

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

Sukmawati¹⁾, Sri Sudewi¹⁾, Julius Pontoh¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

¹⁾Jurusan Kimia FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

Gedi (Abelmoscus manihot L.) is a tropical plant of the malvaceae family, has traditionally been long known in North Sulawesi as a vegetable. The purpose of this research is to know the optimization of the analysis method with several parameters tested that is concentration and volume of reactant and time of incubation, to know the validation of the analytical method used so as to give the right result in determining the total flavonoid content, and to determine the total flavonoid content of green gedi flavonoid (Abelmoscus manihot L.). Quantitative analysis method of flavonoids by using UV-Vis Spectrophotometer was used in this study. Optimum result was obtained that the optimum result was (AlCl₃) 2% 0,5 mL reacted with acetic acid (CH₃COOH) 5% 5 mL with the most optimal incubation time was 20 min. The validation parameters are precision, accuracy, linearity, LOD (Limit of Detection) and LOQ (Limit Of Quantitation) using UV-Vis Spectrophotometer at a maximum wavelength of 415 nm. The result obtained from the precision test fulfilled the requirement with RSD/KV equal to 0,00313%, with accuracy value which also fulfill the value (80-110%) that is 106,766%, the result of the correlation coefficient (r) is 0,993 and LOD value of 249,3 ppm and LOQ value obtained for 831 ppm. The total content of flavonoids in Manado City was 155,83 mg QE/g extract ± 0,0007, North Minahasa sub-district of 675,85 mg QE/g extract ± 0,049 and Tomohon City of 450,86 mg QE/g extract ± 0,032.

Keywords : Flavonoids, Green Gedi Leaves, Optimization, Validation, UV-Vis Spectrophotometer, *Abelmoscus manihot* L.

ABSTRAK

Gedi (*Abelmoschus manihot* (L.)) merupakan tumbuhan tropis famili malvaceae, secara tradisional telah lama dikenal di Sulawesi Utara sebagai tanaman sayuran. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui optimasi metode analisis dengan beberapa parameter yang diujikan yaitu konsentrasi dan volume reaktan serta waktu inkubasi sampel yang digunakan, dan mengetahui validasi metode analisis yang digunakan sehingga memberikan hasil yang tepat dalam penentuan kandungan total flavonoid, serta menentukan kandungan total flavonoid daun gedi hijau (*Abelmoscus manihot* L.). Metode analisis kuantitatif flavonoid dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dipakai dalam penelitian ini. Hasil optimasi metode analisis diperoleh bahwa hasil yang paling optimal adalah (AlCl₃) 2% 0,5 mL direaksikan dengan asam asetat (CH₃COOH) 5% 5 mL dengan waktu inkubasi yang paling optimal adalah 20 menit. Parameter validasi metode adalah presisi, akurasi, linearitas, LOD dan LOQ menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 415 nm. Hasil yang diperoleh dari uji presisi memenuhi syarat ketentuan dengan nilai RSD/KV sebesar 0,00313%, dengan nilai akurasi yang juga memenuhi syarat nilai (80%-110%) yaitu 106,766%, hasil dari koefisien korelasi (r) adalah 0,993 dan nilai LOD sebesar 249,3 ppm serta nilai LOQ yang diperoleh sebesar 831 ppm. Hasil kandungan total flavonoid pada kota Manado sebesar 155,83 mg QE/g ekstrak ± 0,0007, kecamatan Minahasa Utara sebesar 675,85 mg QE/g ekstrak ± 0,049 dan kota Tomohon sebesar 450,86 mg QE/g ekstrak ± 0,032.

Kata kunci : Flavonoid, Daun Gedi Hijau, Optimasi, Validasi, Spektrofotometer UV-Vis, *Abelmoscus manihot* L.

PENDAHULUAN

Gedi (*Abelmoschus manihot* (L.)) merupakan tumbuhan tropis famili malvaceae, secara tradisional telah lama dikenal di Sulawesi Utara sebagai tanaman sayuran. Tumbuhan ini memiliki efek farmakologis untuk membantu penyembuhan berbagai macam penyakit (Mamahit dan Sukamto, 2010). Masyarakat memanfaatkan daun gedi yang direbus tanpa diberi bumbu sebagai obat tradisional untuk menurunkan kadar kolesterol, hipertensi dan juga sebagai antidiabetes (South *et al*, 2013).

Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan telah banyak diteliti belakangan ini (Purmorad *et al*, 2006). Sebagai antioksidan flavonoid memiliki kemampuan untuk mengubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas (Zuhra, 2008). Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh 3 atom karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga dapat ditemukan pada setiap ekstrak tumbuhan (Markham, 1988). Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Robinson, 1995).

Pada monografi simplisia dan ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia terdapat beberapa kelemahan pada teknik analisis yang dipakai. Diantara kelemahan itu adalah tidak adanya optimasi dalam penyiapan sampel, padahal penyiapan sampel sangat berpengaruh pada perolehan

zat aktif dan hasil analisis yang akan diperoleh (Gaedcke *et al*, 2003). Optimasi metode analisis adalah cara untuk menoptimalkan metode yang dipakai dalam suatu analisis agar hasil penelitian yang diperoleh dapat diandalkan. Berdasarkan hal tersebut maka penulis tertarik untuk menggunakan optimasi metode analisis sebagai salah satu langkah untuk mengoptimalkan hasil penelitian dalam penetapan kandungan total flavonoid pada ekstrak daun gedi hijau dengan cara mengoptimasikan volume pelarut, konsentrasi pelarut dan waktu inkubasi sampel.

Metode yang digunakan di laboratorium kimia analitik harus dievaluasi dan diuji untuk memastikan bahwa metode tersebut mampu menghasilkan data yang valid dan sesuai dengan tujuan (Torbeck L.D, 2007). Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap suatu parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium untuk memastikan bahwa parameter tersebut memenuhi syarat untuk penggunaannya (Effendy, 2004). Validasi ulang perlu dilakukan karena meskipun validasi sebelumnya menghasilkan data yang sesuai dengan kriteria penerimaan, dan metode yang dinyatakan valid dalam kondisi tertentu belum tentu valid pada kondisi lain karena peralatan dan pereaksi yang digunakan (Alwi H, 2017). Beberapa parameter validasi yang biasa diujikan adalah *Limit Of Detection* (LOD), *Limit Of Quantitation* (LOQ), presisi, akurasi dan linearitas.

Analisis kuantitatif flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Spektrum serapan ultra violet dan serapan tampak merupakan cara tunggal yang paling

bermanfaat untuk mengidentifikasi struktur flavonoid (Markham, 1988).

Hasil penelitian Pine *et al*, (2010) menyatakan bahwa daun gedi memiliki kandungan flavonoid yang cukup tinggi (23-41%) dan berpotensi sebagai sumber antioksidan. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun gedi meningkat sejalan dengan peningkatan konsentrasi total flavonoid, dan aktivitas tertinggi terdapat pada ekstrak etanol 96% dengan nilai IC_{50} sebesar $0,575 \text{ mg g}^{-1}$.

Berdasarkan hal-hal diatas mendorong penulis untuk melakukan penelitian tentang Optimasi dan Validasi metode Analisis dalam Penentuan Kandungan Total Flavonoid pada Ekstrak daun Gedi Hijau yang diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Flavonoid mengandung sistem aromatis yang terkonjugasi sehingga dapat menunjukkan pita serapan kuat pada daerah UV-Vis (Rohyami, 2008).

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai Maret 2018 di Laboratorium Kimia Farmasi, Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi Manado.

Alat dan Bahan

a. Alat

Alat-alat ukur analitis yang digunakan untuk penelitian ini adalah Spektrofotometri UV-VIS (Shimadzu 00780), Komputer pengolah data (Acer Aspie ES 11), Alat-alat gelas, Vortex (Mixer Hwashin), Blender (Phillips), *Rotary Evaporator* (RV 10 digital V), corong pisah, *rotary shacker*.

b. Bahan

Bahan-bahan yang dipakai ialah simplisia kering daun Gedi dari 3 tempat tumbuh yang berbeda yaitu Daerah pesisir pantai (Manado), Daerah dataran rendah (Minahasa Utara), dan Daerah dataran tinggi (Tomohon). Etanol p.a, etanol 96%, aluminium klorida ($AlCl_3$) (Merck), asam asetat (CH_3COOH) (Merck), kuersetin p.a, pelarut n-heksana (Merck), etil asetat (Merck), dan aquadest (Merck).

Prosedur Kerja

Pengambilan Sampel

Sampel daun Gedi Hijau (*Abelmoschus manihot* L.) diambil dari tiga tempat yaitu Daerah pesisir pantai tepatnya di Kota Manado, Dataran rendah tepatnya di Kecamatan Minahasa Utara dan Dataran tinggi tepatnya di Kota Tomohon. Selanjutnya setiap sampel daun gedi hijau (*Abelmoschus manihot* L.) dibuat menjadi bentuk simplisia. Kemudian setiap sampel dari masing-masing daerah akan diukur kandungan total flavonoid menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Ekstraksi

Sebanyak 250 gram serbuk simplisia dimasukkan ke dalam maserator 500 mL dan kemudian ditambahkan etanol 96%. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi selama 24 jam dan pengadukan dibantu dengan alat *rotary shacker*. Ekstrak hasil maserasi kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga terbentuk ekstrak kental.

Uji Optimasi Metode Analisis

Sampel ekstrak daun gedi hijau 1000 ppm dipipet sebanyak 0,5 mL ditambahkan aluminium klorida ($AlCl_3$) dengan beberapa rentang volume 0,5 mL; 0,10 mL; dan 0,15 mL dan beberapa

rentang konsentrasi AlCl_3 yaitu 2%; 5%; dan 10% kemudian ditambahkan asam asetat (CH_3COOH) pada rentang volume 5mL ;8 mL; dan 12mL dan rentang konsentrasi asam asetat (CH_3COOH) yaitu 5%; 7% dan 12% kemudian ditambahkan 2,80 mL aquadest. Campuran dikocok homogen lalu didiamkan selama beberapa rentang waktu inkubasi yaitu 20; 30 dan 40 menit. Kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Setiap perolehan optimasi diukur pada pengukuran yg berbeda-beda atau masing-masing dalam penetapan kandungan total flavonoid ekstrak daun gedi hijau (*Abelmoscus manihot* L.).

Pembuatan Larutan Baku Kuersetin

Dibuat larutan induk 1000 ppm dengan cara menimbang dengan seksama 10 mg kuersetin p.a dan dilarutkan dengan etanol p.a 10 mL. Kemudian dibuat larutan standar kuersetin 100; 200; 300; 400; dan 500 ppm dari pengenceran larutan baku kuersetin 1000 ppm.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan cara membuat larutan standar kuersetin 400 ppm kemudian sebanyak 1 mL larutan kuersetin 400 ppm tersebut direaksikan dengan 1 mL AlCl_3 2% di dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 8 mL asam asetat 5% ke dalam larutan dan dilakukan pembacaan pada rentang panjang gelombang 400-500 nm menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

Penetapan *Operating Time* Kuersetin

Penentuan *operating time* dilakukan dengan mengambil sebanyak 1

mL larutan kuersetin 200 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu direaksikan dengan 1 mL AlCl_3 2%, dan ditambahkan 8 mL asam asetat 5% ke dalam larutan. Larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh dengan interval waktu 1 menit sampai diperoleh absorbansi yang stabil.

Uji validasi metode analisis

Ketepatan (akurasi)

Ke dalam sampel ekstrak daun gedi hijau ditambahkan kuersetin baku sebanyak 50; 100 ; dan 150 ppm dari rerata kadar kuersetin yang terdapat pada sampel, kemudian dianalisis dengan prosedur yang sama seperti pada sampel. Hasil dinyatakan dalam persen perolehan kembali (% *recovery*). Persen perolehan kembali dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

Ketelitian (Presisi)

Larutan kuersetin 100 ppm di pipet 1 mL dari larutan stok kemudian dimasukkan kedalam labu terukur 10 mL. Dipipet 1 mL dari konsentrasi 100 ppm hingga kadarnya 10 ppm. Kemudian larutan baku kuersetin dengan konsentrasi 10 ppm tersebut didiamkan selama waktu *operating time* kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Uji ketelitian ini dilakukan sebanyak 5 kali pengulangan. Uji presisi (keseksamaan) ditentukan dengan parameter RSD (*Relative Standard Deviasi*)

Batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ)

Batas deteksi dan batas kuantitas dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linear dari kurva kalibrasi dengan membuat larutan baku kerja dengan

konsentrasi 100; 200; 300; 400; dan 500 ppm lalu dipipet 1 mL kemudian ditambahkan 1 mL AlCl₃ 5% setelah itu diinkubasi selama 20 menit, absorbansi dari larutan pembanding diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Setelah diukur absorbansi dari larutan baku kerja dicari persamaan regresi antara kadar (konsentrasi) dengan absorbansi. Kemudian dihitung harga *Limit Of Detection* dan *Limit Of Quantitation*.

Linearitas (kurva baku)

Linearitas dilakukan dengan cara membuat larutan baku kueretin 1000 ppm kemudian dibuat larutan baku kerja dengan konsentrasi 100; 200; 300; 400 dan 500 ppm lalu dipipet 1 ml kemudian ditambahkan 1 ml aluminium (III) klorida 5%, 1 ml larutan CH₃COOH 5%, Setelah itu diinkubasi selama 20 menit, absorbansi dari larutan pembanding diukur menggunakan spektrofotometer UV Vis pada panjang gelombang maksimum. Kurva hubungan antara kadar vs serapan dibuat kemudian ditentukan persamaan regresi linier serta koefisien korelasi (r) dan koefisien korelasi dari fungsi (V_{xo}) untuk mengevaluasi linearitas. Berdasarkan nilai koefisien korelasi dapat diketahui linearitasnya baik atau tidak. Koefisien korelasi dikatakan baik apabila $r \geq 0,98$ dan koefisien fungsi regresi (V_{xo}) $\leq 5\%$.

Penentuan Kandungan Total Flavonoid Ekstrak Daun Gedi

Sampel ekstrak etanol daun gedi hijau 1000 ppm dipipet sebanyak 1 mL ditambahkan dengan volume aluminium klorida (AlCl₃) hasil optimasi dengan konsentrasi dari hasil optimasi yang paling optimal. Tambahkan volume hasil optimasi asam asetat (CH₃COOH) dengan

konsentrasi hasil optimasi yang paling optimal. Campuran dikocok homogen lalu dibiarkan selama waktu inkubasi yang paling optimal dari hasil optimasi waktu inkubasi. Kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Penentuan nilai flavonoid akhir dilakukan berdasarkan formula yang dikembangkan oleh Pan *et al.* (2012), yaitu:

$$\text{Flavonoid Total} = \left(\frac{m}{g}\right) = \frac{Y \times N \times V}{W}$$

Keterangan :

Y = konsentrasi flavonoid contoh yang dihitung dengan menggunakan persamaan kurva standard (mg g⁻¹)

N = nilai pengenceran.

V = volume hasil ekstraksi (mL).

W = berat serbuk daun gedi (g).

Fraksinasi

Sebanyak 5 g ekstrak kental dari masing-masing sampel dilarutkan dengan 25 mL air. Larutan selanjutnya difraksinasi dengan 50 mL n-heksan. Dikocok dalam labu pemisah dan didiamkan selama 10-15 menit hingga terdapat dua lapisan air (air pada lapisan bawah dan n-heksan pada lapisan atas). Kedua lapisan yang terbentuk kemudian dipisahkan. Proses penambahan n-heksan pada lapisan bawah (air) yang sudah dipisahkan diulangi dua kali. Lapisan atas (n-heksan) yang terbentuk selama tiga kali fraksinasi digabungkan dan disebut dengan fraksi n-heksan. Bagian air sisa dari proses fraksinasi yang terjadi sama dengan proses fraksinasi n-heksan kemudian difraksi lebih lanjut dengan etil asetat. Proses yang terjadi sama dengan proses fraksinasi dari n-heksan. Lapisan etil asetat yang nantinya akan terbentuk selama tiga kali fraksinasi digabungkan dan disebut sebagai fraksi etil

asetat dan sisa lapisan aquadest disebut sebagai fraksi aquadest.

Penetapan Kandungan Total Flavonoid dari Fraksi Pelarut

Fraksi kemudian ditentukan kandungan total flavonoid yaitu sebanyak 0,1 mL dari masing-masing fraksi 1000 ppm dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0,1 mL AlCl_3 2% campuran tersebut divortex selama 2 menit lalu tambahkan 2 mL larutan CH_3COOH 5%. Selanjutnya campuran diinkubasi selama 20 menit diruang gelap. Absorbansinya dibaca pada panjang gelombang maksimum dengan Spektrofotometer UV-Vis Kandungan total flavonoid dinyatakan sebagai ekivalen kuersetin mg/kg ekstrak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi

Setiap sampel sebanyak 250 gram serbuk simplisia daun gedi hijau dimasukkan ke dalam maserator 500 ml dan di tambahkan etanol. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi selama 24 jam menggunakan alat bantu pengaduk (*rotary shaker*). kemudian disaring dan didapatkan filtrat. Filtrat yang diperoleh akan diuapkan dengan *rotary evaporator*. Proses ekstraksi dengan metode maserasi dikombinasikan dengan alat *vaccum rotary evaporator* yang bertujuan untuk mendapat hasil pemisahan yang maksimal. *Vaccum rotary evaporator* merupakan alat yang dirancang untuk memindahkan pelarut yang mudah menguap dalam jumlah yang besar dari larutan pada penurunan tekanan, meninggalkan komponen yang tidak mudah menguap. Perbedaan utama pekerjaan ini dengan kerja distilasi adalah dilakukannya pemutaran labu distilasi

selama pemindahan pelarut. Pemutaran memiliki fungsi penting yakni dapat menghindari resiko *bumping* dan meningkatkan kecepatan pemindahan pelarut (Firdaus, 2011). Hasil evaporasi di pindahkan pada cawan petri dan dimasukan kedalam oven dengan suhu maksimal 40°C agar tidak merusak senyawa yang terkandung dalam ekstrak, hingga diperoleh ekstrak kental.

Berdasarkan hasil ekstraksi 250 gram daun gedi hijau maka diperoleh jumlah hasil rendemen dari masing-masing ekstrak adalah kota manado sebesar 13,24%, Minahasa Utara sebesar 4,18% dan Kota Tomohon sebesar 5,63%.

Hasil Optimasi

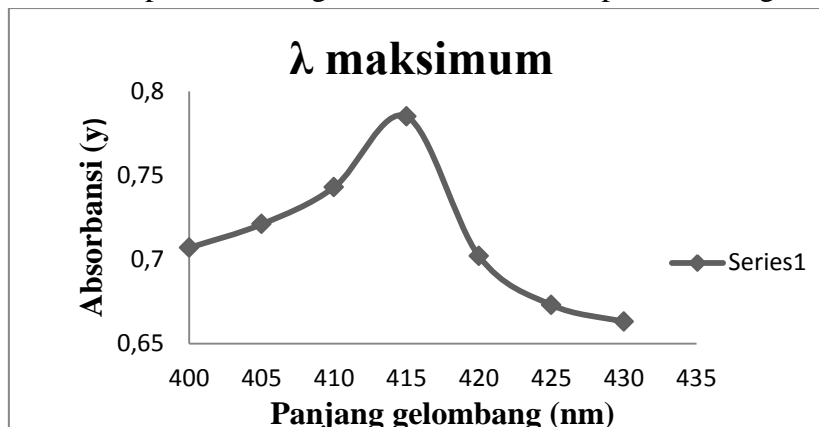
Berdasarkan pengujian optimasi yang dilakukan hasil yang paling optimal adalah larutan standar kuersetin 1000 ppm yang ditambahkan almunium klorida (AlCl_3) 2% 0,5 mL direaksikan dengan asam asetat (CH_3COOH) 5% 5 mL dengan waktu inkubasi yang paling optimal adalah 20 menit dimana menghasilkan nilai serapan optimum sebesar 0,807.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Pada penelitian ini penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada daerah panjang gelombang 400-500 nm dan konsentrasi yang dipakai adalah 400 ppm sehingga diperoleh panjang maksimum gelombang 415 nm. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Irvan *et al* (2016) dimana panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 415 nm. Tujuan penentuan panjang gelombang maksimum agar mengetahui daerah serapan yang dapat dihasilkan berupa nilai absorbansi

dari larutan baku kuersetin yang diukur serapannya menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada rentang

panjang gelombang 400-500 nm. Data hasil panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Kurva Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Penentuan *Operating Time*

Operating time ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum dari data yang telah dihasilkan pada penentuan panjang gelombang maksimum yaitu 415 nm dengan konsentrasi yang digunakan adalah 200 ppm dengan rentang waktu 1-20 menit dengan hasil absorbansi yaitu 0,42.

Validasi Metode Analisis

Uji Presisi (Ketelitian)

Hasil pengujian presisi menunjukkan bahwa nilai dari hasil perhitungan simpangan baku dari data yang diperoleh dengan replikasi sebanyak 5 kali yaitu SD (*Standar Deviation*) sebesar 0,0169 pada konsentrasi kadar analit 100 ppm dengan nilai RSD (*Relative Standar Deviation*) atau KV (*Koefisien Variansi*) adalah 0,00313% dan ketelitian alat sebesar 99,996%. Berdasarkan hasil uji tersebut menunjukkan bahwa pengujian presisi dengan metode Spektrofotometri yang digunakan adalah baik dimana menurut Hermita (2004) metode dikatakan baik apabila presisi yang dihasilkan memenuhi persyaratan dengan $KV \leq 2\%$.

Uji Akurasi (Ketepatan)

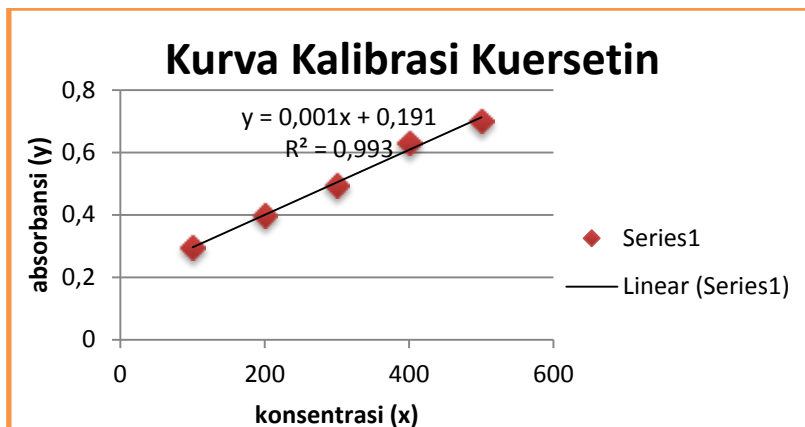
Dalam metode penambahan baku pada penelitian yang pertama kali diukur adalah absorbansi dari ekstrak daun gedi 1000 ppm pada satu daerah yaitu Kota Tomohon kemudian dilakukan metode penambahan baku kuersetin dengan menambahkan tiga seri konsentrasi larutan baku kuersetin yaitu 50; 100 dan 150 ppm kemudian diukur absorbansinya pada masing-masing konsentrasi tersebut dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Kemudian hasil absorbansi dirata-ratakan dari tiga kali pengulangan tersebut dan dilakukan perhitungan sehingga menghasilkan % *recovery* sebesar 106,766% dimana persen perolehan kembali ini dapat diterima karena memenuhi syarat akurasi yaitu pada rentang rata-rata persen perolehan kembali 80-110% (WHO,1992).

Kurva Kalibrasi Kuersetin dan Uji Linearitas

Berdasarkan hasil pembuatan kurva kalibrasi dengan menggunakan metode Spektrofotometri yang menghubungkan konsentrasi dengan absorbansi, diperoleh

persamaan linear $y = 0,001x + 0,191$ dengan koefisien korelasi $r = 0,993$. Hasil koefisien korelasi diatas telah memenuhi

kriteria penerimaan yaitu $\geq 0,98$ (Hermita, 2004).



Gambar 2. Kurva Kalibrasi Kuersetin

Batas Uji Deteksi dan Batas Uji Kuantitas

Dalam penelitian ini batas deteksi (LOD) yang diperoleh adalah 249,3 ppm dan batas kuantitas yang diperoleh sebesar 831 ppm.

Hasil Kandungan Total Flavonoid

Kadar flavonoid awal (x) yang dihitung menggunakan persamaan regresi linier kurva baku yaitu $y = ax + b$ menghasilkan kandungan flavonoid pada Kota Manado sebesar 155,83 mg QE/g ekstrak $\pm 0,0007$, Minahasa Utara sebesar 675,85 mg QE/g ekstrak $\pm 0,049$ dan Kota Tomohon sebesar 450,86 mg QE/g ekstrak $\pm 0,032$. Dan data menunjukkan bahwa Hasil kandungan flavonoid tertinggi diperoleh oleh daerah Minahasa Utara (Dataran rendah) dengan nilai kandungan flavonoid sebesar 675,85 mg QE/g ekstrak. Berdasarkan letak geografisnya, dataran dataran rendah yang sangat cocok untuk ditanami tanaman gedi yang merupakan tumbuhan tropis karena daerah dataran rendah memiliki suhu yang optimum dan kondisi lingkungan yang sesuai dengan habitatnya pada kondisi inilah tumbuhan

rendah adalah dataran yang berada diantara 0 - 200 meter atau 500 meter di atas permukaan laut. Hal ini membuat suhu di dataran ini berkisar antara 23-28°C. Secara geografis keadaan tanah di daerah ini cukup mendukung untuk bercocok tanam karena tanahnya sangat subur, tanah di dataran ini merupakan hasil sedimentasi tanah alluvial. Tanah alluvial ini merupakan tanah hasil erosi dari gunung berapi atau dataran tinggi yang hanyut bersama air sungai (Sunarto, 2016). Dan daerah Minahasa Utara merupakan daerah

akan tumbuh dan berkembang dengan baik.

Hasil Fraksinasi

Dari hasil penelitian yang diperoleh bahwa fraksi etil asetat memiliki nilai kandungan flavonoid tertinggi

dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan aquadest. hal ini terjadi karena senyawa flavonoid yang berada didalam daun gedi lebih banyak terlarut pada pelarut etil asetat. Demikian pula hasil penelitian Chatarina *et al* (2017) yang menunjukkan bahwa ekstraksi senyawa flavonoid menghasilkan kadar flavonoid total tertinggi pada pelarut etil asetat. Leoufoid (2014) juga menyatakan bahwa senyawa flavonoid lebih larut dalam pelarut etil asetat.

KESIMPULAN

1. Hasil yang paling optimal dari optimasi metode analisis adalah ($AlCl_3$) 2% 0,5 mL direaksikan dengan asam asetat (CH_3COOH) 5% 5 mL dengan waktu inkubasi yang paling optimal adalah 20 menit. Sehingga hasil ini dipakai untuk penentuan kandungan total flavonoid dan juga dipakai pada saat melakukan validasi metode analisis.
2. Dari hasil validasi dihasilkan dapat dilihat bahwa parameter yang diuji memenuhi kriteria penerimaan yaitu uji ketelitian mendapatkan hasil RSD sebesar 0,00313% yaitu $\leq 2\%$ dengan SD sebesar 0,0169, kemudian hasil dari uji ketepatan mendapatkan hasil % *Recovery* sebesar 106,766% yang masih dalam rentang penerimaan yaitu 80-110%, dan hasil dari koefisien korelasi (r) 0,993 yang memenuhi kriteria penerimaan yaitu $\geq 0,98$, dengan nilai LOD sebesar 249,3 ppm dan nilai LOQ yang diperoleh sebesar 831 ppm.
3. Kandungan total flavonoid dari ekstrak etanol daun gedi hijau (*Abelmoscus manihot* L.) untuk kota Tomohon adalah sebesar 450,86 mg QE/g ekstrak $\pm 0,032$, daerah Minahasa Utara adalah sebesar

675,85 mg QE/g ekstrak $\pm 0,049$, dan untuk kota Manado adalah sebesar 155,83 mg QE/g ekstrak $\pm 0,0007$

DAFTAR PUSTAKA

- Chang, C.C, Yang M.H, Wen H.M, Chern JC., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J Food Drug Analysis*; 10 (1) (178-182).
- Ditjen POM. 1995. *Farmakope Indonesia. Edisi IV*. Departemen Kesehatan R.I., Jakarta.
- Gaedcke, F., Steinhoff, B. H., 2003. *Herbal medicine products: Scientific and Regulatory basis for development. Quality Assurance and Marketing Authorisation, Stuttgart: Medpharm Scientific Publisher.*
- Guether. (1987). *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika*. UI Press. Jakarta.
- Harmita, 2004. *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*. Majalah Ilmu Kefarmasian [serial on internet]. vol.1 No.3]. [Dikutip 23 maret 2018].
- Mamahit L.P. & Soekarno,N.H., 2010. Satu senyawa organik yang diisolasi dari daun gedi (*Abelmoscus manihot* L. Medik) Asal Sulawesi

- utara. *Jurnal Kimia*. Vol.3, No.1, Hal. 45.
- Markham. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. ITB Press. Bandung.
- Pine ATD, G Alam and F Attamin. 2010. *Standardisasi Mutu Ekstrak Daun Gedi (Abelmoschus manihot L.) Medik) Dan Uji Efek Antioksidan dengan Metode DPPH*. [diakses 12 oktober 2017]
- Irvan, Liling T, Budi Prayitno. 2016. Penentuan Kandungan Total Flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kajajahi (*Leukosyke capitellata* Wedd.). *Jurnal Pharmascience*. Vol.3 No.1. Hal. 95-96.
- Riyanto, 2014. *Validasi dan Verifikasi metode uji*. CV. Budi Utama. Yogyakarta.
- Rohman. A, 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Rohyani, Y. 2008. Penentuan flavonoid dari ekstrak metanol daging buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa Scheff Boerl*). *Jurnal Sains*. Yogyakarta : Universitas Islam Indonesia. Vol. 5 No.1.
- South, E., H. Kaempe dan A. Tampi. 2013. Evaluasi Kandungan Total Polifenol dan Isolasi Senyawa Flavonoid Pada Daun Gedi Merah (*Abelmoscus manihot* L.). *Chemistry Progress*. 6 : 86.
- Sunarto, T. 2016. *Laporan Praktikum Tanaman Dataran Rendah*. Fakultas Pertanian UNEJ, Jakarta.
- Suryanto, E. 2012. *Fitokimia Antioksidan*. CV. Putra Media Nusantara, Surabaya.
- Torbeck L.D., editor, 2007. *Pharmaceutical And Medical Decice Validation By Eksperimental Design*. Informa healthcare. New York. P.4.
- WHO. 1992. *The International Pharmacopeia. Edisi ke-empat*. Electronic Version Geneva: World Health Organization.
- Zuhra CF, Tarigan JB, Sitohang H. 2008. Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dari daun katuk (*Sauropus androgunus* (L) Merr). *Jurnal Biologi Sumatera*. Vol. 3, No.1. Hal. 7-10.