

Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etil Asetat Buah Okra Hijau (*Abelmoschus esculentus* L.)

Determination of Total Phenolic in Ethyl Acetate Extract of Green Okra Fruit (*Abelmoschus esculentus* L.)

Putri Indah Sayakti, Muhammad Hidayatullah*, Aditya Noviadi Rakhmatullah, Rahmi Muthia, Syawaliyah

Universitas Borneo Lestari, Banjar Baru, Kalimantan Selatan, Indonesia

*E-mail: muhammadiyahdayatullah422@gmail.com

ABSTRAK

Senyawa fenolik merupakan senyawa yang mampu bertindak sebagai antioksidan, mencegah penyakit jantung, mengurangi peradangan, dan diabetes. Salah satu tanaman yang memiliki kandungan senyawa fenolik yaitu buah okra (*Abelmoschus esculentus* L.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan fenolik total yang terdapat pada ekstrak etil asetat *A. esculentus* secara kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan secara kuantitatif dengan *Follin-Ciocalteu* menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis. Metode ekstraksi *A. esculentus* yang digunakan adalah metode maserasi dengan pelarut etil asetat. Uji KLT pada ekstrak etil asetat *A. esculentus* menghasilkan 2 noda pada plat KLT dengan nilai Rf 0,23 dan 0,38 dan perubahan noda setelah disemprot dengan FeCl₃ 10% menghasilkan perubahan warna menjadi hijau. Pengujian secara kuantitatif dengan mengukur absorbansi sampel uji menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Hasil uji kualitatif ekstrak etil asetat *A. esculentus* menggunakan KLT menunjukkan adanya senyawa fenol dengan ditandai perubahan warna bercak noda menjadi hijau setelah disemprot dengan FeCl₃ 10%. Hasil uji kuantitatif didapatkan kadar fenolik total ekstrak etil asetat *A. esculentus* sebesar 11,16 mg GAE/gram.

Kata Kunci: *Abelmoschus esculentus* L., okra, ekstrak etil asetat, fenolik, KLT

ABSTRACT

Phenolic compounds are compounds that can act as antioxidants, prevent heart disease, reduce inflammation, and diabetes. One of the plants that contain phenolic compounds is Okra fruit (*Abelmoschus esculentus* L.). This study aims to determine the total phenolic content contained in the ethyl acetate extract of *A. esculentus* qualitatively by Thin Layer Chromatography (TLC) and quantitatively by *Follin-Ciocalteu* using the UV-Vis Spectrophotometry method. The *A. esculentus* extraction method used is the maceration method with ethyl acetate as a solvent. The thin layer chromatography test on the ethyl acetate extract of *A. esculentus* produced 2 spot on the TLC plate with Rf values of 0.23 and 0.38 and changes in spots after being sprayed with 10% FeCl₃ resulted in a change in color to green. Quantitative testing by measuring the absorbance of the test sample using a UV-Vis Spectrophotometer. The qualitative test results of the ethyl acetate extract of *A. esculentus* using TLC showed the presence of phenolic compounds with marked changes in the color of the spots to green after being sprayed with 10% FeCl₃. The quantitative test results showed that the total phenolic content of the ethyl acetate extract of green *A. esculentus* was 11.16 mg GAE/gram.

Keywords: *Abelmoschus esculentus* L., ethyl acetate extract, okra; phenolic, TLC

Submitted: May 17th 2023 | 1st Revision: June 16th 2023 | Accepted: August 22nd 2023 | Published: December 31st 2023

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara tropis, yang mempunyai banyak tumbuhan yang dimanfaatkan untuk pengobatan. Penggunaan obat dari tanaman semakin banyak digunakan oleh masyarakat sebagai terapi alternatif penyembuhan berbagai penyakit hal tersebut dikarenakan obat-obat yang berasal dari tanaman mudah didapatkan dan juga mempunyai efek samping yang relatif kecil dari obat berbahan sintesis. Bahan alam yang dapat digunakan sebagai obat karena umumnya mengandung senyawa metabolit sekunder. Senyawa yang tergolong ke dalam metabolit sekunder dan mayoritas terkandung dalam jaringan tanaman salah satunya yaitu senyawa fenolik dan flavonoid

[1]. Senyawa fenolik mampu bertindak sebagai antioksidan, mencegah penyakit jantung, mengurangi peradangan, dan diabetes [2].

Salah satu tanaman yang memiliki kandungan senyawa fenolik yaitu okra. Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) merupakan salah satu jenis sayuran fungsional yang termasuk dalam famili *Malvaceae*, memiliki banyak manfaat bagi kesehatan [3]. *A. esculentus* secara empiris digunakan untuk pengobatan penyakit jantung dan diabetes melitus [4]. *A. esculentus* memiliki banyak manfaat, hal ini karena mengandung beberapa komponen metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, triterpenoid, polifenol, tanin, dan saponin [5].

A. esculentus memiliki kandungan fenolik dan flavonoid serta memiliki aktivitas antioksidan. Hasil analisis kandungan flavonoid dan fenolik total yang terdapat di dalam ekstrak etanol buah okra yaitu 51595.21 ± 12.90 mg/g/QE dan 25.83 ± 5.30 mg/g/GAE [6]. Penelitian [7] menunjukkan ekstrak etanol 70% buah okra hijau mengandung polifenol dengan kadar $34,21 \pm 0,216$ mg asam tanat/5g simplisia.

Metode penelitian yang akan dilakukan pada penelitian ini berbeda dengan yang dilakukan oleh penelitian [7] mengenai kandungan polifenol buah okra yaitu pada menggunakan pelarut etanol 70%, sedangkan pada penelitian ini akan menggunakan ekstrak etil asetat pada penetapan kadar fenolik total *A. esculentus* dengan metode ekstraksi yaitu maserasi. Pemilihan pelarut etil asetat pada penelitian ini adalah karena etil asetat merupakan pelarut semi polar yang mampu menarik senyawa-senyawa dengan rentang polaritas luas dari polar hingga non polar [8]. Menurut penelitian [9] etil asetat merupakan pelarut yang dapat digunakan untuk ekstraksi kulit buah manggis karena dapat menarik senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, polifenol, dan triterpenoid.

Belum ada laporan terhadap kadar fenolik total dari ekstrak etil asetat *A. esculentus*. Berdasarkan uraian di atas maka perlu dilakukan penetapan kadar fenolik total dari ekstrak etil asetat *A. esculentus* karna mengingat pentingnya fungsi senyawa fenolik untuk kesehatan. Adapun tujuan penelitian untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dan kadar fenolik total ekstrak etil asetat dari *A. esculentus*.

Bahan dan Metode

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu buah okra (*Abelmoschus esculentus* L.), etil asetat teknis (*Pandu Medikal*), metanol p.a (*Merck*), reagen *Follin-Ciocalteu* (*Merck*), asam galat (*Merck*), Na_2CO_3 (*Merck*), FeCl_3 (*Merck*), silika gel GF 254 (*Merck*), dragendorff (*Nitra Kimia*), serbuk Mg (*Merck*), HCl 2 N (*Merck*), gelatin (*Merck*), asam asetat anhidrat (*Merck*), dan kloroform (*Merck*).

Pada penelitian ini alat yang digunakan adalah alat-alat gelas (*Pyrex*), blender, kuvet (*Hellma*), lampu UV 254 dan 366, mikropipet (*Dragonlab*), neraca analitik (*Ohaus*), oven (*Memmert UN55*), seperangkat alat KLT, seperangkat alat maserasi, *rotary evaporator* (*IKRF10*®), Spektrofotometer UV-Vis (*T60*®), dan *waterbath* (*Memmert*®).

Pengambilan dan Determinasi *A. esculentus*

Pengambilan sampel dilakukan dengan mengumpulkan buah okra segar dari petani di wilayah Palangkaraya, Kalimantan Tengah pada bulan Desember 2022. Bagian tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian buah okra hijau yang masih segar, dan masih muda dan tidak rusak. Determinasi okra dilakukan di Laboratorium FMIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru.

Pengolahan Simplisia *A. esculentus*

Buah okra dikumpulkan sebanyak 5 kg, kemudian disortasi basah yang bertujuan untuk membersihkan dan menghilangkan kotoran yang menempel pada buah. Selanjutnya buah okra dicuci dengan air mengalir, lalu dilakukan perajangan pada buah agar dapat mempercepat proses pengeringan simplisia. Simplisia dikeringkan di bawah sinar matahari dengan ditutupi kain hitam. Setelah kering dilakukan sortasi kering, lalu

simplisia diserbuk menggunakan *blender*. Serbuk simplisia kemudian diayak dengan *mesh* 40 setelah itu disimpan dalam toples, terlindung dari cahaya dan disimpan pada suhu ruang [8]. Adapun perhitungan rendemen simplisia dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Rendemen simplisia} = \frac{\text{Bobot simplisia kering}}{\text{Bobot bahan baku}} \times 100\%$$

Pembuatan Ekstrak Etil Asetat *A. esculentus*

Metode ekstraksi buah okra yang digunakan adalah maserasi dengan memasukkan sebanyak 300 gram serbuk simplisia *A. esculentus* ke dalam bejana maserasi. Setelah itu, pelarut etil asetat ditambahkan dengan perbandingan 1:5 kemudian direndam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, dan diamkan selama 18 jam. Maserasi dilakukan selama 1 x 24 jam. Selanjutnya hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring dan dilakukan remaserasi sebanyak 2 kali. Kemudian hasil maserasi disaring dengan kertas saring lalu diperoleh filtrat. Selanjutnya filtrat dikumpulkan dan diuapkan dengan *rotary evaporator* [10]. Adapun suhu yang digunakan pada *rotary evaporator* < 60°C [11]. Kemudian digunakan *waterbath* dengan suhu 50°C sehingga diperoleh ekstrak kental dengan menghitung bobot tetapnya.

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{Bobot simplisia awal}} \times 100\%$$

Identifikasi Senyawa Fenolik Ekstrak Etil Asetat *A. esculentus* dengan Kromatografi Lapis Tipis

Plat KLT disiapkan dengan memotong plat silika GF₂₅₄ dengan ukuran 1,5 x 8 cm, kemudian plat ditandai dengan pensil pada jarak 1 cm dari tepi bawah dan 0,5 cm dari tepi atas [12]. Selanjutnya plat KLT diaktifkan dengan memanaskan plat di dalam oven pada suhu 110°C selama 5 menit untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat [13]. Kemudian 10 mg ekstrak etil asetat *A. esculentus* dilarutkan dalam pelarut etil asetat pada labu ukur 10 mL, lalu ditotolkan pada plat KLT silika gel. Kemudian plat KLT dielusikan dengan eluen n-heksana:etil asetat (8:2) hingga fase gerak mencapai 0,5 cm dari batas tepi atas plat [1], kemudian plat KLT disemprot dengan reagen FeCl_3 10% dan diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm. Jika noda pada plat berwarna hitam setelah disemprot FeCl_3 maka positif mengandung fenolik [14, 15]. Setelah itu dilakukan pengukuran pada plat untuk mengetahui nilai Rf-nya. Adapun rumus untuk menghitung nilai Rf yaitu [30]:

$$Rf = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{Jarak garis depan dari titik}}$$

Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etil Asetat *A. esculentus*

1. Pembuatan Larutan Induk Asam Galat

Asam galat ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a sampai tanda batas pada labu ukur 10 mL. Dengan demikian diperoleh konsentrasi 1000 ppm sebagai larutan induk asam galat [15].

2. Pembuatan Larutan Ekstrak

Ekstrak etil asetat *A. esculentus* ditimbang sebanyak 50 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, dan dilarutkan dengan metanol p.a sampai tanda batas. Didapatkan larutan induk ekstrak etil asetat *A. esculentus* 5000 ppm [16].

3. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

Sebanyak 0,5 mL larutan asam galat 50 ppm diambil, ditambahkan 5 mL reagen *Follin-Ciocalteu* (sebelumnya sudah diencerkan dengan akuades 1:10) diamkan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 4 mL Na_2CO_3 1M campur hingga homogen dan diamkan pada suhu kamar dalam kondisi gelap selama 30 menit. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600-800 nm [17, 18].

4. Penentuan Kurva Standar Asam Galat

Larutan induk 1000 ppm diambil sebanyak 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; dan 0,7 mL, masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas, didapatkan larutan baku standar 30, 40, 50, 60, dan 70 ppm. Kemudian diambil 0,5 mL dari masing-masing larutan standar, masukkan ke dalam vial lalu tambahkan 5 mL reagen *Follin-Ciocalteu* (sebelumnya sudah diencerkan dengan akuades 1:10) diamkan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 4 mL Na_2CO_3 1M campur hingga homogen dan diamkan pada suhu kamar dalam kondisi gelap selama 30 menit. Selanjutnya seri kadar diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang didapatkan [17, 18].

5. Penetapan Kadar Fenolik Total dalam Ekstrak Etil Asetat Buah Okra (*Abelmoschus esculentus L.*) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Larutan ekstrak 1000 ppm diambil sebanyak 0,5 mL lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu tambahkan 5 mL reagen *Follin-Ciocalteu* (sebelumnya sudah diencerkan dengan akuades 1:10) diamkan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 4 mL Na_2CO_3 1M campur hingga homogen dan diamkan pada suhu kamar dalam kondisi gelap selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum yang didapatkan [17].

6. Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan persamaan regresi linear menggunakan program *Microsoft Excel*. Kadar fenolik total didapat dengan cara memasukkan nilai absorbansi larutan uji ke dalam regresi linier $y = bx + a$ larutan standar asam galat, dimana y merupakan absorbansi larutan uji dan x konsentrasi total fenol yang terkandung di dalam ekstrak etil asetat *A. esculentus*. Kadar fenolik total ditunjukkan dengan mikrogram asam galat ekuivalen per miligram ($\mu\text{gGAE}/\text{mg}$) [19]. Kadar fenolik total menurut [20] dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar fenolik total} = \frac{C \times V}{M}$$

Keterangan:

C = Konsentrasi asam galat (nilai x)

V = Volume ekstrak yang digunakan (mL)

M = Berat sampel yang digunakan (mg)

Hasil dan Pembahasan

Simplisia Buah Okra (*Abelmoschus esculentus L.*)

Bagian tanaman *A. esculentus* yang digunakan pada penelitian adalah bagian buah. Sampel yang telah dikumpulkan terlebih dahulu disortasi basah yang bertujuan untuk menghilangkan serta membersihkan kotoran yang menempel,

kemudian buah dicuci dengan air yang mengalir, lalu dilakukan perajangan untuk mempercepat proses pengeringan. Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan sinar matahari langsung dari jam 08.00-11.00 yang ditutupi dengan kain hitam. Adapun fungsi dari kain hitam yang digunakan untuk mencegah simplisia terkena panas secara langsung. Tujuan utama pengeringan yaitu untuk mengurangi kadar air dari bahan sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan [21].

Setelah proses pengeringan selanjutnya simplisia disortasi kering yang bertujuan untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan atau pengotor-pengotor yang masih ada atau tertinggal pada simplisia kering [22]. Kemudian simplisia dihaluskan untuk memperluas kontak permukaan partikel simplisia sehingga semakin besar kontak dengan pelarut dan mempermudah penetrasi pelarut ke dalam sampel sehingga dapat menarik senyawa-senyawa dari simplisia lebih banyak [23]. Data rendemen simplisia *A. esculentus* dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Data rendemen simplisia *A. esculentus*

Bagian Tumbuhan	Bobot Buah (g)	Bobot Serbuk (g)	Rendemen (%)
Buah Okra	5.000	375	7,52 %

Ekstrak Etil Asetat *A. esculentus*

Ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah maserasi. Penggunaan pelarut etil asetat sebagai pelarut bertujuan untuk menarik senyawa yang bersifat semi polar seperti senyawa fenol dan flavonoid [24]. Hasil dari maserasi kemudian disaring menggunakan kertas saring dan diambil filtratnya. Kemudian filtrat dipisahkan dengan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C. Tujuan dari penggunaan alat tersebut untuk memisahkan senyawa dari pelarut yang digunakan. Sedangkan pemilihan suhu 50°C yaitu karena senyawa fenol memiliki sistem konjugasi yang dapat rusak pada suhu tinggi yang terlalu lama [25].

Ekstrak yang sudah diuapkan selanjutnya dipekatkan menggunakan waterbath pada suhu 50°C hingga didapatkan bobot tetap sebesar 6 gram dengan rendemen sebesar 2%. Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi hasil rendemen pada ekstrak adalah suhu, waktu, pengadukan, dan pelarut. Ukuran sampel juga dapat mempengaruhi hasil rendemen karena semakin kecil luas permukaan sampel akan semakin memperluas kontak dan meningkatkan interaksi dengan pelarut [26]. Tujuan perhitungan rendemen adalah untuk mengetahui banyaknya ekstrak yang diperoleh selama ekstraksi [27]. Data rendemen ekstrak etil asetat *A. esculentus* dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Data rendemen ekstrak etil asetat *A. esculentus*

Bahan	Berat Serbuk (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)
Buah Okra	300	6	2 %

Identifikasi Senyawa Fenol Ekstrak Etil Asetat Buah Okra (*Abelmoschus esculentus L.*) dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak etil asetat *A. esculentus* yang diperoleh kemudian dilakukan identifikasi senyawa fenol dengan uji KLT untuk

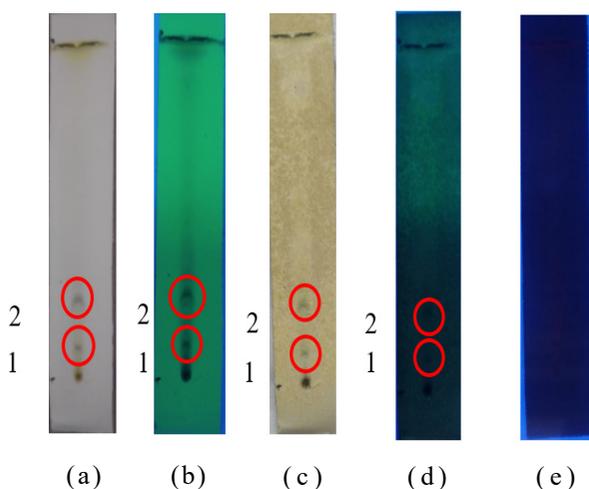
lebih menegaskan hasil yang didapat dari skrining fitokimia. Pada uji Kromatografi Lapis Tipis digunakan silika gel $G_{F_{254}}$ sebagai fase diam. Plat silika gel GF_{254} dibuat dengan ukuran panjang 8 cm dan lebar 1,5 cm diberi tanda batas atas 0,5 cm dan batas bawah 1 cm [28]. Sampel sebanyak 50 mg ditimbang lalu dilarutkan dengan 1 ml etil asetat.

Fase gerak yang digunakan berupa eluen hasil optimasi yaitu n-heksana:etil asetat (6:4). Eluen dijenuhkan terlebih dahulu dalam *chamber* dengan kertas saring. Eluen jenuh ditandai dengan terbasahnya kertas saring hingga ujung. Setelah itu sampel ditotolkan pada plat KLT aktif menggunakan pipa kapiler pada batas bawah yang telah dibuat, kemudian dibiarkan beberapa saat hingga totolan noda mengering. Lalu plat KLT dimasukkan ke dalam *chamber* tertutup yang berisi eluen yang sudah dijenuhkan. Eluen dibiarkan terelusi pada plat hingga mencapai batas atas plat yang sudah ditandai.

Plat KLT kemudian dikeluarkan dari *chamber* lalu ditunggu hingga mengering. Terdapat 2 noda dengan nilai Rf pada noda 1 0,23 dan noda 2 0,38. Adapun deteksi bercak yang digunakan yaitu sinar UV 254 dan 366 nm serta penyemprot noda $FeCl_3$. Pada paparan sinar UV 254 nm, lempeng akan berfluoresensi dan sampel akan tampak berwarna gelap, sedangkan pada sinar 366 nm noda yang akan berfluoresensi dan lempeng tampak berwarna gelap [29]. Data identifikasi kromatografi lapis tipis senyawa fenol ekstrak etil asetat *A. esculentus* dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Data Kromatografi Lapis Tipis

Noda ke	Rf	Visual	Hasil Pengamatan			
			UV 254 nm	Visual setelah disemprot $FeCl_3$	UV 254 nm setelah disemprot $FeCl_3$	UV 366 nm setelah disemprot $FeCl_3$
1	0,23	Hijau Tua	Hitam	Hijau	Hitam	-
2	0,38	Hijau Tua	Hitam	Hijau	Hitam	-



Gambar 1. Hasil identifikasi senyawa fenolik (a) Pengamatan secara visual (b) Pengamatan pada sinar UV 254 nm (c) Pengamatan secara visual setelah disemprot $FeCl_3$ (d) Pengamatan sinar UV 254 nm setelah disemprot $FeCl_3$ (e) Pengamatan sinar UV 366 nm setelah disemprot $FeCl_3$ pada ekstrak etil asetat buah *A. esculentus* menggunakan KLT

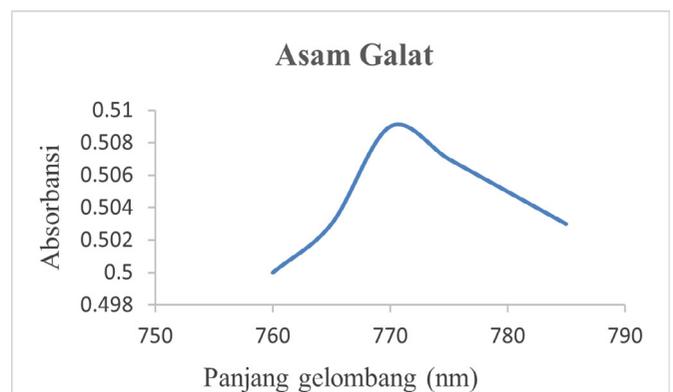
Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etil Asetat *A. esculentus*

Penentuan kadar fenolik total ekstrak etil asetat *A. esculentus* dilakukan menggunakan metode *Folin-Ciocalteu*. Prinsip dari metode ini adalah reduksi fosfomolibdat-fosfotungstat oleh inti aromatis senyawa fenolik sehingga terbentuk kompleks molibdenum tungsten yang berwarna biru yang dapat dideteksi dengan spektrofotometer [30]. Standar yang digunakan adalah asam galat, karena asam galat merupakan salah satu fenolik alami dan tergolong ke dalam senyawa fenolik yang sederhana [31].

Larutan asam galat direaksikan dengan reagen *Folin-Ciocalteu* yang menghasilkan larutan berwarna kuning kemudian ditambahkan dengan Na_2CO_3 . Reaksi antara reagen *Folin-Ciocalteu* dan senyawa fenolik hanya dapat terjadi pada suasana basa, sehingga diperlukan Na_2CO_3 untuk membuat lingkungannya menjadi basa. Suasana basa ini dapat mendisosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat [32].

Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat

Panjang gelombang asam galat dengan konsentrasi 50 ppm diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 600-800 nm dan didapatkan nilai panjang gelombang maksimum sebesar 770 nm. Dokumentasi hasil penelitian panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada **Gambar 2**.

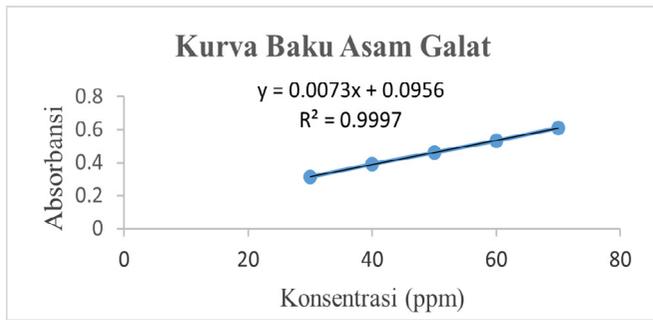


Gambar 2. Grafik panjang gelombang maksimum asam galat

Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum asam galat yang diperoleh yaitu sebesar 770 nm dengan nilai absorbansi 0,509. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan [33] menunjukkan panjang gelombang maksimum asam galat adalah 770 nm. Penetapan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui besar panjang gelombang yang dibutuhkan larutan asam galat untuk mencapai serapan maksimum [34].

Penentuan Kurva Baku Asam Galat

Penentuan kurva baku asam galat dilakukan dengan pembuatan larutan induk 1000 ppm kemudian dibuat larutan seri kadar 30, 40, 50, 60, dan 70 ppm. Berdasarkan hasil rata-rata absorbansi dari setiap konsentrasi dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Hasil kurva baku asam galat

Pengukuran kurva baku yang bertujuan untuk mengetahui persamaan regresi linier yang digunakan dalam penetapan kadar fenolik total pada sampel. Hasil pengukuran absorbansi larutan standar dengan seri konsentrasi kurva baku yaitu 30, 40, 50, 60, dan 70 ppm dengan waktu inkubasi 30 menit. Menurut penelitian [35], [36], [37], dan [38] yang menyatakan bahwa absorbansi stabil pada menit ke-30, maka pengukuran absorbansi dilakukan pada menit ke-30.

Persamaan regresi linier yang diperoleh dari kurva baku asam galat yaitu $y = 0,0073x + 0,0956$ dengan nilai koefisien korelasi r yaitu 0,9997. Nilai (r) koefisien korelasi yang diperoleh yaitu mendekati angka 1 yang menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier, sehingga dapat dikatakan bahwa absorbansi dan konsentrasi memiliki korelasi yang sangat kuat [39].

Kadar Fenolik Total Ekstrak Etil Asetat *A. esculentus*

Penetapan kadar fenolik total ekstrak etil asetat *A. esculentus* yang dibuat dengan konsentrasi 5000 ppm (50 mg/10 ml) dengan 3 kali replikasi. Hasil kadar fenolik total yang didapatkan dari ekstrak etil asetat *A. esculentus* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil kadar fenolik total ekstrak etil asetat *A. esculentus*

Sampel	Absorbansi Sampel	GAE (% b/b)	GAE (% b/b ± SD)
Ekstrak etil asetat buah okra 5000 ppm	0,425	9,02	11,16 ± 0,23
	0,592	13,60	
	0,492	10,86	

Tahap terakhir pada penetapan kadar fenolik total ekstrak etil asetat *A. esculentus* yaitu dengan membuat larutan sampel ekstrak konsentrasi 5000 ppm dan dilakukan 3 kali replikasi bertujuan untuk memperoleh data yang akurat. Nilai absorbansi berturut-turut yang didapatkan pada ekstrak etil asetat *A. esculentus* sebesar 0,425; 0,592; dan 0,492. Untuk menghitung kadar total fenolik, absorbansi sampel yang dibuat replikasi dihitung rata-ratanya. Kemudian hasil rata-rata sampel yang telah didapat dimasukkan ke dalam persamaan garis linier $y = 0,0073x + 0,0956$ sehingga diperoleh kadar total fenolik ekstrak etil *A. esculentus* sebesar 11,16 mg GAE/gram dengan standar deviasi (SD) sebesar 0,23. Pada umumnya, nilai keseksamaan dihitung menggunakan standar deviasi (simpangan baku). Standar deviasi (SD) digunakan untuk membandingkan ketepatan suatu hasil. Semakin kecil nilai SD dari serangkaian pengukuran, maka metode yang digunakan semakin tepat [40].

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa kadar fenolik total ekstrak etil asetat *A. esculentus* sebesar 11,16 mg GAE/gram.

Referensi

- [1] Amania HN. Pengaruh Ekstrak Flavonoid Daun Tembakau Kasturi Terhadap Kadar Inducible Nitric Oxide Synthase pada Human Peripheral Blood Mononuclear Cell yang Dipapar Lipopolisakarida Porphyromonas Gingivalis. Skripsi. 2018. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- [2] Khoddami A, Wilkes MS, Robberts T H. Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. Molecules. 2013;18(2):2328-75.
- [3] Manik AES, Melati M, Kurniawati A, Faridah DN. Hasil Dan Kualitas Okra (*Abelmoschus esculentus* L.Moench.) Merah dan Okra Hijau Dengan Jenis Pupuk yang Berbeda. Jurnal Agron Indonesia. 2019;47(1):68-75.
- [4] Prabhune A, Sharma M, Ojha B. *Abelmoschus Esculentus* (Okra) Potential Natural Compound for Prevention and Management of Diabetes and Diabetic Induced Hyperglycemia. International J of Herb Med. 2017;5(2):65-8.
- [5] Utami IK, Febrianti A, Tandil J. Uji Efektivitas Ekstrak Buah Okra Terhadap Gambaran Diinduksi Streptozotocin Diabetes Melitus Adalah Kelainan. Farmako J. 2021;18(1).
- [6] Ahiakpa JK, Quartey EK, Amoatey HM, Klu GYP, Achel DG, Achoribo E, Agbenyegah S. Total flavonoid, phenolic contents and antioxidant scavenging activity in 25 accessions of okra (*Abelmoschus spp L.*). African J of Food Sci and Tech. 2013;4(5):129-35.
- [7] Syam AK, Riyanti S, Armypa UW. Penetapan Kadar Flavonoid dan Polifenol Buah Okra Merah dan Okra Hijau (*Abelmoschus esculentus* (L) Moench). 2019. Fakultas Farmasi Unjani.
- [8] Putri WS, Warditiani NK, Laeasanty LPF. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). J Farm Udayana. 2013;2(4).
- [9] Indrasuari AAA, Wjayanti NP AD, Dewantara IGNA. Standarisasi Mutu Simplisia Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). J Farm Udayana. 2014;3(1).
- [10] Kementerian Kesehatan RI. Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. 2017. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- [11] Tandil J, Niswathulfitriyati, Nurmadinah, Handayani TW. Uji Ekstrak Etanol Daun Kemangi Terhadap Kadar Glukosa Darah, dan Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus yang Diinduksi Streptozotocin. J Man Pharm Indo. 2019;5(2).
- [12] Aisyah LS, Jasmansyah, Sari P, Temi R. Isolasi dan Uji Aktivitas Snatibakteri Senyawa Fenol Ekstrak Etil Asetat Rimpang Jahe Merah (*Zinger officinale* Roscoe var. sunti). J Kartika Kim. 2019;2(1):44-50.
- [13] Yuda, Putu EKS, Erna C. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tanaman Patikan Kebo (*Euphobia hirta* L.). J Ilm Medu. 2017;5(2).
- [14] Marlina LA, Naimah, Roni. Penetapan Kadar Fenolat Total dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun, Kulit Batang Dan Kulit Buah Kasturi (*Mangifera casturi*). Proceed of

- Mulawarman Pharm Conf. 2016;3(1): 275-81.
- [15] Shofa SA. Skrining Fitokimia Dan Identifikasi Metabolit Sekunder Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Pada Nanopartikel Kitosan Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum* Linn.), Jeringau (*Acorus calamus* L.), Temu Mannga (*Curcuma mangga* Val.), dan Kombinasinya. Skripsi. 2020. Fakultas Sains dan Teknologi: Univeristas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- [16] Anna KS, Noverda A. Penetapan Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Ekstrak Beras Hitam (*Oryza sativa* L.) dari Kalimantan Selatan. *J Ilm Ibn Sina*. 2017;2:327-35
- [17] Ulya R. Penetapan Kadar Total Fenolik dan Flavonoid Fraksi Etil Asetat dari Ekstrak Metanol Daun Binjau (*Mangifera Caesia* jack. Ex. Wall) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Skripsi. 2020. Program Studi S1 Farmasi: STIKES Borneo Lestari.
- [18] Ramadhan H, Forestryana D. 2021. The Effect of Different Extraction Methods On the Total Phenolic Content and Antioxidant Activity in Galam Sawdust (*Melaleuca leucadendron* Linn). *Trop J of Natur Prod Res*. 2021;5(5): 805-8.
- [19] Ready AK. Kandungan Fenolik dan Flavonoid Total serta Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Durian (*Toona sinensis*). Skripsi. 2016. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam: Institut Pertanian Bogor
- [20] Salmia. Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Kulit Batang Kedondong Bangkok (*Spondias Dulcis*) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. Skripsi. 2016. Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan: Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- [21] Ayu DF, Yamin M, Hamzah F. 2017. Lama Pengeringan Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Mutu Teh Herbal Daun Ketepang Cina (*Cassia alata* L.) *Jom Faperta*. 2017;4(2):9-12.
- [22] Melinda. Aktivitas Antibakteri Daun Pacar (*Lowsonia inermis* L), Skripsi. 2014. Universitas Muhammadiyah Surakarta: Surakarta.
- [23] Husni E, Suharti N, Atma APT. Karakterisasi simplisia dan ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn) serta penentuan kadar fenolat total dan uji aktivitas antioksidan. *J Sains Farm & Klin*. 2018;5(1):12-6.
- [24] Mahardika RG, Roanisca O, Sari FIP. Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Daun Pelawan (*Tristanopsis merguensis* Griff.). *J Sains dan Edu Sains*. 2020;3(1):8-14.
- [25] Ningsih N, Yasni S, Yuliani S. Sintesis nanopartikel ekstrak kulit manggis merah dan kajian sifat fungsional produk enkapsulasinya. *J Tekno dan Indus Pangan*. 2017;28(1):27-35.
- [26] Febriana N, Prasetya F, Ibrahim A. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Bungur (*Langerstroemia speciosa* (L.) Pers). *J Sains Kes*. 2015;1(2):45-50.
- [27] Hasnaeni H, Wisdawati W. Pengaruh metode ekstraksi terhadap rendemen dan kadar fenolik ekstrak tanaman Kayu Beta-beta (*Lunasia amara* Blanco). *J Farma Galenika*. 2019;5(2):175-82.
- [28] Dewi NLA, Adnyani LPS, Pratama RBR, Yanti NND, Manibuy JI, Warditiani NK. Pemisahan, Isolasi, dan Identifikasi Senyawa Saponin dari Herba Pegagan (*Centella asiatica* L. Urban). *Jurnal Farmasi Udayana*. 2018;7(2):68-76.
- [29] Ih H, Fajriaty I, Rahmawani SP, Abdurrachman. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis dari Ekstrak Etanol Herba Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn.). *Sem Nas Pend MIPA dan Tekno IKIP PGRI Pontianak*. 2017:403-14.
- [30] Senet MRM, Raharja IGMAP, Darma IKT, Prastakarini KT, Dewi NMA, Parwata IMO. Penentuan kandungan total flavonoid dan total fenol dari akar kersen (*Muntingia calabura*) serta aktivitasnya sebagai antioksidan. *J Kim*. 2018;12(1):13-8.
- [31] Ahmad AR, Juwita J, Ratulangi SAD. Penetapan kadar fenolik dan flavonoid total ekstrak metanol buah dan daun patikala (*Etlingera elatior* (Jack) RM SM). *Pharma Sci and Res*, 2015;2(1).
- [32] Dewantara LAR, Ananto AD, Andayani Y. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Kacang Panjang (*Vigna unguiculata*) dengan Metode Spektrofotometri UV-Visible. *Lambung Farmasi: J Ilm Kefarma*. 2021;2(1): 13-9.
- [33] Rawar EA, Atmaja SP, Kurniawati AY. Penetapan Kadar Flavonoid Total, Fenolik Total, Dan Alkaloid Total Dalam Ekstrak Etanol Herba Akar Wangi (*Vetiveria zizanoides* L.). *Duta Pharma J*. 2022;2(1).
- [34] Supriningrum R, Nurhasnawati H, Faisah S. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Serunai (*Chromolaena odorata* L.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Al-Ulum: J Sains dan Tekno*. 2020;5(2):54-7.
- [35] Kambey B, Sudewi S, Jayanto I. Analisis Korelasi Antara Kandungan Fenol Total Dengan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi *Abelmoschus Manihot* L. Terhadap *Escherichia coli*. *Pharmacon*. 2019;8(2):472-9.
- [36] Dona R, Furi M, Suryani F. Penentuan Kadar Total Fenolik, Total Flavonoid Dan Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Dan Fraksi daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk). *J Pen Farma Indonesia*. 2020;9(2):71-8.
- [37] Paramita NLPV, Andari NPTW, Andani NMD, Susanti NMP. Penetapan kadar fenol total dan katekin daun teh hitam dan ekstrak aseton teh hitam dari tanaman *Camellia sinensis* var. *Assamica*. *Jurnal Kimia*. 2020;14(1):43-50.
- [38] Wismayani L, Roni A, Minarsih T. Penentuan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Daun Renggak (*Amomum dealbatum* Roxb.) dari Berbagai Pelarut Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Indo J of Pharm and Nat Prod*. 2022;5(2):142-51.
- [39] Asmorowati H, Lindawati NY. Penetapan kadar flavonoid total buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) dengan metode spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmiah Farmas*. 2019;15(2):51-63.
- [40] Trinovita Y, Mundriyastutik Y, Fanani Z, Fitriyani AN. Evaluasi Kadar Flavonoid Total Pada Ekstrak Etanol Daun Sangketan (*Achyranthes Aspera*) Dengan Spektrofotometri. *Indonesia Jurnal Farmasi*. 2019;4(1):12-8.