijau

Sebanyak 10,0 mg ekstrak dari masing-masing ekstrak daun gedi hijau dilarutkan sampai volume 10,0 mL akuades. Larutan ekstrak yang diperoleh dipipet sebanyak 300 µL, dan ditambah reagen 1,5 mL Folin-Ciocalteu 25 % dan digojog, didiamkan selama 3 menit, ditambah 1,2 mL pelarut Natrium Karbonat (Na₂CO₃) 5 % dan didiamkan lagi pada range *operating time* pada suhu kamar. Absorbansi ekstrak diukur pada panjang gelombang maksimum. Perhitungan kandungan fenolik total menggunakan rumus berikut:

$$TPC = \frac{c.v.fp}{g}$$

Keterangan:

c = konsentrasi fenolik (nilai x)

v = volume ekstrak yang digunakan (mL)

fp = faktor pengenceran

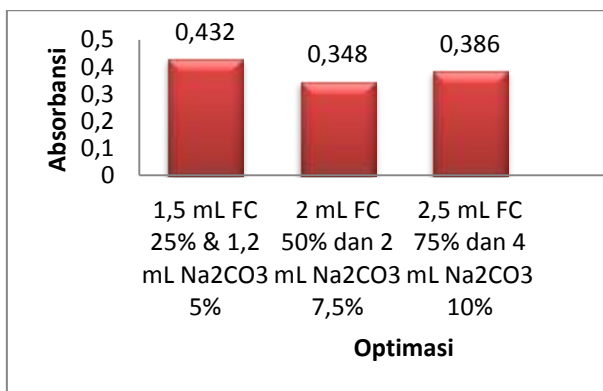
g = berat sampel yang digunakan

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Ekstraksi

Ekstrak daun gedi hijau yang diperoleh dari Kota Manado, Kabupaten Minahasa Utara dan Kabupaten Minahasa Tenggara secara berturut-turut yaitu 9,0618; 7,7565; dan 32,4675 gram. Cairan penyari yang digunakan untuk ekstraksi pada penelitian ini adalah etanol 96 %. Pemilihan pelarut etanol berdasarkan sifat kepolarannya yang dapat melarutkan senyawa metabolit sekunder bersifat semi polar hingga polar, termasuk senyawa fenolik dalam daun gedi hijau sehingga senyawa yang terekstraksi diharapkan lebih maksimal. Kelebihan etanol sebagai pelarut yaitu aman, tidak toksik, netral, tidak berbahaya bagi lingkungan, serta titik didihnya relatif rendah sehingga mudah diuapkan (Andersen dan Markham, 2006).

2. Optimasi Metode Analisis



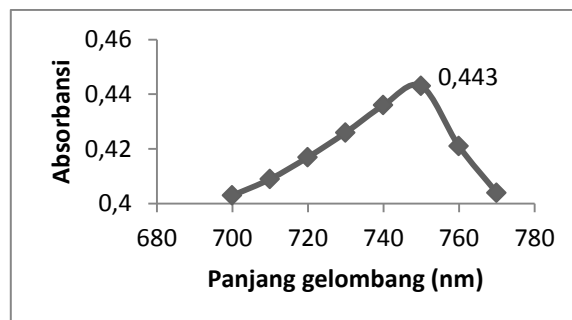
Gambar 1. Optimasi Metode Analisis dengan memvariasikan konsentrasi dan volume Folin-Ciocalteu dan Natrium karbonat

Optimasi bertujuan untuk mendapatkan hasil yang maksimal dengan tingkat sensitivitas yang tinggi untuk memperoleh kondisi optimum pada suatu proses yang menghasilkan nilai terbaik dari kriteria kerja. Berdasarkan hasil absorbansi yang diperoleh menunjukkan bahwa 1,5 mL reagen Folin-Ciocalteu 25 % dan 1,2 mL Natrium Karbonat (Na₂CO₃) 5 % memiliki hasil yang paling baik dengan hasil absorbansi 0,432.

3. Operating time

Dari hasil yang diperoleh, absorbansi yang stabil pada menit ke-30 sehingga dapat disimpulkan *Operating time* untuk penetapan kandungan total fenolik ekstrak daun gedi hijau adalah 30 menit. Tujuan penetapan *operating time* untuk mendapatkan waktu pengukuran pada saat reaksi telah berjalan optimal yang ditandai dari absorbansi yang stabil, sehingga dapat memaksimalkan pengukuran. Kenaikan absorbansi secara terus-menerus dari menit ke menit tidak dapat dijadikan sebagai *operating time* karena perubahan absorbansi masih terus berjalan, sehingga pengukuran menjadi tidak maksimal jika dilakukan pada waktu tersebut. Sebaliknya ketika absorbansi mulai stabil merupakan waktu yang tepat dijadikan sebagai *operating time* (Pangestuty, 2016).

4. Penentuan Panjang Gelombang Absorbansi Maksimum



Gambar 2. Scanning Panjang gelombang absorbansi maksimum

Panjang gelombang maksimum merupakan panjang gelombang yang dapat memberikan absorbansi maksimum pada saat pengukuran (Sambadha, 2011). Berdasarkan hasil *scanning* panjang gelombang maksimum pada konsentrasi 30 µg/mL asam galat diperoleh panjang gelombang maksimum 750 nm dengan hasil absorbansi 0,443.

5. Validasi Metode Analisis

a. Ketepatan (Accuracy)

Tabel 2. Data uji akurasi

A ₁	B (µg/mL)	A ₂	Recovery (%) ± SD
25,818	30	52,454	88,786 % ± 0,016
	40	63,272	93,635 % ± 0,005
	50	67,636	83,636 % ± 0,024

Keterangan:

A₁ : Kadar ekstrak sebelum penambahan asam galat;

A₂: Kadar ekstrak setelah penambahan asam galat;

B : Kadar asam galat yang ditambahkan ke dalam ekstrak (µg/mL)

Persen perolehan kembali ini dapat diterima karena memenuhi syarat akurasi yaitu pada rentang rata-rata persen perolehan kembali 80-110 % (Harmita, 2004). Hal ini menunjukkan bahwa parameter akurasi

dalam penetapan kandungan ekstrak daun gedi hijau memenuhi syarat validasi.

b. Presisi

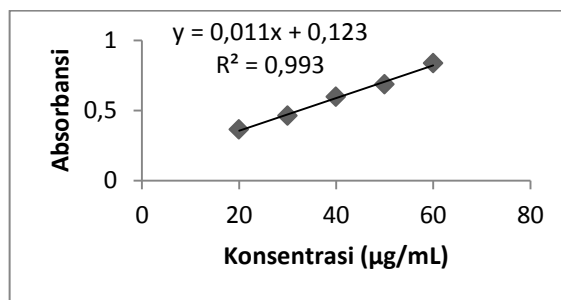
Presisi diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif berdasarkan penelitian yang dilakukan terhadap replikasi sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Presisi dapat menghasilkan nilai rata-rata yang sangat dekat dengan nilai yang sebenarnya, simpangan baku relatif (RSD) sebagai parameter ukur.

Hasil perhitungan simpangan baku (SD) dari data yang diperoleh sebanyak 5 kali pengulangan pada konsentrasi 20 µg/mL sebesar 0,0032 dengan nilai simpangan baku relatif (RSD) sebesar 0,06 %. Menurut Harmita (2004), nilai simpangan baku relatif (RSD) < 2% menunjukkan bahwa parameter presisi memberikan keterulangan yang dapat diterima dengan baik.

c. Batas Deteksi (*Limit of Detection*, LOD) dan Batas Kuantifikasi (*Limit of Quantification*, LOQ)

Setelah mendapatkan kurva kalibrasi yang memenuhi persyaratan analisis, selanjutnya data yang diperoleh dari konsentrasi tiap analit yang memberikan absorbansi berbeda diolah untuk menentukan batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ). Batas deteksi merupakan konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi (Harmita, 2004). Penentuan batas deteksi dan batas kuantifikasi berdasarkan kemiringan (*slope*) kurva kalibrasi. Hasil pengujian batas deteksi dalam penentuan kandungan total fenolik pada ekstrak daun gedi hijau menunjukkan nilai limit deteksi sebesar 22,363 µg/mL sedangkan batas kuantifikasi yang diperoleh 74,545 µg/mL.

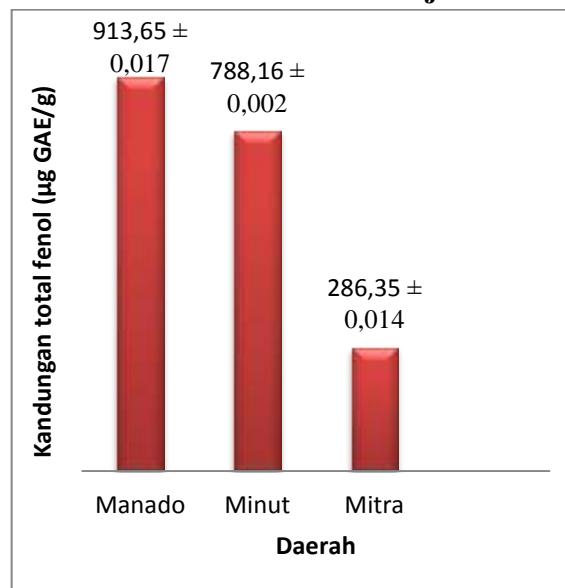
d. Kurva Baku dan Linearitas



Gambar 3. Kurva kalibrasi

Persamaan kurva kalibrasi merupakan hubungan antara sumbu x dan sumbu y. Sumbu x dinyatakan dengan konsentrasi yang diperoleh sedangkan sumbu y merupakan absorbansi atau serapan yang diperoleh dari hasil pengukuran sehingga persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi yang diperoleh adalah $y=0,011x + 0,123$ dengan koefisien korelasi $r^2 = 0,993$. Harga koefisien korelasi menyatakan hubungan yang linier antara konsentrasi dengan serapan yang dihasilkan. Berdasarkan hasil r^2 yang diperoleh bahwa koefisien korelasi memberikan hasil yang linear karena memenuhi kriteria yang dapat diterima yaitu 0,99 (Miller dan Miller, 2005).

6. Penentuan Kandungan Total Fenolik Pada Ekstrak Daun Gedi Hijau



Gambar 4. Kandungan total fenolik pada ekstrak daun gedi hijau

Berdasarkan hasil yang diperoleh, total fenolik pada kota Manado lebih tinggi yaitu sebesar 913,65 µg GAE/g, diikuti oleh Minahasa Utara yaitu sebesar 788,16 µg GAE/g dan Minahasa Tenggara sebesar 286,35 µg GAE/g. Pertumbuhan tanaman dipengaruhi oleh banyak faktor, diantaranya yaitu suhu, kelembaban, curah hujan dan tempat tumbuh. Kondisi tanah pada ketiga daerah tersebut menyebabkan terjadinya perbedaan kandungan senyawa fenolik dari tanaman gedi hijau yang tumbuh di daerah tersebut.

Menurut Alfian dan Susanti (2012) penetapan kandungan fenolik total dilakukan dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu. Reagen Folin-Ciocalteu digunakan karena senyawa fenolik dapat bereaksi dengan Folin membentuk larutan berwarna yang dapat diukur absorbansinya. Prinsip dari metode Folin adalah terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru. Senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu hanya dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat. Untuk membuat kondisi basa digunakan Natrium karbonat.

KESIMPULAN

1. Berdasarkan hasil optimasi yang diperoleh menunjukkan bahwa campuran 1,5 mL reagen Folin-Ciocalteu 25 % dan 1,2 mL pelarut Natrium karbonat 5 % memiliki hasil yang paling baik dengan hasil absorbansi paling tinggi yaitu 0,432.
2. Validasi metode analisis yang dilakukan pada parameter uji akurasi, presisi, LOD dan LOQ, serta Linearitas yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis telah memenuhi syarat. Nilai validitas dari parameter-parameter validasi metode analisis memperoleh hasil akurasi pada konsentrasi 30, 40, 50 µg/mL secara berturut-turut yaitu 88,786; 93,635; 83,636 %, presisi dengan nilai Relatif

Standar Deviasi (RSD) sebesar 0,06 %, LOD sebesar 22,363 µg/mL dan LOQ sebesar 74,545 µg/mL serta linearitas diperoleh koefisien korelasi $r^2 = 0,993$.

3. Kandungan total fenolik ekstrak etanol daun gedi hijau di kota Manado sebesar 913,65 µg GAE/g, Minahasa Utara yaitu sebesar 788,16 µg GAE/g dan Minahasa Tenggara sebesar 286,35 µg GAE/g.

SARAN

Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun gedi hijau (*Abelmoschus manihot* L.).

DAFTAR PUSTAKA

- Alfian, R., Susanti, H. 2012. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa*) dengan Variasi Tempat Tumbuh secara Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 2(1): 73-80.
- Andersen, M.O., dan Markham, K.R. 2006. *Flavonoids : Chemistry, Biochemistry, and applications*. Taylor & Francis Group, USA.
- Fu, L., Xu, B.T., Gan, R.Y., and Zhang, Y. 2011. Total Phenolic Contents and Antioxidant Capacities of Herbal and Tea Infusion. *International Journal of Molecular Sciences*. 12: 2112-2124.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 1 (3) : 117-135.
- Mamahit L.P. dan Soekarno, N.H., 2010. Satu senyawa organik yang diisolasi dari daun gedi (*Abelmoschus manihot* L. Medik) Asal Sulawesi utara. *Chemistry Program*. 3 (1) : P. 45
- Miller, J.C and Miller, J.N. 2005. *Statistic and Chemometrics for Analytical Chemistry, in Handbook of*

- Pharmaceutical Analysis by HPLC.*
Purdue Pharma, New York.
- Pangestuty, A. 2016. *Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Buah Buni Dengan Metode 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH) dan Metode Folin-Ciocalteu* [skripsi]. Fakultas Farmasi, Yogyakarta.
- Ravangpai, W. 2011. Limonoids from seeds of Thai *Xylocarpus moluccenci*. *Bioorganic & Medical Chemistry Letters*. 21: 4485-4489
- Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka pelajar, Yogyakarta.
- Sambadha, D.L.E. 2011. *Uji Aktivitas Antioksidan menggunakan Radikal 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH) dan Penetapan Kandungan Fenolik Total Fraksi Air Ekstrak Daun Selasih* [skripsi]. Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Sudjadi, 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. PT Pustaka Pelajar, Jakarta.
- Vermerris, W dan Nicholson, R. 2006. *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer, Dordrecht.