

# OPTIMASI EKSTRAKSI FLAVONOID TOTAL DAUN GEDI (*Abelmoschus manihot* L.) DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

## *The optimization of Abelmoschus manihot L. flavonoids extraction and antioxidant activity test*

Dodyk Pranowo<sup>1)</sup>, Erliza Noor<sup>2)</sup>, Liesbetini Haditjaroko<sup>2)</sup> dan Akhiruddin Maddu<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya Malang  
Jalan Veteran, Malang 65145

Telepon +62 0341-551611/Fax +62 0341-565420

[dodykpranowo@ub.ac.id](mailto:dodykpranowo@ub.ac.id)

<sup>2)</sup> Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor

<sup>3)</sup> Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor  
Jalan Raya Darmaga, Bogor 16680 - Jawa Barat

(diterima 22 Juni 2015, direvisi 13 Agustus 2015, disetujui 28 Januari 2016)

### ABSTRAK

Tanaman gedi (*Abelmoschus manihot*) merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai sumber antioksidan. Selama ini, ekstraksi daun gedi dilakukan dengan teknik maserasi sederhana sehingga kondisi proses optimum untuk pengembangan skala industri belum diketahui. Tujuan penelitian adalah mendapatkan kondisi optimum proses ekstraksi dengan menggunakan teknik maserasi. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Agro Kimia, Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Universitas Brawijaya, sejak Januari 2014 sampai Desember 2014. Rancangan percobaan menggunakan *Central Composite Design* (CCD), terdiri atas 20 run percobaan dengan 6 ulangan pada titik pusat (*centre point*). Analisis regresi dan keragaman dilakukan dengan menggunakan *Software Design Expert Ver. 9.0. Trial*. Setiap respon dari proses ekstraksi digunakan untuk mengembangkan sebuah model matematis yang berkorelasi dengan flavonoid total menurut persamaan polinomial. Selanjutnya ditentukan flavonoid total ekstrak daun gedi dan diuji aktivitas antioksidannya. Hasil penelitian menunjukkan kondisi proses optimum dengan menggunakan metode CCD diperoleh pada lama waktu ekstraksi 4,83 jam, suhu ekstraksi 34,33 °C dan kecepatan pengadukan 322 rpm dengan total flavonoid yang dihasilkan sebesar 55,41 mg g<sup>-1</sup> serta aktivitas antioksidan dalam IC<sub>50</sub> sebesar 383,49 ppm. Faktor paling berpengaruh pada proses ekstraksi daun gedi adalah waktu ekstraksi > kecepatan pengadukan > suhu ekstraksi.

**Kata kunci:** *Abelmoschus manihot*, ekstraksi, flavonoid total, maserasi

### ABSTRACT

*Abelmoschus manihot is one of the potential plants could be used as a source of antioxidants. Presently, the extraction of A. manihot is performed by conventional maceration technique. The optimum conditions of extraction process for industrial scale is still unknown. The purpose of this study was observing the optimum conditions of A. manihot extraction process using maceration techniques. Research was conducted at the laboratory of Agro Chemistry Technology, Agroindustrial Department of Brawijaya University, from January 2014 until December 2014. The experimental design used was Central Composite Design (CCD), consisted of 20 experiments runs with 6 replications, at the center point. Regression analysis and varian analysis were carried out by using Software Design Expert Ver. 9.0. Trial. Each response from the extraction process was used to develop a mathematical model that correlated with total flavonoid according to a polynomial equation. Further, determined total flavonoid from A. manihot extract were tested for its antioxidant activity. The results showed, the optimum condition for A. manihot extraction process by using CCD was obtained at the extraction time of 4.83 hours, temperature of 34.33 °C and mixing speed value of 322 rpm with the total flavonoid yield of 55.41 mg g<sup>-1</sup>. The antioxidant activity IC<sub>50</sub> was 383.49 ppm. The most influenced factor in the extraction process of A. manihot was extraction time, mixing speed and temperature of extraction, respectively.*

**Key words:** *Abelmoschus manihot*, extraction, total flavonoid, maceration

## PENDAHULUAN

Meningkatnya penyakit degeneratif seperti kanker, penurunan sistem imun, disfungsi otak dan katarak disebabkan kekurangan antioksidan. Hal tersebut menyebabkan terjadinya kondisi stress oksidatif, yaitu suatu kondisi dimana antioksidan yang ada di dalam tubuh tidak mampu menetralkan peningkatan konsentrasi radikal bebas sehingga dapat menimbulkan kerusakan pada komponen sel seperti DNA, lipid, dan protein (Valko *et al.*, 2004). Umumnya pemenuhan kebutuhan antioksidan tubuh menggunakan antioksidan sintetik seperti *4-Hexylresorcinol* (Chen *et al.*, 2004), namun beberapa peneliti mengungkapkan bahwa penggunaan antioksidan sintetik akan memberikan efek buruk bagi kesehatan dan bersifat toksik (Robledo *et al.*, 2011). Oleh karena itu, antioksidan alami menjadi salah satu alternatif yang sangat dibutuhkan.

Flavonoid merupakan salah satu antioksidan alami yang dibutuhkan oleh tubuh. Menurut Heim *et al.* (2002) kebutuhan flavonoid tubuh mencapai 23 mg hari<sup>-1</sup>. Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan telah banyak diteliti (Procházková *et al.*, 2011). Flavonoid memiliki kemampuan mengubah atau mereduksi radikal bebas dan anti radikal bebas (Saeed *et al.*, 2012). Hasil penelitian Pine *et al.* (2010) menunjukkan bahwa daun gedi (*Abelmoschus manihot* L.) memiliki kandungan flavonoid yang cukup tinggi (23-41%) dan berpotensi sebagai sumber antioksidan. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun gedi meningkat sejalan dengan peningkatan konsentrasi total flavonoid, dan aktivitas tertinggi terdapat pada ekstrak etanol 96% dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 0,575 mg g<sup>-1</sup> (Pine *et al.*, 2010).

Tingginya kandungan flavonoid dalam daun gedi mendorong upaya optimalisasi potensi tersebut, melalui optimasi proses ekstraksi. Terdapat beberapa teknik ekstraksi yang dapat diaplikasikan untuk mengisolasi senyawa aktif dari bahan alam, di antaranya adalah metode maserasi, *soxhlet*, *refluks*, dan distilasi (Velickovic,

2007). Metode maserasi merupakan salah satu metode yang paling banyak digunakan untuk melakukan isolasi senyawa flavonoid dari daun (Vongsak *et al.*, 2013; Chen and Chen, 2011; Mamahit dan Soekamto, 2010; Pine *et al.*, 2010). Gupta *et al.* (2012) menyatakan bahwa metode maserasi merupakan metode yang paling sederhana dan tidak membutuhkan suhu ekstraksi yang tinggi sehingga senyawa flavonoid glikosida yang terdapat dalam bahan tidak banyak mengalami kerusakan. Optimalisasi proses ekstraksi daun gedi dengan metode maserasi dapat dilakukan terhadap faktor-faktor yang berpengaruh. Xu *et al.* (2013) menyatakan bahwa beberapa faktor yang berpengaruh pada proses ekstraksi adalah waktu ekstraksi, suhu ekstraksi, komposisi pelarut dan rasio padatan terlarut. Untuk itu, perlu dikembangkan metode ekstraksi yang lebih efektif dan efisien, serta mampu mengurangi degradasi bahan aktif. Efektivitas ekstraksi sangat dipengaruhi oleh waktu ekstraksi, suhu ekstraksi, jenis pelarut dan kecepatan pengadukan. Tujuan penelitian ini adalah mengoptimasi proses ekstraksi daun gedi untuk mendapatkan total flavonoid yang paling tinggi sehingga dapat dikembangkan dalam skala komersial.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Agro Kimia Jurusan Teknologi Industri Pertanian Universitas Brawijaya, sejak Januari 2014 sampai Desember 2014. Daun gedi yang digunakan berasal dari Cianjur, Jawa Barat.

Alat yang digunakan adalah Erlenmeyer, gelas beker, gelas ukur, kondensor, *magnetic stirrer*, timbangan analitik GR 200 (AND), *vacuum evaporator* tipe RV 10D (IKA), *Hotplate/stirrer* HP220, pompa *vacuum* jenis CVC 3000 Vacuum brand, spektrofotometer UV/Vis Plus (Bio Rad). Software Design Expert Ver. 9 versi trial.

### Persiapan contoh

Daun yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tanaman gedi berumur 3 bulan, dan

bagian yang diambil adalah daun yang berwarna hijau tua. Daun yang akan diekstrak dikeringkan hingga mendapatkan kadar air yang relatif rendah (kurang dari 10%), kemudian daun gedi kering digiling hingga berukuran 40 mesh.

#### Penentuan kadar air serbuk daun gedi (AOAC 1995, 950.46)

Penentuan kadar air serbuk daun gedi sebelum diekstraksi dilakukan berdasarkan prosedur AOAC (AOAC 1995, 950.46). Cawan kosong bersih dikeringkan pada suhu 105 °C selama 15 menit, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang 5 g sampel dimasukkan ke dalam cawan dan dikeringkan pada suhu 105 °C selama 6 jam. Cawan yang berisi sampel didinginkan dalam desikator, kemudian ditimbang. Bila berat belum konstan, maka proses pengeringan dilakukan secara berulang sampai didapatkan berat yang konstan yang disebut sebagai berat akhir sampel. Kadar air dihitung berdasarkan pada kehilangan berat yaitu selisih antara berat awal dan berat akhir sampel dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{a - b}{a} \times 100\%$$

Keterangan/Note:

*a* = bobot sampel awal (g)/weight of the initial sample (g).

*b* = bobot sampel akhir (g)/final sample weight (g).

#### Ekstraksi flavonoid dengan metode *Central Composite Design (CCD)*

Proses ekstraksi senyawa flavonoid glikosida yang berasal dari daun gedi dilakukan dengan menggunakan erlenmeyer berukuran 1 liter yang diletakkan di atas *digital hot plate magnetic stirrer* (HP 220), pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Kondisi operasional ekstraksi divariasikan pada suhu 30 hingga 40 °C, kecepatan pengadukan antara 200 rpm hingga 400 rpm, dan lama waktu ekstraksi antara 4-6 jam.

Rancangan percobaan menggunakan *CCD*, dimana metode ini akan mempermudah untuk mengetahui pengaruh linear, kuadrat, dan

interaksi dari variabel bebas selama proses ekstraksi (Ghasemi et al., 2011). *CCD* terdiri dari 20 run percobaan dengan 6 ulangan pada titik pusat (*centre point*).

Analisis regresi dan keragaman dilakukan dengan menggunakan *Software Design Expert Ver. 9.0. Trial*. Setiap respon dari proses ekstraksi digunakan untuk mengembangkan sebuah model matematis yang berkorelasi dengan flavonoid total menurut persamaan polinomial berikut (Montgomery et al., 2012) :

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i x_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i < j} \beta_{ij} x_i x_j + \epsilon$$

Keterangan/Note:

*y* = hasil perkiraan respon yang diinginkan (flavonoid total)/approximate results desired response (total flavonoids).

*x<sub>i</sub>, x<sub>j</sub>* = mewakili peubah-peubah yang meliputi suhu ekstraksi, lama waktu ekstraksi dan gaya sentrifugal relatif (G force)/represent variables which include the extraction temperature, duration of extraction and relative centrifugal force (G-force).

*β<sub>0</sub>* = koefisien model/coefficient model.

*β<sub>i</sub>* = pengaruh linier peubah terhadap respon/linear effect on the response variable.

*β<sub>ij</sub>* = pengaruh interaksi antar peubah terhadap respon/the effect of interactions between variables on the response.

*β<sub>ii</sub>* = pengaruh kuadrat peubah terhadap respon/quadratic effect on the response variable.

*ε* = derajat error/the degree of error.

#### Penentuan flavonoid total ekstrak daun gedi

Penentuan kadar flavonoid total menggunakan metode Wang et al. (2014) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 0,5 mL larutan ekstrak daun gedi yang mengandung flavonoid, dicampur dengan 0,5 mL NaNO<sub>2</sub> 5% (b/b) dan dibiarkan selama 6 menit. Larutan kemudian ditambah dengan 0,5 mL AlCl<sub>3</sub> 10% (b/b), setelah 6 menit dan larutan tercampur sempurna kemudian ditambahkan 5 mL NaOH 1 mol L<sup>-1</sup>. Setelah 15 menit larutan diukur absorbansinya dengan menggunakan Spektrofotometer UV/Vis (Bio-red) dengan panjang gelombang 510 nm. Kisaran kurva kalibrasi dengan menggunakan standar kuersetin adalah sebesar 5,00-50,00 mg

dengan fungsi  $y=0,0125x - 0,01613$  ( $R=0,9993$ ), dimana  $y$  adalah nilai dari absorbansi dan  $x$  adalah nilai kuersetin ( $\text{mg g}^{-1}$ ). Penentuan nilai flavonoid akhir dilakukan berdasarkan formula yang dikembangkan oleh Pan *et al.* (2012), yaitu:

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

Keterangan/Note:

Y = konsentrasi flavonoid contoh yang dihitung dengan menggunakan persamaan kurva standar ( $\text{mg g}^{-1}$ )/ *the concentration of flavonoids example calculated using a standard curve equation ( $\text{mg g}^{-1}$ ).*

N = nilai pengenceran/dilution value.

V = volume hasil ekstraksi (mL)/*volume extracted (mL).*

W = berat serbuk daun gedi (g)/*gedi leaf powder weight (g).*

### Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun gedi

Aktivitas antioksidan ekstrak daun gedi ditentukan menggunakan metode yang dikembangkan oleh Locatelli *et al.* (2009) dengan sedikit modifikasi. Larutan ekstrak daun gedi disiapkan dalam konsentrasi yang berbeda-beda, berkisar 200-800 ppm, dengan pelarut metanol. Kuersetin digunakan sebagai pembanding dengan konsentrasi 2-8 ppm. Larutan DPPH yang akan digunakan, dibuat dengan melarutkan DPPH dalam pelarut methanol konsentrasi 1mM. Sebanyak 4,5 ml larutan uji atau pembanding direaksikan dengan 500 $\mu$ l larutan DPPH 1mM dalam tabung reaksi. Campuran larutan diaduk dan diinkubasi pada suhu 37 °C dalam kondisi gelas selama 30 menit. Selanjutnya serapan diukur pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan dari setiap sampel dan kuersetin dinyatakan dalam persen inhibisi, dan dihitung dengan rumus:

$$\text{Persentase Inhibisi (1\%)} = \frac{(A - B)}{A} \times 100$$

A = absorbansi kontrol (larutan DPPH dalam etanol)/*absorbance of control (DPPH solution in ethanol).*

B = absorbansi contoh (larutan DPPH dalam larutan ekstrak dan kuersetin)/*absorbance of the sample (DPPH solution in solution leaf extract quercetin).*

Hubungan antara setiap konsentrasi dan aktivitas penangkapan radikal bebas diplotkan,

dan dihitung nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  menyatakan besarnya konsentrasi larutan sampel (ekstrak maupun kuersetin) yang dibutuhkan untuk mereduksi radikal bebas DPPH sebesar 50% (Molyneux, 2004).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik fisikokimia serbuk daun gedi

Serbuk daun gedi dikarakterisasi terhadap kadar air, bahan yang dapat diekstrak, dan kandungan total flavonoid sebelum dilakukan proses ekstraksi. Pada penelitian ini kadar air serbuk daun gedi adalah  $8,1 \pm 0,5\%$  basis kering. Hal ini menunjukkan bahwa serbuk daun gedi masih berada dalam batas yang ditetapkan, yaitu sebesar 6-14 untuk bahan herbal yang disimpan dalam kondisi tidak kedap udara (D'Souza *et al.*, 2007). Kadar air merupakan parameter fisikokimia yang berhubungan langsung dengan stabilitas senyawa aktif dalam bahan herbal selama proses penyimpanan. Kadar air yang berlebihan dalam bahan herbal merupakan kondisi yang sesuai untuk pertumbuhan mikroba dan hidrolisis senyawa aktif (Czech *et al.*, 2001). Disisi lain bahan herbal yang terlalu kering akan menyebabkan struktur sel menjadi lebih sulit untuk diekstraksi (D'Souza *et al.*, 2007).

Penentuan bahan yang dapat diekstrak dilakukan dengan menggunakan pelarut air dan etanol 70%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bahan yang dapat diekstrak dengan menggunakan air mencapai  $9,1 \pm 0,08\%$  b/b, tidak berbeda nyata dengan pelarut etanol 70% sebesar  $9,5 \pm 0,3\%$ . Kadar total flavonoid serbuk daun gedi adalah  $56,2 \pm 0,09 \text{ mg g}^{-1}$  bahan setara kuersetin. Hal ini menunjukkan bahwa kadar flavonoid total daun gedi dalam penelitian ini (asal Cianjur) lebih tinggi dibandingkan dengan kadar flavonoid daun gedi dari daerah Palu yang hanya mencapai  $41,56 \pm 0,12 \text{ mg g}^{-1}$  (Pine *et al.*, 2010). Kondisi ini diduga karena pengaruh dari kondisi lingkungan yang berbeda, sehingga metabolit sekunder yang dihasilkan juga berbeda (O'Reilly *et al.*, 2013).

**Pembentukan model ekstraksi daun gedi**

Hasil penelitian menunjukkan flavonoid total yang diperoleh berkisar antara 48,66-55,40 mg g<sup>-1</sup> (Tabel 1). Kadar flavonoid total paling rendah (48,66 mg g<sup>-1</sup>) diperoleh dari kondisi proses ekstraksi dengan suhu (X<sub>1</sub>) 30 °C, kecepatan pengadukan (X<sub>2</sub>) 200 rpm dengan waktu (X<sub>3</sub>) 3 jam, sedangkan flavonoid total paling tinggi (55,40 mg g<sup>-1</sup>) dihasilkan dari proses ekstraksi pada suhu (X<sub>1</sub>) 35 °C, kecepatan pengadukan (X<sub>2</sub>) 300 rpm dengan waktu (X<sub>3</sub>) 4,5 jam.

Tabel 1. Matrik faktor dan taraf dalam optimasi ekstraksi daun gedi dengan *central composite design* dan flavonoid total yang dihasilkan.

Table 1. Matrix factors and the level of optimization for *A. manihot leaves with a central composite design and the total flavonoids yielded.*

No	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Flavonoid total (mg g <sup>-1</sup> )
1	0	0	0	55,40
2	-1	-1	-1	48,66
3	0	0	0	55,06
4	0	1,68	0	51,78
5	0	0	0	55,23
6	1,68	0	0	49,25
7	-1,68	0	0	52,90
8	0	0	0	54,77
9	1	-1	-1	49,55
10	1	1	1	53,69
11	0	0	0	54,95
12	1	-1	1	52,19
13	0	-1,68	0	50,86
14	-1	1	-1	49,71
15	0	0	1,68	54,71
16	-1	-1	1	51,69
17	0	0	0	55,31
18	-1	1	1	52,69
19	0	0	-1,68	51,52
20	1	1	-1	50,32

Keterangan/Note:

X<sub>1</sub>= Suhu ekstraksi/*extraction temperature.*

X<sub>2</sub>= Kecepatan pengadukan/*stirring speed.*

X<sub>3</sub>= Lama ekstraksi/*extraction time.*

Analisis dengan regresi berganda menghasilkan persamaan orde dua sebagai berikut :

$$\text{Total Flavonoid} = 55.138 - 0.229X_1 + 0.430X_2 + 1.273X_3 - 1.553X_1^2 - 1.465X_2^2 - 0.829X_3^2$$

Penentuan tingkat signifikansi dan kesesuaian model dilakukan dengan menggunakan analisis ANOVA (Tabel 2). Berdasarkan data Tabel 2 terlihat bahwa nilai F dari model adalah sebesar 19,79 dan nilai p sangat kecil (kurang dari 0,0001), hal ini menunjukkan bahwa model ekstraksi flavonoid total memiliki tingkat signifikansi yang tinggi dan hanya 0,01% peluang dari model mengalami penyimpangan. Nilai koefisien determinasi (R<sup>2</sup>) merupakan proporsi dari ketidakpastian dari model. Nilai R<sup>2</sup> yang diperoleh sebesar 0,9013, menunjukkan bahwa model ekstraksi flavonoid total dapat diterima. Menurut Xu *et al.* (2013) dan Lee and McClements (2010) model optimasi yang dapat diterima adalah model yang memiliki R<sup>2</sup> lebih dari 0,75.

Variabel yang sangat signifikan terhadap hasil flavonoid total adalah variabel linear waktu ekstraksi (X<sub>3</sub>) dan variabel kuadratik suhu ekstraksi (X<sub>1</sub><sup>2</sup>), kecepatan pengadukan (X<sub>2</sub><sup>2</sup>) karena memiliki nilai p kurang dari 0,001. Variabel yang memiliki pengaruh signifikan adalah variabel kuadratik waktu ekstraksi (X<sub>3</sub><sup>2</sup>) karena memiliki nilai P kurang dari 0,05 dan variabel yang tidak berpengaruh terhadap hasil ekstraksi flavonoid total adalah variabel linear X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> dan variabel interaksi antara X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>, X<sub>1</sub>X<sub>3</sub>, X<sub>2</sub>X<sub>3</sub> karena memiliki nilai P lebih dari 0,05. Menurut Montgomery *et al.* (2012) jika interaksi antar perlakuan tidak berbeda nyata, maka sebuah model regresi berganda dipengaruhi oleh variable linier. Berdasarkan pada hasil analisis tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa urutan faktor yang mempengaruhi respons flavonoid total pada proses ekstraksi daun gedi adalah waktu ekstraksi lebih besar, kecepatan pengadukan lebih besar, dan suhu ekstraksi.

Tabel 2. Hasil analisis varian (ANOVA) optimasi ekstrak daun gedi.

Tabel 2. Result analysis of varian (ANOVA) optimization of *A. manihot* leave extract.

Sumber	Jumlah kuadrat	df	Rataan kuadrat	Nilai-F	Nilai-P	Keterangan
Model	89.66	6	14.94	19.79	< 0.0001	Signifikan
X <sub>1</sub> -Suhu	0.71	1	0.71	0.94	0.3488	
X <sub>2</sub> -Kecepatan pengadukan	2.52	1	2.52	3.34	0.0908	
X <sub>3</sub> -Waktu	22.13	1	22.13	29.3	0.0001	
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	6.43E-03	1	6.43E-03	6.59E-03	0.9369	
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	1.38E-06	1	1.38E-06	1.42E-06	0.9991	
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	0.059	1	0.059	0.06	0.8107	
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	34.74	1	34.74	46	< 0.0001	
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	30.94	1	30.94	40.98	< 0.0001	
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	9.91	1	9.91	13.12	0.0031	
Residual	9.82	13	0.76			
Lack of Fit	9.54	8	1.19	21.14	0.0019	Signifikan
Pure Error	0.28	5	0.056			
Cor Total	99.48	19				

### Analisis respon permukaan

Respon permukaan tiga dimensi dan dua dimensi dari fungsi regresi (Gambar 1). Berdasarkan pada Gambar 1a dan 1b tersebut terlihat bahwa variabel bebas (kecepatan pengadukan dan suhu ekstraksi) pada level rendah dan tinggi akan menghasilkan total flavonoid yang rendah hal ini menunjukkan bahwa interaksi antara kecepatan pengadukan dan suhu ekstraksi berpengaruh terhadap total flavonoid yang dihasilkan. Menurut Rajaei *et al.* (2010) kecepatan pengadukan yang rendah tidak mampu untuk menarik senyawa flavonoid dalam jaringan, namun jika kecepatan pengadukan terlalu besar berpotensi untuk merusak senyawa flavonoid yang telah diekstrak, sehingga menurunkan kadar senyawa flavonoid yang dihasilkan.

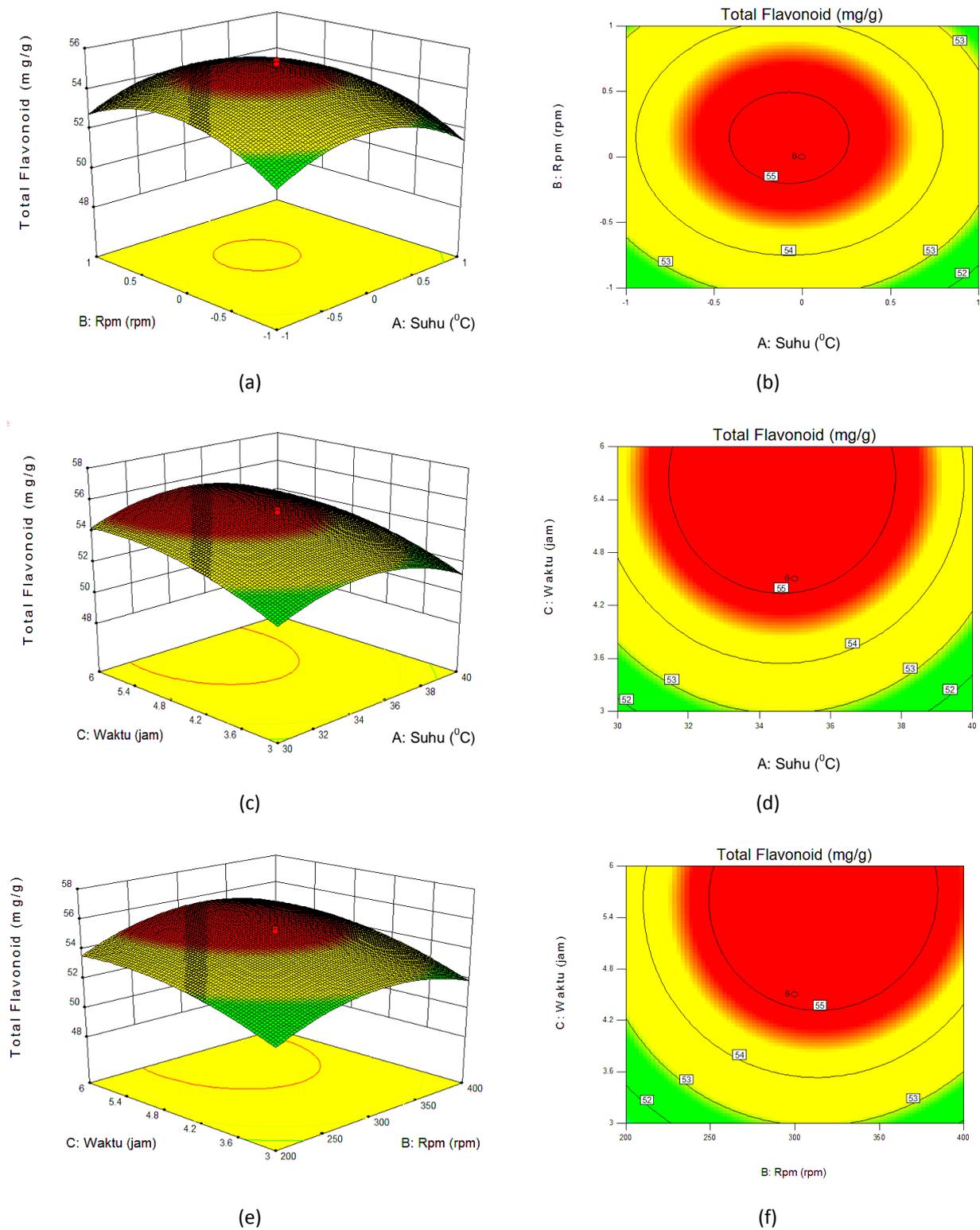
Hal yang sama juga terjadi ketika variabel bebas yang nilainya tetap adalah kecepatan pengadukan. Berdasarkan Gambar 1c dan 1d terlihat bahwa semakin meningkat suhu dan waktu ekstraksi akan memberikan pengaruh peningkatan dan penurunan total flavonoid sehingga dapat disimpulkan bahwa variabel bebas, suhu dan waktu ekstraksi berpengaruh terhadap total flavonoid yang dihasilkan. Menurut de Pinho *et al.*

(2010) suhu ekstraksi yang terlalu rendah akan menghambat pemecahan ikatan senyawa flavonoid dengan jaringan simplisia, namun jika terlalu tinggi akan menyebabkan kerusakan flavonoid. Pada saat variabel bebas suhu ekstraksi tetap (Gambar 1e dan 1f), total flavonoid juga mengalami peningkatan dan penurunan hasil, hal ini mengindikasikan bahwa variabel bebas lama waktu ekstraksi dan kecepatan pengadukan berpengaruh terhadap total flavonoid yang dihasilkan.

Berdasarkan pada hasil analisis respon permukaan baik tiga maupun dua dimensi menunjukkan bahwa total flavonoid yang dihasilkan dalam proses ekstraksi dengan metode maserasi sangat dipengaruhi oleh waktu ekstraksi, kecepatan pengadukan dan suhu ekstraksi. Hal ini sesuai dengan hasil analisis menggunakan ANOVA.

### Optimasi dan verifikasi

Hasil optimasi dengan menggunakan *Design Expert Ver. 9 Trial* menunjukkan bahwa kondisi optimal yang direkomendasikan pada proses ekstraksi total flavonoid daun gedi adalah waktu ekstraksi 4,83 jam, suhu ekstraksi 34,33 °C dan kecepatan pengadukan 322 rpm diprediksi akan mendapatkan total flavonoid sebesar 55,41 mg g<sup>-1</sup>.



Gambar 1. Respon permukaan tiga dimensi dan dua dimensi yang menunjukkan perbedaan pengaruh pada beberapa variabel bebas dalam proses ekstraksi daun gedi.

Figure 1. Surface response of three-dimensional and two-dimensional which showed different influences on several independent variables in extraction process of *A. manihot* leaves.

Reliabilitas dari model kemudian diuji kembali pada kondisi optimum, dengan waktu ekstraksi selama 4 jam 50 menit, suhu ekstraksi  $34 \pm 2$  °C dan kecepatan pengadukan sebesar 322 rpm. Total flavonoid yang dihasilkan sebesar  $53,34 \text{ mg g}^{-1}$ , hal ini menunjukkan bahwa tingkat akurasi dari model mencapai 96% dan nilai tersebut masih berada di bawah standar margin error sebesar 5%.

Berdasarkan kondisi tersebut, teknik ekstraksi dengan maserasi memiliki prospek untuk dikembangkan lebih lanjut dalam skala yang lebih besar, karena tekniknya sederhana dan mudah diaplikasikan (*user friendly*) (Vongsak *et al.*, 2013). Beberapa teknik ekstraksi yang lebih modern seperti ekstraksi dengan menggunakan *microwave* (Hayat *et al.*, 2009), ekstraksi dengan menggunakan tekanan tinggi (Xi *et al.*, 2011) dan ekstraksi dengan menggunakan karbondioksida superkritis (Bimarks *et al.*, 2011) memberikan beberapa keuntungan diantaranya adalah meningkatkan penetrasi pelarut terhadap bahan, menurunkan suhu dan dapat mempersingkat waktu, namun teknik ini masih membutuhkan peralatan khusus sebelum dilakukan ekstraksi. Hal ini menyebabkan biaya yang lebih mahal dan tidak dapat diadopsi oleh industri skala usaha kecil menengah (UKM) (Vongsak *et al.*, 2013).

#### Aktivitas antioksidan daun gedi

Hasil uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun gedi memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 383,49 ppm. Jika dibandingkan dengan hasil penelitian Pine *et al.* (2010) dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 575 ppm, maka hasil penelitian ini memiliki nilai  $IC_{50}$  yang lebih baik. Meskipun demikian, nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol daun gedi masih tergolong rendah jika dibandingkan dengan nilai  $IC_{50}$  kuersetin sebesar 3,12 ppm. Menurut Molyneux (2004) senyawa antioksidan dapat dilihat efektivitasnya berdasarkan nilai  $IC_{50}$ , dimana senyawa antioksidan yang memiliki nilai  $IC_{50}$  berkisar antara 200-1000 ppm termasuk

dalam senyawa yang efektif dalam menangkal radikal bebas, sedangkan  $IC_{50}$  kurang dari 200 ppm termasuk dalam senyawa yang sangat efektif menangkal radikal bebas. Ekstrak etanol daun gedi memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 383,49 ppm, sehingga termasuk dalam senyawa antioksidan yang memiliki kemampuan untuk menangkal radikal bebas secara efektif. Jika dibandingkan dengan hasil optimasi ekstrak etanol pada buah sirsak dengan  $IC_{50}$  sebesar 660 ppm (Prasetyorini *et al.*, 2014), maka aktivitas anti oksidan daun gedi lebih tinggi, namun lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil optimasi pada ekstrak etanol daun sirih dengan  $IC_{50}$  sebesar 301 ppm (Lestari dan Dwiatmaka, 2013).

#### KESIMPULAN

Kondisi yang optimal dalam proses ekstraksi daun gedi dengan menggunakan metode maserasi adalah dengan waktu ekstraksi 4,83 jam, suhu ekstraksi  $34,33$  dan kecepatan pengadukan 322 rpm. Total flavonoid yang dihasilkan pada kondisi optimal sebesar  $55,41 \text{ mg g}^{-1}$ . Faktor yang paling berpengaruh pada proses ekstraksi daun gedi adalah waktu ekstraksi lebih besar dari kecepatan pengadukan lebih besar dari suhu ekstraksi. Aktivitas antioksidan ekstrak daun gedi dinyatakan dalam  $IC_{50}$  sebesar 383,49 ppm.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Bimakr M, RA Rahman, FS Taip, A Ganjloo, LM Salleh, J Selamat, A Hamid and ISM Zaidul. 2011. Comparison of Different Extraction Methods for the Extraction of Major Bioactive Favonoid Compounds From Spearmint (*Mentha spicata* L.) Leaves. *Food Bioprod. Process* 89: 67-72.
- Chen G and H Chen. 2011. Extraction and deglycosylation of flavonoids from sumac fruits using steam explosion. *Food chemistry* 126(4): 1934-1938.
- Chen Q, L Ke, K Song, H Huang and X Liu. 2004. Inhibitory Effects of Hexylresorcinol and Dodecylresorcinol on Mushroom (*Agaricus bisporus*) Tyrosinase. *Prot. J.* 23: 135-141.
- Czech E, W Kneifel and B Koop. 2001. Microbiological

- Status of Commercially Available Medicinal Herbal Drugs-A Screening Study. *Planta Med* 67(3): 263-269.
- de Pinho GP, AA Neves, MELR de Queiroz and FO Silvério. 2010. Optimization of The Liquid-Liquid Extraction Method and Low Temperature Purification (LLE-LTP) for Pesticide Residue Analysis in Honey Samples by Gas Chromatography. *Food Control* 21(10): 1307-1311.
- D'Souza G, AR Kreimer, R Viscidi, M Pawlita, C Fakhry, WM Koch and ML Gillison. 2007. Case-control Study of Human Papillomavirus and Oropharyngeal Cancer. *New England Journal of Medicine* 356(19): 1944-1956.
- Ghasemi E, F Raofie and NM Najafi. 2011. Application of Response Surface Methodology and Central Composite Design for the Optimisation of Supercritical Fluid Extraction of Essential Oils From *Myrtus communis* L. Leaves. *Food Chemistry* 126(3): 1449-1453.
- Gupta PC, CV Rao. 2012. Pharmacognostical Studies of *Cleome viscosa* Linn. *Indian Journal of Natural Product Resources* 3: 527-534.
- Hayat K, S Hussain, S Abbas, U Farooq, B Ding, S Xia, C Jia, X Zhang and W Xia. 2009. Optimized Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Acids Citrus Mandarin Peels and Evaluation of Antioxidant Activity *in vitro*. *Sep. Sci. Technol* 70: 63-70.
- Heim KE, AR Tagliaferro and DJ Bobilya. 2002. Flavonoid Antioxidants: Chemistry, Metabolism and Structure-Activity Relationships. *J. Nutr. Biochem* 13: 572-584.
- Lestari ABS and Y Dwiatmaka. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Hasil Optimasi Pelarut Etanol-air. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* 12(1): 75-79.
- Lee SJ and DJ McClements. 2010. Fabrication of Protein-Stabilized Nanoemulsions Using a Combined Homogenization and Amphiphilic Solvent Dissolution/evaporation Approach. *Food Hydrocolloids* 24(6): 560-569.
- Locatelli M, R Grindro, F Travaglia, J Coisson, M Rinaldi and M Arlorio. 2009. Study of the DPPH-scavenging Activity: Development of a Free Software for the Correct Interpretation of Data. *Food Chemistry* 114: 889-897.
- Mamahit LP dan NH Soekamto. 2010. Satu Senyawa Asam Organik yang Diisolasi dari Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L. Medik) Asal Sulawesi Utara. *Chemistry Progress*. 3(1): 42-45. [diacu 2013 Januari 15] Tersedia dari <http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/chemprog/article/view/File/73/69>.
- Montgomery DC, EA Peck and GG Vining. 2012. *Introduction to Linear Regression Analysis*. Fifth Edition. John Wiley & Sons. Hoboken. New Jersey : 389.
- Molyneux P. 2004. The use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 26(2): 211-219.
- O'Reilly PH and RA Shields and HJ Testa. 2013. *Nuclear Medicine in Urology and Nephrology*. Butterworth-Heinemann.
- Pan G, G Yu, C Zhu and J Qiao. 2012. Optimization of Ultrasound-assisted Extraction (UAE) of Favonoids Compounds (FC) from Hawthorn Seed (HS). *Ultrasonics Sonochemistry* 19: 486-490.
- Pine ATD, G Alam and F Attamin. 2010. Standardisasi Mutu Ekstrak Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L.) Medik) Dan Uji Efek Antioksidan dengan Metode DPPH. [diacu 2012 Maret 12] Tersedia dari <http://pasca.unhas.ac.id/jurnal/files/d1043b1ce802ee8dbcb6f1dbb5626d55.pdf>.
- Prasetyorini, Moerfiah, S Wardatun dan Z Rusli. 2014. Potensi Antioksidan Berbagai Sediaan Buah Sirsak (*Annona muricatta* Linn). *Penel Gizi Makan* 37(2): 137-144.
- Procházková D, L Boušová and N Wilhelmová. 2011. Antioxidant and Prooxidant Properties of Favonoids. *Fitoterapia* 82: 513-523.
- Rajaei A, M Barzegar, Z Hamidi and MA Sahari. 2010. Optimization of Extraction Conditions of Phenolic Compounds from Pistachio (*Pistachia vera*) Green Hull Through Response Surface Method. *Journal of Agricultural Science and Technology* 12: 605-615.
- Robledo SN, MA Zón, CD Ceballos and H Fernández. 2011. Qualitative and Quantitative Electroanalysis of Synthetic Phenolic Antioxidant Mixtures in Edible Oils Based on Their Acid-base Properties. *Food Chemistry* 127(3): 1361-1369.

- Saeed N, MR Khan and M Shabbir. 2012. Antioxidant Activity, Total Phenolic and Total Flavonoid Contents of Whole Plant Extracts *Torilis leptophylla* L. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 12(1): 221.
- Valko M, M Izakovic, M Mazur, CJ Rhodes, J Telser. 2004. Role of Oxygen Radicals in DNA Damage and Cancer Incidence. *Mol. Cell. Biochem* 266: 37-56.
- Velickovic DT. 2007. Extraction of Flavonoid from Garden (*Salvia officinalis* L.) and Glutinous (*Salvia glutinosa* L.) Sage by Ultrasonic and Classical Maceration. *J. Serb. Chem. Soc* 72(1): 7380.
- Vongsak B, P Sithisarn, S Mangmool, S Thongpraditchote, Y Wongkrajang and W Gritsanapan. 2013. Maximizing Total Phenolic, Total Flavonoids Contents and Antioxidant Activity of *Moringa oleifera* Leaf Extract by the Appropriate Extraction Method. *Industrial Crops and Products* 44: 566-571.
- Wang P, Z Sheng, Q Han, Y Zhao, G Cheng, Y Li. 2014. Enrichment and Purification of Total Flavonoids from Flos Populi Extracts with Macroporous Resins and Evaluation of Antioxidant Activities *in vitro*. *Journal of Chromatography B* 945-946: 68-74.
- Xi J, D Shen, Y Li and R Zhang. 2011. Ultra High Pressure Extraction as a Tool to Improve the Antioxidant Activity of Green Tea Extracts. *Food Res. Int* 44: 2783-2787.
- Xu Q, Y Shen, H Wang, N Zhang, S Xu and L Zhang. 2013. Application of Response Surface Methodology to Optimise Extraction of Flavonoids from Fructus Sophorae. *Food Chemistry* 138(4): 2122-2129.