



## Penetapan Kadar Kuersetin dalam Sediaan Sirup Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) dengan Metode Spektrofotometri UV

Determination Of Quercetin Content In Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) Leaves Sirup by UV Spectrophotometry Methods

Sudjarwo<sup>1\*</sup>, Riska Rovitasari<sup>1</sup>, Setyo Prihatiningtyas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya

\*Corresponding author: sudjarwo@ff.unair.ac.id.

### INFO ARTIKEL

Dikirim:  
2 Oktober 2022

Direvisi:  
15 November 2022

Diterima:  
26 Desember 2022

Terbit Online:  
31 Desember 2022

### ABSTRAK

Kuersetin merupakan senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun *Averrhoa bilimbi* dan dapat diekstraksi dengan metode maserasi untuk dijadikan ekstrak. Ekstrak ini dapat dibuat dalam bentuk sirup untuk pengembangan sediaan herbal. Spektrofotometri UV digunakan dalam penentuan konsentrasi kuersetin dari *Averrhoa bilimbi* dalam sirup. Metode ini dinilai sederhana, cepat, dan relatif murah, sehingga memberikan manfaat untuk menganalisis banyak sampel. Validasi metode diperlukan untuk memastikan apakah aspek analitik valid dan parameter validasi yang diukur dalam penelitian ini adalah selektivitas, linearitas, LOD dan LOQ, presisi, dan akurasi. Selektivitas menunjukkan bahwa spektra memiliki panjang gelombang maksimum pada  $\lambda = 374$  nm. Linearitas diperoleh dari fungsi regresi  $y = 0,07923x - 0,07056$  dengan koefisien korelasi  $r = 0,9988$  dan  $V_{xo} = 2,42\%$ . Presisi menunjukkan koefisien varian  $KV = 0,24\%$ . LOD dan LOQ menunjukkan 0,0223 dan 0,0745. Konsentrasi kuersetin dalam ekstrak daun adalah  $6,708\% (b/b) \pm 5,72\%$  dan konsentrasi kuersetin dalam sirup adalah 63,06 mg.

**Kata kunci:** Kuersetin, *Averrhoa bilimbi*, Spektrofotometri UV

### ABSTRACT

Quercetin is a flavonoid compound that contained in *Averrhoa bilimbi* leaves and can be extracted by maceration method to be extract. This extract can be made in syrup for development of herbal preparation. UV Spectrophotometric be used in determination of quercetin concentration from *Averrhoa bilimbi* in syrup. This method assessed simple, quick, and relative cheap, so its give benefit for analyze many samples. Method validation is needed to assure if the analytic aspects were valid and the validation parameters measured in this research were selectivity, linearity, LOD and LOQ, precision, and accuracy. Selectivity has showed that spectra have maximum wavelength in  $\lambda=374$  nm. Linearity was acquired from regression function  $y = 0,07923x - 0,07056$  with correlation coefficient  $r = 0,9988$  and  $V_{xo} = 2,42\%$ . Precision has showed variant coefficient  $KV = 0,24\%$ . LOD and LOQ has showed 0,0223 and 0,0745. And accuracy was % recovery =  $94,02\% \pm 3,46\%$ . Quercetin

concentration in leaves extract was 6,708% (b/b)  $\pm$  5,72% and quercetin concentration in syrup was 63,06 mg.

**Keywords** : Quercetin, Avernhoa bilimbi, UV Spectrophotometric

## PENDAHULUAN

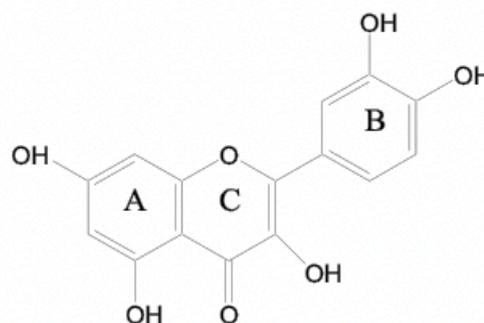
Indonesia merupakan negara yang sangat kaya akan berbagai jenis tumbuhan tropis yang telah dimanfaatkan sejak turun temurun untuk memenuhi kebutuhan hidup seperti pangan serta obat-obatan. Banyak hasil penelitian menunjukkan bahwa tanaman mengandung komponen kimia seperti alkaloid, flavonoid, fenol dan sebagainya yang memberikan beragam efek farmakologis (Hernani et al, 2009).

Tanaman belimbing wuluh (*Avernhoa bilimbi*) misalnya, daun dari tanaman ini dapat digunakan sebagai pasta atau kompres pada gatal, bengkak gondok, rematik, serta erupsi kulit (Latha, et al., 2013). Daun, buah, batang dari tanaman ini mengandung saponin, flavonoid (Syamsuhidayat, 1991). Flavonoid diketahui dapat menghambat berbagai macam enzim, salah satunya enzim xanthine oxidase. Xanthine oxidase mengkatalis pembentukan asam urat dan anion superoksida dari xanthine (Manuchair, 2007).



**Gambar 1.** Tanaman *Avernhoa bilimbi* (Latha et al.,2013)

Sekitar 60 - 75% flavonoid merupakan kuersetin dan glikosidanya (Waji dan Andis, 2009). Kuersetin juga memiliki kemampuan menghambat banyak enzim, seperti protein kinase C, lipogenase, 3',5'-cyclic adenosine monophosphate phosphodiesterases. Enzim tersebut merupakan penangkap radikal bebas (Harborne et al, 1999). Sebagai pengembangan produk herbal, maka kuersetin yang terdapat dalam daun *Avernhoa bilimbi* dibentuk dalam sediaan sirup yang mengandung bahan tambahan perasa (sakarosa) dengan kadar 64,0% sampai 66,0% (Anonim, 2010).



3,5,7,3',4'-pentahidroksiflavin ( $C_{15}H_{10}O_7$ )

**Gambar 2.** Struktur Kuersetin (The Merck Index, 2009)

Untuk menjamin kualitas, efektifitas, khasiat dan reproduibilitas, maka pada sediaan sirup tersebut perlu dilakukan penetapan kadar. Struktur kuersetin memiliki ikatan rangkap terkonjugasi, gugus auksokrom dan gugus kromofor sehingga untuk penetapan kadar dapat ditentukan dengan metode Spektrofotometri UV-Vis. Metode ini sering digunakan karena metode cukup sederhana, cepat, dan biaya yang relatif murah sehingga sangat menguntungkan untuk menganalisis jumlah sampel yang banyak (Mulja dan Syahrani, 1989). Analisis dengan Spektrofotometri UV-Vis dapat dilakukan pada senyawa flavonoid. Spektrum serapan ultra violet dan serapan tampak merupakan cara tunggal yang paling bermanfaat untuk mengidentifikasi struktur flavonoid (Markham, 1988). Flavonoid mengandung sistem aromatis yang terkonjugasi dan dapat menunjukkan pita serapan kuat pada daerah UV-Vis (Harborne, 1987).

Suatu metode analisis yang digunakan, seperti halnya Spektrofotometri UV-Vis juga perlu validasi metode untuk menjamin validitas metode tersebut. Menurut USP (2007), uji validasi dibagi menjadi empat kategori. Pertama, prosedur analisis untuk penetapan kadar komponen utama atau senyawa aktif dari produk kefarmasian. Kedua, untuk penetapan kadar cemaran atau senyawa hasil degradasi dari produk kefarmasian, yang meliputi tes kuantitatif dan tes limit. Ketiga, untuk penetapan karakteristik (seperti, disolusi, pelepasan obat). Dan keempat untuk tes identifikasi. Pada penetapan kadar kuersetin ini termasuk kategori pertama, yaitu prosedur analisis untuk penetapan kadar komponen utama atau senyawa aktif dengan data parameter validasi

yang diperlukan untuk uji validasi meliputi akurasi, presisi, spesifisitas / selektivitas, linieritas, dan rentang. Namun, karena kandungan senyawa kuersetin yang terdapat dalam daun belimbing jumlahnya sedikit maka juga diperlukan parameter lainnya yaitu LOD (Limit of Detection) dan LOQ (Limit of Quantity) (USP, 2007).

Oleh karena itu, maka penting dilakukan penelitian yang bertujuan untuk menetapkan kadar senyawa kuersetin dalam sediaan sirup daun *Averrhoa bilimbi* dengan metode spektrofotometri UV.

## METODE PENELITIAN

### Alat

Spektrofotometer UV *single-beam* (Hewlett Pakard), kuvet, timbangan analitik (O-Haus Adventurer), dan alat-alat gelas yang umum digunakan untuk analisis kimia.

### Bahan

Sampel : Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) dari Kebun Raya Purwodadi, dan dideterminasi oleh LIPI UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan, Jawa Timur.

Standar kuersetin Pharmaceutical Grade (Sigma Aldrich), sukrosa (Gulaku), aseton p.a (Merck), etanol 96% p.a (Merck), aquadest.

### Prosedur Kerja

#### Pembuatan Simplisia

Daun *Averrhoa bilimbi* (belimbing wuluh) dikumpulkan, dipisahkan dari kotoran, dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan terlindung dari cahaya matahari langsung. Simplisia yang telah kering dipilah kembali untuk memisahkan dari pengotor yang tertinggal, kemudian dibuat serbuk dengan menggunakan blender (Kresnanugraha, 2012).

#### Penentuan Kadar Air

Simplisia daun belimbing wuluh ditimbang 1-2 g pada wadah tertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu penetapan dan ditara. Setelah itu dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang. Pengeringan dilanjutkan dan ditimbang pada tiap 1 jam sampai perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Depkes RI, 2000).

#### Pembuatan Ekstrak Daun *Averrhoa bilimbi*

Masukkan 1 bagian serbuk kering simplisia ke dalam maserator, tambahkan 10 bagian pelarut. Rendam selama 6 jam pertama sambil berkali-

kali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Pisahkan maserat dengan cara filtrasi. Ulangi proses penyarian sekurang-kurangnya dua kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Kumpulkan semua maserat, kemudian uapkan dengan vakum atau penguap tekanan rendah hingga diperoleh ekstrak kental (Depkes RI, 2008).

#### Pembuatan Sediaan Sirup

Ditimbang ekstrak daun belimbing wuluh 1,1 g dan sukrosa sebanyak 6,5 g. Campur keduanya, kemudian dilarutkan dengan aquades, aduk sampai larut dan homogen. Tambahkan aquades sampai 10 ml, aduk sampai homogen.

#### Pembuatan Larutan Baku Induk Kuersetin

Dibuat baku induk kuersetin dengan kadar 2000 ppm dengan cara menimbang 50,0 mg standar kuersetin, dilarutkan dalam etanol 96% dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25,0 ml, kemudian ditambahkan etanol 96% sampai garis tanda, kocok sampai homogen. Selanjutnya dibuat baku kerja 80; 12,8; 9,6; 8; 6,4; 4; 3,2; dan 1,6 ppm.

### Validasi Metode

#### Selektivitas

Larutan kuersetin standar dengan kadar 6,4 ppm, larutan sediaan sirup daun belimbing wuluh, larutan campuran sediaan sirup daun belimbing wuluh yang ditambah larutan kuersetin standar dalam etanol 96%, dan larutan matriks. Sebagai blangko digunakan etanol 96%. Masing - masing diamati spektranya pada panjang gelombang 240 – 400 nm. Ditentukan panjang gelombang terpilih.

#### Linieritas

Dibuat satu seri larutan baku kerja dengan berbagai kadar (9,6; 8; 6,4; 4; dan 3,2 ppm). Masing - masing diukur absorbannya pada panjang gelombang terpilih. Kemudian dibuat kurva baku hubungan antara kadar dengan absorbansi. Berdasarkan absorbansi yang terbaca (y), konsentrasi baku kerja (x), maka dapat dihitung persamaan garis regresi  $y = bx + a$ . dihitung harga koefisien korelasi (r) dan koefisien variasi fungsi ( $V_{x_0}$ ).

#### LOD dan LOQ

Mengukur absorbansi blangko etanol 96% sebanyak 10 kali pada panjang gelombang terpilih, lalu dihitung simpangan bakunya. Kemudian, mengukur absorbansi dari 5 larutan standar yang berbeda kadar (3,2; 4; 6,4; 8; dan 9,6ppm). Dibuat kurva hubungan antara kadar

terhadap absorban, diperoleh  $y=bx+a$ ,  $b$  merupakan slope dari kurva hubungan antara kadar terhadap absorban. Sehingga batas deteksi dan batas kuantitasi dapat dihitung dengan rumus :

$$Q = \frac{k \times S_b}{Sl}$$

Keterangan :

Q : LOD (batas deteksi) atau LOQ (batas kuantitasi)

K : 3 untuk LOD atau 10 untuk LOQ

$S_b$  : simpangan baku absorban analit

Sl : slope (b pada persamaan garis  $y=bx+a$ )

### Presisi

Dibuat larutan standar kuersetin dengan kadar 6,4 ppm, amati absorbannya sebanyak 10 kali pengamatan, kemudian dihitung absorban rata-rata, standar deviasi (SD), dan koefisien korelasi (KV). Presisi dikatakan memenuhi syarat jika  $KV < 2\%$  dan pada sampel biologi  $KV \leq 15\%$ .

$$SD = \frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1} \quad KV = \frac{SD}{x} \times 100\%$$

### Akurasi

#### a. Akurasi Penetapan Kadar Kuersetin dalam Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Dibuat satu seri larutan standar kuersetin dengan konsentrasi meningkat yaitu 80%, 100%, 120% dari target. Masing-masing konsentrasi dari larutan standar kuersetin tersebut diambil 0,5 ml ditambah dengan berbagai volume ( 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; dan 4,0ml ) dari larutan ekstrak, kemudian dihomogenkan. Masing – masing ditambah etanol 96% sampai 10 ml. Kemudian diamati absorbannya pada panjang gelombang terpilih. Replikasi sebanyak 3 kali. Persen recovery dihitung berdasarkan kadar yang diperoleh dibagi dengan kadar yang diketahui dikali 100%.

$$\% Rec = \frac{\text{Kadar yang diperoleh}}{\text{Kadar yang diketahui}} \times 100\%$$

Kriteria yang diterima untuk % recovery dari sampel biologis (bioassay) adalah 80-120%.

**Tabel 1.** Pembuatan Larutan Adisi

Berat Kuersetin ( $\mu\text{g}$ )	Larutan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh yang ditambahkan
33,345 $\mu\text{g}$ (80%)	0,5 ml
	1,0 ml
	2,0 ml
	3,0 ml
	4,0 ml
41,68 $\mu\text{g}$ (100%)	0,5 ml
	1,0 ml
	2,0 ml
	3,0 ml
	4,0 ml

50,015 $\mu\text{g}$ (120%)	0,5 ml
	1,0 ml
	2,0 ml
	3,0 ml
	4,0 ml

#### b. Penetapan Kadar Kuersetin dalam Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Penetapan kadar kuersetin dalam ekstrak kering dilakukan dengan menimbang ekstrak daun belimbing wuluh sebanyak 250 mg yang dilarutkan dalam 50,0 ml etanol 96%. Dari larutan tersebut diencerkan, ambil 0,5 ml ditambah etanol ad 25,0 ml etanol. Dari larutan tersebut diambil 0,5 ml sebanyak 5 kali, masing-masing ditambah dengan berbagai volume (2,0; 3,0; 4,0; 5,0; dan 6,0 ml) larutan baku kuersetin 16 ppm dalam etanol 96%. Selanjutnya masing-masing diencerkan dengan menambah etanol 96% hingga 10 ml. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Diamati absorbannya pada panjang gelombang terpilih. Kadar kuersetin dalam ekstrak dihitung berdasarkan persamaan regresi linieritas dari larutan standar kuersetin.

#### Penetapan Kadar Kuersetin Dalam Sediaan Sirup Daun Belimbing Wuluh

Penetapan kadar kuersetin dalam sediaan sirup dilakukan dengan memipet 1,0 ml sediaan sirup yang ditambahkan etanol 96% sampai 50 ml (larutan A). Dari larutan tersebut diambil 1 ml dan ditambah etanol 96% etanol 10 ml (larutan B). Larutan B diambil 0,5 ml sebanyak 5 kali, masing-masing ditambah dengan berbagai volume (2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0ml) larutan baku kuersetin 16 ppm. Selanjutnya masing-masing diencerkan dengan menambah etanol 96% hingga 10 ml. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Diamati absorbannya pada panjang gelombang terpilih. Kadar kuersetin dalam ekstrak dihitung berdasarkan persamaan regresi linieritas dari larutan standar kuersetin.

### HASIL PENELITIAN

#### Pembuatan Simplisia

Pengumpulan daun belimbing wuluh :

Tanggal : 18 Februari 2015

Tempat : Kebun Raya Purwodadi

Determinasi oleh LIPI UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan, Jawa Timur.

**Tabel 2.** Pembuatan Simplisia

Berat Daun Basah (g)	Berat Daun Kering (g)
5209	1501

**Pembuatan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh**

Pembuatan ekstrak daun belimbing wuluh dilakukan untuk mengekstraksi kuersetin dalam simplisia daun belimbing wuluh. Simplisia daun belimbing wuluh sebanyak 1501 gram dikecilkan ukuran partikelnya dengan blender, lalu dimaserasi dengan pelarut aseton sebanyak 3,0 liter selama 5 hari. Setelah itu disaring filtratnya dengan bantuan corong dan vakum Buchner hingga diperoleh filtrat 1,240 liter. Filtrat tersebut dipekatkan menggunakan rotary vapour dan diperoleh ekstrak kental 40,2065 gram.

**Penetapan Kadar Air**

Penetapan kadar air dilakukan pada simplisia dan ekstrak daun belimbing wuluh dengan berdasarkan metode gravimetri pada suhu 105°C.

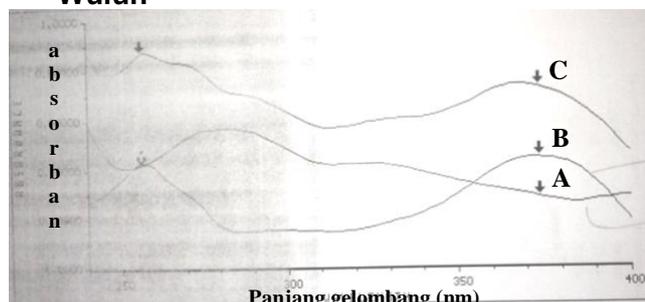
**Tabel 3. Kadar Air**

Bahan	Kadar air (%;b/b)			Rata-rata (%;b/b)
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	
Simplisia Daun Belimbing Wuluh	12,02	12,10	12,08	12,07
Ekstrak Daun Belimbing Wuluh	7,89	8,00	7,78	7,89

**Validasi Metode**

**Selektivitas**

**a. Selektivitas Ekstrak Daun Belimbing Wuluh**



**Gambar 3. Spektra Selektivitas Ekstrak Daun Belimbing Wuluh**

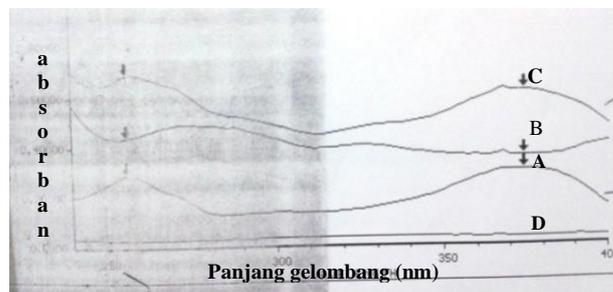
Keterangan :

- A : Sampel ekstrak daun belimbing wuluh
- B : Standar kuersetin
- C : Adisi standar kuersetin dan sampel ekstrak belimbing wuluh

Berdasarkan spektra di atas, diketahui bahwa panjang gelombang maksimum adalah 256 nm dan 374 nm. Panjang gelombang terpilih adalah 374 nm. Sehingga, pengamatan absorban terhadap analisis kuersetin dalam ekstrak daun

belimbing wuluh dilakukan pada panjang gelombang 374 nm.

**b. Selektivitas Sediaan Sirup Daun Belimbing Wuluh**



**Gambar 4. Spektra Selektivitas Sediaan Sirup Daun Belimbing Wuluh**

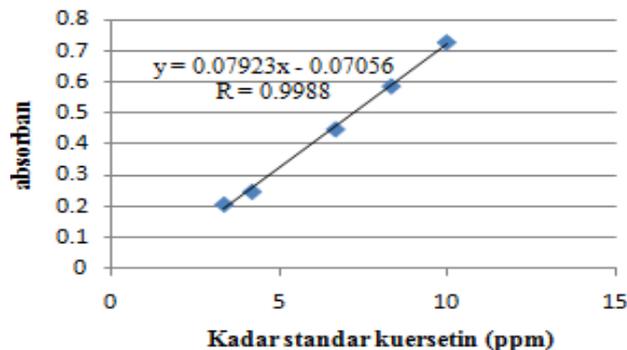
Keterangan :

- A : Standar kuersetin
- B : Sampel sediaan sirup daun belimbing wuluh
- C : Adisi standar kuersetin dan sampel sediaan sirup
- D : larutan matriks

Berdasarkan spektra di atas, panjang gelombang terpilih adalah 374 nm. Sehingga, pengamatan absorban terhadap ekstrak kuersetin dalam sediaan sirup daun belimbing wuluh dilakukan pada panjang gelombang 374 nm.

**Linieritas**

Dari hasil pengukuran absorban dari larutan standar kuersetin dengan kadar 3,2-9,6 ppm, diperoleh persamaan regresi  $y = 0,07923x - 0,07056$ , dengan koefisien korelasi sebesar  $r=0,9988$ . Nilai r hitung yang diperoleh lebih besar dari r tabel untuk  $n=5$  ( $r=0,878$ ) (Sudijono, 2006). Dan nilai koefisien variasi fungsi ( $V_{x0}$ ) yang diperoleh sebesar 2,42%. Hal ini menunjukkan adanya hubungan linier antara kadar larutan standar kuersetin dengan absorban yang terbaca.



**LOD dan LOQ**

Mengukur absorban blangko etanol 96% sebanyak 10 kali, lalu dihitung simpangan bakunya. Dan mengukur absorban satu seri larutan standar kuersetin, lalu dibuat kurva

regresinya. Dari hasil perhitungan, diperoleh nilai LOD sebesar 0,0223 ppm dan LOQ sebesar 0,0745 ppm.

### Presisi

Larutan standar kuersetin dengan kadar 6,4 ppm diukur absorbansinya sebanyak 10 kali. Dari hasil presisi didapatkan absorbansi rata-rata sebesar 0,43366 dan nilai KV sebesar 0,24%. Nilai KV yang diperoleh telah memenuhi syarat  $KV \leq 2\%$ . Dapat disimpulkan bahwa metode yang digunakan memiliki keterulangan yang baik.

### Akurasi

Dari hasil perhitungan uji akurasi diperoleh persen perolehan kembali sebesar 94,02%  $\pm$  3,46%. Nilai persen perolehan kembali dan KV yang diperoleh telah memenuhi persyaratan untuk sampel biologis yaitu persen perolehan kembali sebesar 80-120% dan  $KV \leq 15\%$ .

**Tabel 4. Akurasi**

Target konsentrasi	Replikasi	Berat kuersetin yang diketahui ( $\mu\text{g}$ )	Berat kuersetin yang diperoleh ( $\mu\text{g}$ )	Persen perolehan kembali (%b/b)
80%	1	33,345	32,186	96,52
	2	32,96	30,8938	93,73
	3	33,92	31,8643	93,94
100%	1	41,68	36,4006	87,33
	2	41,2	39,879	96,79
	3	42,4	39,3822	92,88
120%	1	50,015	47,5278	95,03
	2	49,44	45,3236	91,67
	3	50,88	50,0083	98,29
Rata-rata				94,02
SD				3,2566

### Penetapan Kadar Kuersetin

#### a. Penetapan Kadar Kuersetin dalam Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Penetapan kadar kuersetin dalam ekstrak daun belimbing wuluh dilakukan berdasar prosedur. Dari hasil penetapan kadar, diperoleh rata-rata kadar kuersetin dalam ekstrak daun belimbing wuluh adalah 6,708% (b/b)  $\pm$  5,72%.

#### b. Penetapan Kadar Kuersetin Dalam Sediaan Sirup Daun Belimbing Wuluh

Penetapan kadar kuersetin dalam sediaan sirup dari ekstrak daun belimbing wuluh dilakukan sesuai dengan prosedur. Dari hasil penetapan kadar kuersetin dalam sirup 10 ml diperoleh kadar rata-rata kuersetin sebesar 63,06 mg  $\pm$  2,53%.

### PEMBAHASAN

Tahap awal yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu pembuatan simplisia daun belimbing wuluh. Daun belimbing wuluh diperoleh dari Kebun Raya Purwodadi, dan

dideterminasi oleh LIPI UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi. Diperoleh simplisia daun belimbing wuluh kering sebesar 1501 gram.

Simplisia daun belimbing wuluh kering tersebut selanjutnya dianalisis kandungan airnya, pada suhu 105°C. Pada suhu tersebut diharapkan air yang masih terdapat pada simplisia menguap. Hasil penetapan kadar air simplisia daun belimbing wuluh diperoleh rata-rata sebesar 12,07 %. Pada penelitian lain, kadar air daun belimbing wuluh sebesar 8,8%. Kadar air yang tinggi dapat menyebabkan bahan menjadi rusak ketika disimpan karena adanya pertumbuhan mikroba dan aktivitas enzim penyebab kerusakan. Batas kadar air minimal dimana mikroba masih dapat tumbuh adalah 14-15% (Hidayati, 2007).

Kemudian dilakukan pembuatan ekstrak daun belimbing wuluh sebanyak 1501 g simplisia dengan metode maserasi dengan pelarut aseton sebanyak 3,0 L selama 5 hari dan penguapan dengan *rotary vapour*. Ekstrak yang dihasilkan sebesar 40,6025 g. Hasil ekstrak tersebut juga ditentukan kandungan airnya dan diperoleh kadar air ekstrak daun belimbing wuluh rata-rata sebesar 7,89 %. Sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak masih terlindung dari pertumbuhan mikroba.

Sebelum masuk pada tahap analisis sampel, perlu dilakukan tahap validasi metode terlebih dahulu untuk menjamin validitas metode yang digunakan. Pada Uji selektivitas, dilakukan pemilihan panjang gelombang dengan mengukur serapan kuersetin pada daerah UV, yaitu pada panjang gelombang 240 – 400 nm. Pemilihan panjang gelombang dilakukan dengan membandingkan 3 profil spectra dari larutan standar kuersetin, larutan sampel ekstrak daun belimbing wuluh, dan larutan campuran sampel ekstrak daun belimbing wuluh yang ditambah dengan standar kuersetin. Diperoleh hasil dari 3 profil spectra tersebut memberikan nilai serapan maksimum pada panjang gelombang 256 nm dan 374 nm. Panjang gelombang maksimum menurut literature The Merck Index 13<sup>th</sup> Ed., 2009 yaitu 258 nm dan 375 nm, serta menurut penelitian Sorayanova (2009) yaitu pada 374 nm. Perbedaan panjang gelombang sebesar 1 nm masih dianggap sama karena digunakan *diode array detector* (DAD), sehingga digunakan panjang gelombang 374 nm sebagai panjang gelombang terpilih pada penelitian ini.

Pada uji linieritas diperoleh persamaan regresi  $y = 0,07923x - 0,07056$  dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9988 dan koefisien variasi fungsi ( $V_{x0}$ ) sebesar 2,42%, dimana nilai

tersebut masih memenuhi rentang persyaratan  $V_{x0} < 2-5\%$  (Harmita, 2004). Dari data tersebut dapat ditunjukkan bahwa terdapat korelasi yang linier antara konsentrasi standar kuersetin dengan absorbansi yang terbaca.

Untuk uji presisi diperoleh nilai koefisien variasi (KV) sebesar 0,24%. Nilai KV yang diperoleh ini sama dengan yang diperoleh Arman (2012) dalam penelitiannya, yaitu  $KV \leq 2\%$ . Sehingga dapat disimpulkan bahwa alat yang digunakan memiliki keterulangan yang baik. Dan untuk uji LOD dan LOQ, diperoleh nilai LOD sebesar 0,0223 ppm dan LOQ sebesar 0,0745 ppm. Sedangkan pada penelitian Arman (2012), diperoleh LOD sebesar 0,229  $\mu\text{g/ml}$  dan LOQ sebesar 0,76  $\mu\text{g/ml}$ . Pada penelitian ini memberikan hasil LOD dan LOQ yang lebih kecil dari penelitian yang dilakukan oleh Arman (2012), hal ini menunjukkan bahwa ketelitian analisis pada penelitian ini lebih teliti dibandingkan penelitian Arman (2012).

Uji akurasi pada penelitian ini dilakukan dengan metode adisi karena sampel yang digunakan berasal dari bahan alam dan tidak dapat dibuat matrik sampel karena senyawa-senyawa yang terkandung multikomponen. Hasil persen perolehan kembali yang diperoleh dalam penelitian ini adalah 87,33% - 98,29% dengan persen perolehan kembali rata-rata sebesar 94,02% dan nilai KV sebesar 3,46%. Menurut penelitian Arman (2012), persen perolehan kembali (% recovery) kuersetin yang diperoleh sebesar 87,59 – 99,98% dengan  $KV < 2\%$ , hal itu menunjukkan metode yang dilakukan akurat dan reproduktibel. Persen perolehan kembali (% recovery) yang dipersyaratkan untuk sampel biologis (bioassay) adalah 80-120% dan persen persyaratan untuk presisi adalah  $KV \leq 15\%$  (Harmita, 2004). Maka dapat disimpulkan bahwa metode ini memenuhi persyaratan akurasi dan presisi untuk sampel biologis.

Setelah memenuhi proses validasi, metode ini diaplikasikan dalam penetapan kadar kuersetin dalam ekstrak daun belimbing wuluh. Kadar rata-rata kuersetin didalam ekstrak daun belimbing wuluh diperoleh sebesar 6,708% (b/b). Kadar kuersetin dalam ekstrak daun belimbing wuluh menurut literature sebesar 1,666667 mg/g ekstrak (16,66667% b/b) (Rahman *et al.*, 2013). Adanya perbedaan kadar tersebut dikarenakan sintesis metabolit pada tanaman sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan di sekitar habitat tumbuhan yang meliputi jenis tanah, cuaca, dan letak geografis.

Sebagai pengembangan produk herbal, maka kuersetin yang terdapat dalam ekstrak

daun belimbing wuluh tersebut dapat diproses lebih lanjut dalam sediaan sirup. Maka dibuat sediaan sirup 10 ml yang mengandung 1,1 g ekstrak daun belimbing wuluh, dan sukrosa 6,5 g (65%) yang dapat berfungsi sebagai pemanis. Penetapan kadar kuersetin dalam sediaan sirup dilakukan dengan metode adisi dan diperoleh hasil rata-rata penetapan kadar kuersetin dalam sirup daun belimbing wuluh yaitu sebesar 63,06 mg.

## KESIMPULAN

Metode Spektrofotometri UV memenuhi persyaratan validasi metode dalam hal selektivitas, linieritas, akurasi, dan presisi serta LOD dan LOQ pada penentuan kadar kuersetin dalam sediaan sirup daun *Averrhoa bilimbi*. Dan kadar kuersetin rata-rata pada sediaan sirup yaitu  $63,06 \text{ mg} \pm 2,53\%$ .

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2007. *The United State Pharmacopeia 30 Ed – National Formulary 25*. Rockville : The United State Pharmacopeial Convention. p.680.
- Anonim. 2009. *The Merck Index, An Encyclopedia of Chemicals and Drugs*, 14th Edition, Merck and Co., Inc, Rahway, New Tersey, USA. p.8034.
- Anonim. 2010. *Acuan Sediaan Herbal Volume Kelima, Edisi Pertama*. Jakarta : Direktorat Obat Asli Indonesia, Deputi II, Badan POM RI. Hal.: 6.
- Arman, Eliza. 2012. *Penetapan Kadar Kuersetin dalam Plasma secara In Vitro*. Padang : Fakultas Farmasi Universitas Andalas.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal.:14.
- Departemen Kesehatan RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi Pertama*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal.:174.
- Gandjar, I.G. & Rohman, Abdul. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar. Hal.: 220-254, 463-470.
- Harborne, J.B., Baxter H., Moss G. P. 1999. *Phytochemical Dictionary, A Handbook of Bioactive Compounds from Plants, Second Edition*. London : Taylor & Francis Ltd, One Gunpowder Square. p. 450.

- Harmita. 2004. *Review Artikel : Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*. Departemen Farmasi FMIPA-UI. Majalah Ilmu Kefarmasian, Vol. 1, No.3, Desember 2004, Hal. 117-135.
- Hernani, Nurdjanah R. 2009. *Aspek Pengeringan Dalam Mempertahankan Kandungan Metabolit Sekunder Pada Tanaman Obat*. Bogor : Perkembangan Teknologi TRO 21 (2) Desember 2009.
- Hidayati, Iffa L. 2007. *Formulasi Tablet Effervescent dari Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) sebagai Anti Hipertensi*. Bogor : Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Hal.21.
- Kresnanugraha, Y. 2012. *Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase Dari Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) Dan Identifikasi Golongan Senyawa Dari Fraksi Aktif*. Depok : Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Departemen Farmasi.
- Lakhanpal, Parul., and Kumar Rai, D.K., Jul-Dec 2007. *Quercetin: A Versatile Flavonoid*. Internet Journal of Medical Update, Vol. 2. No. 2
- Latha, J.L.N., Kumar, K.A., & Gousia, S.K., M., Anupama. 2013. *A Review on Phytochemical Constituents and Biological Assays of Averrhoa bilimbi*. India : International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science Research 2013; 3(4). p: 136-139.
- Lide, D.R. 2005. *CRC Handbook of Chemistry and Physics, Internet Version 2005*, <http://www.hbcnetbase.com>, CRC Press. p.617.
- Manuchair, Ebadi. 2007. *Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine Second Edition*. North Dakota : Taylor & Francis Group, LLC. p.393-403.
- Miean, K.H., Mohamed, S. 2001. *Flavonoid (Myricetin, Quercetin, Kaempferol, Luteoin, and Apigenin) Content of Edible Tropical Plants*. Malaysia : Faculty of Food Chem., 2001. p. 3106-3112.
- Mukhlisoh, W. 2010. *Pengaruh Ekstrak Tunggal dan Gabungan Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi Linn) Terhadap Efektivitas Antibakteri Secara Invitro*. Malang : Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Rowe R. C., Sheskey P. J., Quinn M. E. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, Sixth edition. USA : Pharmaceutical Press. p.703-704.
- Sejati, Apriliana D. 2012. *Penetapan Kadar Flavonoid dan Fenolik Ekstrak Air Jinten Hitam (Nigella sativa L.) dan Uji Sitotoksik pada Sel Kanker Payudara MCF-7 dari Tiga Daerah: Habasyah, India dan Indonesia*. Surakarta : Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Sorayanova, Elly. 2009. *Penetapan Kadar Kuersetin dalam Bawang Merah (Allium ascalonicum L.) Dan Bawang Bombay (Allium cepa L.) Secara Spektrofotometri Ultraviolet Dengan Metode Adisi Baku*. Jakarta : Fakultas Farmasi Universitas Pancasila.
- Sudijono, Anas. 2006. *Pengantar Statistik Pendidikan*. Jakarta : PT. Raja Grafindo Persada.
- Syofyan, Lucida H., Bakhtiar A. 2008. *Peningkatan Kelarutan Kuersetin Melalui Pembentukan Kompleks Inklusi Dengan  $\beta$ -Siklodekstrin*. Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, Vol.13, No.2, 2008, Hal: 43-48.
- Waji, R. S., Andis S. 2009. *Makalah Kimia Organik Bahan Alam Flavonoid (Quercetin)*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin. Hal. 11-12.