

Standardisasi Mutu Ekstrak Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) Dan Uji Efek Antioksidan dengan Metode DPPH

Quality Standardisation of Gedi (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) Leaf Extract and Test of Antioxidant Effect with DPPH Method

A. Tenriugi Daeng Pine, Gemini Alam dan Faisal Attamim

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan standardisasi mutu ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) dan untuk mengetahui efek antioksidan dari ekstrak daun gedi. Sampel yang diperoleh dari daerah Makassar, Palu, dan Gorontalo diinfundasi dan dimaserasi dengan etanol 70% dan 96%, kemudian diuji mutunya secara spesifik dan nonspesifik. Sebagai antioksidan, diuji pula efektivitasnya dengan menggunakan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) terstandardisasi adalah ekstrak etanol 96% dengan nilai parameter spesifik dan nonspesifik sebagai berikut: ekstrak berbentuk kental, berwarna kecoklatan, berbau khas, dan terasa sepat; kadar senyawa yang terlarut dalam air yakni $7,38 \pm 0,22 - 8,91 \pm 0,21$ %^b/_b; kadar senyawa yang terlarut dalam etanol yakni $21,12 \pm 0,16 - 29,44 \pm 0,2$ %^b/_b; kadar air maksimum yakni $8,25 \pm 2,51$ %^b/_b; kadar abu total maksimum yakni $22,00 \pm 1,46$ %^b/_b; kadar abu tidak larut asam maksimum yakni $0,50 \pm 0,12$ %^b/_b; total cemaran bakteri maksimum yakni $6,7 \cdot 10^5$ koloni/g; total cemaran kapang maksimum yakni $6,7 \cdot 10^2$ koloni/g; cemaran logam timbal (Pb) maksimum yakni $0,008 \pm 0,003$ mg/g; dan kadar flavonoid total minimum yakni $23,63 \pm 0,06$ mg/g ekstrak. Ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) memiliki efektivitas antioksidan yakni $1,496 - 0,575$ mg/ml dan ekstrak yang berasal dari Palu memiliki efektivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC₅₀ sebesar $0,575$ mg/ml atau 575 ppm.

Kata kunci: Ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik), standardisasi mutu, antioksidan, metode DPPH

ABSTRACT

The objectives of the study are to determine the standardisation of the quality of Gedi (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) leaf extract and to study the antioxidant effect of Gedi (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) leaf extract. The sample was obtained from Makassar, Palu, and Gorontalo were infundated and macerated with ethanol 70% and 96%. Then, their quality was specifically and non-specifically tested. The antioxidant effect were examined by means of DPPH method. The study reveals the standardized extract of Gedi leaf (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) is the extract with 96% ethanol. It has the following specific and non-specific parameter values: a thick extract, brownish in colour, distinctive smell, and sour taste; the compound contents dissolved in water that is 7.38 ± 0.22 to 8.91 ± 0.21 %^w/_w; the concentration of substances dissolved in ethanol is 21.12 ± 0.16 to 29.44 ± 0.62 %^w/_w; the highest of moisture 8.25 ± 2.51 %^w/_w; the total ash content 22.00 ± 1.46 %^w/_w; ash content acid insoluble 0.50 ± 0.12 %^w/_w; the highest of total bacteria contamination $6,7 \cdot 10^5$ colonies/g; total mold contamination $6,7 \cdot 10^2$ colonies/g; the highest of lead contaminant (Pb) 0.008 ± 0.003 mg/g; and a minimum of total flavonoid content is 23.63 ± 0.06 mg/g extract. The Gedi leaf (*Abelmoschus manihot* L.) Medik extract has the effectiveness of antioxidant is $1,496 - 0,575$ mg/ml and the extract from Palu has the highest level of effectiveness of antioxidant with an IC₅₀ of $0,575$ mg/ml or 575 ppm.

Keywords: Gedi's leaf extract (*Abelmoschus manihot* L.) Medik, standardization quality, antioxidant, DPPH method

PENDAHULUAN

Standardisasi ekstrak tumbuhan obat di Indonesia merupakan salah satu tahapan penting dalam pengembangan obat asli Indonesia. Ekstrak tumbuhan obat dapat berupa bahan awal, bahan antara, atau bahan produk jadi. Ekstrak sebagai bahan awal dianalogikan dengan komoditi bahan baku obat yang dengan teknologi fitofarmasi diproses menjadi produk jadi. Ekstrak sebagai bahan antara merupakan bahan yang dapat diproses lagi menjadi fraksi-fraksi, isolat senyawa tunggal ataupun tetap sebagai campuran dengan ekstrak lain. Adapun jika sebagai produk jadi berarti ekstrak yang berada dalam sediaan obat jadi siap digunakan, baik dalam bentuk kapsul, tablet, pil, maupun dalam bentuk sediaan topikal.

Berbagai penelitian dan pengembangan yang memanfaatkan kemajuan teknologi dilakukan sebagai upaya peningkatan mutu dan keamanan produk yang diharapkan dapat lebih meningkatkan kepercayaan terhadap manfaat obat yang berasal dari bahan alam. Salah satu penelitian yang telah dilakukan adalah pembuatan ekstrak tumbuhan berkhasiat obat yang dilanjutkan dengan standardisasi kandungannya untuk memelihara keseragaman mutu, keamanan, dan khasiatnya.

Tanaman gedi (*Abelmoschus manihot*), suku Malvaceae, merupakan tumbuhan tahunan yang berbatang tegak dengan tinggi sekitar 1,2 – 1,8 m. Kandungan mucilago dari tanaman tersebut terdiri atas polisakarida dan protein. Tanaman ini mengandung quercetin-3-o-robinobiosid, hyperin, isoquercetin, gossipetin-8-o-glukuronid, dan myricetin (Liu *et al.*, 2006). Bunganya mengandung quercetin-3-robinoside, quercetin-3'-glikosida, hyperin, myrecetin, antosianin, dan hyperoside. Hyperoside memiliki kemampuan antivirus, antinosiseptif, antiinflamasi, kardioprotektif, hepatoprotektif, dan efek protektif terhadap gastrimukosal (lapisan membran mukus pada lambung). Daun gedi juga telah diuji dapat mencegah

ovariectomy-induced femoral osteopenia (kondisi densitas mineral tulang yang lebih rendah dari batas normal pada bagian sendi tungkai akibat operasi pengangkatan rahim/ovarium) (Lin-lin *et al.*, 2007; Jain *et al.*, 2009). Tanaman gedi juga dapat meningkatkan fungsi penyaringan glomerular, mengurangi proteinuria, hiperplasia mesangium yang dapat mengurangi kerusakan jaringan ginjal (Shao-Yu *et al.*, 2006).

Senyawa flavonoid mempunyai berbagai fungsi penting untuk kesehatan, antara lain dalam menurunkan risiko serangan penyakit kardiovaskuler, tekanan darah, aterosklerosis, dan sebagai antioksidan (Hodgson *et al.*, 2006).

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam terbesar yang terdapat dalam semua tumbuhan berpembuluh. Berdasarkan strukturnya, flavonoid adalah turunan senyawa induk flavon yang mempunyai sejumlah sifat yang sama.

Aglikon flavonoid terdapat pada tumbuhan dengan bentuk struktur yang berbeda-beda. Setiap struktur mengandung atom karbon dalam inti dasar yang tersusun dalam bentuk konfigurasi C₆-C₃-C₆, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Semua varian flavonoid saling berkaitan karena alur biosintesis yang sama dari alur sikimat dan alur asetat-malonat. Flavonoid dalam tumbuhan umumnya terikat sebagai glikosida, baik O-glikosida maupun C-glikosida (Markham, 1988; Harborne, 1987).

Flavonoid pada sayuran merupakan metabolit sekunder yang dimanfaatkan untuk kesehatan dan bahan pengkkelat yang menjadi penyumbang utama terhadap kapasitas fungsinya sebagai antioksidan. Selain berfungsi sebagai antioksidan, flavonoid juga dapat memodulasi jalur sinyal sel dan efeknya dapat ditandai pada fungsi sel dengan mengubah protein dan fosforilasi lemak dan modulasi ekspresi gen (Číž *et al.*, 2010).

Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai standarisasi mutu ekstrak tanaman gedi (*Abelmoschus manihot* L.) Medik agar diperoleh keseragaman mutu, keamanan, dan khasiatnya sebagai antioksidan.

1. METODE PENELITIAN

2.1. Pembuatan Ekstrak

Daun gedi diambil pada pagi hari yaitu daun yang kelima dari pucuk hingga ke bawah yang masih hijau, dipetik secara langsung dengan tangan. Daun yang telah dikumpulkan dari ketiga daerah, yakni daerah Makassar, Palu, dan Gorontalo masing-masing disortasi basah atau dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan. Daun yang telah kering disortasi kering dan diserbukkan. Serbuk daun gedi diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dan infundasi. Mula-mula 800 g serbuk daun gedi dimaserasi dengan pelarut etanol 70% dan 96% selama 3x24 jam pada wadah kaca yang berbeda hingga 1-3 cm di atas serbuk. Filtrat dikumpulkan lalu diuapkan dengan rotavapor hingga diperoleh ekstrak kental etanol 70% dan 96%. Selain itu, dibuat infusa dari daun gedi dengan menimbang sebanyak 500 gram serbuk daun gedi, kemudian dibasahkan dengan 5000 ml air suling di dalam panci. Pemanasan dilakukan pada suhu 90°C selama 15 menit sambil sesekali diaduk. Infus disekai sewaktu masih panas melalui kain flannel dan untuk mencukupi volumenya, ditambahkan air mendidih melalui ampasnya. Kemudian dikeringkan secara freeze drying.

2.2. Penentuan parameter-parameter standarisasi

Parameter spesifik

1. Penetapan organoleptik ekstrak meliputi bentuk, warna, rasa, dan bau.
2. Penetapan kadar senyawa terlarut dalam pelarut tertentu.
 - a. Kadar senyawa yang larut dalam air
Sejumlah 2,5 g ekstrak dimaserasi selama 24 jam dengan 50 ml

air-kloroform LP, menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam, kemudian disaring. Diuapkan 10 ml filtrat hingga kering dalam cawan penguap, residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Dihitung kadar dalam persen senyawa yang larut dalam air terhadap berat ekstrak awal. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali.

- b. Kadar senyawa yang larut dalam etanol
Sejumlah 2,5 g ekstrak dimaserasi selama 24 jam dengan 50 ml etanol 95% menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Disaring cepat dengan menghindari penguapan etanol, kemudian diuapkan 10 ml filtrat hingga kering dalam cawan penguap yang telah ditera, residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Dihitung kadar dalam persen senyawa yang larut dalam etanol terhadap berat ekstrak awal. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali.

3. Analisis kandungan flavonoid total

Metode Kolorimetri Aluminium Klorida

a. Proses Hidrolisis

Ekstrak 200 mg simplisia ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu alas bulat. Ditambahkan sistem hidrolisis: 1 ml larutan 0,5% ^{b/v} heksametilenetramina, 20 ml aseton, dan 2 ml larutan 25% HCl dalam air. Dilakukan hidrolisis dengan pemanasan sampai mendidih (digunakan pendingin air untuk refluks) selama 30 menit. Campuran hasil hidrolisis disaring menggunakan kapas ke dalam labu ukur 100 ml. residu hidrolisis ditambah 20 ml aseton untuk dididihkan kembali sebentar, dilakukan dua kali dan filtrat dikumpulkan semua ke dalam labu ukur. Setelah labu ukur dingin, maka volume ditingkatkan sampai tepat 100,0 ml dan dikocok rata. 20 ml filtrat hidrolisa dimasukkan ke corong pisah dan ditambahkan 20 ml H₂O. Selanjutnya dilakukan

ekstraksi kocok, pertama dengan 1ml etilasetat. Kemudian dua kali dengan 10 ml etilasetat, dan dikumpulkan fraksi etilasetat ke dalam labu ukur 50 ml, akhirnya ditambahkan etilasetat sampai tepat 50 ml. dilakukan replikasi 3 – 4 kali.

- b. Pembuatan larutan baku flavonoid Rutin yang telah dihidrolisis ditimbang teliti sejumlah 5 mg, kemudian dilarutkan dengan alkohol 96% pada labu ukur hingga 100 ml sehingga diperoleh konsentrasi 20 ppm. Larutan tersebut dipipet sebanyak 1; 2; 3; 4; dan 5 ml ke dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan 1 ml larutan 2 g AlCl_3 dalam 100 ml larutan asam asetat glasial 5% v/v . Larutan dicukupkan volumenya dengan larutan asam asetat glasial 5% v/v hingga 10 ml sehingga diperoleh 5 konsentrasi, yakni 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm.
- c. Penentuan λ maksimum Salah satu konsentrasi larutan baku diukur serapannya pada λ 200 – 500 nm. λ yang menunjukkan serapan tertinggi merupakan λ maksimum.
- d. Pengukuran serapan flavonoid total Sejumlah 10 ml larutan fraksi etilasetat (hidrolisa) dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml kemudian ditambahkan 1 ml larutan 2 g AlCl_3 dalam 100 ml larutan asam asetat glasial 5% v/v . Larutan ini kemudian ditambahkan larutan asam asetat glasial 5% v/v sampai tepat 25 ml. Hasil reaksi siap diukur pada spektrometer UV-VIS setelah 30 menit berikutnya pada λ maksimum yang diperoleh.

Parameter nonspesifik

1. Parameter kadar air

Sejumlah 1 g ekstrak ditimbang dalam krus porselen bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 90 menit dan telah ditera. Ratakan dengan menggoyangkan hingga

merupakan lapisan setebal 10 – 15 mm dan dikeringkan pada suhu penetapan hingga bobot tetap, buka tutupnya, biarkan krus dalam keadaan tertutup dan mendingin dalam desikator hingga suhu kamar, kemudian dicatat bobot tetap yang diperoleh untuk menghitung persentase susut pengeringannya. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali.

2. Parameter kadar abu

Sejumlah 2 gram ekstrak ditimbang dengan seksama ke dalam krus yang telah ditera, dipijarkan perlahan-lahan. Kemudian suhu dinaikkan secara bertahap hingga $600 \pm 25^\circ\text{C}$ sampai bebas karbon, Selanjutnya, didinginkan dalam desikator, serta ditimbang berat abu. Kadar abu dihitung dalam persen berat sampel awal. Dilakukan sebanyak tiga kali replikasi.

Kadar abu yang tidak larut dalam asam

Abu yang diperoleh dari penetapan kadar abu, kemudian dididihkan dengan 25 ml asam klorida encer P selama 5 menit. Bagian yang tidak larut asam dikumpulkan, disaring melalui kertas saring bebas abu, dicuci dengan air panas, disaring dan ditimbang, ditentukan kadar abu yang tidak larut asam dalam persen terhadap berat sampel awal. Dilakukan replikasi sebanyak tiga kali.

3. Penentuan total bakteri dan total kapang

a. Penentuan total bakteri

Sejumlah 1 ml ekstrak dari pengenceran 10^{-4} dipipet dengan pipet steril, kemudian ditanamkan dalam medium NA, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian diamati dan dihitung jumlah koloni yang tumbuh dan dikalikan dengan faktor pengenceran. Dilakukan replikasi sebanyak tiga kali.

b. Penentuan total kapang

Sejumlah 1 ml ekstrak dari pengenceran 10^{-1} dipipet dengan pipet steril, kemudian ditanam dalam medium PDA, lalu diinkubasi pada suhu 25°C selama tiga hari. Kemudian diamati dan dihitung jumlah koloni yang tumbuh dan dikalikan dengan faktor pengenceran. Dilakukan replikasi sebanyak tiga kali.

4. Penentuan batas logam timbal (Pb)

Penentuan batas logam Pb di dalam ekstrak dilakukan secara destruksi basah ekstrak dengan asam nitrat dan hidrogen peroksida, kadar Pb ditentukan dengan spektrofotometri serapan atom.

2.3. Penentuan aktivitas antioksidan dari ekstrak

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH.

a. Pembuatan larutan DPPH 0,4 mM

Larutan DPPH 0,4 mM dibuat dengan cara ditimbang, DPPH sebanyak 0,0157 g dilarutkan dengan 100 ml etanol absolut dalam labu tentukur.

b. Pengukuran Sampel

Sebanyak 100 ml larutan contoh dari berbagai konsentrasi masing-masing ditambahkan 1,0 ml DPPH 0,4 mM dan dicukupkan volumenya sampai 5,0 ml dengan etanol absolut. Campuran selanjutnya divorteks (diaduk sampai homogen) dan dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar. Serapannya diukur pada panjang gelombang 518 nm.

Besarnya daya antioksidan diukur dengan rumus:

$$\% \text{ pengikatan radikal bebas} = \frac{(\text{Absorban blangko} - \text{absorban sampel})}{\text{Absorban blangko}} \times 100\%$$

Absorban blangko

Nilai IC₅₀ (50% inhibitory concentration) ditentukan dengan analisis

2. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Tabel 1. Rendamen Ekstrak Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik)

Hasil Penyarian	Rendamen (g)	Persentase (%)
Gorontalo :		
Infus	47,25	9,45
Ekstrak Etanol 70%	68,16	8,52
Ekstrak Etanol 96%	66,56	8,32
Palu :		
Infus	47,50	9,50
Ekstrak Etanol 70%	66,48	8,31
Ekstrak Etanol 96%	64,88	8,11
Makassar :		
Infus	47,35	9,47
Ekstrak Etanol 70%	67,60	8,45
Ekstrak Etanol 96%	66,16	8,27

Tabel 2. Data Organoleptik Ekstrak Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik)

Parameter	Hasil penyarian	Daerah Pengambilan Sampel		
		Gorontalo	Palu	Makassar
Organoleptis:				
1. Bentuk	Infus Ekstrak Etanol 70% Ekstrak Etanol 96%	Serbuk Kental Kental	Serbuk Kental Kental	Serbuk Kental Kental
2. Warna	Infus Ekstrak Etanol 70% Ekstrak Etanol 96%	Coklat muda Hijau agak kehitaman Hijau kecoklatan	Coklat muda Hijau agak kehitaman Kecoklatan	Coklat muda Hijau agak kehitaman Hijau kecoklatan
3. Bau	Infus Ekstrak Etanol 70% Ekstrak Etanol 96%	Khas Khas Khas	Khas Khas Karamel	Khas Khas Khas
4. Rasa	Infus Ekstrak Etanol 70% Ekstrak Etanol 96%	Sepat Sepat Sepat	Sepat Sepat Agak sepat	Sepat Sepat Sepat

Tabel 3. Hasil Standardisasi Ekstrak Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik)

Parameter	Hasil penyarian	Daerah Pengambilan Sampel			Rentang rata-rata	Syarat Mutu
		Gorontalo	Palu	Makassar		
Kadar senyawa terlarut dalam: 1. Air (% ^b / _b) 2. Etanol (% ^b / _b)	Infus	12,18 ± 0,58	11,32 ± 0,21	14,66 ± 2,15	11,32±0,21 – 14,66±2,15	
	Ekstrak Etanol 70%	7,47 ± 1,43	6,33 ± 2,25	9,74 ± 0,37	6,33±2,25 – 9,74±0,37	
	Ekstrak Etanol 96%	8,25 ± 1,12	8,91 ± 0,21	7,38 ± 0,22	7,38±0,22 – 8,91±0,21	
	Infus	0,36 ± 0,07	0,45 ± 0,04	0,32 ± 0,07	0,32±0,07 – 0,45±0,04	
	Ekstrak Etanol 70%	11,96 ± 0,15	20,02 ± 1,52	13,72 ± 1,87	11,96±0,15 – 20,02±1,52	
	Ekstrak Etanol 96%	21,12 ± 0,16	29,44 ± 0,62	21,45 ± 0,46	21,12±0,16 – 29,44±0,62	
Kadar air (% ^b / _b)	Infus	4,99 ± 0,44	6,71 ± 0,06	5,23 ± 1,33	4,99 ± 0,44 – 6,71 ± 0,06	< 10,00
	Ekstrak Etanol 70%	5,44 ± 1,49	7,38 ± 1,48	6,95 ± 0,16	5,44 ± 1,49 – 7,38 ± 1,48	
	Ekstrak Etanol 96%	7,33 ± 2,12	8,25 ± 2,51	7,27 ± 1,70	7,27 ± 1,70 – 8,25 ± 2,51	
Kadar abu total (% ^b / _b)	Infus	36,44 ± 5,16	31,10 ± 1,82	44,26 ± 4,94	31,10 ± 1,82 – 44,26 ± 4,94	
	Ekstrak Etanol 70%	29,42 ± 0,42	20,78 ± 3,37	27,41 ± 0,44	20,78 ± 3,37 – 29,42 ± 0,42	
	Ekstrak Etanol 96%	22,00 ± 1,46	11,55 ± 1,73	13,24 ± 0,67	11,55 ± 1,73 – 22,00 ± 1,46	
Kadar abu tidak larut asam (% ^b / _b)	Infus	1,11 ± 0,01	1,20 ± 0,14	1,39 ± 0,11	1,11 ± 0,01 – 1,39 ± 0,11	
	Ekstrak Etanol 70%	0,93 ± 0,19	0,73 ± 0,07	0,78 ± 0,04	0,73 ± 0,07 – 0,93 ± 0,19	
	Ekstrak Etanol 96%	0,50 ± 0,12	0,21 ± 0,15	0,33 ± 0,02	0,21 ± 0,15 – 0,50 ± 0,12	
Total cemaran bakteri (koloni/g)	Infus	6,0.10 ⁵	2,9.10 ⁵	6,0.10 ⁵	2,9.10 ⁵ – 6,0.10 ⁵	< 1,0.10 ⁶
	Ekstrak Etanol 70%	7,1.10 ⁵	1,3.10 ⁶	6,0.10 ⁶	7,1.10 ⁵ – 6,0.10 ⁶	
	Ekstrak Etanol 96%	6,7.10 ⁵	6,3.10 ⁵	0	0 – 6,7.10 ⁵	
Total cemaran kapang (koloni/g)	Infus	1,9.10 ³	5,9.10 ³	4,8.10 ³	1,9.10 ³ – 5,9.10 ³	< 1,0.10 ⁴
	Ekstrak Etanol 70%	3,0.10 ³	1,7.10 ³	1,0.10 ³	1,0.10 ³ – 3,0.10 ³	
	Ekstrak Etanol 96%	0	6,7.10 ²	3,3.10 ²	0 – 6,7.10 ²	
Uji cemaran logam timbal (Pb) (mg/g)	Infus	0,005±0,002	0,004±0,001	0,003±0,002	0,003±0,002 – 0,005±0,002	< 0,010
	Ekstrak Etanol 70%	0,004±0,001	0,007±0,002	0,007±0,003	0,004±0,001 – 0,007±0,003	
	Ekstrak Etanol 96%	0,007±0,003	0,007±0,002	0,008±0,003	0,007±0,002 – 0,008±0,003	
Kadar flavonoid total dalam ekstrak (mg/g)	Infus	0,04±0,00	0,04±0,00	0,05±0,00	0,04±0,00 – 0,05±0,00	
	Ekstrak Etanol 70%	2,07±0,02	3,75±0,03	3,66±0,01	2,07±0,02 – 3,75±0,03	
	Ekstrak Etanol 96%	23,63±0,06	41,56±0,12	27,74±0,03	23,63±0,06 – 41,56±0,12	

Tabel 4. Aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Daerah	Ekstrak	Konsentrasi (mg/ml)	% pengikatan radikal bebas	Persamaan garis linear	IC ₅₀ (mg/ml)
Gorontalo	Etanol 96%	1 2,5 5 7,5 10	50,46 52,04 56,05 61,13 64,86	r= 0,939 y= 4,953 + 0,369x	1,340
Palu	Etanol 96%	1 2,5 5 7,5 10	59,02 63,21 70,81 76,33 81,71	r= 0,954 y= 5,156+0,649x	0,575
Makassar	Etanol 96%	1 2,5 5 7,5 10	50,03 50,08 52,34 52,83 55,10	r= 0,889 y= 4,979+0,120x	1,496
Vitamin C		0,01 0,1 0,5 1 5	43,48 69,71 88,18 95,70 98,26	r= 0,990 y= 6,503 + 0,867x	0,018

B. Pembahasan Ekstraksi

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun gedi (*Abelmoschus manihot* L. Medik) yang diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dan infudasi. Metode maserasi dipilih sebagai metode dalam mengekstraksi karena adanya sifat daun yang lunak dan mudah mengembang dalam cairan pengekstraksi. Selain itu, maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana karena cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif ini akan larut dan adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam dengan di luar sel menyebabkan larutan yang terpekat keluar hingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dengan di luar sel. Cairan penyari yang digunakan dalam proses maserasi ini adalah etanol 70% dan 96%. Etanol dipertimbangkan sebagai cairan penyari karena:

1. lebih selektif,
2. kapang sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas,
3. tidak beracun,
4. netral,
5. absorbsinya baik,
6. etanol dapat bercampur dengan air dalam segala perbandingan,
7. memerlukan panas yang lebih sedikit untuk proses pemekatan, dan
8. zat pengganggu yang larut terbatas.

Pelarut etanol dipilih sebagai cairan penyari karena senyawa yang akan diekstraksi adalah senyawa fenolik. Ekstraksi senyawa fenolik dari jaringan tumbuhan dalam bentuk glikosida menggunakan pelarut metanol atau etanol pada suhu kamar dengan cara maserasi (Andersen, 2006; Markham, 1988).

Infudasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Cara ini sangat sederhana dan sering digunakan oleh perusahaan obat tradisional. Cairan penyari yang

digunakan dalam metode infudasi ini adalah air. Air dipertimbangkan sebagai penyari karena:

1. murah dan mudah diperoleh,
2. stabil,
3. tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar,
4. tidak beracun, dan
5. alamiah.

Parameter Organoleptik

Standardisasi merupakan proses penjaminan produk akhir (obat, ekstrak, atau produk ekstrak) agar mempunyai nilai parameter tertentu yang konstan dan ditetapkan terlebih dahulu. Untuk menjamin mutu dari ekstrak tanaman obat, perlu dilakukan penetapan standar mutu spesifik dan non spesifik agar nantinya ekstrak terstandar dapat digunakan sebagai obat yang mengandung kadar senyawa aktif yang konstan dan dapat dipertanggungjawabkan.

Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh data sebagai berikut: infus daun gedi yang telah dikeringkan dan berasal dari daerah Gorontalo, Palu, dan Makassar adalah berbentuk serbuk agak higroskopis, berwarna coklat, berbau khas, dan berasa sepat; ekstrak etanol 70% daun gedi dari daerah Gorontalo, Palu, dan Makassar adalah berbentuk kental, berwarna hijau agak kehitaman, berbau khas, dan berasa sepat; ekstrak etanol 96% daun gedi dari daerah Gorontalo dan Makassar adalah berbentuk kental, berwarna hijau agak kecoklatan, berbau khas, dan berasa agak sepat, sedangkan yang berasal dari daerah Palu berbentuk kental, berwarna kecoklatan, berbau karamel, dan berasa agak sepat.

Parameter organoleptik ekstrak bertujuan memberikan pengenalan awal ekstrak secara objektif berupa bentuk, warna, bau, dan rasa. Data ini juga dapat digunakan sebagai dasar untuk menguji simplisia secara fisis selama penyimpanan yang dapat mempengaruhi khasiatnya.

Penentuan Kadar Senyawa Terlarut Dalam Pelarut Etanol dan Air

Parameter senyawa terlarut dalam pelarut tertentu bertujuan

memberikan gambaran awal jumlah kandungan senyawa yang dapat diekstraksi. Penentuan parameter ini dilakukan secara gravimetrik dan mempersyaratkan untuk menggunakan dua pelarut, yaitu pelarut air dan etanol. Kedua pelarut ini dan campuran keduanya merupakan cairan pelarut yang diperbolehkan dan memenuhi syarat kefarmasian (pharmaceutical grade). Pelarut air dimaksudkan untuk melarutkan senyawa polar dan etanol untuk melarutkan senyawa kurang polar yang terdapat dalam ekstrak.

Pada penelitian ini persentase kadar senyawa terlarut dalam air dan persentase kadar senyawa terlarut dalam etanol pada ekstrak daun gedi dapat dilihat pada tabel 3.

Dari data yang diperoleh, dapat diketahui bahwa ekstrak daun gedi yang diperoleh dari infudasi mengandung senyawa yang lebih polar, sedangkan untuk ekstrak yang diperoleh dari proses maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% dan 96% mengandung senyawa yang kurang polar.

Penentuan Kadar Air

Untuk penentuan kadar air digunakan metode gravimetrik, yang pada prinsipnya menguapkan air yang ada pada bahan dengan jalan pemanasan pada suhu 105^oC, kemudian menimbang bahan sampai berat konstan.

Pada penelitian ini persentase kadar air ekstrak daun gedi dapat dilihat pada tabel 3. Pada penelitian ini, persentase kadar air dalam ekstrak daun gedi tergolong memenuhi syarat .

Menurut literatur, kadar air dalam ekstrak tidak boleh lebih dari 10%. Hal ini bertujuan untuk menghindari cepatnya pertumbuhan jamur dalam ekstrak (Soetarno dan Soediro, 1997).

Penetapan kadar abu total dan abu tidak larut asam

Pada penelitian ini kadar abu total dan abu tidak larut asam dalam ekstrak daun gedi dapat dilihat pada tabel 1.

Abu adalah zat anorganik sisa hasil pembakaran suatu bahan organik.

Kandungan abu dan komposisinya tergantung pada macam bahan dan cara pengabuannya. Kadar abu ada hubungannya dengan mineral suatu bahan. Mineral yang terdapat dalam suatu bahan dapat merupakan dua macam garam yaitu :

1. Garam-garam organik, misalnya garam dari asam malat, oksalat, asetat, pektat, dan lain-lain
2. Garam-garam anorganik, misalnya fosfat, karbonat, klorida, sulfat nitrat dan logam alkali.

Selain kedua garam tersebut, kadang-kadang mineral dapat terbentuk sebagai senyawa yang kompleks yang bersifat organis. Apabila akan ditentukan jumlah mineralnya dalam bentuk aslinya adalah sangat sulit. Oleh karenanya biasanya dilakukan dengan menentukan sisa pembakaran garam mineral tersebut yang dikenal dengan pengabuan (Sudarmadji, 1986).

Penentuan kadar abu total dapat digunakan untuk berbagai tujuan antara lain:

1. menentukan baik tidaknya suatu pengolahan,
2. mengetahui jenis bahan yang digunakan, dan
3. penentuan parameter nilai gizi pada bahan makanan.

Data kadar abu total dan abu tidak larut dalam asam yang terdapat pada ekstrak daun gedi dapat dilihat pada tabel 3. Besarnya kadar abu total dalam setiap ekstrak daun gedi mengindikasikan bahwa ekstrak yang diperoleh dari proses maserasi dan infudasi banyak mengandung mineral. Adanya kandungan abu yang tidak larut dalam asam yang rendah menunjukkan adanya pasir atau kotoran yang lain dalam kadar rendah.

Cemaran Mikroba dan Kapang

Pengujian cemaran bakteri termasuk salah satu uji untuk syarat kemurnian ekstrak. Uji ini mencakup penentuan jumlah mikroorganisme yang diperbolehkan dan untuk menunjukkan tidak adanya bakteri tertentu dalam ekstrak. Menurut SK Dirjen Pom No : 03726/B/SK/VII/89 tentang batasan maksimum mikroba dalam makanan, bahwa batas maksimum cemaran

bakteri dalam makanan yaitu 10^6 koloni/g dan untuk kapang yaitu 10^4 koloni/g. Ini juga sesuai dengan standar uji cemaran mikroba menurut SNI 19-2897-1992, yaitu standar batas kontaminasi bakteri yang masih dianggap aman untuk dikonsumsi pada obat tradisional sesuai yang disyaratkan oleh Departemen Kesehatan RI sebesar $< 10^6$ CFU/ml dan batas kontaminasi kapang/khamir yang masih dianggap aman untuk dikonsumsi pada obat tradisional sebesar $< 10^4$ CFU/ml (Pratiwi, 2005).

Data angka lempeng total bakteri dan kapang dari masing-masing ekstrak daun gedi dapat dilihat pada tabel 3. Pada infus daun gedi umumnya mempunyai angka lempeng total bakteri yang tinggi dari batasan yang dipersyaratkan, yakni dengan nilai rentang rata-rata $2,9.10^6 - 6,0.10^6$ koloni/g. Begitu pula dengan ekstrak etanol 70% dari daun gedi yang mempunyai nilai rentang rata-rata sebesar $7,1.10^5 - 6,0.10^6$ koloni/g, sedangkan pada perhitungan angka lempeng total kapang semua ekstrak masih tergolong di bawah batas maksimum cemaran kapang, yakni $< 10^4$ CFU/ml.

Pencemaran ini dapat terjadi selama proses pengolahan sampel hingga menjadi ekstrak, juga dapat terjadi selama masa penyimpanan ekstrak yang kemungkinan besar mendapat kontaminasi dari udara di sekitar tempat penyimpanan. Adapun rendahnya pertumbuhan bakteri pada ekstrak daun gedi disebabkan karena ekstrak yang digunakan adalah ekstrak etanol. Etanol juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau mikroba dalam ekstrak.

Pencemaran Logam Pb

Penentuan kandungan logam timbal (Pb) pada ekstrak berguna untuk dapat menjamin bahwa ekstrak tidak mengandung timbal melebihi batas yang ditetapkan karena bersifat toksik terhadap tubuh. Agar didapatkan data yang valid maka dianalisa dengan menggunakan metoda spektrofotometri serapan atom. SK Dirjen POM No 03725/B/SK/VII/89 tentang batas

maksimum cemaran logam dalam makanan menyatakan bahwa batas maksimum cemaran logam timbal pada rempah – rempah sebesar 10 mg/kg atau 0,01 mg/g (Arifin, 2006).

Dari data cemaran logam berat yang terdapat pada tabel 3, diperoleh kadar Pb dalam ekstrak daun gedi tergolong memenuhi syarat, yakni untuk infus sebesar $0,003 \pm 0,02 - 0,005 \pm 0,002$ mg/g, ekstrak etanol 70% sebesar $0,004 \pm 0,001 - 0,007 \pm 0,003$ mg/g, dan ekstrak etanol 96% sebesar $0,007 \pm 0,002 - 0,008 \pm 0,003$ mg/g.

Adapun perbedaan kadar Pb dalam tanaman disebabkan oleh adanya perbedaan kondisi lingkungan tempat tanaman tersebut tumbuh, antara lain kondisi udara dan tanah lingkungannya.

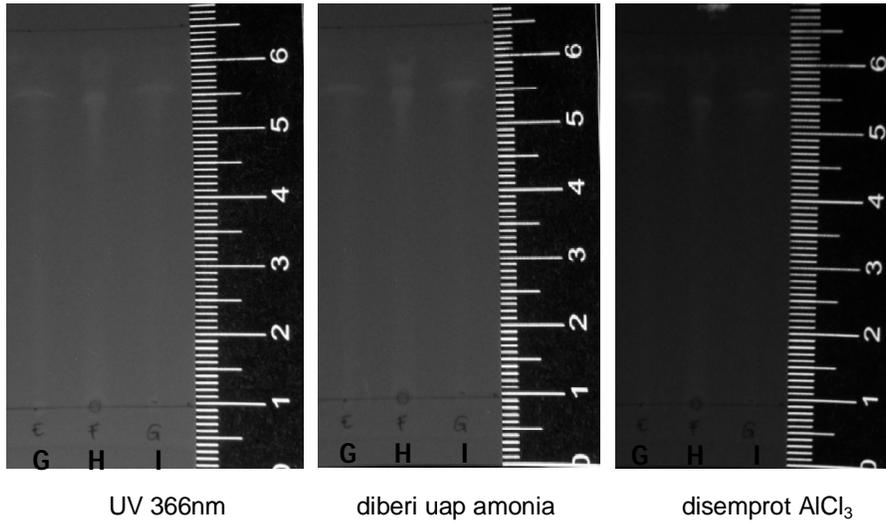
Timbal (Pb) adalah logam yang bersifat toksik terhadap manusia yang berasal dari tindakan mengkonsumsi makanan, minuman, atau melalui inhalasi dari udara, debu yang tercemar Pb, kontak lewat kulit, mata, dan melalui parenteral (Widowati, Astiana dan Raymond, 2008).

Timbal adalah salah satu bahan pencemar utama saat ini di lingkungan. Timbal digunakan sebagai aditif pada bahan bakar, khususnya bensin karena dapat meningkatkan bilangan oktan. Partikel timbal yang terdapat dalam asap kendaraan bermotor berukuran $0,02 - 1,00 \mu\text{m}$, dengan masa tinggal di udara sekitar 4 – 40 hari. Partikel yang sangat kecil ini memungkinkan terhirup dan masuk sampai ke paru-paru (Naria, 2005).

Selain itu, kandungan logam dalam tanah sangat berpengaruh terhadap kandungan logam pada tanaman yang tumbuh di atasnya. Akumulasi logam dalam tanaman tidak hanya tergantung pada kandungan logam dalam tanah, tetapi juga tergantung pada unsur kimia tanah, jenis logam, pH tanah, dan spesies tanaman (Darmono, 1995).

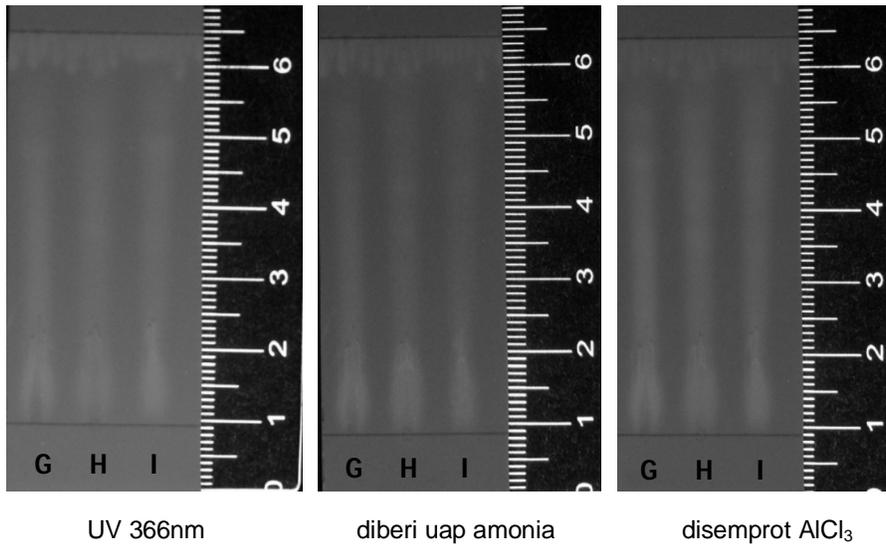
Penetapan Kadar Flavonoid Total

Pada pemeriksaan flavonoid secara kualitatif menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) seperti pada gambar berikut.



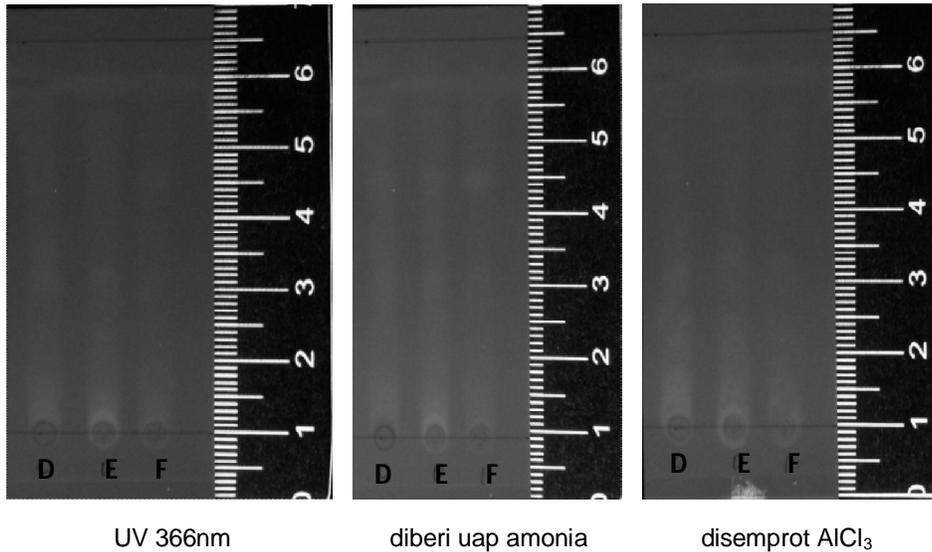
Gambar 5. Foto profil KLT infus daun geddi (bagian larut etil asetat). Fase gerak campuran: etil asetat : metanol : asam asetat glasial (2:1:0,5) dan Fase diam: Lempeng KLT GF₂₅₄.

Keterangan: G= infus daun geddi dari daerah Makassar, H= infus daun geddi dari daerah Palu, I= infus daun geddi dari daerah Gorontalo

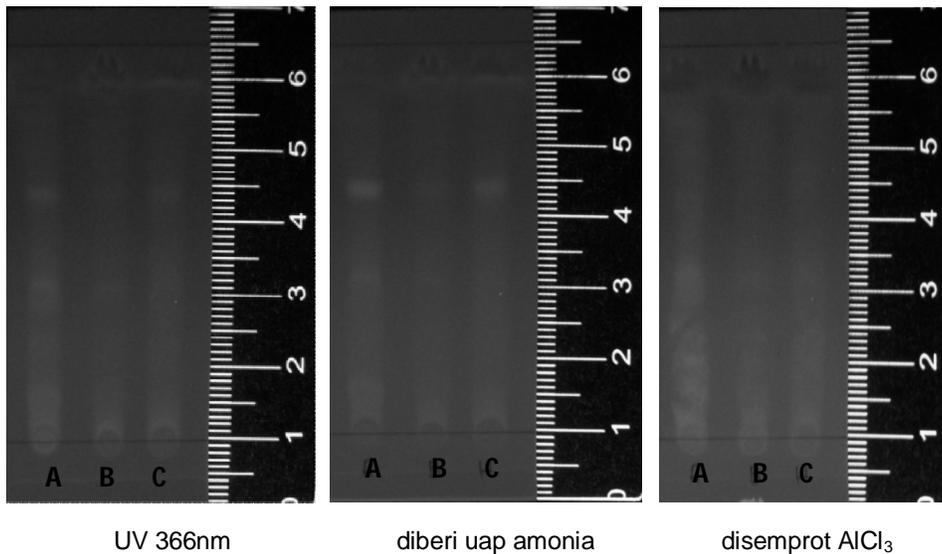


Gambar 6. Foto profil KLT infus daun geddi (bagian tidak larut etil asetat). Fase gerak campuran: butanol : asam asetat : air (4:1:5) dan Fase diam: Lempeng KLT GF₂₅₄.

Keterangan: G= infus daun geddi dari daerah Makassar, H= infus daun geddi dari daerah Palu, I= infus daun geddi dari daerah Gorontalo



Gambar 7. Foto profil KLT Ekstrak etanol 70% daun gedi. Fase gerak campuran: etil asetat : metanol : asam asetat glasial (6:2:0,5) dan Fase diam: Lempeng KLT GF₂₅₄. Keterangan: D= ekstrak etanol 70% daun gedi dari daerah Palu, E= ekstrak etanol 70% daun gedi dari daerah Gorontalo, F= ekstrak etanol 70% daun gedi dari daerah Makassar



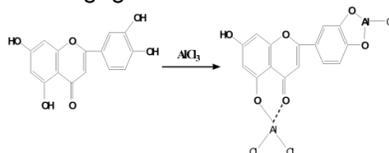
Gambar 8. Foto profil KLT Ekstrak etanol 96% daun gedi. Fase gerak campuran: etil asetat : metanol : asam asetat glasial (6:2:0,5) dan Fase diam: Lempeng KLT GF₂₅₄. Keterangan: A= ekstrak etanol 96% dari daerah Palu, B= ekstrak etanol 96% dari daerah Gorontalo, C= ekstrak etanol 96% dari daerah Makassar

Hasil KLT dari masing-masing ekstrak dapat dilihat pada gambar 5, 6, 7, dan 8. Ketika diamati di bawah sinar UV 366 nm terlihat ada beberapa noda yang

tampak berfluoresensi dengan latar gelap. Ketika disemprot dengan larutan 5% AlCl₃ dalam etanol, masing-masing noda semakin lebih jelas ketika diamati

di bawah sinar UV 366 nm. Noda memberikan perubahan warna menjadi lebih terang/berfluoresensi. Perubahan ini disebabkan adanya flavonoid. Reaksi antara AlCl_3 dengan golongan flavonoid membentuk kompleks antara gugus

hidroksil dan keton yang bertetangga yang tahan asam atau dengan gugus ortohidroksil yang tidak tahan asam dan bertetangga seperti pada gambar 9 berikut ini (Markham, 1988).



Flavonoid Kompleks Flavonoid- AlCl_3
Gambar 9. Reaksi kompleks flavonoid- AlCl_3

Pada penelitian ini penetapan kadar flavonoid total dilakukan dengan menggunakan metode kolorimetri aluminium klorida dan diukur sebagai kuersetin, di mana senyawa dihidrolisis terlebih dahulu. Metode ini merupakan metode yang tercantum dalam Farmakope Jerman dan German Drug Codex 1986 (Soares *et al.*, 2003).

Flavonoid dalam tumbuhan sebagian besar terdapat dalam bentuk glikosida. Hidrolisis dimaksudkan agar ikatan antara gula dan aglikon yang terdapat dalam senyawa dapat terlepas dari ikatannya. Hidrolisis dilakukan dengan menggunakan sistem hidrolisis, yaitu larutan 0,5%^{b/v} heksametilentetramina, aseton, dan larutan HCl 25% dalam air kemudian direfluks (dilakukan pemanasan sampai mendidih). Hasil hidrolisa kemudian diekstraksi dengan etil asetat sehingga diperoleh fraksi etilasetat yang nantinya direaksikan dengan pereaksi AlCl_3 dan diukur pada spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimum, yakni 430 nm setelah 30 menit. Serapan maksimum rutin terhidrolisis yang telah direaksikan dengan AlCl_3 selama 30 menit berada pada rentang 420 – 430 nm (Soares *et al.*, 2003). Kadar flavonoid total dihitung sebagai aglikon (quersetin) dengan menggunakan bahan standar glikosida flavonoid rutin yang telah dihidrolisis dengan asam menurut German Drug Codex 1986 (Soares *et al.*, 2003).

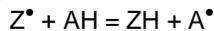
Pada analisa kuantitatif, kadar flavonoid total pada ekstrak daun gedi yang diperoleh secara maserasi

menggunakan pelarut etanol 96% tergolong tinggi, yakni $23,63 \pm 0,06 - 41,56 \pm 0,12$ mg/g ekstrak sebagai kuersetin jika dibandingkan dengan ekstrak daun gedi lainnya.

Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

Peningkatan antioksidan menjadi suatu hal yang menarik untuk diperbincangkan, khususnya dalam hal pencegahan terhadap kerusakan sel akibat adanya radikal bebas dalam tubuh. Salah satu metode yang populer digunakan untuk pengukuran radikal bebas adalah dengan menggunakan diphenylpicrylhydrazyl (DPPH).

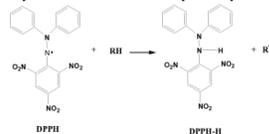
Jika larutan DPPH dicampurkan dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen, ini mengakibatkan perubahan bentuk dari DPPH menjadi bentuk tereduksi sehingga warna ungu dari larutan DPPH hilang (walaupun dari beberapa reaksi yang terjadi masih memberikan warna kuning pucat dari kelompok picryl). Reaksi awal antara radikal Z^\bullet dan molekul pendonor (AH) adalah sebagai berikut:



dimana ZH merupakan bentuk tereduksi dan A^\bullet adalah radikal bebas yang dihasilkan pada tahap awal reaksi. Radikal ini kemudian pada reaksi selanjutnya menyebabkan dekolerasi dari DPPH melalui satu molekul reduktan.

Metode DPPH merupakan metode yang dapat mengukur efektifitas

antioksidan secara cepat, sederhana, dan tidak membutuhkan biaya yang mahal. DPPH telah digunakan secara luas untuk mengukur kemampuan suatu senyawa untuk menghambat radikal bebas atau sebagai pendonor hidrogen, dan juga untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dalam makanan. Metode DPPH dapat digunakan pada sampel uji yang berupa cairan maupun padatan.



Gambar 10.Reduksi DPPH dari senyawa peredam radikal bebas (Prakash *et al*, 2001).

Dari penelitian yang dilakukan diperoleh data IC_{50} ekstrak daun gedi seperti pada tabel 4, bahwa ekstrak etanol 96% yang berasal dari daerah Palu memiliki IC_{50} sebesar 0,575 mg/ml (575 ppm) yang tergolong efektif dalam menghambat 50% radikal bebas. Ini didasarkan pada penggolongan keefektifan senyawa antioksidan berdasarkan IC_{50} , yakni jika suatu senyawa memiliki nilai IC_{50} 200 – 1000 ppm tergolong kurang aktif. Namun, masih bersifat antioksidan dan jika suatu senyawa memiliki nilai IC_{50} <200 ppm tergolong sangat efektif (Molyneux 2004). Vitamin C yang digunakan sebagai pembanding memiliki nilai IC_{50} sebesar 0,018 mg/ml (18 ppm) yang tergolong sangat efektif dalam menghambat radikal bebas.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* L.) Medik yang dipersyaratkan adalah ekstrak etanol 96%, yakni:
 - a) Secara organoleptis ekstrak yang berasal dari ketiga daerah tidak berbeda, yakni berbentuk kental, berwarna hijau

Elektron bebas dari radikal bebas DPPH memberikan absorpsi yang maksimum pada panjang gelombang 517 nm dan berwarna ungu. Warna ungu ini akan berkurang hingga menjadi berwarna kuning pucat akibat elektron bebas tersebut berpasangan dengan hidrogen dari antioksidan membentuk DPPH-H, seperti pada gambar 10 berikut.

- b) Kadar rata-rata senyawa yang terlarut dalam air yakni $7,38 \pm 0,22 - 8,91 \pm 0,21 \%$ ^b/_b.
- c) Kadar rata-rata senyawa yang terlarut dalam etanol yakni $21,12 \pm 0,16 - 29,44 \pm 0,2 \%$ ^b/_b.
- d) Kadar air maksimum yang terkandung yakni $8,25 \pm 2,51 \%$ ^b/_b.
- e) Kadar abu total maksimum yang terkandung yakni $22,00 \pm 1,46 \%$ ^b/_b.
- f) Kadar abu tidak larut asam maksimum yang terkandung yakni $0,50 \pm 0,12 \%$ ^b/_b.
- g) Total cemaran bakteri maksimum yakni $6,7 \cdot 10^5$ koloni/g; total cemaran kapang maksimum yakni $6,7 \cdot 10^2$ koloni/g, sesuai dengan ketentuan SNI 19-2897-1992 dan SK Dirjen POM No: 03726/B/SK/VII/89.
- h) Cemaran logam timbal (Pb) sesuai dengan ketentuan SK Dirjen POM No 03725/B/SK/VII/89.
- i) Kadar flavonoid total minimum yakni $23,63 \pm 0,06$ mg/g ekstrak.

2. Ekstrak daun geddi (*Abelmoschus manihot* L.) Medik yang diperoleh secara maserasi dengan pelarut etanol 96% mempunyai nilai efektivitas antioksidan yakni 1,496 – 0,575 mg/ml dan yang berasal dari daerah Palu memiliki efektivitas antioksidan yang optimal dibandingkan dengan daerah lain yaitu dengan nilai IC₅₀ sebesar 0,575 mg/ml atau 575 ppm.

Saran

Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui rumus struktur senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak daun Geddi (*Abelmoschus manihot* L. Medik).

DAFTAR PUSTAKA

- Andersen, Ø.M. and Markham K.R. 2006. *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry, and Applications*. Taylor & Francis Group. USA. 2.
- Arifin, H., Nelvi, A., Dian, H., Roslinda, R. 2006. Standarisasi Ekstrak Etanol Daun *Eugenia Cumini* Merr. *J. Sains Tek. Far* 11(2).2006. 88 – 92.
- Číž, M., Hana Č., Petko D., Maria, K., Anton, S., Antonin, L., 2010. Different methods for control and comparison of the antioxidant properties of vegetables, *Food Control* 21: 518-523 (2010).
- Harborne. I.B., 1987. Metode *Fitokimia*, terjemahan K. Radmawinata dan I. Soediso. penerbit ITB. Bandung. 69-94, 142-158, 234-238.
- Hodgson, J.M., and Kevin D.C., 2006, Review Dietary flavonoids: effects on endothelial function and blood pressure, *J Sci Food Agric* 86:2492-2498.
- Jain, P.S., S.B. Bari, and S.J. Surana, 2009, Isolation of Stigmasterol and (-)Sitosterol from Petroleum Ether of Woody Stem of *Abelmoschus manihot*, *Asian Journal of Biological Sciences* 2 (4): 112-117.
- Lin-lin W., Xin-bo Y., Zheng-ming H., He-zhi L, Guang-xia W., 2007, In vivo and in vitro antiviral activity of hyperoside extracted from *Abelmoschus manihot* (L) medik, *Acta Pharmacol Sin* 28 (3):404-409.
- Liu, Y., Xianyin L., Xiaomei L., Yuying Z., Jingrong C. 2006. Interactions Between Thrombin with Flavonoids from *Abelmoschus manihot* (L.) Medicus by CZE. *Chromatographia* 2006 (64): 45.
- Markham. K.R. 1988. Cara Mengidentifikasi *Flavonoid*, terjemahan K. Radmawinata. Penerbit ITB. Bandung. 1-117.
- Naria, E. 2005. Mewaspada Dampak Bahan Pencemar Timbal (Pb) di Lingkungan Terhadap Kesehatan. *Jurnal Komunikasi Penelitian*. Volume 17 (4) 2005: 66 – 67.
- Prakash, A. 2001. Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories Analytical Progress, Summer Vol. 19, (2):* 1-6.
- Pratiwi, S. T. 2005. Pengujian Cemaran Bakteri Dan Cemaran Kapang/Khamir Pada Produk Jamu Gendong Di Daerah Istimewa Yogyakarta. *Pharmacol*. Vol.6. No.1. (Juni 2005): 12 – 14.
- Shao-Yu Z., Nai-Ning S., Wen-Yuan G., Wei J., Hong-Quan D., Pei-Gen X., 2006, Progress in the treatment of chronic glomerulonephritis with traditional Chinese medicine, *Asian Journal of Pharmacodynamic and Pharmacokinetics* 6 (4): 317 – 325.
- Soares, L. A. L., Valquiria, L. B., George, G.O., Pedro, R. P. 2003. Total Flavonoid Determination for the Quality Control of Aqueous Extractives from *Phyllanthus niruri* L. *Lat. Am. J. Pharm.* 22 (3):203 – 7.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., & Suhardi. 1986. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Penerbit Liberty. Yogyakarta. 150 – 158.
- Widowati, W., Astiana S., dan Raymond J. 2008. *Efek Toksik Logam, Pencegahan, dan Penanggulangan Pencemaran*. CV Andi Offset. Jakarta. 107 – 125.