

LAPORAN TUGAS AKHIR

**PENGARUH VARIASI PELARUT DALAM EKSTRAKSI
DAUN KARET KEBO (*Ficus elastica*) PADA PENENTUAN
KADAR FLAVONOID TOTAL DENGAN METODE
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh derajat Ahli
Madya Sains (A.Md.Si) Analisis Kimia di Program Studi DIII Analisis Kimia**



Disusun oleh:

Annisa Fajar Lestari

NIM: 19231057

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALISIS KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2022**

LAPORAN TUGAS AKHIR

**PENGARUH VARIASI PELARUT DALAM EKSTRAKSI
DAUN KARET KEBO (*Ficus elastica*) PADA PENENTUAN
KADAR FLAVONOID TOTAL DENGAN METODE
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

***THE EFFECT OF SOLUTION VARIATIONS IN THE
EXTRACTION OF KARET KEBO LEAVES (*Ficus elastica*) ON
THE DETERMINATION OF FLAVONOID CONTENT USING
SPECTROPHOTOMETRY UV-VIS METHODE***



Disusun oleh:

Annisa Fajar Lestari

NIM: 19231057

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALISIS KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2022**

HALAMAN PENGESAHAN

LAPORAN TUGAS AKHIR

**PENGARUH VARIASI PELARUT DALAM EKSTRAKSI
DAUN KARET KEBO (*Ficus elastica*) PADA PENENTUAN
KADAR FLAVONOID TOTAL DENGAN METODE
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**



Ketua Program Studi

Kuntari, S.Si., M.Sc.

NIK. 162310401

Pembimbing

Tri Esti Purbaningtias, S.Si., M.Si.

NIK. 132311102

HALAMAN PENGESAHAN

LAPORAN TUGAS AKHIR

**PENGARUH VARIASI PELARUT DALAM EKSTRAKSI
DAUN KARET KEBO (*Ficus elastica*) PADA PENENTUAN
KADAR FLAVONOID TOTAL DENGAN METODE
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

Dipersiapkan dan disusun oleh :

Annisa Fajar Lestari

NIM: 19231057

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 30 Juni 2022

Susunan Tim Penguji

Pembimbing



Tri Esti Purbaningtyas, S.Si., M.Si.

NIK. 132311102

Penguji I



Kuntari, S.Si., M.Sc.

NIK. 162310401

Penguji II



Puji Kurniawati, M.Sc.

NIK. 132311103

**Mengetahui,
Dekan Fakultas MIPA UII**



Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D

NIK. 006120101



<https://science.uii.ac.id/surat-digital/validasi/REG228822>

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa Laporan Tugas Akhir yang berjudul ini tidak terdapat bagian yang pernah digunakan untuk memperoleh gelar Ahli Madya atau gelar lainnya di suatu Perguruan Tinggi dan sepengetahuan saya tidak terdapat bagian yang pernah ditulis dan diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 27 Juni 2022



Annisa Fajar Lestari
Annisa Fajar Lestari

MOTTO

“Hasbunallah wani’mal wakil ni’mal maula wani’man nasir”

Cukuplah Allah sebagai tempat diri bagi kami, sebaik-baiknya pelindung dan sebaik-baiknya penolong kami.

“Jika kamu tidak sanggup menahan lelahnya belajar maka kamu harus sanggup menahan perihnya kebodohan” - Imam Syafi’i

“Hal-hal besar tidak pernah datang dari zona nyaman”

"Hari ini, esok, dan seterusnya, tetaplah mensyukuri apa yang ada."

"Kesempatan tidaklah datang secara kebetulan, tetapi juga harus diciptakan."

“Push yourself to be great”

“Be you. Do you. For you”



HALAMAN PERSEMBAHAN

Bismillahirrohmanirohim.

Dengan setulus hati Tugas Akhir (TA) ini saya persembahkan kepada:

Allah subhanahu wa ta'ala, Tuhan pemilik semesta alam

Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang.

Sang revolusioner

Nabi Muhammad SAW, Nabi dan Rasul terakhir.

Bapak, Ibu, dan kakak-kakak tercinta saya.

Terima kasih atas doa, bimbingan, semangat dan kasih sayang yang tiada kira.

Tri Esti Purbaningtias, S.Si., M.Si.,

yang telah memberikan ilmu, nasehat, bimbingan, dan pengalamannya.

Dhea, Dela, April, Indah, dan Ani,

Sahabat tercinta yang saling menguatkan dan telah memberikan semangat, doa, bantuan juga tempat berbagi cerita dan pengalaman.

Sahabat-sahabat seperjuangan DIII Analisis Kimia 2019.

Terima kasih telah berbagi semangat dan tumbuh bersama dari awal hingga akhir.

Serta,

Keluarga Besar Program Studi DIII Analisis Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillah segala puji bagi Allah SWT Dzat yang Maha Kuasa, Maha Mengetahui, dan Maha Esa atas segala nikmat yang senantiasa mengalir tanpa henti. Shalawat teriring salam tercurahkan kepada rasulullah, Muhammad SAW sang revolusioner yang telah membimbing menuju zaman yang terang benderang dan sarat akan ilmu.

Tugas akhir dengan judul **“Pengaruh Variasi Pelarut dalam Ekstraksi Daun Karet Kebo (*Ficus Elastica*) pada Penentuan Kadar Flavonoid Total dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis”**, disusun sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Ahli Madya Sains (A.Md.Si) DIII Analisis Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

Penulis menyadari bahwa selama persiapan dan pelaksanaan penelitian, telah banyak pihak yang berkontribusi dalam menyukseskan dan memberikan dukungan moril maupun materiil, semangat, ide, serta kritik dan saran yang membangun. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih sekaligus permohonan maaf kepada :

1. Bapak Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
2. Ibu Kuntari, S.Si., M.Sc. selaku ketua Program Studi DIII Analisis Kimia Universitas Islam Indonesia.
3. Ibu Tri Esti Purbaningtiyas, S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing yang dengan sabar dalam membimbing dan mengarahkan selama penelitian dan penyusunan Tugas Akhir.
4. Bapak Bayu Wiyantoko, S.Si., M.Sc. selaku Kepala Laboratorium Kimia Terapan beserta mbak Lia dan Mas Yorfan selaku staf laboran Laboratorium Kimia Terapan UII yang telah membantu memberikan arahan selama penelitian.
5. Bapak Ibu Dosen dan seluruh staf karyawan DIII Analisis Kimia Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
6. Ibu, Bapak, kakak, saudara yang selalu mendoakan tanpa terputus dan

memberi semangat bagi lancarnya Tugas Akhir ini.

7. Dhea, Dela, April, Indah, Ani, sahabat pemberi dorongan semangat dan berbagai cerita dan bantuan dalam menyelesaikan Tugas Akhir.
8. Berbagai pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu yang telah banyak membantu dalam proses pelaksanaan dan penyusunan laporan Tugas Akhir.
9. Saya juga ingin mengucapkan terima kasih kepada diri saya karena telah bekerja keras untuk berjuang dan bertahan sampai sejauh ini untuk menyelesaikan Tugas Akhir.

Barakallah fikum. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat dan kebahagiaan tiada henti kepada kalian yang telah membantu penulis hingga terselesaikannya Tugas Akhir ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan Tugas Akhir ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis sangat terbuka terhadap kritik serta saran yang membangun sehingga dapat memperbaiki laporan ini menjadi lebih baik. Akhir kata, besar harapan penulis bahwa laporan tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak.

Wassalamu'alaikum warrahmatullahi wabarakatuh

Yogyakarta, 18 Juni 2022

Penulis

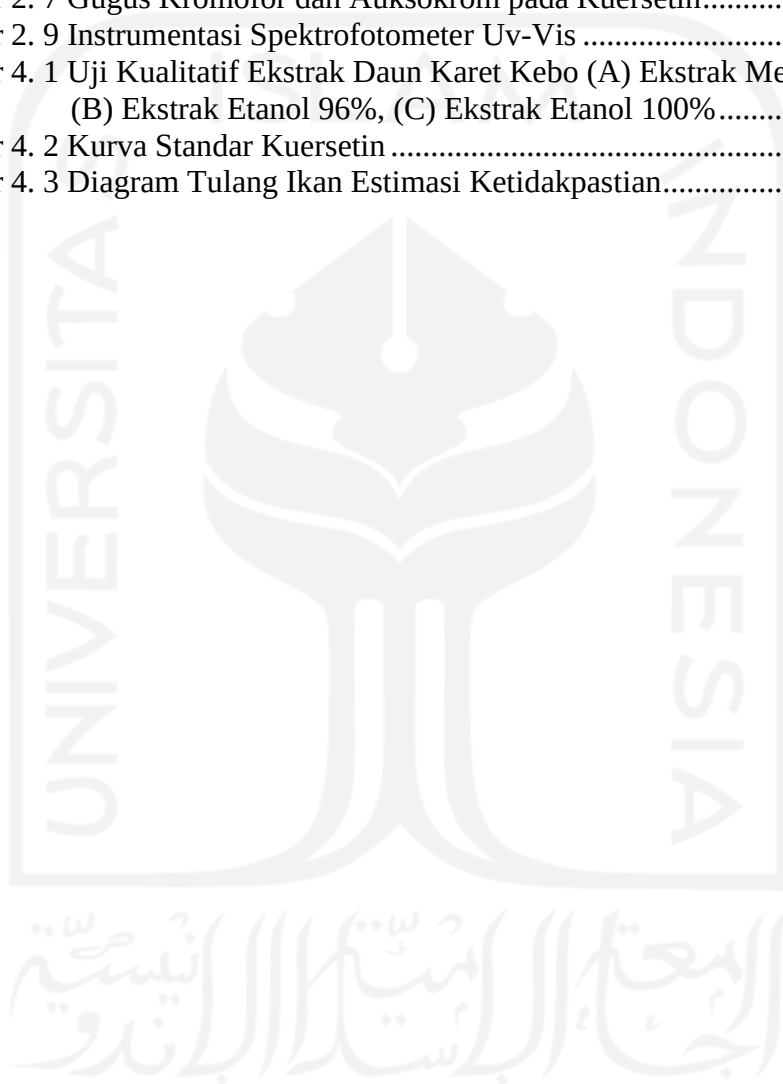
DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN.....	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
BAB I.....	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Rumusan masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	3
BAB II.....	4
TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman karet kebo (<i>Ficus elastica</i>).....	4
2.2 Flavonoid	5
2.2 Maserasi	7
2.3 Kuersetin	8
2.4 Spektrofotometer UV- Vis.....	10
2.6 Validasi metode	11
2.6.1 Linieritas	11
2.6.2 <i>Limit of Detection</i> (LOD) dan <i>Limit of Quantitation</i> (LOQ).....	12
2.6.3 Presisi.....	12
2.6.4 Akurasi.....	13
2.6.5 Estimasi ketidakpastian pengukuran.....	14
BAB III	16
METODE PENELITIAN.....	16
3.1 Alat.....	16
3.2 Bahan	16
3.3 Cara kerja.....	16
3.3.1 Preparasi sampel	16
3.3.2 Uji kualitatif flavonoid menggunakan FTIR-ATR	17
3.3.3 Uji kuantitatif flavonoid ekstrak daun karet kebo.....	17
3.3.3.1 Pembuatan AlCl_3 2%	17
3.3.3.2 Pembuatan $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 1M.....	17
3.3.3.3 Pembuatan larutan uji ekstrak flavonoid daun karet kebo 100 ppm.....	17
3.3.3.4 Penentuan kadar flavonoid total ekstrak daun karet kebo	17
3.3.4 Linieritas	18
3.3.4.1 Pembuatan larutan kuersetin 1000 ppm.....	18
3.3.4.2 Pembuatan larutan kuersetin 100 ppm.....	18

3.3.4.3 Pembuatan larutan deret standar kuersetin	18
3.3.4.4 Penentuan panjang gelombang maksimum.....	19
3.3.5 Penentuan presisi	19
3.3.6 Penentuan akurasi	19
BAB IV	20
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	20
4.1 Preparasi sampel	20
4.2 Uji kualitatif dan kuantitatif flavonoid ekstrak daun karet kebo	21
4.2.1 Uji kualitatif flavonoid menggunakan FTIR-ATR	21
4.2 Uji kuantitatif flavonoid.....	22
4.3 Validasi metode penentuan flavonoid total daun karet kebo	24
4.3.1 Linieritas standar kurva kalibrasi.....	24
4.3.2 <i>Limit of Detection</i> (LOD) dan <i>Limit of Quantitation</i> (LOQ).....	26
4.3.3 Presisi.....	26
4.3.4 Akurasi.....	27
4.3.5 Estimasi ketidakpastian pengukuran kadar flavonoid total	28
BAB V.....	30
KESIMPULAN DAN SARAN.....	30
5.1 Kesimpulan	30
5.2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN.....	34

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Pohon Karet kebo (<i>Ficus elastica</i>)	4
Gambar 2. 2 Stuktur Dasar Flavonoid (Markham, 1988)	5
Gambar 2. 3 Struktur Beberapa Jenis Flavonoid (Harbone, 1987)	6
Gambar 2. 4 Reaksi Flavonol dengan $AlCl_3$ (Indrayani, 2008)	7
Gambar 2. 5 Reaksi Flavon dengan $AlCl_3$ (Indrayani, 2008)	7
Gambar 2. 6 Struktur Kimia Kuersetin (Harbone, 1987)	8
Gambar 2. 7 Gugus Kromofor dan Auksokrom pada Kuersetin	9
Gambar 2. 9 Instrumentasi Spektrofotometer Uv-Vis	10
Gambar 4. 1 Uji Kualitatif Ekstrak Daun Karet Kebo (A) Ekstrak Metanol 99%, (B) Ekstrak Etanol 96%, (C) Ekstrak Etanol 100%	21
Gambar 4. 2 Kurva Standar Kuersetin	25
Gambar 4. 3 Diagram Tulang Ikan Estimasi Ketidakpastian	28



DAFTAR TABEL

Tabel 4. 1 Gugus Fungsi Ekstrak Karet Kebo.....	22
Tabel 4. 2 Hasil Ekstraksi Daun Karet Kebo	22
Tabel 4. 3 Hasil Kadar Flavonoid Total Daun Karet Kebo.....	23
Tabel 4. 4 Hasil Pengujian Larutan Standar.....	25
Tabel 4. 5 Hasil LOD dan LOQ Standar Kuersetin	26
Tabel 4. 6 Hasil Presisi Sampel Ekstrak Daun Karet Kabo	27
Tabel 4. 7 Hasil Akurasi Sampel Ekstrak Daun Karet Kabo	27
Tabel 4. 8 Estimasi Ketidakpastian Ekstrak Daun Karet Kebo	29



PENGARUH VARIASI PELARUT DALAM EKSTRAKSI DAUN KARET KEBO (*Ficus elastica*) PADA PENENTUAN KADAR FLAVONOID TOTAL DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Annisa Fajar Lestari

Program Studi DIII Analisis Kimia FMIPA Universitas Islam Indonesia

Jl. Kaliurang Km 14,5 Yogyakarta

Email : 19231057@students.uii.ac.id

INTISARI

Telah dilakukan penentuan kadar flavonoid total ekstrak metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% dalam daun karet kebo (*Ficus elastica*) menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Tujuan penelitian ini, untuk mengetahui pengaruh penggunaan jenis pelarut terhadap kadar flavonoid total daun karet kebo dan terhadap validasi metodenya. Sampel akan diekstrak menggunakan variasi pelarut, dilarutkan dalam etanol 96% yang selanjutnya direaksikan dengan AlCl_3 dan CH_3COONa . Senyawa flavonoid dalam sampel ekstrak daun karet kebo akan bereaksi dengan AlCl_3 membentuk senyawa kompleks berwarna kuning yang serapannya akan diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis *double beam* pada $\lambda=443$ nm. Absorbansi yang terukur sebanding dengan kadar flavonoid dalam ekstrak daun karet kebo. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh nilai % rendemen pada masing-masing ekstrak metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% daun karet kebo sebesar 10,62%; 10,28%; dan 6,59%. Uji linieritas larutan standar kuersetin diperoleh persamaan regresi liner, yaitu $y = 0,0271x + 0,0059$ dan koefisien determinasi (R^2) sebesar $0,9988 > 0,995$. *Limit of Detection* (LOD) dan *Limit of Quantitation* (LOQ) sebesar 1,3485 ppm dan 4,4951 ppm. Nilai presisi pengujian sampel ekstrak metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% daun karet kebo dinyatakan dalam %RSD sebesar 1,99%; 0,70%; dan 3,61% $< 2/3$ CV Horwitz sebesar 7,09%. Nilai akurasi sampel dinyatakan dalam %recovery sebesar 95,80%; 114,46%; dan 86,16%. Perolehan nilai kadar flavonoid total dalam daun dari ekstrak metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% daun karet kebo sebesar $(0,58 \pm 0,0601)$; $(0,76 \pm 0,0560)$; dan $(0,99 \pm 0,0400)$ %. Semua parameter validasi memenuhi syarat keberterimaan, maka metode penentuan kadar flavonoid dalam daun karet kebo tervalidasi.

Kata Kunci : flavonoid, ekstrak metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% daun karet kebo, spektrofotometer Uv-Vis, validasi

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Masyarakat Indonesia dikenal telah menggunakan tanaman herbal untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit. Salah satunya adalah tanaman karet kebo (*Ficus elastica*) yang berasal dari India dengan pemanfaatannya dalam pengobatan disentri, antiemetik, hipotensi, penyakit kulit, anemia, penyakit hati dan agen diuretik (Saeed *et al.*, 2017). Karet kebo merupakan golongan spesies yang kaya akan senyawa metabolit sekunder berupa polifenol, seperti flavonoid sebagai antioksidan (Sirisha *et al.*, 2010) dan aktivitas antimikroba (Setiawan, 2008). Hampir pada seluruh ekstrak tumbuhan, kita dapat menemukan kandungan senyawa flavonoid dengan kadar yang bervariasi (Azizah *et al.*, 2014).

Flavonoid adalah senyawa dengan struktur kimia terdiri atas 2 cincin aromatik yang dihubungkan oleh 3 jembatan karbon yang merupakan senyawa turunan polifenol yang dapat ditemukan dalam semua ekstrak tanaman yang memiliki aktivitas sebagai antikanker, antiangionik, antiinflamasi, antioksidan, antialergi dan antimikroba (Hossain *et al.*, 2013). Oleh karena itu, kadar flavonoid dalam daun karet kebo perlu diidentifikasi sebagai salah satu bahan obat herbal.

Sifat kepolaran senyawa flavonoid berbeda-beda mulai polar, semi polar sampai non polar. Ekstraksi flavonoid yang lebih polar dapat menggunakan pelarut air, alkohol (metanol dan etanol) atau campuran keduanya (Pangestu, 2016) yang akan menghasilkan berat rendemen yang berbeda-beda tergantung dengan sifat kepolarannya. Ekstraksi untuk mendapatkan flavonoid dalam daun karet kebo bisa menggunakan metode maserasi. Maserasi adalah proses mengisolasi kandungan senyawa kimia dalam simplia menggunakan pelarut yang sesuai sehingga senyawa metabolit sekunder keluar dari sel-sel daun dan larut dalam pelarut.

Pemilihan pelarut dalam proses ekstraksi merupakan hal yang sangat penting. Dalam penelitian ini dipilih pelarut metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% sebagai pelarut pembanding dalam proses ekstraksi flavonoid dalam daun karet kebo. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Suhendra *et al.*, (2019) terkait variasi konsentrasi pelarut etanol dalam ekstraksi rimpang ilalang dan

penelitian Pujiastuti dan Zeba (2021) terkait variasi konsentrasi pelarut etanol dalam ekstraksi kulit buah naga merah, bahwa konsentrasi pelarut etanol berpengaruh nyata terhadap hasil rendemen dan kadar flavonoid total. Pelarut metanol digunakan pada penelitian Gupita (2021) bahwa ekstraksi daun karet kebo menggunakan pelarut metanol menghasilkan % rendemen sebesar 4,05%. Oleh karena itu, penelitian ini menitik beratkan pada pengaruh variasi pelarut berupa metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% dalam penentuan kadar flavonoid total daun karet kebo (*Ficus elastica*) menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Penggunaan spektrofotometer Uv-Vis karena didasarkan adanya struktur aromatis yang terkonjugasi dalam senyawa flavonoid dan bisa menunjukkan pita serapan kuat pada daerah UV-Vis (Rohyami, 2007). Pengujian ini merupakan pengembangan metode penentuan kadar flavonoid total menggunakan variasi pelarut dalam ekstraksinya, maka perlu dilakukan validasi metode yang bertujuan untuk mengkonfirmasi metode ini telah memenuhi persyaratan tertentu dan sesuai dengan peruntukannya.

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, rumusan masalah yang dapat diambil dalam penelitian ini, yaitu:

1. Bagaimana uji kualitatif dan kuantitatif flavonoid dari ekstrak daun karet kebo dengan pengaruh variasi pelarut pelarut metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100%?
2. Bagaimana hasil validasi metode pada variasi pelarut metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% ditinjau dari linieritas, nilai LOD dan LOQ, presisi, dan akurasi?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk :

1. Menentukan hasil uji kualitatif dan kuantitatif flavonoid dari ekstrak daun karet kebo dengan pengaruh variasi pelarut pelarut metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100%.

2. Menentukan hasil validasi metode pada variasi pelarut metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% ditinjau dari linieritas, nilai LOD dan LOQ, presisi, dan akurasi?

1.4 Manfaat

Penelitian ini bermanfaat untuk mengetahui metode analisis flavonoid total dalam daun karet kebo (*Ficus elastica*) yang sesuai serta mengetahui pelarut yang optimal dalam proses maserasi untuk penelitian ini dengan cara membandingkan hasil rendemen dan kadar flavonoid dalam daun karet kebo dalam pelarut metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100%. Hasil dari nilai kadar flavonoid setiap pelarut yang berbeda disimpulkan manakah pelarut yang paling efektif dan dapat menjadi acuan untuk penelitian selanjutnya.

BAB I

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman karet kebo (*Ficus elastica*)

Karet kebo (*Ficus elastica*) berasal dari India, Srilanka, dan sebagian kawasan Asia Tenggara dengan ketinggian mencapai 20-30 meter, batang berkayu, berbentuk bulat, berwarna cokelat tua, daunnya berbentuk lonjong dan runcing di pangkalnya dengan warna hijau tua pada bagian atas dan merah gelap pada bagian bawahnya. Pohon ini memiliki perakaran tunggang sedangkan buahnya berbentuk bulat telur dengan panjangnya sekitar 1 cm, dan berwarna kuning kehijau-hijauan. Pohon karet kebo (*Ficus elastica*) dapat dilihat pada gambar 2.1. Kandungan pada akar dan kulitnya meliputi saponin, polifenol, dan flavonoid. Sedangkan daun tanaman ini mengandung tanin, saponin, dan polifenol (Adi, 2006).



Gambar 2. 1 Pohon Karet kebo (*Ficus elastica*)

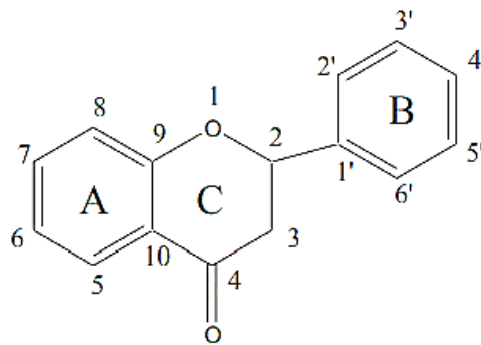
Taksonomi tumbuhan karet kebo (*Ficus elastica*):

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Hamamelidae
Order	: Urticales
Family	: Moraceae
Genus	: <i>Ficus</i>
Species	: <i>Ficus elastica</i> Roxb. ex Hornem (Berg et al.,2006).

Tanaman karet kebo memiliki sejuta manfaat dengan kandungan berbagai senyawa metabolit sekunder untuk mengobati berbagai macam penyakit. Selain akar karet kebo yang dimanfaatkan sebagai obat, ekstrak daun karet kebo (*Ficus elastica*) memiliki aktivitas antimikroba dan untuk penyakit kulit, anemia, gangguan neuro degeneratif, dan sebagai agen diuretik (Setiawan, 2008).

2.2 Flavonoid

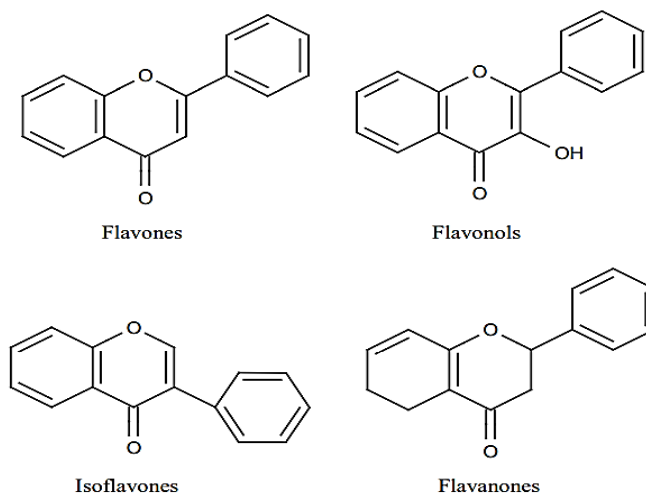
Flavonoid merupakan senyawa golongan fenol alam yang terbesar yang terdapat dalam tanaman dengan struktur kimia terdiri atas dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga jembatan karbon dan termasuk turunan polifenol dengan sifat polar yang dapat larut dalam pelarut etanol, butanol, metanol, aseton, DMSO, DMF, dan air (Markham, 1988).



Gambar 2. 2 Stuktur Dasar Flavonoid (Markham, 1988)

Flavonoid memiliki aktivitas sebagai antikanker, antiangionik, antiinflamasi, antioksidan, antialergi dan antimikroba. Flavonoid terdiri atas beberapa subkelas yaitu flavonol, kalkon, isoflavon, flavon, dan flavanol. Flavonoid dalam tumbuhan sebagai glikosida dalam bentuk yang mungkin berbeda-beda dan merupakan aglikon yang terikat pada gula (Hossain *et al.*, 2013).

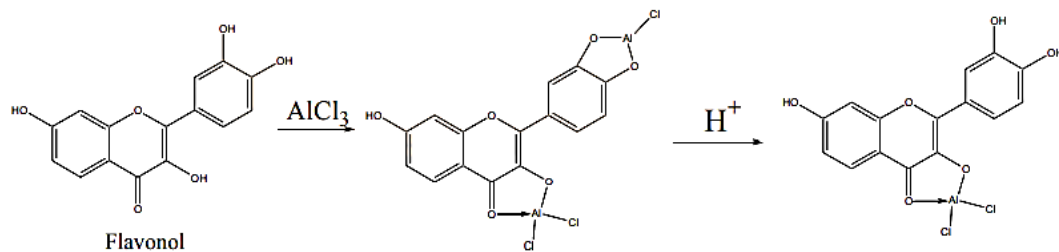
Flavonoid sebagai antioksidan karena menyebabkan penangkapan radikal bebas dari reaksi pengoksidasi lemak oleh adanya gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatic, selanjutnya flavonoid akan memberikan atom hidrogennya untuk menstabilkan radikal peroksi lemak (Dewi, 2012).



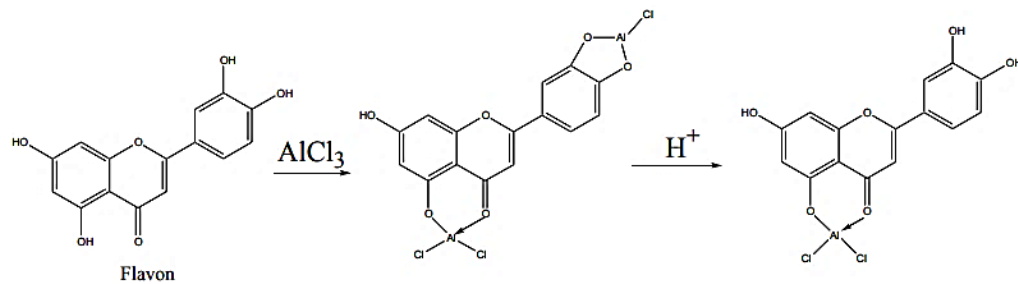
Gambar 2. 3 Struktur Beberapa Jenis Flavonoid (Harbone, 1987)

Senyawa flavonoid dalam tumbuhan dalam bentuk glikosida dan aglikon flavonoid yang terikat pada gula dengan sistem penggolongan flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan (Harbone, 1987; Robinson, 1991). Penggolongan flavonoid berdasarkan penambahan rantai oksigen dan perbedaan distribusi dari gugus hidroksil seperti pada Gambar 2.3.

Analisis senyawa flavonoid dalam tanaman dapat dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Uji kualitatif flavonoid dapat menggunakan kromatografi lapis tipis yang diidentifikasi bercaknya menggunakan sinar Uv pada panjang gelombang 254 nm atau 366 nm untuk menentukan struktur flavonoidnya berdasarkan warna bercak dan nilai R_f (Markham, 1988). Selain itu, uji kualitatif flavonoid dapat menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) untuk menentukan struktur khas senyawa flavonoid. Berdasarkan uji konfirmasi pada penelitian Dewi *et al.*, (2017) spektrofotometer FTIR menunjukkan bahwa pada isolat flavonoid terdapat vibrasi gugus -OH, C-H aromatik, C=C aromatik, C=O, C-O, dan C-H alifatik *stretching*. Uji kuantitatif senyawa flavonoid dapat menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Hal ini didasarkan karena senyawa flavonoid mengandung sistem aromatis yang terkonjugasi dan pada daerah Uv-Vis akan menunjukkan pita serapan kuat (Harborne, 1987).



Gambar 2. 4 Reaksi Flavonol dengan AlCl_3 (Indrayani, 2008)



Gambar 2. 5 Reaksi Flavon dengan AlCl_3 (Indrayani, 2008)

Identifikasi flavonoid menggunakan spektrofotomeetr Uv-Vis dilakukan dengan metode kolorimetri dengan pereaksi AlCl_3 . Senyawa flavonoid dalam sampel akan bereaksi dengan AlCl_3 membentuk senyawa kompleks berwarna kuning. Menurut Markham (1988), senyawa kompleks yang terbentuk dari penambahan AlCl_3 seperti yang dapat dilihat pada Gambar 2.4 dan Gambar 2.5 adalah senyawa kompleks yang bersifat tahan asam pada gugus hidroksi dan keton yang bertetangga, sedangkan pada gugus orto-hidroksil merupakan senyawa kompleks yang tidak tahan asam. Terbentuknya senyawa kompleks akan menyebabkan pergeseran panjang gelombang flavonoid ke arah sinar tampak sehingga dapat diukur serapannya pada daerah panjang gelombang Uv-Vis.

2.2 Maserasi

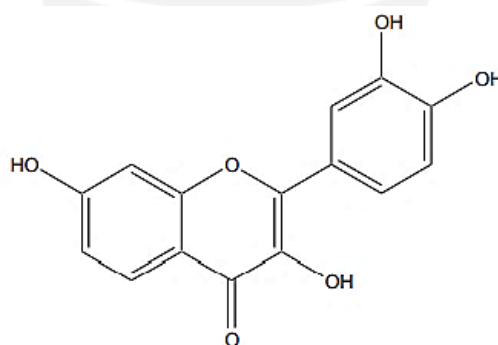
Maserasi adalah metode ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan merendam sampel simplisia halus dengan pelarutnya dan dihindarkan dari sinar matahari langsung agar tidak terjadi reaksi hidrolisis oleh sinar matahari langsung dan mengalami perubahan warna pada rendaman. Ekstraksi dipengaruhi oleh perbandingan jumlah sampel dan pelarutnya, semakin besar perbandingan sampel dengan pelarut maka akan menghasilkan ekstrak yang lebih banyak karena pelarut akan menembus dinding yang terdapat zat aktif didalamnya selanjutnya zat aktif akan tertarik dengan pelarut dan terpisah dari sumber komponen asal. Manfaat dari

metode maserasi sendiri adalah prosedur perlakuanya dan alat perlakuan yang sangat mudah, namun memerlukan waktu yang lebih lama dari metode ekstraksi lainnya (Puspitasari dan Proyogo, 2017). Banyaknya senyawa yang berhasil diekstrak tergantung sifat kepolaran pelarut, waktu ekstraksi, perbandingan simplisia dan pelarut, dan lainnya. Banyaknya hasil ekstraksi dinyatakan dengan %rendemen.

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak kental}}{\text{berat simplisia}} \times 100\%$$

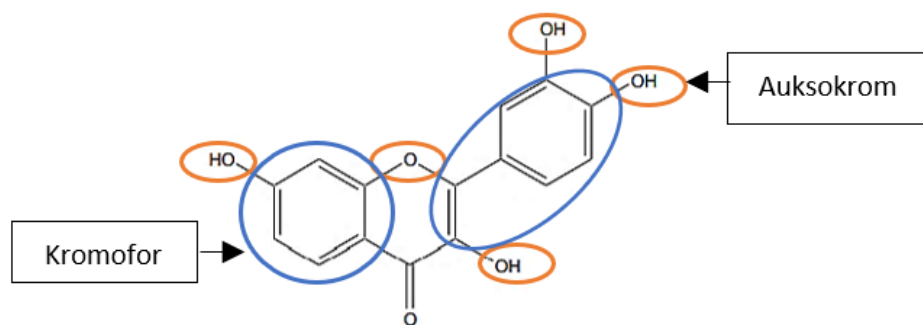
2.3 Kuersetin

Kuersetin adalah turunan flavonoid dalam buah atau sayur yang merupakan polifenol alami yang mudah dihidrolisis. Kuersetin banyak digunakan dan mudah diekstraksi, dipisahkan, dan diidentifikasi. Flavonoid seperti kuersetin (terutama dalam bentuk glikosida kuersetin) adalah molekul flavonoid yang paling melimpah dan banyak ditemukan pada tumbuhan seperti biji-bijian, kacang-kacangan, bunga, kulit kayu dan daun.



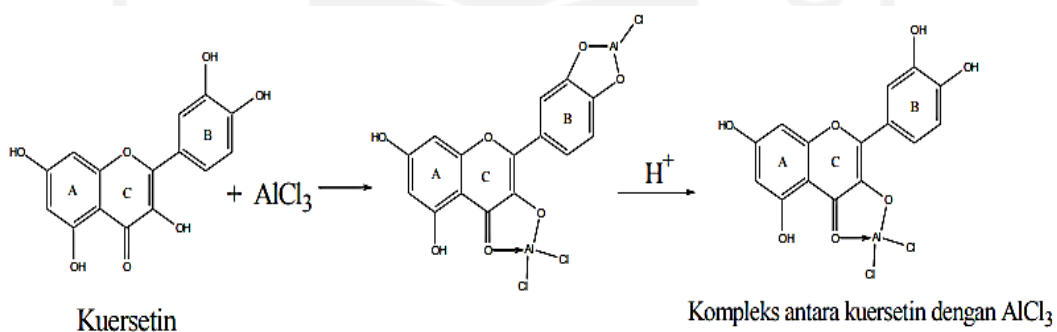
Gambar 2. 6 Struktur Kimia Kuersetin (Harbone, 1987)

Kuersetin termasuk golongan flavonoid yang penyebarannya luas pada jenis tanaman dan memiliki rumus molekul yang hampir sama dengan flavon dan flavonol, yaitu keberadaan gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 (Azizah *et al.*, 2014). Kuersetin dapat bereaksi dengan AlCl_3 membentuk senyawa kompleks berwarna kuning sehingga dapat digunakan sebagai standar penentuan flavonoid menggunakan spektrofotometer Uv-Vis (Kelly, 2011).



Gambar 2. 7 Gugus Kromofor dan Auksokrom pada Kuersetin

Senyawa kuersetin dapat dianalisis menggunakan instrumen spektrofotometer Uv-Vis karena adanya gugus kromofor dan auksokrom seperti pada Gambar 2.7. AlCl_3 akan berikatan dengan gugus hidroksi yang bertetangga dengan karbonil membentuk senyawa tahan asam dan dua gugus hidroksi pada posisi orto yang tidak tahan asam (Markham, 1988). Adanya gugus kromofor dan auksokrom tersebut yang akan membentuk senyawa kompleks sebagai syarat suatu sampel dapat dianalisis dengan spektrofotometer Uv-Vis.



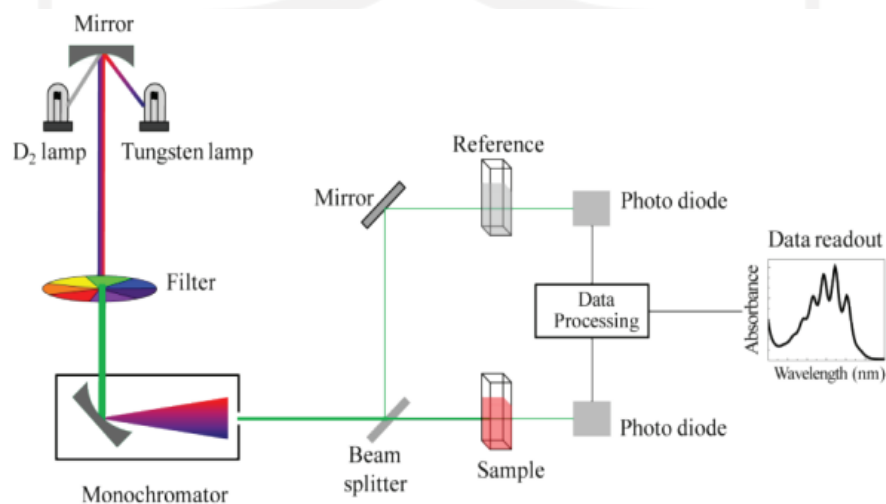
Gambar 2. 8 Reaksi Kompleks Kuersetin dengan AlCl_3 (Harborne,1996)

Larutan AlCl_3 ditambahkan dalam pengujian sebagai pengompleks dan pereaksi geser. Reaksi kuersetin dengan AlCl_3 seperti pada Gambar 2.8, bahwa larutan AlCl_3 akan berikatan dengan gugus keton pada C-4 dan gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 membentuk senyawa kompleks berwarna kuning yang akan menyebabkan pergeseran batokromik atau pergeseran panjang gelombang flavonoid ke arah sinar tampak (*visible*) agar absorbansi sampel lebih maksimal. Pereaksi geser yang dapat digunakan selain AlCl_3 , yaitu NaOMe , HCl , dan H_3BO_3 . Larutan CH_3COONa ditambahkan dalam reaksi untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah sinar tampak dan untuk mendeteksi adanya gugus 7-hidroksil bebas (Markham, 1988).

2.4 Spektrofotometer UV- Vis

Spektrofotometer UV- Vis adalah instrumen yang digunakan untuk mengukur kadar senyawa dalam sampel dengan prinsip melewatkan sampel pada cahaya pada panjang gelombang daerah ultraviolet (200 - 400 nm) dan visible (400 -800 nm) dengan adanya interaksi antara molekul dalam sampel dengan sinar radiasi elektromagnetik. Radiasi elektromagnetik yang dilewatkan dalam sampel sebagian akan diserap oleh molekul sesuai dengan panjang gelombang tertentu dan sebagian akan terjadi emisi. Proses molekul sampel mengabsorpsi energi sinar elektromagnetik karena memiliki panjang gelombang yang sama, maka elektron dalam keadaan tereksitasi. Elektron yang tereksitasi melepaskan energi dengan proses radiasi panas dan kembali ke keadaan dasar. Perbedaan energi antara tingkat dasar dan tingkat tereksitasi bersifat spesifik untuk setiap senyawa, maka panjang gelombang yang diserap juga tertentu. Instrumen spektrofotometer Uv-Vis double beam dapat dilihat pada Gambar 2.8 (Riyanto, 2017).

Syarat sampel dapat dianalisis menggunakan spektrofotometer Uv-Vis adalah memiliki gugus kromofor dan auksokrom dan merupakan larutan berwarna. Gugus kromofor merupakan gugus jenuh kovalen yang dapat menyerap radiasi elektromagnetik dalam daerah Uv-Vis. Gugus kromofor mengikat gugus auksokrom yang dapat mengubah panjang gelombang dan intensitas absorbansi maksimum. Jika sampel tidak berwarna dapat ditambahkan larutan pengompleks agar larutan berwarna dan terjadi pergeseran panjang gelombang yang lebih panjang ke arah sinar tampak atau disebut pergeseran batokromik (Riyanto, 2017).



Gambar 2. 8 Instrumentasi Spektrofotometer Uv-Vis

Double Beam (Vogel, 1989)

Analisis senyawa flavonoid menggunakan spektrofotometer UV-Vis dapat digunakan untuk membantu mengidentifikasi jenis flavonoid dan menentukan pola oksigenasi (Markham, 1988). Analisis kuantitatif senyawa flavonoid menggunakan spektrofotometer UV-Vis berdasarkan hukum Lambert-Beer karena adanya gugus kromofor dan aoksokrom yang menyebabkan molekul-molekul senyawa flavonoid dapat memberikan serapan yang bermakna ketika berinteraksi dengan radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang 200-780 nm akan menyebabkan transisi elektronik. Sampel flavonoid yang diuji direaksikan dengan pereaksi geser agar membentuk senyawa kompleks yang serapannya berada pada daerah sinar tampak sehingga dapat diukur menggunakan persamaan Lambert-Beer:

Persamaan Lambert-Beer:

$$A = \epsilon \times c \times d$$

Dimana A adalah serapan (absorbansi), ϵ adalah koefisien absorpsi, C adalah konsentrasi flavonoid, dan d adalah panjang sel (Markham, 1988).

2.6 Validasi metode

Validasi metode merupakan salah satu bentuk kegiatan untuk pengendalian dan penjaminan mutu terhadap metode non standar atau metode yang dikembangkan laboratorium berupa konfirmasi dengan melakukan pengujian di laboratorium dan pengadaan bukti yang objektif bahwa persyaratan tertentu untuk suatu maksud khusus dapat mendapatkan hasil yang baik dan sesuai untuk peruntukannya (Riyanto, 2014).

2.6.1 Linieritas

Linieritas adalah parameter validasi untuk menentukan kemampuan suatu metode analisis mendapatkan hasil pengujian proporsional yang berbanding lurus dengan konsentrasi analit yang terdapat dalam sampel pada rentang konsentrasi tertentu (Riyanto, 2014). Linieritas didapat berdasarkan pengujian deret standar larutan baku dengan konsentrasi yang berbeda untuk memperoleh kurva kalibrasi standar. Kurva kalibrasi yang diperoleh selanjutnya dibuat persamaan regresi linier $y=ax+b$, dimana x adalah konsentrasi, y adalah absorbansi atau respon alat, adalah *slope*, dan b adalah intersep. Nilai *slope* yang dihasilkan menggambarkan

sensitifitas metode pengujian dan nilai intersep menggambarkan sinyal blanko. Uji linieritas dilihat berdasarkan nilai *slope*, intersep, koefisien determinasi (R^2), dan koefisien korelasi (r). Syarat suatu metode memenuhi linieritas yang baik, yaitu nilai $R^2 > 0,997$ dan $r \geq 0,995$ (Riyanto, 2014).

2.6.2 *Limit of Detection (LOD)* dan *Limit of Quantitation (LOQ)*

Batas deteksi (*Limit of Detection*) adalah batas deteksi terkecil konsentrasi analit yang dapat dideteksi oleh alat dan memberikan respon yang signifikan dibandingkan blanko namun tidak dapat dikuantisasi secara tepat. Sedangkan batas kuantisasi (*Limit of Quantitation*) merupakan batas deteksi kuantitas konsentrasi terkecil analit yang dapat dideteksi alat yang ditentukan secara kuantitatif dengan tingkat presisi dan akurasi yang tepat. *Limit of Detection (LOD)* dan *Limit of Quantitation (LOQ)* dapat ditentukan dengan beberapa cara, yaitu *signal-to-noise*, penentuan blanko, dan kurva kalibrasi pengukuran larutan standar (Riyanto, 2014). Cara yang umum digunakan menggunakan kurva kalibrasi dengan nilai Sy/x sebagai simpangan baku atau disebut juga standar deviasi residual kurva kalibrasi.

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y - y_i)^2}{n - 2}}$$

$$LOD = \frac{\frac{3 \times S_{y/x}}{x}}{\text{slope}}$$

$$LOQ = \frac{10 \times S_{y/x}}{\text{slope}}$$

2.6.3 **Presisi**

Presisi adalah parameter yang menggambarkan seberapa dekat hasil pengukuran yang dilakukan berulang oleh analis dalam kondisi tertentu dalam interval waktu yang singkat. Presisi dapat dinyatakan dalam *repeatability* (keterulangan), *intermediate precision* (presisi antara), dan *reproducibility* (ketertiruan). *Repeatability* (keterulangan) adalah keseksamaan metode yang dilakukan berulang oleh analis yang sama pada kondisi yang sama selama interval waktu yang singkat. *Intermediate precision* (presisi antara) didefinisikan sebagai

pengujian presisi yang dilakukan di laboratorium yang sama dengan variasi kondisi misalnya variasi analisis, hari, atau peralatan. *Reproducibility* (ketertiruan) adalah keseksamaan metode yang dibandingkan antar laboratorium yang berbeda, kondisi, dan peralatan yang berbeda. Presisi yang baik dilihat berdasarkan %RSD (*Relative Standard Deviasi*) jika sampel lebih dari dua dengan syarat keberterimaan $\leq 2\%$. Sedangkan untuk presisi dengan pengulangan sampel duplo maka menggunakan %RPD (*Relative Percent Difference*) dengan syarat keberterimaannya $\leq 10\%$. Jika nilai %RSD melebihi syarat keberterimaan maka harus dicari koefisien variasi atau CV Horwitz (Riyanto, 2014).

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

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

$$CV \text{ Horwitz} = 2^{1-0,5\log C}$$

2.6.4 Akurasi

Akurasi merupakan parameter yang menggambarkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya (Riyanto, 2014). Uji akurasi dengan menguji larutan *spike* yang berasal dari analit sampel yang ditambahkan sejumlah larutan standar baku sesuai akurasi yang diinginkan. Nilai akurasi dinyatakan dalam %Recovery. Menurut *Association of Official Analytical Chemistry* (AOAC) tahun 2002, nilai akurasi yang baik berada pada rentang 80-115% pada kadar target 10 ppm.

$$C_{spike} = \frac{y - b}{a}$$

$$C_{target} = \frac{V_{standar} \times C_{standar}}{V_{total}}$$

$$\%Recovery = \frac{C_{spike} - C_{sampel}}{C_{target}} \times 100\%$$

2.6.5 Estimasi ketidakpastian pengukuran

Estimasi ketidakpastian pengukuran diatur dalam ISO/IEC 17025:2005 terkait persyaratan umum kompetensi laboratorium pengujian dan kalibrasi. Estimasi ketidakpastian pengukuran merupakan parameter hasil pengujian yang merepresentasikan penyebaran nilai hasil pengukuran dari beberapa komponen yang digabungkan menjadi ketidakpastian keseluruhan (Riyanto, 2014). Penyumbang estimasi ketidakpastian pengukuran berasal dari rumus perolehan kadar yang selanjutnya menjadi sumber-sumber kesalahan yang dipadukan menjadi suatu rentang tunggal. Sumber-sumber estimasi ketidakpastian ditentukan dengan cara *fishbone* atau diagram tulang ikan (Pramono, 2014).

Jenis-jenis ketidakpastian pengukuran:

tipe A: ketidakpastian pengukuran yang berasal dari eksperimental dan pengukuran

berulang
$$\mu = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

tipe B: ketidakpastian pengukuran yang berasal dari informasi baku pengukuran yang dapat dipercaya dari koreksi oleh distribusi probabilitas nilai yang diukur.

Jenis distribusi penyumbang ketidakpastian:

1. distribusi normal dengan tingkat kepercayaan 95% ($k=2$),

$$\mu = \frac{Q_u}{k}$$

2. distribusi *rectangular*, dan

$$\mu = \frac{Q_u}{\sqrt{3}}$$

3. distribusi *triangular*

$$\mu = \frac{Q_u}{\sqrt{6}} \quad (\text{Riyanto, 2014}).$$

Setiap komponen pengujian yang menjadi penyumbang ketidakpastian selanjutnya menjadi ketidakpastian gabungan (*combined uncertainty*). Jika komponen ketidakpastian memiliki satuan yang sama, maka ketidakpastian gabungan adalah akar pangkat dua dari jumlah ketidakpastian baku. Sedangkan, jika komponen ketidakpastian satuannya tidak sama, maka perlu disamakan satuannya melalui ketidakpastian relatif. Ketidakpastian diperluas memberikan probabilitas pengujian bahwa hasil uji berada rentang yang dipersyaratkan dengan cara mengalikan ketidakpastian gabungan dengan faktor tingkat kepercayaan 95%.

Ketidakpastian gabungan dengan satuan sama,

$$U_c = \sqrt{(\mu a)^2 + (\mu b)^2 + \dots}$$

Ketidakpastian gabungan dengan satuan berbeda,

$$\frac{U_c}{C} = \sqrt{\left(\frac{\mu a}{a}\right)^2 + \left(\frac{\mu b}{b}\right)^2 + \dots}$$

Ketidakpastian diperluas tingkat kepercayaan 95% (k=2),

$$U = U_c \times k \quad (\text{Riyanto, 2014})$$



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat

Alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Vis *double beam* Hitachi UH5300, neraca analitik Ohaus, rotary evaporator Scilogex RE100-S, labu ukur 10, 25, 100 mL Iwaki Pyrex, erlenmeyer 250 mL Iwaki Pyrex, gelas beaker 500 mL Iwaki, pipet ukur 1 mL dan 10 mL Iwaki Pyrex, tabung reaksi Pyrex, kaca arloji, botol timbang Iwaki, kuvet, spatula, pengaduk kaca, oven, ayakan mesh 100, gerinda, corong gelas, gunting, propipet.

3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel daun karet kebo diambil dari pohon karet kebo yang terletak di belakang Masjid Ulil Albab UII, metanol 99% merek Merck diperoleh dari Sentra Chemicals Indonesia, etanol 96% merek Merck dari Sentra Chemicals Indonesia, etanol pro analisis 100% merek Merck dari Laboratorium Kimia Terapan, standar kuersetin merek Sigma dari Sentra Chemicals Indonesia, $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ merek Merck dari Sentra Chemicals Indonesia, $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ merek Merck dari Laboratorium Kimia Terapan, aquades, kertas saring whatman, plastik *wrap*.

3.3 Cara kerja

3.3.1 Preparasi sampel

Daun karet kebo, dicuci dan dirajang tipis, dikeringkan dengan oven pada suhu 100°C selama 24 jam. Simplisia kering dihaluskan dan diayak menggunakan ayakan mesh 100. Serbuk daun karet kebo masing-masing ditimbang 50 g dan dimaserasi dalam 250 mL pelarut metanol 99%. Maserasi diaduk 2 kali sehari selama 10 menit. Maserasi dilakukan 5 hari (120 jam) pada suhu ($26\text{--}28^\circ\text{C}$). Filtrat dan residu disaring dengan kertas saring whatman menggunakan vakum buchner, dipekatkan dengan evaporator suhu 55°C hingga ekstrak menjadi pekat. Langkah yang sama dilakukan menggunakan variasi pelarut etanol 96% dan etanol p.a.

3.3.2 Uji kualitatif flavonoid menggunakan FTIR-ATR

Perangkat FTIR-ATR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy-Attenuated Total Reflectance*) dinyalakan dengan menekan tombol *on/off*. *Software* FTIR yang tersedia pada komputer dibuka dan dilakukan pengujian dengan meletakkan sampel ekstrak daun karet kebo yang akan diuji pada permukaan sel. Hasil pembacaan berupa peak dan dicocokkan dengan standar senyawa organik penyusunnya.

3.3.3 Uji kuantitatif flavonoid ekstrak daun karet kebo

3.3.3.1 Pembuatan AlCl_3 2%

Padatan AlCl_3 ditimbang sebanyak 0,5 gram dan dilarutkan menggunakan akuades dalam labu ukur 25 mL. Larutan ditepatkan volumenya sesuai tanda batas, ditera, diseka, dan dihomogenkan.

3.3.3.2 Pembuatan $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 1M

Natrium asetat trihidrat ditimbang sebanyak 3,4019 gram selanjutnya dilarutkan menggunakan akuades dalam labu ukur 25 mL. Larutan ditepatkan volumenya sesuai tanda batas, ditera, diseka, dan dihomogenkan.

3.3.3.3 Pembuatan larutan uji ekstrak flavonoid daun karet kebo 100 ppm

Masing-masing ekstrak kental daun karet kebo dari variasi dalam pelarut metanol teknis 99%, etanol teknis 96%, dan etanol p.a ditimbang sebanyak 10 mg. dilarutkan dengan sedikit etanol 96% dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Larutan ditepatkan volumenya dengan etanol 96% sampai tanda batas lalu dihomogenkan, sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Larutan stok uji 1000 ppm selanjutnya dipipet 1 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Larutan ditepatkan volumenya menggunakan etanol 96% sampai tanda batas lalu dihomogenkan dan diperoleh larutan uji 100 ppm.

3.3.3.4 Penentuan kadar flavonoid total ekstrak daun karet kebo

Masing-masing larutan uji ekstrak metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% daun karet kebo konsentrasi 100 ppm dipipet sebanyak 2 mL dimasukkan

tabung reaksi. Larutan tersebut ditambahkan 2 mL AlCl_3 2%, $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 1M sebanyak 2 mL. Sampel diinkubasi selama 1 jam pada suhu kamar. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang maksimal dari gelombang maksimum standar baku kuersetin. Nilai pengukuran absorbansi dari ekstrak metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% daun karet kebo (dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi kuersetin yang telah diukur sebelumnya. Sampel dilakukan replikasi sebanyak 3 kali pembacaan. Nilai pengukuran absorbansi pada ekstrak metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% daun karet kebo (*Ficus elastica*) digunakan untuk menentukan kadar flavonoid total dapat ditentukan dengan rumus:

$$\text{Kadar flavonoid total ekstrak(\%)} = \frac{C}{m} \times V \times F_p \times 100\%$$

Keterangan = F :Jumlah flavonoid total (%)
 C : Konsentrasi kesetaraan kuersetin (mg/L)
 V : Volume total sampel (L)
 F_p : Faktor pengenceran
 m : Berat sampel ekstrak (mg)

3.3.4 Linieritas

3.3.4.1 Pembuatan larutan kuersetin 1000 ppm

Kuersetin ditimbang 10 mg dilarutkan menggunakan etanol 96% dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Etanol 96% ditambahkan sampai tanda batas. Larutan diseka dan dihomogenkan (Suhaenah *et al.*, 2021)

3.3.4.2 Pembuatan larutan kuersetin 100 ppm

Larutan kuersetin 1000 ppm dipipet sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Etanol 96% ditambahkan sampai tanda batas. Larutan diseka dan dihomogenkan.

3.3.4.3 Pembuatan larutan deret standar kuersetin

Larutan pembanding kuersetin 100 ppm dipipet sebanyak 0,25 mL; 0,5 mL; 1 mL, 2 mL; dan 3 mL masing-masing dimasukkan kedalam labu ukur 10mL ditambahkan dengan etanol 96% hingga tanda batas. Konsentrasi yang didapat

adalah 2,5 ppm; 5 ppm; 10 ppm; 20 ppm; dan 30 ppm. Larutan dari masing-masing konsentrasi dipipet 2 mL dan masing-masing larutan ditambahkan 2 mL AlCl_3 2%, $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 1 M 2 mL. Larutan didiamkan selama 1 jam lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dengan pengulangan 3 kali pembacaan pada setiap konsentrasi.

3.3.4.4 Penentuan panjang gelombang maksimum

Penentuan selektifitas dengan pemilihan panjang gelombang maksimum dari kuersetin 10 ppm sebagai pembanding dan diukur absorbansinya dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm.

3.3.5 Penentuan presisi

Larutan sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal. Pengulangan dilakukan 6 kali setiap sampel uji. Sehingga didapatkan nilai %RSD.

3.3.6 Penentuan akurasi

Larutan stok uji 1000 ppm selanjutnya diencerkan menjadi 100 ppm dengan cara dipipet 1 mL larutan dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10, ditambahkan 1 mL larutan standar kuersetin 100 ppm. Larutan ditepatkan volumenya menggunakan etanol 96% sampai tanda batas lalu dihomogenkan. Larutan dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimal. Lakukan pengujian duplo dan hasil dinyatakan dalam % perolehan kembali (% *Recovery*).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi sampel

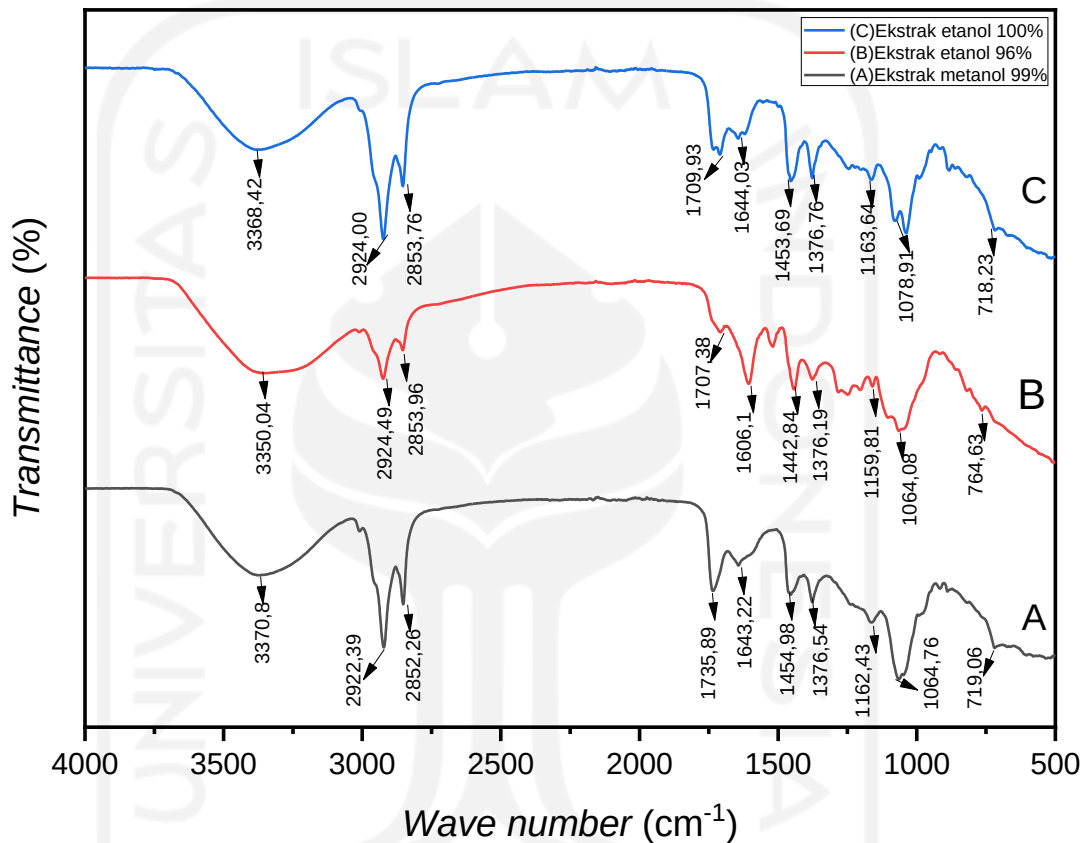
Tumbuhan karet kebo (*Ficus elastica*) merupakan tanaman yang cukup mudah ditemui di Indonesia. Selain sebagai tanaman hias, tumbuhan karet kebo banyak oleh masyarakat Indonesia sebagai obat herbal tradisional bagi manusia dan hewan. Menurut Hossain *et al.*, 2013, kandungan senyawa flavonoid dalam karet kebo (*Ficus elastica*) bermanfaat sebagai antikanker, antiangionik, antiinflamasi, antioksidan, antialergi, dan antimikroba.

Penentuan flavonoid total daun karet kebo dalam penelitian ini menggunakan tiga variasi pelarut untuk ekstraksi senyawa flavonoid, yaitu pelarut metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100%. Variasi pelarut ini untuk mengetahui pelarut yang sesuai untuk proses ekstraksi flavonoid dalam daun karet kebo karena setiap jenis senyawa flavonoid mempunyai tingkat kepolaran yang berbeda. Dalam penelitian ini, daun karet kebo segar dirajang dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 110°C selama 24 jam untuk menghilangkan kadar air dan menghentikan reaksi enzimatis. Menurut Markham, 1988, simplisia kering tidak akan mempengaruhi kandungan flavonoid yang ada didalam tanaman selama masa penyimpanan. Daun karet kebo kering dihaluskan dan disaring menggunakan ayakan mesh 100 agar memiliki ukuran yang sama dan memperluas kontak dengan pelarut. Setelah itu, 50 gram karet kebo kering dimaserasi menggunakan tiga pelarut yang berbeda, yaitu metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% sebanyak 250 mL selama lima hari (120 jam) dalam toples kaca yang diletakkan ditempat gelap untuk menghindari adanya reaksi lain akibat adanya cahaya matahari. Ekstraksi diaduk dua kali sehari selama 10 menit agar memaksimalkan kontak simplisia dengan pelarut. Ekstrak cair disaring menggunakan corong *buchner* kemudian dipisahkan dengan pelarutnya hingga diperoleh ekstrak kental menggunakan evaporator pada suhu 55°C agar senyawa metabolit sekundernya tidak rusak karena suhu tinggi (Purwanti *et al*, 2018).

4.2 Uji kualitatif dan kuantitatif flavonoid ekstrak daun karet kebo

4.2.1 Uji kualitatif flavonoid menggunakan FTIR-ATR

Ekstrak kental daun karet kebo dilakukan pengujian menggunakan FTIR-ATR (*Fourier-transform Infrared Spectroscopy - Attenuated Total Reflectance*) untuk mengetahui gugus fungsi penyusunnya. Spektrum FTIR ekstrak daun karet kebo terlihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4. 1 Uji Kualitatif Ekstrak Daun Karet Kebo (A) Ekstrak Metanol 99%, (B) Ekstrak Etanol 96%, (C) Ekstrak Etanol 100%

Spektrum IR ekstrak metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% daun karet kebo epada Gambar 4.1 menunjukkan vibrasi pada bilangan gelombang 3370,8; 3350,04; dan 3368,42 cm⁻¹ yang memberikan informasi terkait adanya vibrasi gugus -OH berdasarkan standar kuersetin yang bervibrasi pada 3406-3323 cm⁻¹. Bilangan gelombang pada vibrasi 1643,22; 1606,1; dan 1644,03 cm⁻¹ merupakan vibrasi gugus fungsi C = O *stretching* berdasarkan standar kuersetin pada vibrasi 1661 cm⁻¹ (Raza *et al.*, 2016). Bilangan gelombang pada vibrasi 1735,89; 1707,38; dan 1709,93 cm⁻¹ merupakan vibrasi dari gugus fungsi C = O

berdasarkan standar kuersetin pada vibrasi 1732 cm^{-1} . Bilangan gelombang pada vibrasi 1454,98; 1442,84; dan $1453,69\text{ cm}^{-1}$ merupakan vibrasi yang berasal dari gugus fungsi $\text{C}=\text{O}$ *aromatic* berdasarkan standar kuersetin pada vibrasi bilangan gelombang 1457 cm^{-1} . Bilangan gelombang pada vibrasi 1162,43; 1159,81; dan $1163,64\text{ cm}^{-1}$ merupakan vibrasi yang berasal dari gugus fungsi $\text{C}-\text{O}-\text{H}$ *stretching* berdasarkan standar kuersetin pada vibrasi 1164 cm^{-1} (Ma *et al.*, 2018; Ali *et al.*, 2019).

Tabel 4. 1 Gugus Fungsi Ekstrak Karet Kebo

Bilangan gelombang (cm^{-1})				Gugus fungsi
Metanol 99%	Etanol 96%	Etanol 100%	Kuersetin	
3370,8	3350,04	3368,42	3406-3323	$\text{O}-\text{H}$
1735,89	1707,38	1709,93	1732	$\text{C}=\text{O}$
1643,22	1606,1	1644,03	1661	$\text{C}=\text{O}$ <i>stretching</i>
1454,98	1442,84	1453,69	1457	$\text{C}=\text{O}$ <i>aromatic</i>
1162,43	1159,81	1163,64	1164	$\text{C}-\text{O}-\text{H}$ <i>stretching</i>

(Raza *et al.*, 2016; Ma *et al.*, 2018; Ali *et al.*, 2019).

Berdasarkan spektrum FTIR pada Gambar 4.1 dan dijelaskan pada Tabel 4.1, bahwa pada ekstrak metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% terdapat gugus $\text{O}-\text{H}$, $\text{C}=\text{O}$, $\text{C}=\text{O}$ *stretching*, $\text{C}=\text{O}$ *aromatic*, dan $\text{C}-\text{O}-\text{H}$ *stretching* yang merupakan vibrasi khas dari adanya senyawa flavonoid dengan standar acuan senyawa kuersetin (Raza *et al.*, 2016; Ma *et al.*, 2018; Ali *et al.*, 2019).

4.2.2 Uji kuantitatif flavonoid

Ekstrak cair daun karet kebo setelah proses maseri kemudian dipisahkan dengan pelarutnya menggunakan evaporator hingga diperoleh ekstrak kental berwarna hijau tua-coklat kemerahan. Ekstrak kental yang dihasilkann dihitung sebagai % rendemen dan diukur kadar flavonoid total menggunakan spektrofotometer Uv-Vis.

Tabel 4. 2 Hasil Ekstraksi Daun Karet Kebo

Pelarut	Berat simplisia (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
Metanol 99%	50,0011	5,3104	10,62
Etanol 96%	50,0012	5,1416	10,28
Etanol 100%	50,0015	3,2945	6,59

Tabel 4. 3 Hasil Kadar Flavonoid Total Daun Karet Kebo

Sampel Ekstrak	C Sampel (ppm)	Kadar Kuersetin (mg QE/g)	Kadar Flavonoid Total Ekstrak (%)	Kadar Flavonoid Total Daun (%)
Metanol 99%	5,4168	54,1677	5,42	0,58
Etanol 96%	7,3460	73,4604	7,35	0,76
Etanol 100%	15,0490	150,4900	15,05	0,99

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, ekstrak kental yang diperoleh pada ekstrak metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% berturut-turut sesuai dengan Tabel 4.2, yaitu 5,3104 g; 5,1416 g; dan 3,2945 g dengan % rendemen 10,62%; 10,28%, dan 6,59%. Pengujian penentuan kadar flavonoid total daun karet kebo dilakukan seperti pada prosedur uji linieritas kurva kalibrasi standar kuersetin. Sampel ekstrak karet kebo dibuat 1000 ppm dalam larutan etanol 96%. Kemudian, larutan 1000 ppm diencerkan menjadi 100 ppm dan diukur absorbansi sampel ekstrak metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% daun karet kebo. Hasil pengujian kandungan flavonoid total ekstrak metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% daun karet kebo (*Ficus elastica*) pada Tabel 4.3. Diketahui kadar rata-rata berdasarkan pengujian sampel ekstrak metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% daun karet kebo sebesar 54,1677 mgQE/g ekstrak (0,58%); 73,4604 mgQE/g ekstrak (0,76%); dan 150,4900 mgQE/g ekstrak (0,99%).

Perbedaan hasil rendemen yang diperoleh antara masing-masing pelarut disebabkan perbedaan kepolaran senyawa flavonoid yang terdapat dalam daun karet kebo. Kepolaran metanol dan etanol dipengaruhi oleh adanya momen dipol. Momen dipol merupakan ukuran kepolaran molekul terkait dengan jumlah vektor pada momen ikatan molekul (Legiso, 2021). Momen dipol metanol, yaitu sebesar $9,6 \times 10^{30}$ /Cm sedangkan etanol $5,5 \times 10^{30}$ /Cm (Reichardt, 2003). Oleh karena itu, metanol lebih polar daripada etanol. Etanol 96% lebih polar daripada etanol 100% hal ini karena kepolaran etanol berdasarkan rantai hidrokarbonnya, semakin pendek rantai hidrokarbon maka akan semakin polar. Etanol 96% merupakan etanol dengan campuran 4% air, sehingga rantai hidrokarbonnya lebih pendek dan mempunyai cabang yang akan meningkatkan kepolarannya (Legiso, 2021). Pelarut dengan kepolaran tertinggi adalah metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100%

sesuai dengan %rendemen yang dihasilkan sehingga senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam daun karet kebo lebih banyak memiliki kepolaran tinggi.

Nilai kadar flavonoid total setiap ekstraksi menunjukkan hasil yang berbeda. Hal ini dikarenakan sifat kepolaran dari setiap pelarut berbeda. Flavonoid total ekstrak etanol 100% daun karet kebo memiliki kadar flavonoid total paling besar. Penelitian Suharsanti dan Ariani (2019) juga menyatakan bahwa kandungan flavonoid total dalam penelitian ekstraksi daun jati cina menggunakan pelarut dengan sifat yang lebih semi polar menghasilkan kadar tertinggi karena flavonoid yang terkandung memiliki sifat juga non polar. Sehingga jenis senyawa flavonoid dalam daun karet kebo bersifat semi non polar. Flavonoid yang memiliki sifat lebih ke arah non polar, yaitu isoflavon, flavanon, flavon, dan flavonol (Markham, 1988). Berdasarkan hasil penelitian, banyaknya rendemen yang dihasilkan tidak sebanding dengan kadar flavonoid total daun karet kebo. Hal ini juga disampaikan oleh Sari dan Triyasmono (2017) terkait hasil penelitiannya bahwa pada rendemen ekstrak etanol 30%, 50%, 70%, dan 96% kulit batang bangkal (*Nauclea subdita*) memiliki hasil rendemen yang tidak sebanding dengan kadar flavonoid totalnya.

4.3 Validasi metode penentuan flavonoid total daun karet kebo

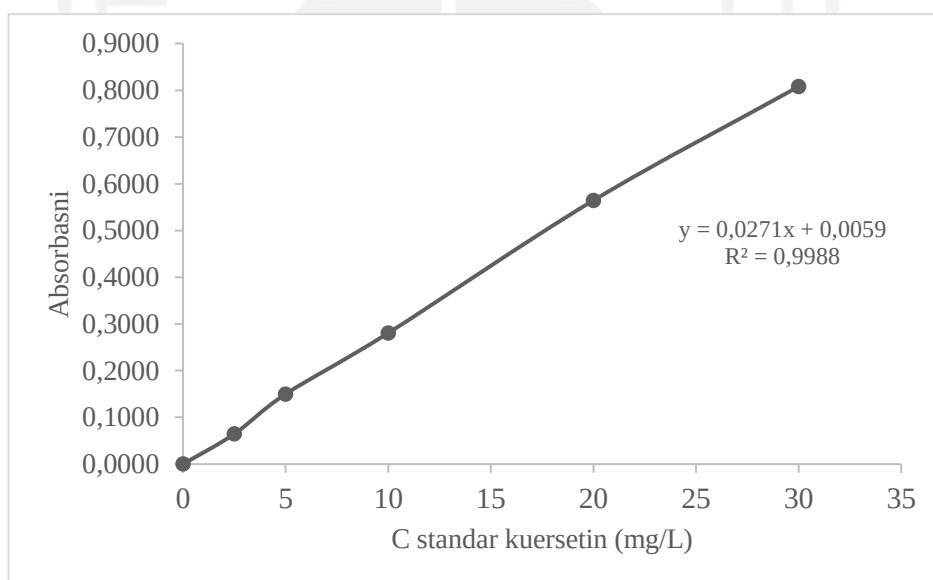
4.3.1 Linieritas standar kurva kalibrasi

Penentuan kadar flavonoid total dalam daun karet kebo menggunakan larutan standar kuersetin. Penentuan linieritas dengan cara membuat 1000 ppm larutan standar kuersetin dalam pelarut etanol 96%. Setelah itu, larutan diencerkan menjadi 100 ppm dan dibuat deret standar 0; 2,5; 5; 10; 20; dan 30 ppm. Setiap konsentrasi larutan standar kuersetin dipipet sebanyak 2 mL, dipindahkan dalam tabung reaksi, dan ditambahkan AlCl_3 dan CH_3COONa masing-masing 2 mL. Kemudian, deret standar diukur optimasi panjang gelombang maksimal dan diperoleh 443 nm. Panjang gelombang ini juga akan digunakan untuk pengukuran larutan sampel dan spike. Linieritas kurva standar menunjukkan metode pengujian yang proporsional berbanding lurus dengan konsentrasi analit. Hasil pengujian linieritas standar kurva kalibrasi kuersetin dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4. 4 Hasil Pengujian Larutan Standar

C Std (ppm)	Absorbansi			Absorbansi rata-rata	Absorbansi
	1	2	3		
0,0	0,0003	0,0001	0,0004	0,0003	0,0000
2,5	0,0644	0,0651	0,0651	0,0649	0,0646
5,0	0,1504	0,1502	0,1498	0,1501	0,1499
10,0	0,2807	0,2808	0,2808	0,2808	0,2805
20,0	0,5644	0,5646	0,5645	0,5645	0,5642
30,0	0,8079	0,8080	0,8080	0,8080	0,8077

Hasil pengujian larutan standar kuersetin menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi larutan maka akan semakin besar nilai absorbansinya. Uji linieritas merupakan proses menentukan koefisien determinasi yang diperoleh dari kurva kalibrasi standar agar memenuhi syarat keberterimaan sebesar $> 0,995$.

**Gambar 4. 2 Kurva Standar Kuersetin**

Kurva kalibrasi standar kuersetin pada Gambar 4.2 dengan hubungan antara konsentrasi standar sebagai sumbu x dan nilai absorbansi larutan sebagai sumbu y menunjukkan persamaan regresi linier, yaitu $y = 0,0271x + 0,0059$. Nilai *slope* sebesar $0,0271 >$ intersep sebesar $0,0059$, artinya pengukuran mempunyai linieritas yang baik. *Slope* menunjukkan kemiringan data dan intersep yang baik lebih kecil dari LOD karena intersep menunjukkan nilai blanko. Selain itu, koefisien determinasi (R^2) yang diperoleh sebesar $0,9988 > 0,995$ sehingga menunjukkan linieritas pengujian yang baik dan memenuhi syarat keberterimaan.

4.3.2 Limit of Detection (LOD) dan Limit of Quantitation (LOQ)

Batas deteksi (*limit of detection*) adalah batas deteksi terkecil konsentrasi analit yang dapat dideteksi oleh alat. Sedangkan batas kuantitas (*limit of quantitation*) merupakan batas deteksi kuantitas konsentrasi terkecil analit yang dapat dideteksi alat dengan tingkat akurasi.

Tabel 4. 5 Hasil LOD dan LOQ Standar Kuersetin

C Std (ppm)	Absorbansi (Y)
0,0000	0,0000
2,5000	0,0646
5,0000	0,1499
10,0000	0,2805
20,0000	0,5642
30,0000	0,8077
Sy/x	0,0122
LOD (ppm)	1,3485
LOQ (ppm)	4,4951

Berdasarkan Tabel 4.5, Sy/x merupakan simpangan baku intersep dengan nilai yang diperoleh sebesar 0,0122. Nilai LOD sebesar 1,3485 ppm diperoleh dari nilai simpangan baku intersep dikali tiga dibagi dengan *slope* dan nilai LOQ sebesar 4,4951 ppm diperoleh dari nilai simpangan baku intersep dikali sepuluh dibagi *slope*. Nilai LOD dan LOQ ini menjadi acuan konsentrasi sampel dimana konsentrasi sampel yang diuji harus lebih besar dari konsentrasi terkecil LOD dan LOQ agar pengukuran sampel menunjukkan kadar yang mendekati sebenarnya.

4.3.3 Presisi

Pengujian presisi yang dilakukan dalam pengujian adalah dengan melakukan *repeatability* (keterulangan) sampel sebanyak enam kali yang menggambarkan seberapa dekat hasil satu sama lain sebuah pemakaian metode analisis pada suatu laboratorium yang dilakukan berulang kali oleh analis, alat, dan, kondisi yang sama dalam interval waktu yang singkat. Nilai presisi dengan keterulangan sampel lebih dari dua menggunakan %RSD (*Relative Standard Deviation*) dengan syarat keberterimaan $\leq 2\%$. Jika $\%RSD \leq 2\%$ maka perlu dicari *Coefficient Variance Horwitz* (CV Horwitz) dengan syarat $\%RSD < 2/3 \% CV$ Horwitz.

Tabel 4. 6 Hasil Presisi Sampel Ekstrak Daun Karet Kabo

Perhitungan Presisi	Ekstrak Daun Karet Kebo		
	Metanol 99%	Etanol 96%	Etanol 100%
$\bar{C}$ (ppm)	5,4168	7,3460	15,0490
SD	0,1083	0,0513	0,5438
% RSD (%)	1,99	0,70	3,61
CV Horwitz(%)	12,41	11,85	10,64
2/3 CV Horwitz(%)	8,27	7,90	7,09

Hasil uji presisi berdasarkan nilai %RSD dan CV Horwitz dapat dilihat pada Tabel 4.6, ekstrak dari metanol 99% diperoleh nilai %RSD $1,99\% \leq 2\% < 2/3$ CV Horwitz 8,27%; ekstrak etanol 96% diperoleh nilai %RSD $0,70\% \leq 2\% < 2/3$ CV Horwitz 7,90%; dan ekstrak etanol 100% diperoleh nilai %RSD $3,61\% \geq 2\% < 2/3$ CV Horwitz 7,09% sehingga semua persyaratan sudah memenuhi syarat keberterimaan presisi. Berdasarkan perhitungan pada parameter presisi, presisi terbaik adalah ekstrak daun karet kebo dalam pelarut etanol 96%. Hal ini terkait dengan kestabilan pelarut saat pengukuran menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Berdasarkan data MSDS pada Merck, titik didih metanol pada 64,7 °C sedangkan etanol pada 78°C sehingga metanol lebih mudah menguap daripada etanol.

4.3.4 Akurasi

Pengujian akurasi dilakukan dengan cara membuat larutan *spike* dimana analit sampel ditambahkan dengan sejumlah larutan standar baku. Pembacaan larutan *spike* akan menggambarkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Menurut *Association of Official Analytical Chemistry* (AOAC) tahun 2002, nilai akurasi yang baik berada pada rentang 80-115% pada kadar target 10 ppm.

Tabel 4. 7 Hasil Akurasi Sampel Ekstrak Daun Karet Kabo

Perhitungan Presisi	Ekstrak Daun Karet Kebo		
	Metanol 99%	Etanol 96%	Etanol 100%
C <i>Spike</i> (ppm)	14,9969	18,7921	23,6648
C Target (ppm)	10	10	10
C Sampel (ppm)	5,4168	7,3460	15,0490
% <i>recovery</i> (%)	95,80	114,46	86,16

Berdasarkan data pengujian pada Tabel 4.7, akurasi larutan *spike* ekstrak methanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% daun karet kebo diperoleh %*recovery* sebesar 95,80%; 114,46%; dan 86,16%. Berdasarkan semua data akurasi tersebut

Estimasi ketidakpastian pengukuran kadar flavonoid tot

Penyumbang estimasi ketidakpastian pengukuran dalam pen d daun karet kebo berasal dari rumus perolehan kadar yang sumber-sumber kesalahan yang dipadukan menjadi suatu ren sumber estimasi ketidakpastian ditentukan dengan cara f tulang ikan (Pramono,2014) seperti yang ditunjukkan pada C

Penyumbang estimasi ketidakpastian pengukuran dalam penentuan kadar d daun karet kebo berasal dari rumus perolehan kadar yang selanjutnya sumber-sumber kesalahan yang dipadukan menjadi suatu rentang tunggal. sumber estimasi ketidakpastian ditentukan dengan cara *fishbone* atau tulang ikan (Pramono,2014) seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.3.

```

graph LR
    A[ ] --> B[kalibrasi pipet ukur 1 mL]
    A --> C[kalibrasi neraca]
    A --> D[ ]
    B --> E[ ]
    C --> E
    D --> F[ ]
    D --> G[ ]
    D --> H[ ]
    D --> I[ ]
    D --> J[ ]
    E --> K[ ]
    F --> L[ ]
    G --> M[ ]
    H --> N[ ]
    I --> O[ ]
    J --> P[ ]
    K --> Q[ ]
    L --> Q
    M --> Q
    N --> Q
    O --> Q
    P --> Q
    Q --> R[Kadar flavonoid total dalam daun %]
  
```

The flowchart illustrates the process of determining the total flavonoid content in leaves. It starts with a central horizontal line representing the main process flow. From this line, several boxes branch out, representing different steps and calibrations. The steps include: volume sampel, V total, faktor muai (pipet ukur 1 mL), faktor muai (labu ukur 10 mL), kalibrasi (pipet ukur 1 mL), kalibrasi (labu ukur 10 mL), kalibrasi neraca, massa daun kering, massa ekstrak sampel, massa ekstrak total, SD, presisi, and finally Kadar flavonoid total dalam daun (%).

Ketidakpastian baku berasal dari ketidakpastian kurva kalibrasi, ketidakpastian volume akhir sampel berasal dari labu ukur 10 mL, ketidakpastian sampel berasal dari sampel yang dipipet dengan pipet ukur 1mL, ketidakpastian massa sampel yang ditimbang sebanyak 10 mg, ketidakpastian ekstrak total, ketidakpastian simplisia, dan ketidakpastian presisi. Hasil dari ketidakpastian pengukuran pada penentuan kadar flavonoid total daun *Ficus elastica* terdapat pada Tabel 4.8 sesuai dengan proses penelitian di laboratorium.

Tabel 4. 8 Estimasi Ketidakpastian Ekstrak Daun Karet Kebo

Ketidakpastian	Ketidakpastian Relatif ($\mu(x)/x$)		
	Metanol 99%	Etanol 96%	Etanol 100%
μ_{C0} (kurva kalibrasi)	0,051422	0,036511	0,017792
μ_{Va} (volume akhir)	0,001252	0,001252	0,001252
μ_{Vb} (volume sampel)	0,003498	0,003498	0,003498
μ_{Ma} (massa sampel)	0,005000	0,005000	0,005000
μ_{Mb} (massa ekstrak)	0,000009	0,000010	0,000015
μ_{Mc} (massa simplisia)	0,000001	0,000001	0,000001
μ_P (presisi)	0,020000	0,006985	0,036139
μ_c (%)	0,0300	0,0280	0,0200
μ (%)	0,0601	0,0560	0,0400
Kadar flavonoid total $\pm$ ketidakpastian diperluas	0,58 $\pm$ 0,0601	0,76 $\pm$ 0,0560	0,99 $\pm$ 0,04

Berdasarkan Tabel 4.8, pelaporan estimasi ketidakpastian pada penentuan kadar flavonoid total ekstrak metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% daun karet kebo dinyatakan sebagai $0,58 \pm 0,0601$ % dengan persentase nilai kesalahan 10,44%; $0,76 \pm 0,0560$ % dengan persentase nilai kesalahan 7,42%; dan sebesar $0,99 \pm 0,0400$ % dengan persentase nilai kesalahan 4,03%.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan pengujian penentuan kadar flavonoid total ekstrak metanol 99%, etanol 96%, etanol 100% daun karet kebo, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% terdapat adanya gugus $O-H$, $C=O$, $C=O$ *stretching*, $C=O$ *aromatic*, dan $C-O-H$ *stretching* yang merupakan vibrasi khas dari adanya senyawa flavonoid. Variasi pelarut pada maserasi daun karet kebo memberikan pengaruh pada rendemen dan kadar flavonoid total. %Rendemen ekstraksi metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% daun karet kebo sebesar 10,62%; 10,28%; dan 6,59% maka dapat disimpulkan bahwa kebanyakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam daun karet kebo memiliki sifat kepolaran yang kuat. Kadar flavonoid total ekstrak metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% daun karet kebo sebesar $0,58 \pm 0,0601$ %; $0,76 \pm 0,0560$ %; dan $0,99 \pm 0,0400$ %. % Rendemen yang dihasilkan tidak menggambarkan kadar flavonoid total pada daun karet kebo.
2. Metode penentuan kadar flavonoid total ekstrak metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% daun karet kebo menunjukkan semua parameter validasi memenuhi syarat. Persamaan regresi linier yaitu $y = 0,0271x + 0,0059$ dan koefisien determinasi (R^2) yang diperoleh sebesar $0,9988 > 0,995$. Nilai LOD sebesar 1,3485 ppm dan nilai LOQ sebesar 4,4951 ppm lebih kecil dari setiap konsentrasi sampel metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% sebesar 5,4168 ppm; 7,3460 ppm; dan 15,0490 ppm. Nilai %RSD menunjukkan semua metode presisi, yaitu 1,99%; 0,70%; dan 3,61% $< 2/3$ CV Horwitz. Nilai %Recovery menunjukkan akurasi yang baik karena 95,80%; 114,46%; dan 86,16% masih berada pada rentang 80-115%. Estimasi ketidakpastian juga memenuhi syarat keberterimaan sehingga metode ini tervalidasi.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penentuan kadar flavonoid dalam daun karet kebo (*Ficus elastica*) menggunakan pelarut metanol 99%, etanol 96%, dan etanol 100% menggunakan spektrofotometer Uv-Vis, disarankan untuk dapat menggunakan pelarut metanol dalam penelitian selanjutnya agar dapat membandingkan hasil penggunaan pelarut yang berbeda.



DAFTAR PUSTAKA

- Adi, T. L., 2006, *Tanaman Obat dan Jus Untuk Asam Urat dan Rematik*, Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Ali, A.A., Osman, A., Eita, A. M. A., dan Sitohy, M.Z., 2019, Isolation and Characterization of Quercetin and Kaempferol From Ginkgo Biloba Leaves Grown In Egypt, *Biotechnology Research*, 46 (5), 1563-1571.
- Azizah, D. N., Kumolowati, E., dan Faramayuda, F., 2014, Penetapan Kadar Flavonoid Metode AlCl_3 Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*), *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(2), 45-49.
- Berg, C. C., Corner, E. J. H., and Jarrett, F. M., 2006, *Moraceae* (Genera Other Than *Ficus*). *Flora Malesiana, Ser. 1*, 17 (1)(1), 1–154.
- Can-ake R, Gilda ER, Filogonio MP, Luis MP, *Rev Soc Quim Mex*, Bioactive terpenoids from roots and leaves of *Jatropha gaumeri*, 2004, Mexico: 48.
- Dewi, D., 2012, Aktivitas Antioksidan Dadak Sorgum Lokal Varietas Coklat (*Sorgum bicolor*) Hasil Ekstraksi Berbagai Pelarut, *Jurnal Teknologi Penelitian*, 8(3), 12-20.
- Dewi, N. W.R. K., Gunawan, I. W., dan Puspawati, N.M., 2017, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Golongan Flavonoid dari Ekstrak Etil Asetat Daun Pranajiwa (*Euchresta Horsfieldii Lesch Benn.*), *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*, 5(1), 26-34.
- Gupita, N.A., 2021, Efektivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Beringin (*Ficus Benjamina L.*), Daun Tin (*Ficus Carica L.*) dan Daun Karet Kebo (*Ficus Elastica*) terhadap Bakteri *Escherichia Coli*. *Skripsi*. Fakultas Sains Dan Teknologi. Surabaya: Universitas Islam Negeri Sunan Ampel
- Harborne, J.B., 1996, *Metoda Fitokimia - Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Penerjemah: Kosasih Padmawinata dan Imam Sudiro, Edisi III, Bandung: Penerbit ITB.
- Hendryani, R., Lutfi, M. dan Hawa, L. C, 2015, Ekstraksi Antioksidan Daun Sirih Merah Kering (*Piper Crotatum*) dengan Metode Pra-Perlakuan Ultrasonic Assisted Extraction (Kajian Perbandingan Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi, *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*, 3(2), 33–38.
- Hossain, M. A., AL-Raqmi, K. A. S., AL-Mijizy, Z. H., Weli, A. M. dan Al-Riyami, Q, 2013, Study of Total Phenol, Flavonoids Contents And Phytochemical Screening Of Various Leaves Crude Extracts Of Locally Grown Thymus Vulgaris, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(9), 705–710.
- Indrayani, S., 2008, Validasi Penetapan Kadar Kuersetin dalam Sediaan Krim Secara Kolorimetri dengan Pereaksi AlCl_3 , *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Kelly, G. S., 2011, Quercetin, Monograph., *Med Rev*, 16(2), 172-194.
- Legiso, K.A.R., 2021, *Kimia Organik*, Edisi 1, Palembang: Noer Fikri Offset.
- Ma, X. *et al.*, 2018, Preparation and characterization of dummy molecularly imprinted polymers for separation and determination of farrerol from Rhododendron aganniphum using HPLC, *Green Chemistry Letters and Reviews*, 11(4), 513-522.
- Markham, K.H., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Edisi 2, Penerjemah: Kosasih Padmawinata, Bandung: Penerbit ITB.

- Pangestuty, A., 2016, Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Buah Buni (*Antidesma bunius L spreng*) dengan Metode 2,2-difenil-1-pikrihidrazil (DPPH) dan Metode *Fiolin Ciocalteu*, *Skripsi*, Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Pramono, U., 2014, *Estimasi Ketidakpastian Pengukuran*, Tangerang: BMD Street Consulting
- Purwanti, N. U., Luliana, S., dan Sari, N., 2018, Pengaruh Cara Pengeringan Simplisia Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius*) terhadap Aktivitas Penangkal, *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (PMJ)*, 1(2), 63–72.
- Puspitasari, A. D., dan Proyogo, L. S., 2017, Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*), *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 1–8.
- Raza, A., Xu, X., Xia, L., Xia, C., Tang, J., dan Ouyang, Z., 2016, Quercetin-Iron Complex: Synthesis, Characterization, Antioxidant, DNA Binding, DNA Cleavage, and Antibacterial Activity Studies, *Journal of Fluoresce.*
- Reichardt, C 2003, *Solvents and solvent effects in organic chemistry*, Universitas Marburg, Germany.
- Riyanto, 2014, *Validasi dan Verifikasi Metode Uji: Sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi*, Yogyakarta: Deepublish.
- Rohyami, Y., 2007, Identifikasi Flavonoid dari Ekstrak Metanol Buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa Boerl*) Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis, *Skripsi*, FMIPA, Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
- Saeed, A., Iqbal, Z., Gulzar, Z., Hai, Z., Akram, M., Liaqat, L. dan Khalil, H., 2017, GC-FID and Physicochemical Studies of Oil from The Leaves of *Ficus elastica Linn*, *World Journal of Pharmaceutical Research*, 6(1), 47-53.
- Sari, D. I. dan Triyasmono, L. (2017). Rendemen dan flavonoid total ekstrak etanol kulit batang bangkal (*Nauclea subdita*) dengan metode maserasi ultrasonikasi. *Jurnal Pharmascience*, 4(1): 48–53.
- Setiawan, D., 2008, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, Jilid 5, Jakarta: Pustaka Bunda.
- Sirisha, N., Sreenivasulu, M., Sangeeta, K. dan Chetty, C. M., 2010, Antioxidant Properties of *Ficus* Species. A Review. *Int.J. Pharm Tech Res*, 2(4), 2174-2182.
- Subroto, A., 2006, *Gempur Penyakit Dengan Sarang Semut*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Suhaenah, A., Pratama, M., Amir, A. H. W., 2021, Penetapan Kadar Flavonoid Fraksi Etil Asetat Daun Karet Kebo (*Ficus Elastica*) dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis, *As-Syifaa Jurnal Farmasi*, 13(1), 48-54.
- Suharsanti, R. dan Ariani, L. W., 2019, Potensi Tabir Surya Serta Kandungan Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Jati Cina (*Cassia Angustifolia*) Pada Berbagai Konsentrasi Pelarut. *Media Farmasi Indonesia*, 14(1), 1421–1426.
- Suhendra, C.P., Widiarta, I.W.R. dan Widayani, 2019, Pengaruh Konsentrasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Ilalang (*Imperata cylindrica (L) Beauv.*) pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 8(1), 27-35.
- Vogel, A.I., 1989, *Vogel's textbook of Quantitative Chemical Analysis*, Edisi 5, United Kingdom : Longman Gro

LAMPIRAN



Lampiran 1. Perhitungan Pembuatan Larutan Pereaksi

1. Pembuatan Larutan AlCl_3 2% (b/v)

Konsentrasi yang dibuat= 2%

Volume larutan = 25 mL

$$\%(\text{b/v}) = \frac{\text{massa yang ditimbang}}{\text{volume larutan}} \times 100\%$$

$$\text{Massa AlCl}_3 = \frac{2\%}{100\%} \times 25 \text{ mL} = 0,5 \text{ gram}$$

2. Pembuatan Larutan CH_3COONa 1M

Mr $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ = 136,0796 g/mol

Volume = 25 mL

Molaritas = 1 M

$$\text{Molaritas} = \frac{\text{massa}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{V}$$

$$\text{Massa CH}_3\text{COONa} = \frac{1\text{M} \times 136,0796 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times 25 \text{ mL}}{1000} = 3,4019 \text{ gram}$$

Lampiran 2. Pembuatan Larutan Deret Standar Kuersetin

1. Pembuatan Kuersetin 1000 ppm

$$1000 \text{ mg/L} = \frac{\text{massa yang ditimbang}}{\text{volume larutan}}$$

$$\text{Massa kuersetin yang ditimbang} = 1000 \text{ mg/L} \times 0,01 \text{ L} = 10 \text{ mg}$$

2. Pembuatan Larutan Deret Standar Kuersetin

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

Keterangan :

V_1 = Volume Larutan yang dipipet (mL)

C_1 = Konsentrasi awal larutan (mg/L)

V_2 = Volume Larutan yang dibuat (mL)

C_2 = Konsentrasi larutan yang akan dibuat (mg/L)

- Kuersetin 100 ppm

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{C_1} = \frac{100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 1 \text{ mL}$$

- Kuersetin 2,5 ppm

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{C_1} = \frac{2,5 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 0,25 \text{ mL}$$

- Kuersetin 5 ppm

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{C_1} = \frac{5 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 0,5 \text{ mL}$$

- Kuersetin 10 ppm

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{C_1} = \frac{10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 1 \text{ mL}$$

- Kuersetin 20 ppm

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{C_1} = \frac{20 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 2 \text{ mL}$$

- Kuersetin 30 ppm

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{C_1} = \frac{30 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 3 \text{ mL}$$

Lampiran 3. Pembuat Larutan Sampel

1. Pembuatan Larutan Stok Sampel 1000 ppm

$$1000 \text{ mg/L} = \frac{\text{massa yang ditimbang}}{\text{volume larutan}}$$

Massa kuersetin yang ditimbang = $1000 \text{ mg/L} \times 0,01 \text{ L} = 10 \text{ mg}$

2. Pembuatan Larutan Sampel 100 ppm

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

Keterangan :

V_1 = Volume Larutan yang dipipet (mL)

C_1 = Konsentrasi awal larutan (mg/L)

V_2 = Volume Larutan yang dibuat (mL)

C_2 = Konsentrasi larutan yang akan dibuat (mg/L)

$$V_1 = \frac{C_2 \times V_2}{C_1} = \frac{100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 1 \text{ mL}$$

Lampiran 4. Penentuan % Rendemen Sampel

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Massa ekstrak}}{\text{Massa simplisia}} \times 100\%$$

1. Ekstrak Metanol Daun Karet Kebo

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{5,3104 \text{ gram}}{50,0011 \text{ gram}} \times 100\% = 10,62\%$$

2. Ekstrak Etanol 96% Daun Karet Kebo

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{5,1416 \text{ gram}}{50,0012 \text{ gram}} \times 100\% = 10,28\%$$

3. Ekstrak Etanol p.a Daun Karet Kebo

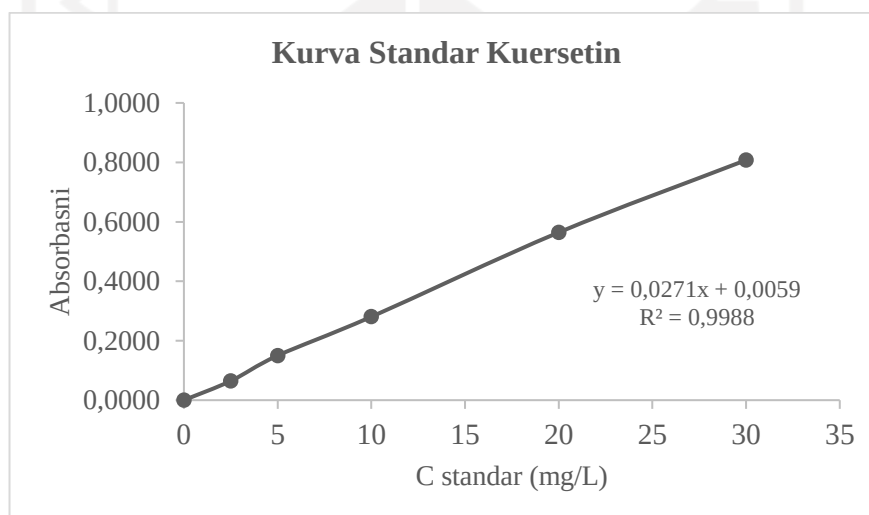
$$\% \text{ Rendemen} = \frac{3,2945 \text{ gram}}{50,0015 \text{ gram}} \times 100\% = 6,59\%$$

Lampiran 5. Perhitungan Linieritas

1. Linieritas Larutan Standar

Tabel Hasil Absorbansi Larutan Kuersetin

C Std (ppm)	Absorbansi			Absorbansi Rata-rata	Absorbansi
	1	2	3		
0,0000	0,0003	0,0001	0,0004	0,0003	0,0000
2,5000	0,0644	0,0651	0,0651	0,0649	0,0646
5,0000	0,1504	0,1502	0,1498	0,1501	0,1499
10,0000	0,2807	0,2808	0,2808	0,2808	0,2805
20,0000	0,5644	0,5646	0,5645	0,5645	0,5642
30,0000	0,8079	0,8080	0,8080	0,8080	0,8077



Gambar Kurva Standar Kuersetin

Tabel Hasil Linieritas

Persamaan	Slope	Intersep	R	R ²
$y = 0,0271x + 0,0059$	0,0271	0,0059	0,9994	0,9988

Lampiran 6. *Limit of Detection (LOD)*, dan *Limit of Quantitation (LOQ)*

1. LOD dan LOQ

Tabel Perhitungan LOD dan LOQ

C Std (ppm)	Abs (Y)	Yi	(Y-Yi)	(Y-Yi) ²
0,0000	0,0000	0,0059	-0,0059	0,000035
2,5000	0,0646	0,0737	-0,0091	0,00008
5,0000	0,1499	0,1414	0,0085	0,00007
10,0000	0,2805	0,2769	0,0036	0,00001
20,0000	0,5642	0,5479	0,0163	0,00027
30,0000	0,8077	0,8189	-0,0112	0,00013
$\Sigma (Yi-Y)^2$				0,0006
Sy/x				0,0122
LOD (ppm)				1,3485
LOQ (ppm)				4,4951

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\Sigma (y-y_i)^2}{n-2}} = \sqrt{\frac{0,0006}{4}} = 0,0122$$

$$LOD = \frac{3 \times S_{y/x}}{\text{slope}} = \frac{3 \times 0,0122}{0,0271} = 1,3485 \text{ ppm}$$

$$LOQ = \frac{10 \times S_{y/x}}{\text{slope}} = \frac{10 \times 0,0122}{0,0271} = 4,4951 \text{ ppm}$$

Lampiran 7. Perhitungan Presisi

1. Presisi Sampel Ekstrak Metanol Daun Karet Kebo

Tabel Konsentrasi Sampel Ekstrak Metanol Daun Karet Kebo

Sampel	Absorbansi			Absorbansi	Konsentrasi (Xi) (mg/L)	(Fp)	Konsentrasi (X) (mg/L)
	1	2	3				
1	0,1510	0,1508	0,1509	0,1509	5,3506	1	5,3506
2	0,1551	0,1552	0,1555	0,1553	5,5117		5,5117
3	0,1548	0,1552	0,1551	0,1550	5,5031		5,5031
4	0,1497	0,1498	0,1495	0,1497	5,3050		5,3050
5	0,1557	0,1556	0,1558	0,1557	5,5277		5,5277
6	0,1494	0,1497	0,1497	0,1496	5,3026		5,3026

Tabel Presisi Ekstrak Metanol Daun Karet Kebo

$\bar{X}$ (ppm)	$(\bar{X} - X)^2$	$\sum (\bar{X} - X)^2$	SD	% RSD (%)
5,4168	0,0044	0,0587	0,1083	1,99
	0,0090			
	0,0074			
	0,0125			
	0,0123			
	0,0130			

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (Xi - \bar{X})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{0,0587}{5}} = 0,1083$$

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\% = \frac{0,1083}{5,4168} \times 100\% = 1,99\%$$

2. Presisi Sampel Ekstrak Etanol 96% Daun Karet Kebo

Tabel Konsentrasi Sampel Ekstrak Etanol 96% Daun Karet Kebo

Sampel	Absorbansi			Absorbansi	Konsentrasi (Xi) (mg/L)	(Fp)	Konsentrasi (X) (mg/L)
	1	2	3				
1	0,2062	0,2048	0,2047	0,2052	7,3555	1	7,3555
2	0,2024	0,2027	0,2037	0,2029	7,2706		7,2706
3	0,2068	0,2069	0,2068	0,2068	7,4145		7,4145
4	0,2062	0,206	0,2061	0,2061	7,3875		7,3875
5	0,2042	0,2046	0,2046	0,2045	7,3272		7,3272
6	0,2044	0,2041	0,2044	0,2043	7,3210		7,3210

Tabel Presisi Ekstrak Etanol 96% Daun Karet Kebo

$\bar{X}(\text{ppm})$	$(\bar{X} - X)^2$	$\sum (\bar{X} - X)^2$	SD	% RSD (%)
7,3460	0,0001	0,0132	0,0513	0,70
	0,0057			
	0,0047			
	0,0017			
	0,0004			
	0,0006			

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (Xi - \bar{X})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{0,0132}{5}} = 0,0513$$

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\% = \frac{0,0513}{7,3460} \times 100\% = 0,70\%$$

3. Presisi Sampel Ekstrak Etanol p.a Daun Karet Kebo

Tabel Konsentrasi Sampel Ekstrak Etanol p.a Daun Karet Kebo

Sampel	Absorbansi			Absorbansi	Konsentrasi (Xi) (mg/L)	(Fp)	Konsentrasi (X) (mg/L)
	1	2	3				
1	0,4181	0,4188	0,4189	0,4186	15,2288	1	15,2288
2	0,4276	0,4289	0,4286	0,4284	15,5892		15,5892
3	0,4267	0,4275	0,4276	0,4273	15,5486		15,5486
4	0,4168	0,4169	0,4169	0,4169	15,1648		15,1648
5	0,3953	0,3954	0,3956	0,3954	14,3739		14,3739
6	0,3948	0,396	0,3967	0,3958	14,3887		14,3887

Tabel Presisi Ekstrak Etanol p.a Daun Karet Kebo

Konsentrasi (X) (mg/L)	$\bar{X}$	$(\bar{X} - X)^2$	$\sum (\bar{X} - X)^2$	SD	% RSD (%)	CV Horwitz
15,2288	15,0490	0,0323	1,4789	0,5438	3,61	10,64
15,5892		0,2918				
15,5486		0,2496				
15,1648		0,0134				
14,3739		0,4557				
14,3887		0,4360				

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (Xi - \bar{X})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{1,4789}{5}} = 0,5438$$

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\% = \frac{0,5438}{15,0490} \times 100\% = 3,61\%$$

$$CV \text{ Horwitz} = 2^{1-0,5\log C}$$

$$C = 15,0490 \times 10^{-6} = 0,00002$$

$$\log C = -4,8225$$

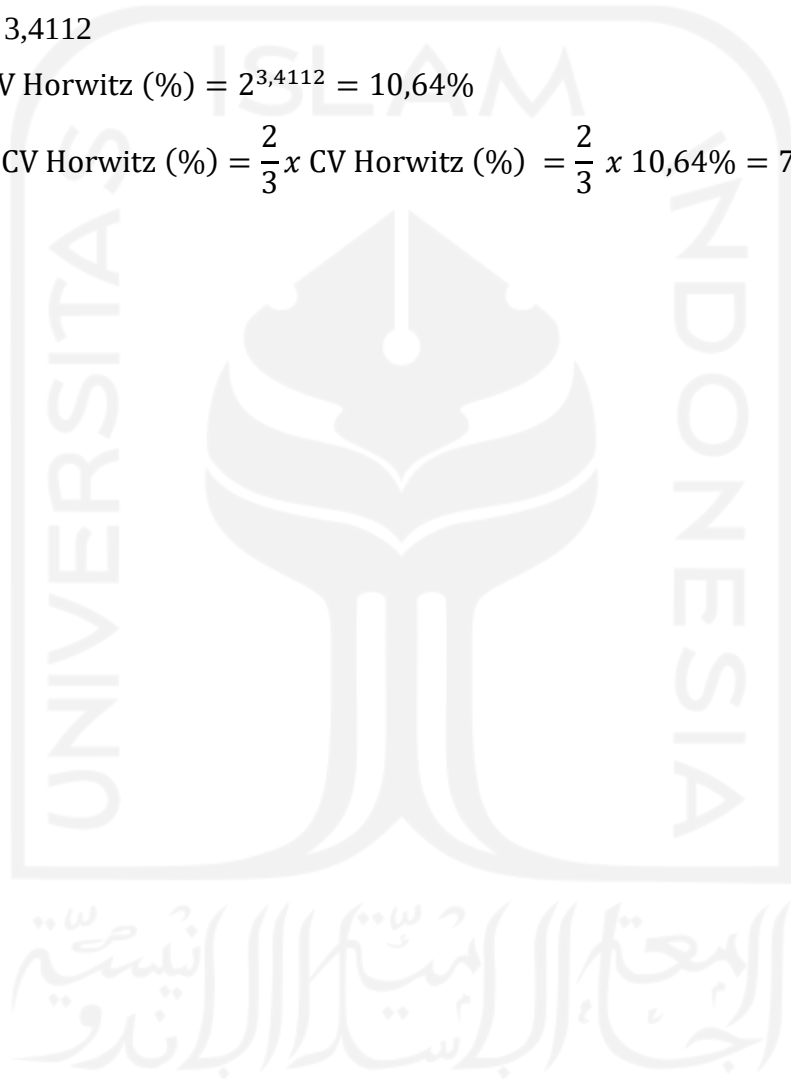
$$1 - 0,5\log C = 1 - (0,5 \times -4,8225)$$

$$= 1 - (-2,4112)$$

$$= 3,4112$$

$$CV \text{ Horwitz (\%)} = 2^{3,4112} = 10,64\%$$

$$\frac{2}{3} CV \text{ Horwitz (\%)} = \frac{2}{3} \times CV \text{ Horwitz (\%)} = \frac{2}{3} \times 10,64\% = 7,09\%$$



Lampiran 8. Perhitungan Kadar Flavonoid Total

$$\text{Kadar kuersetin ekstrak } \left(\frac{\text{mg QE}}{\text{g}} \right) = \frac{C \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right)}{\text{massa ekstrak sampel (g)}} \times V (\text{L}) \times \text{FP}$$

$$\text{Kadar flavonoid total ekstrak } \left(\% \frac{b}{b} \right) = \frac{C \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right)}{m (\text{mg})} \times V (\text{L}) \times \text{FP} \times 100\%$$

$$\text{Kadar flavonoid total daun } \left(\% \frac{b}{b} \right) = \frac{\text{massa flavonoid daun}}{\text{massa simplisia}} \times 100\%$$

$$\text{Massa flavonoid daun} = \frac{\text{massa ekstrak total}}{\text{massa ekstrak sampel}} \times C \times V \text{ total sampel} \times \text{FP}$$

$$\text{Kadar flavonoid total daun } \left(\% \frac{b}{b} \right) = \frac{\frac{\text{massa ekstrak total}}{\text{massa ekstrak sampel}} \times C \times V \text{ total sampel} \times \text{FP}}{\text{massa simplisia}} \times 100\%$$

1. Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Metanol Daun Karet Kebo

Tabel Data Penentuan Kadar

Sampel	Konsentrasi (Xi) (mg/L)	Massa sampel (mg)	Massa ekstrak (mg)	Massa Simplisia (mg)	FP
1	5,3506	10	5310,4	50002,7	10
2	5,5117				
3	5,5031				
4	5,3050				
5	5,5277				
6	5,3026				

• Sampel 1

$$\text{Kadar kuersetin ekstrak } \left(\frac{\text{mg QE}}{\text{g}} \right) = \frac{5,3506 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{0,01 \text{ g}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 = 53,5060 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Kadar flavonoid total ekstrak } \left(\% \frac{b}{b} \right) = \frac{5,3506 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{10 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100\% = 5,35\%$$

$$\text{Kadar flavonoid total daun } \left(\% \frac{b}{b} \right) = \frac{\frac{5310,4 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 5,3506 \text{ mg/L}}{50002,7 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100 = 0,57\%$$

• Sampel 2

$$\text{Kadar kuersetin ekstrak } \left(\frac{\text{mg QE}}{\text{g}} \right) = \frac{5,5117 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{0,01 \text{ g}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 = 55,1170 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Kadar flavonoid total ekstrak } \left(\% \frac{b}{b} \right) = \frac{5,5117 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{10 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100\% = 5,51\%$$

$$\text{Kadar flavonoid total daun } \left(\% \frac{b}{b} \right) = \frac{\frac{5310,4 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 5,5117 \text{ mg/L}}{50002,7 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100 = 0,59\%$$

- Sampel 3

$$\text{Kadar kuersetin ekstrak } \left(\frac{\text{mg QE}}{\text{g}} \right) = \frac{5,5031 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{0,01 \text{ g}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 = 55,0310 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Kadar flavonoid total ekstrak } \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{5,5031 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{10 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100\% = 5,50\%$$

$$\text{Kadar flavonoid total daun } \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{\frac{5310,4 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 5,5031 \text{ mg/L}}{50002,7 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100 = 0,58\%$$

- Sampel 4

$$\text{Kadar kuersetin ekstrak } \left(\frac{\text{mg QE}}{\text{g}} \right) = \frac{5,3050 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{0,01 \text{ g}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 = 53,0500 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Kadar flavonoid total ekstrak } \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{5,3050 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{10 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100\% = 5,30\%$$

$$\text{Kadar flavonoid total daun } \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{\frac{5310,4 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 5,3050 \text{ mg/L}}{50002,7 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100 = 0,56\%$$

- Sampel 5

$$\text{Kadar kuersetin ekstrak } \left(\frac{\text{mg QE}}{\text{g}} \right) = \frac{5,5277 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{0,01 \text{ g}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 = 55,2770 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Kadar flavonoid total ekstrak } \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{5,5277 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{10 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100\% = 5,53\%$$

$$\text{Kadar flavonoid total daun } \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{\frac{5310,4 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 5,5277 \text{ mg/L}}{50002,7 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100 = 0,59\%$$

- Sampel 6

$$\text{Kadar kuersetin ekstrak } \left(\frac{\text{mg QE}}{\text{g}} \right) = \frac{5,3026 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{0,01 \text{ g}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 = 53,0260 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Kadar flavonoid total ekstrak } \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{5,3026 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{10 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100\% = 5,30\%$$

$$\text{Kadar flavonoid total daun } \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{\frac{5310,4 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 5,3026 \text{ mg/L}}{50002,7 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100 = 0,56\%$$

- Rata-rata Hasil

$$\text{Kadar kuersetin ekstrak } \left(\frac{\text{mg QE}}{\text{g}} \right) = 54,1677 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Kadar flavonoid total ekstrak } \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = 5,42\%$$

$$\text{Kadar flavonoid total daun } \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = 0,58\%$$

2. Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 96% Karet Kebo

Tabel Data Penentuan Kadar

Sampel	Konsentrasi (Xi) (mg/L)	Massa sampel (mg)	Massa ekstrak (mg)	Massa Simplisia (mg)	FP
1	7,3555	10	5141,6	50003	10
2	7,2706				
3	7,4145				
4	7,3875				
5	7,3272				
6	7,3210				

• Sampel 1

$$\text{Kadar kuersetin ekstrak} \left(\frac{\text{mg QE}}{\text{g}} \right) = \frac{7,3555 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{0,01 \text{ g}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 = 73,5550 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Kadar flavonoid total ekstrak} \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{7,3555 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{10 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100\% = 7,35\%$$

$$\text{Kadar flavonoid total daun} \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{\frac{5141,6 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 7,3555 \text{ mg/L}}{50003 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100 = 0,75\%$$

• Sampel 2

$$\text{Kadar kuersetin ekstrak} \left(\frac{\text{mg QE}}{\text{g}} \right) = \frac{7,2706 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{0,01 \text{ g}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 = 72,7060 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Kadar flavonoid total ekstrak} \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{7,2706 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{10 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100\% = 7,27\%$$

$$\text{Kadar flavonoid total daun} \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{\frac{5141,6 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 7,2706 \text{ mg/L}}{50003 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100 = 0,74\%$$

• Sampel 3

$$\text{Kadar kuersetin ekstrak} \left(\frac{\text{mg QE}}{\text{g}} \right) = \frac{7,4145 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{0,01 \text{ g}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 = 74,1450 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Kadar flavonoid total ekstrak} \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{7,4145 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{10 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100\% = 7,41\%$$

$$\text{Kadar flavonoid total daun} \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{\frac{5141,6 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 7,4145 \text{ mg/L}}{50003 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100 = 0,76\%$$

• Sampel 4

$$\text{Kadar kuersetin ekstrak} \left(\frac{\text{mg QE}}{\text{g}} \right) = \frac{7,3875 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{0,01 \text{ g}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 = 73,8750 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Kadar flavonoid total ekstrak} \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{7,3875 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{10 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100\% = 7,39\%$$

$$\text{Kadar flavonoid total daun} \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{\frac{5141,6 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 7,3875 \text{ mg/L}}{50003 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100 = 0,76\%$$

- Sampel 5

$$\text{Kadar kuersetin ekstrak} \left(\frac{\text{mg QE}}{\text{g}} \right) = \frac{7,3272 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{0,01 \text{ g}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 = 73,2720 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Kadar flavonoid total ekstrak} \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{7,3272 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{10 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100\% = 7,33\%$$

$$\text{Kadar flavonoid total daun} \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{\frac{5141,6 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 7,3272 \text{ mg/L}}{50003 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100 = 0,75\%$$

- Sampel 6

$$\text{Kadar kuersetin ekstrak} \left(\frac{\text{mg QE}}{\text{g}} \right) = \frac{7,3210 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{0,01 \text{ g}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 = 73,2100 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Kadar flavonoid total ekstrak} \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{7,3210 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{10 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100\% = 7,32\%$$

$$\text{Kadar flavonoid total daun} \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{\frac{5141,6 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 7,3210 \text{ mg/L}}{50003 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100 = 0,75\%$$

- Rata-rata Hasil

$$\text{Kadar kuersetin ekstrak} \left(\frac{\text{mg QE}}{\text{g}} \right) = 73,4604 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Kadar flavonoid total ekstrak} \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = 7,35\%$$

$$\text{Kadar flavonoid total daun} \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = 0,76\%$$

3. Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol p.a Karet Kebo

Tabel Data Penentuan Kadar

Sampel	Konsentrasi (Xi) (mg/L)	Massa sampel (mg)	Massa ekstrak (mg)	Massa Simplisia (mg)	FP
1	15,2288	10	3294,5	50003	10
2	15,5892				
3	15,5486				
4	15,1648				
5	14,3739				
6	14,3887				

- Sampel 1

$$\text{Kadar kuersetin ekstrak} \left(\frac{\text{mg QE}}{\text{g}} \right) = \frac{15,2288 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{0,01 \text{ g}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 = 152,288 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Kadar flavonoid total ekstrak} \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{15,2288 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{10 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100\% = 15,23 \%$$

$$\text{Kadar flavonoid total daun} \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{\frac{3294,5 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 15,2288 \text{ mg/L}}{50003 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100 = 1,00\%$$

- Sampel 2

$$\text{Kadar kuersetin ekstrak } \left(\frac{\text{mg QE}}{\text{g}} \right) = \frac{15,5892 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{0,01 \text{ g}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 = 155,892 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Kadar flavonoid total ekstrak } \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{15,5892 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{10 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100\% = 15,58 \%$$

$$\text{Kadar flavonoid total daun } \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{\frac{3294,5 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 15,5892 \text{ g/L}}{50003 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100 = 1,03\%$$

- Sampel 3

$$\text{Kadar kuersetin ekstrak } \left(\frac{\text{mg QE}}{\text{g}} \right) = \frac{15,5486 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{0,01 \text{ g}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 = 155,486 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Kadar flavonoid total ekstrak } \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{15,5486 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{10 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100\% = 15,55 \%$$

$$\text{Kadar flavonoid total daun } \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{\frac{3294,5 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 15,5486 \text{ g/L}}{50003 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100 = 1,02\%$$

- Sampel 4

$$\text{Kadar kuersetin ekstrak } \left(\frac{\text{mg QE}}{\text{g}} \right) = \frac{15,1648 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{0,01 \text{ g}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 = 151,648 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Kadar flavonoid total ekstrak } \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{15,1648 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{10 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100\% = 15,16 \%$$

$$\text{Kadar flavonoid total daun } \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{\frac{3294,5 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 15,1648 \text{ g/L}}{50003 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100 = 0,99\%$$

- Sampel 5

$$\text{Kadar kuersetin ekstrak } \left(\frac{\text{mg QE}}{\text{g}} \right) = \frac{14,3739 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{0,01 \text{ g}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 = 143,739 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Kadar flavonoid total ekstrak } \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{14,3739 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{10 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100\% = 14,37 \%$$

$$\text{Kadar flavonoid total daun } \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{\frac{3294,5 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 14,3739 \text{ g/L}}{50003 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100 = 0,95\%$$

- Sampel 6

$$\text{Kadar kuersetin ekstrak } \left(\frac{\text{mg QE}}{\text{g}} \right) = \frac{14,3887 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{0,01 \text{ g}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 = 143,887 \text{ mg QE/g}$$

$$\text{Kadar flavonoid total ekstrak } \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{14,3887 \frac{\text{mg}}{\text{L}}}{10 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100\% = 14,38 \%$$

$$\text{Kadar flavonoid total daun } \left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}} \right) = \frac{\frac{3294,5 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 14,3887 \text{ g/L}}{50003 \text{ mg}} \times 0,01 \text{ L} \times 10 \times 100 = 0,95\%$$

- Rata-rata Hasil

Kadar kuersetin ekstrak $\left(\frac{\text{mg QE}}{\text{g}}\right) = 150,4900 \text{ mg QE/g}$

Kadar flavonoid total ekstrak $\left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}}\right) = 15,05\%$

Kadar flavonoid total daun $\left(\% \frac{\text{b}}{\text{b}}\right) = 0,99\%$



Lampiran 9. Perhitungan Akurasi Sampel

$$C_{\text{spike}} = \frac{y-b}{a} = \frac{\text{absorbansi}-\text{intersep}}{\text{slope}}$$

$$C_{\text{target}} = \frac{V_{\text{standar}} \times C_{\text{standar}}}{V_{\text{total}}}$$

$$\% \text{Recovery} = \frac{C_{\text{spike}} - C_{\text{sampel}}}{C_{\text{target}}} \times 100\%$$

$$C_{\text{target}} = \frac{1 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}}{10} = 10 \text{ ppm}$$

1. Akurasi Sampel Ekstrak Metanol 99% Daun Karet Kebo

Data Akurasi Sampel Ekstrak Metanol 99%

Pengulangan	Absorbansi	C spike (ppm)	C Target (ppm)	C Sampel (ppm)
Spike 1	0,3783	13,7417	10	5,4168
Spike 2	0,4463	16,2522		

- Spike 1

$$C_{\text{spike}} = \frac{0,3783-0,0059}{0,0271} = 13,7417 \text{ ppm}$$

$$\% \text{Recovery} = \frac{13,7417 \text{ ppm} - 5,4168 \text{ ppm}}{10 \text{ ppm}} \times 100\% = 83,25\%$$

- Spike 2

$$C_{\text{spike}} = \frac{0,4463-0,0059}{0,0271} = 16,2522 \text{ ppm}$$

$$\% \text{Recovery} = \frac{16,2522 \text{ ppm} - 5,4168 \text{ ppm}}{10 \text{ ppm}} \times 100\% = 108,35\%$$

- Rata-rata Akurasi Sampel

$$\% \text{Recovery} = \frac{83,25\% + 108,35\%}{2} = 95,80\%$$

2. Akurasi Sampel Ekstrak Etanol 96% Daun Karet Kebo

Data Akurasi Sampel Ekstrak Etanol 96%

Pengulangan	Absorbansi	C spike (ppm)	C Target (ppm)	C Sampel (ppm)
Spike 1	0,5156	18,8093	10	7,3460
Spike 2	0,5147	18,7749		

- Spike 1

$$C \text{ spike} = \frac{0,5156 - 0,0059}{0,0271} = 18,8093 \text{ ppm}$$

$$\% \text{Recovery} = \frac{18,8093 \text{ ppm} - 7,3460 \text{ ppm}}{10 \text{ ppm}} \times 100\% = 114,63\%$$

- Spike 2

$$C \text{ spike} = \frac{0,5147 - 0,0059}{0,0271} = 18,7749 \text{ ppm}$$

$$\% \text{Recovery} = \frac{18,7749 \text{ ppm} - 7,3460 \text{ ppm}}{10 \text{ ppm}} \times 100\% = 114,29\%$$

- Rata-rata Akurasi Sampel

$$\% \text{Recovery} = \frac{114,63\% + 114,29\%}{2} = 114,46\%$$

3. Akurasi Sampel Ekstrak Etanol p.a Daun Karet Kebo

Data Akurasi Sampel Ekstrak Etanol p.a

Pengulangan	Absorbansi	C spike (ppm)	C Target (ppm)	C Sampel (ppm)
Spike 1	0,6534	23,8918	10	15,0490
Spike 2	0,6411	23,4379		

- Spike 1

$$C \text{ spike} = \frac{0,6534 - 0,0059}{0,0271} = 23,8918 \text{ ppm}$$

$$\% \text{Recovery} = \frac{23,8918 \text{ ppm} - 15,0490 \text{ ppm}}{10 \text{ ppm}} \times 100\% = 88,43\%$$

- Spike 2

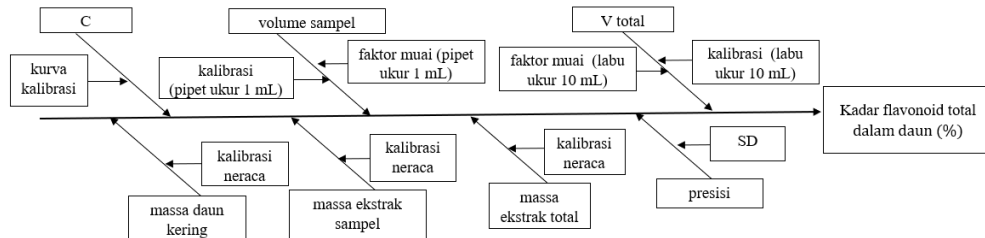
$$C \text{ spike} = \frac{0,6411 - 0,0059}{0,0271} = 23,4379 \text{ ppm}$$

$$\% \text{Recovery} = \frac{23,4379 \text{ ppm} - 15,0490 \text{ ppm}}{10 \text{ ppm}} \times 100\% = 83,89\%$$

- Rata-rata Akurasi Sampel

$$\% \text{Recovery} = \frac{88,43\% + 83,89\%}{2} = 86,16\%$$

Lampiran 10. Estimasi Ketidakpastian



Gambar Diagram Tulang Ikan Estimasi Ketidakpastian

1. Estimasi Ketidakpastian Kadar Flavonoid Total Ekstrak Metanol 99% Daun Karet Kebo
 - a. Ketidakpastian Baku
 - Ketidakpastian Asal Kurva Kalibrasi

Tabel Hasil Perhitungan Standar Deviasi

No	Cj (ug/mL)	Absorbansi (Aj)	(B0 + B1.Cj)	$[Aj - (B0 + B1.Cj)]^2$
1.	0,0000	0,0000	0,0059	0,0000
2.	2,5000	0,0646	0,0737	0,0001
3.	5,0000	0,1499	0,1414	0,0001
4.	10,0000	0,2805	0,2769	0,0000
5.	20,0000	0,5642	0,5479	0,0003
6.	30,0000	0,8077	0,8189	0,0001
$\Sigma[Aj - (B0 + B1 . Cj)]^2$				0,0006
SD				0,0122

Tabel Hasil perhitungan nilai Sxx

No.	Cj Standar (mg/L)	$Cj - \bar{C}$	$(Cj - \bar{C})^2$
1	0,0000	-11,2500	126,5625
2	2,5000	-8,7500	76,5625
3	5,0000	-6,2500	39,0625
4	10,0000	-1,2500	1,5625
5	20,0000	8,7500	76,5625
6	30,0000	18,7500	351,5625
$\bar{C}$	11,2500	Sxx	671,8750

Tabel Hasil perhitungan ketidakpastian asal kurva kalibrasi

Deskripsi	Nilai
S (standar deviasi)	0,0122
B₁ (slope)	0,0271
p (jumlah sampel)	6
n (jumlah standar)	6
C₀ (C sampel)	5,4168
$\bar{C}$ (C standar rata-rata)	11,2500
S_{xx}	671,8750
$\mu(C_0)$	0,2785

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n [A_j - (B_0 + B_1 \times C_j)]^2}{n - 2}} = \sqrt{\frac{0,0006}{4}} = 0,0122$$

$$S_{xx} = \sum_{j=1}^n (C_j - \bar{C})^2 = 671,8750$$

$$\begin{aligned} \mu(C_0) &= \frac{S}{B_1} \times \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - \bar{C})^2}{S_{xx}}} \\ &= \frac{0,0122}{0,0271} \times \sqrt{\frac{1}{6} + \frac{1}{6} + \frac{(5,4168 - 11,2500)^2}{671,8750}} = 0,2785 \end{aligned}$$

- Ketidakpastian Asal Labu Ukur 10 mL

$$\mu(kal) = \frac{Q_u}{\sqrt{3}} = \frac{0,0200}{\sqrt{3}} = 0,0115$$

$$\mu(FM) = \frac{V \times \alpha \times \Delta T}{\sqrt{3}} = \frac{10 \times 0,0002 \times 4}{\sqrt{3}} = 0,0485$$

$$\mu(Va) = \sqrt{(\mu(kal))^2 + (\mu(FM))^2} = \sqrt{(0,0115)^2 + (0,0485)^2} = 0,0125$$

- Ketidakpastian Asal Pipet Ukur 1 mL

$$\mu(kal) = \frac{Q_u}{\sqrt{3}} = \frac{0,0060}{\sqrt{3}} = 0,0035$$

$$\mu(FM) = \frac{V \times \alpha \times \Delta T}{\sqrt{3}} = \frac{1 \times 0,0002 \times 4}{\sqrt{3}} = 0,0005$$

$$\begin{aligned} \mu(Vb) &= \sqrt{(\mu(kal))^2 + (\mu(FM))^2} \\ &= \sqrt{(0,0035)^2 + (0,0005)^2} = 0,0035 \end{aligned}$$

- Ketidakpastian Neraca

$$\mu(\text{neraca}) = \frac{b}{K} = \frac{0,0001}{2} = 0,00005$$

- Ketidakpastian Asal Presisi

$$\mu(p) = \frac{\%RSD}{100} = \frac{1,9997\%}{100} = 0,02$$

- b. Ketidakpastian Gabungan dan Ketidakpastian Diperluas

Tabel Hasil perhitungan ketidakpastian gabungan dan ketidakpastian diperluas

Lambang	Nilai	Satuan	Ketidakpastian Baku ($\mu(x)$)	Ketidakpastian Relatif ($\mu(x)/x$)
C_0	5,4168	mg/L	0,27850	0,051422
Va	10,0000	mL	0,00950	0,001252
Vb	1,0000	mL	0,00250	0,003498
$\mu(M \text{ sampel})$	0,0100	g	0,00005	0,005000
$\mu(M \text{ sampel})$	5,3104	g	0,00005	0,000009
$\mu(M \text{ sampel})$	50,0000	g	0,00005	0,000001
Presisi (p)	1		0,02000	0,020000
Ketidakpastian Gabungan (μ_c) (%)				0,0300
Ketidakpastian Diperluas (μ) (%)				0,0601
Kadar flavonoid total $\pm$ ketidakpastian diperluas				0,58 $\pm$ 0,0601

$$\mu_c/c =$$

$$\sqrt{\left(\frac{\mu(C_0)}{C_0}\right)^2 + \left(\frac{\mu(Va)}{Va}\right)^2 + \left(\frac{\mu(Vb)}{Vb}\right)^2 + \left(\frac{\mu(M \text{ sampel})}{m \text{ sampel}}\right)^2 + \left(\frac{\mu(M \text{ ekstrak})}{m \text{ ekstrak}}\right)^2 + \left(\frac{\mu(M \text{ simplisia})}{m \text{ simplisia}}\right)^2 + \left(\frac{\mu(P)}{SD}\right)^2}$$

$$\mu = \mu_c \times 2$$

$$\mu_c =$$

$$\sqrt{\left(\frac{0,2785}{5,4168}\right)^2 + \left(\frac{0,0095}{10}\right)^2 + \left(\frac{0,0025}{1}\right)^2 + \left(\frac{0,00005}{0,01}\right)^2 + \left(\frac{0,00005}{5,3104}\right)^2 + \left(\frac{0,00005}{50}\right)^2 + \left(\frac{0,0200}{1}\right)^2} \times 0,58\%$$

$$=$$

$$\sqrt{0,051422 + 0,001252 + 0,003498 + 0,005000 + 0,000009 + 0,000001 + 0,02000} \times 0,58\%$$

$$= 0,0300\%$$

$$\mu = 0,03\% \times 2 = 0,0601\%$$

2. Estimasi Ketidakpastian Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 96% Daun Karet Kebo

- a. Ketidakpastian Baku
- Ketidakpastian Asal Kurva Kalibrasi

Tabel Hasil Perhitungan Standar Deviasi

No	Cj (ug/mL)	Absorbansi (Aj)	(B0 + B1.Cj)	[Aj - (B0 + B1.Cj)]^2
1.	0,0000	0,0000	0,0059	0,0000
2.	2,5000	0,0646	0,0737	0,0001
3.	5,0000	0,1499	0,1414	0,0001
4.	10,0000	0,2805	0,2769	0,0000
5.	20,0000	0,5642	0,5479	0,0003
6.	30,0000	0,8077	0,8189	0,0001
$\Sigma[Aj - (B0 + B1 . Cj)]^2$				0,0006
SD				0,0122

Tabel Hasil perhitungan nilai Sxx

No.	Cj Standar (mg/L)	$Cj - \bar{C}$	$(Cj - \bar{C})^2$
1	0,0000	-11,2500	126,5625
2	2,5000	-8,7500	76,5625
3	5,0000	-6,2500	39,0625
4	10,0000	-1,2500	1,5625
5	20,0000	8,7500	76,5625
6	30,0000	18,7500	351,5625
$\bar{C}$	11,2500	Sxx	671,8750

Tabel Hasil perhitungan ketidakpastian asal kurva kalibrasi

Deskripsi	Nilai
S (standar deviasi)	0,0122
B ₁ (slope)	0,0271
p (jumlah sampel)	6
n (jumlah standar)	6
C ₀ (C sampel)	5,4168
$\bar{C}$ (C standar rata-rata)	11,2500
Sxx	671,8750
$\mu(C_0)$	0,2785

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n [A_j - (B_0 + B_1 \times C_j)]^2}{n-2}} = \sqrt{\frac{0,0006}{4}} = 0,0122$$

$$S_{xx} = \sum_{j=1}^n (C_j - \bar{C})^2 = 671,8750$$

$$\begin{aligned} \mu(C_0) &= \frac{S}{B_1} \times \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - \bar{C})^2}{S_{xx}}} \\ &= \frac{0,0122}{0,0271} \times \sqrt{\frac{1}{6} + \frac{1}{6} + \frac{(5,4168 - 11,2500)^2}{671,8750}} = 0,2785 \end{aligned}$$

- Ketidakpastian Asal Labu Ukur 10 mL

$$\mu(kal) = \frac{Q_u}{\sqrt{3}} = \frac{0,0200}{\sqrt{3}} = 0,0115$$

$$\mu(FM) = \frac{V \times \alpha \times \Delta T}{\sqrt{3}} = \frac{10 \times 0,0002 \times 4}{\sqrt{3}} = 0,0485$$

$$\mu(Va) = \sqrt{(\mu(kal))^2 + (\mu(FM))^2} = \sqrt{(0,0115)^2 + (0,0485)^2} = 0,0125$$

- Ketidakpastian Asal Pipet Ukur 1 mL

$$\mu(kal) = \frac{Q_u}{\sqrt{3}} = \frac{0,0060}{\sqrt{3}} = 0,0035$$

$$\mu(FM) = \frac{V \times \alpha \times \Delta T}{\sqrt{3}} = \frac{1 \times 0,0002 \times 4}{\sqrt{3}} = 0,0005$$

$$\begin{aligned} \mu(Vb) &= \sqrt{(\mu(kal))^2 + (\mu(FM))^2} \\ &= \sqrt{(0,0035)^2 + (0,0005)^2} = 0,0035 \end{aligned}$$

- Ketidakpastian Neraca

$$\mu(neraca) = \frac{b}{K} = \frac{0,0001}{2} = 0,00005$$

- Ketidakpastian Asal Presisi

$$\mu(p) = \frac{\%RSD}{100} = \frac{0,6985\%}{100} = 0,0070$$

c. Ketidakpastian Gabungan dan Ketidakpastian Diperluas

Tabel Hasil perhitungan ketidakpastian gabungan dan ketidakpastian diperluas

Lambang	Nilai	Satuan	Ketidakpastian Baku ($\mu(x)$)	Ketidakpastian Relatif ($\mu(x)/x$)
C_0	7,3460	mg/L	0,26821	0,036511
V_a	10,0000	mL	0,01252	0,001252
V_b	1,0000	mL	0,00350	0,003498
$\mu(M \text{ sampel})$	0,0100	g	0,00005	0,005000
$\mu(M \text{ sampel})$	5,1416	g	0,00005	0,000010
$\mu(M \text{ sampel})$	50,0000	g	0,00005	0,000001
Presisi (p)	1,0000		0,00698	0,006985
Ketidakpastian Gabungan (μ_c) (%)				0,0280
Ketidakpastian Diperluas (μ) (%)				0,0560
Kadar flavonoid total $\pm$ ketidakpastian diperluas				0,76 $\pm$ 0,0560

$$\mu_c = \sqrt{\left(\frac{\mu(C_0)}{C_0}\right)^2 + \left(\frac{\mu(V_a)}{V_a}\right)^2 + \left(\frac{\mu(V_b)}{V_b}\right)^2 + \left(\frac{\mu(M \text{ sampel})}{m \text{ sampel}}\right)^2 + \left(\frac{\mu(M \text{ ekstrak})}{m \text{ ekstrak}}\right)^2 + \left(\frac{\mu(M \text{ simplisia})}{m \text{ simplisia}}\right)^2 + \left(\frac{\mu(P)}{SD}\right)^2}$$

$$\mu = \mu_c \times 2$$

$$\mu_c = \sqrt{\left(\frac{0,26821}{7,3460}\right)^2 + \left(\frac{0,01252}{10}\right)^2 + \left(\frac{0,00350}{1}\right)^2 + \left(\frac{0,00005}{0,01}\right)^2 + \left(\frac{0,00005}{5,3104}\right)^2 + \left(\frac{0,00005}{50}\right)^2 + \left(\frac{0,00698}{1}\right)^2} \times 0,58\%$$

$$= \sqrt{0,036511 + 0,001252 + 0,003498 + 0,005000 + 0,000010 + 0,000001 + 0,006985} \times 0,58\%$$

$$= 0,0280\%$$

$$\mu = 0,0280\% \times 2 = 0,0560\%$$

3. Estimasi Ketidakpastian Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol p.a Daun Karet Kebo
 - a. Ketidakpastian Baku
 - Ketidakpastian Asal Kurva Kalibrasi

Tabel Hasil Perhitungan Standar Deviasi

No	Cj (ug/mL)	Absorbansi (Aj)	(B0 + B1.Cj)	$[A_j - (B_0 + B_1.C_j)]^2$
1.	0,0000	0,0000	0,0059	0,0000
2.	2,5000	0,0646	0,0737	0,0001
3.	5,0000	0,1499	0,1414	0,0001
4.	10,0000	0,2805	0,2769	0,0000
5.	20,0000	0,5642	0,5479	0,0003
6.	30,0000	0,8077	0,8189	0,0001
$\Sigma[A_j - (B_0 + B_1 . C_j)]^2$				0,0006
SD				0,0122

Tabel Hasil perhitungan nilai Sxx

No.	Cj Standar (mg/L)	$C_j - \bar{C}$	$(C_j - \bar{C})^2$
1	0,0000	-11,2500	126,5625
2	2,5000	-8,7500	76,5625
3	5,0000	-6,2500	39,0625
4	10,0000	-1,2500	1,5625
5	20,0000	8,7500	76,5625
6	30,0000	18,7500	351,5625
$\bar{C}$	11,2500	Sxx	671,8750

Tabel Hasil perhitungan ketidakpastian asal kurva kalibrasi

Deskripsi	Nilai
S (standar deviasi)	0,0122
B ₁ (slope)	0,0271
p (jumlah sampel)	6
n (jumlah standar)	6
C ₀ (C sampel)	5,4168
$\bar{C}$ (C standar rata-rata)	11,2500
Sxx	671,8750
$\mu(C_0)$	0,2785

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n [A_j - (B_0 + B_1 \times C_j)]^2}{n-2}} = \sqrt{\frac{0,0006}{4}} = 0,0122$$

$$S_{xx} = \sum_{j=1}^n (C_j - \bar{C})^2 = 671,8750$$

$$\begin{aligned} \mu(C_0) &= \frac{S}{B_1} \times \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - \bar{C})^2}{S_{xx}}} \\ &= \frac{0,0122}{0,0271} \times \sqrt{\frac{1}{6} + \frac{1}{6} + \frac{(5,4168 - 11,2500)^2}{671,8750}} = 0,2785 \end{aligned}$$

- Ketidakpastian Asal Labu Ukur 10 mL

$$\mu(kal) = \frac{Q_u}{\sqrt{3}} = \frac{0,0200}{\sqrt{3}} = 0,0115$$

$$\mu(FM) = \frac{V \times \alpha \times \Delta T}{\sqrt{3}} = \frac{10 \times 0,0002 \times 4}{\sqrt{3}} = 0,0485$$

$$\mu(Va) = \sqrt{(\mu(kal))^2 + (\mu(FM))^2} = \sqrt{(0,0115)^2 + (0,0485)^2} = 0,0125$$

- Ketidakpastian Asal Pipet Ukur 1 mL

$$\mu(kal) = \frac{Q_u}{\sqrt{3}} = \frac{0,0060}{\sqrt{3}} = 0,0035$$

$$\mu(FM) = \frac{V \times \alpha \times \Delta T}{\sqrt{3}} = \frac{1 \times 0,0002 \times 4}{\sqrt{3}} = 0,0005$$

$$\begin{aligned} \mu(Vb) &= \sqrt{(\mu(kal))^2 + (\mu(FM))^2} \\ &= \sqrt{(0,0035)^2 + (0,0005)^2} = 0,0035 \end{aligned}$$

- Ketidakpastian Neraca

$$\mu(neraca) = \frac{b}{K} = \frac{0,0001}{2} = 0,00005$$

- Ketidakpastian Asal Presisi

$$\mu(p) = \frac{\%RSD}{100} = \frac{3,6139\%}{100} = 0,0361$$

d. Ketidakpastian Gabungan dan Ketidakpastian Diperluas

Tabel Hasil perhitungan ketidakpastian gabungan dan ketidakpastian diperluas

Lambang	Nilai	Satuan	Ketidakpastian Baku ($\mu(x)$)	Ketidakpastian Relatif ($\mu(x)/x$)
C_0	15,0490	mg/L	0,267756	0,017792
V_a	10,0000	mL	0,012524	0,001252
V_b	1,0000	mL	0,003498	0,003498
$\mu(M \text{ sampel})$	0,0100	g	0,000050	0,005000
$\mu(M \text{ sampel})$	5,1416	g	0,000050	0,000010
$\mu(M \text{ sampel})$	50,0000	g	0,000050	0,000001
Presisi (p)	1,0000		0,036139	0,036139
Ketidakpastian Gabungan (μ_c) (%)				0,0200
Ketidakpastian Diperluas (μ) (%)				0,0400
Kadar flavonoid total $\pm$ ketidakpastian diperluas				0,99 $\pm$ 0,04

$$\mu_c = \sqrt{\left(\frac{\mu(C_0)}{C_0}\right)^2 + \left(\frac{\mu(V_a)}{V_a}\right)^2 + \left(\frac{\mu(V_b)}{V_b}\right)^2 + \left(\frac{\mu(M \text{ sampel})}{m \text{ sampel}}\right)^2 + \left(\frac{\mu(M \text{ ekstrak})}{m \text{ ekstrak}}\right)^2 + \left(\frac{\mu(M \text{ simplisia})}{m \text{ simplisia}}\right)^2 + \left(\frac{\mu(P)}{SD}\right)^2}$$

$$\mu = \mu_c \times 2$$

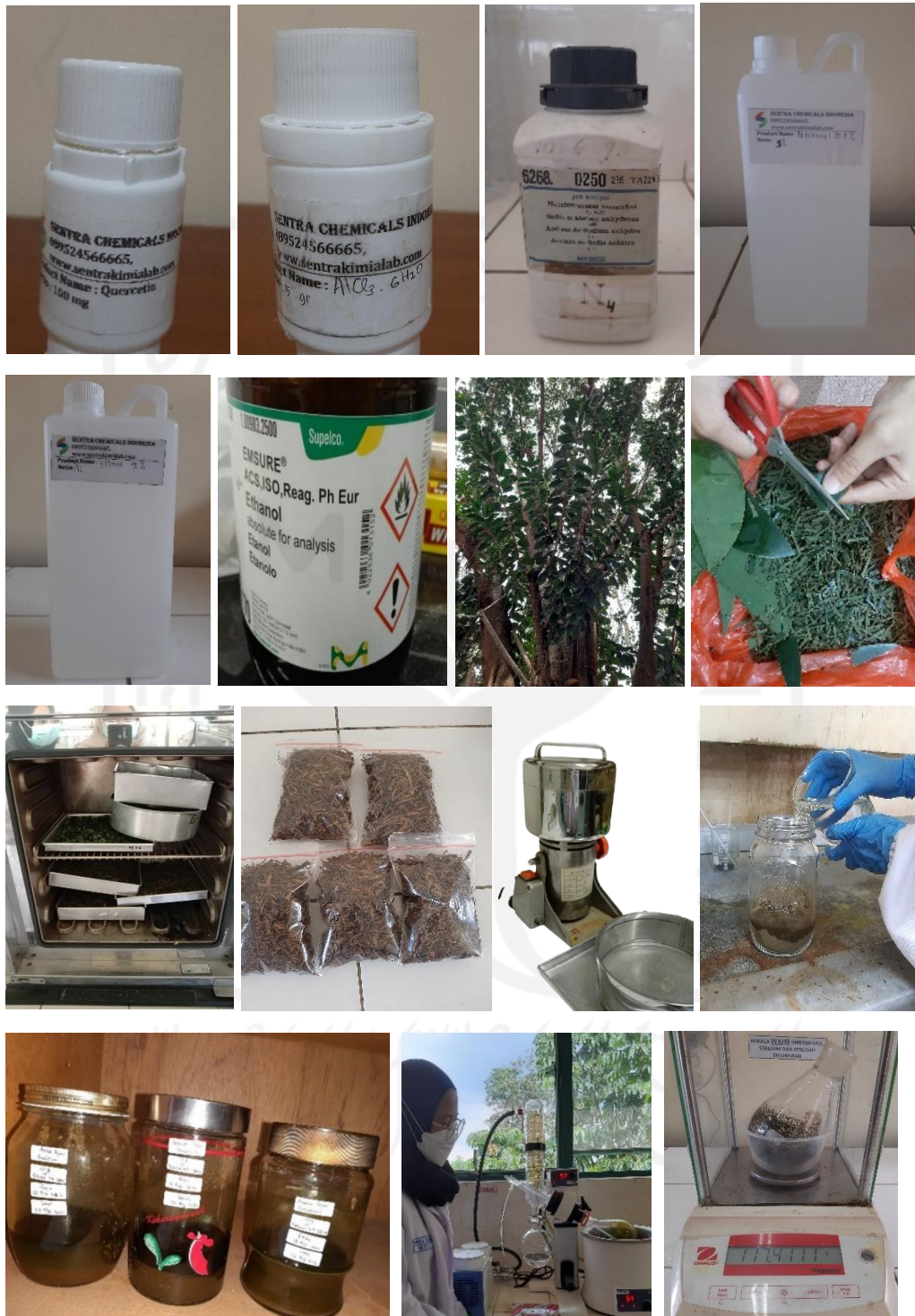
$$\mu_c = \sqrt{\left(\frac{0,267756}{15,0490}\right)^2 + \left(\frac{0,012524}{10}\right)^2 + \left(\frac{0,003498}{1}\right)^2 + \left(\frac{0,00005}{0,01}\right)^2 + \left(\frac{0,00005}{5,3104}\right)^2 + \left(\frac{0,00005}{50}\right)^2 + \left(\frac{0,036139}{1}\right)^2} \times 0,58\%$$

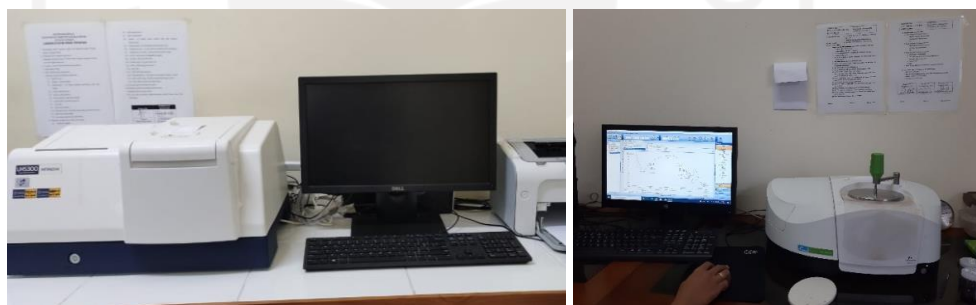
$$= \sqrt{0,017792 + 0,001252 + 0,003498 + 0,005000 + 0,000010 + 0,000001 + 0,036139} \times 0,58\%$$

$$= 0,02\%$$

$$\mu = 0,02\% \times 2 = 0,04\%$$

Lampiran 11. Dokumentasi Penelitian





الجامعة الإسلامية
الاستاذ المساعد الدكتور