



Penetapan Kadar Kuersetin Ekstrak Etanol Pada Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis dan Profil Kromatografi Lapis Tipis

Tiara Kusuma Wardani^{1*}, Ahwan², Fadilah Qonitah¹

¹ Prodi Farmasi, Fakultas Sains, teknologi dan kesehatan, Universitas Sahid Surakarta, Indonesia

*email: tiaraciki69@gmail.com

DOI:

Article Info

Submitted : 07-02-2024
Revised : 30-03-2024
Accepted : 05-04-2024

Penerbit:

Pengurus Cabang
Ikatan Apoteker Indonesia
(IAI) Kab. Karanganyar

Abstract

Guava leaves are one of the leaves that have pharmacological benefits. The plant contains efficacious medicines such as flavonoids. The research aims to determine the quercetin content in the ethanol extract of guava leaves (*Psidium guajava* L). Guava leaves (*Psidium guajava* L) are extracted using the maceration method with 96% ethanol solvent. Qualitative tests were conducted using flavonoid tube tests and Thin Layer Chromatography profiles. The quantitative test of quercetin used the UV-Vis spectrophotometric method at a wavelength of 258 nm, which was expressed as % b/v content. The qualitative test results show that the ethanol extract of guava leaves (*Psidium guajava* L) contains flavonoid compounds, as seen from the orange or red colored solution. The results of the Thin Layer Chromatography profile show that the stains appear on the extract are parallel to the quercetin standard. Meanwhile, quantitative test results show that the quercetin content of ethanol extract of guava leaves (*Psidium guajava* L) is found to be $2.87 \pm 1.59\%$ b/b. The standard quercetin solution shows the standard curve results of the regression equation $y = 0.0705x + 0.222$ and $r = 0.9976$. Validation of the method with parameters including linearity, precision, accuracy, LOD, and LOQ has met the requirements for each parameter.

Keywords: Guava Leaf Extract; Thin Layer Chromatography; Quercetin; UV-Vis Spectrophotometry

Abstrak

Daun jambu biji merupakan salah satu daun yang memiliki manfaat secara farmakologis. Kandungan dari tanaman adas yang berkhasiat dalam pengobatan salah satunya adalah flavonoid. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan kuersetin di dalam ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L). Daun jambu biji (*Psidium guajava* L) diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Uji kualitatif dilakukan dengan menggunakan uji tabung flavonoid dan profil Kromatografi Lapis Tipis. Uji kuantitatif kuersetin menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 258 nm yang dinyatakan dalam % kadar b/v. Berdasarkan hasil uji kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L) mengandung senyawa flavonoid dilihat dari larutan berwarna jingga atau merah dan pada hasil profil Kromatografi Lapis Tipis menunjukkan bahwa noda yang muncul pada ekstrak sejajar dengan standard kuersetin. Sedangkan berdasarkan hasil uji kuantitatif menunjukkan bahwa kandungan kuersetin ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L) didapatkan sebesar $2,87 \pm 1,59\%$ b/b. larutan standard kuersetin didapatkan hasil kurva baku persamaan regresi $y = 0,0705x + 0,222$ dan $r = 0,9976$. Validasi metode dengan parameter meliputi linieritas, presisi, akurasi, LOD dan LOQ telah memenuhi persyaratan pada masing-masing parameter.

Kata Kunci: Ekstrak daun jambu biji, Kuersetin, Spektrofotometri UV- Vis, Kromatografi Lapis Tipis

1. Pendahuluan

Jambu biji (*Psidium guajava* Linn.) adalah tanaman buah yang populer dan dikenal banyak orang, termasuk ke dalam family *Myrtaceae*, berasal dari daerah tropis Amerika Selatan dan tumbuh liar di Bangladesh, India, Thailand, Brazil, Florida, Hindia Barat, California dan juga di beberapa Negara lain (Biswas *et al.*, 2013). Jambu biji mempunyai kandungan tinggi senyawa organik dan anorganik, metabolit sekunder, seperti antioksidan, polifenol, senyawa antivirus, senyawa anti-inflamasi, bagian tanaman jambu biji yang paling sering digunakan adalah daun, daun jambu biji terkandung senyawa yaitu polifenolat, kuersetin, saponin, flavonoid, kuinon, alkaloid dan tanin sebagai antibakteri serta dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Girsang *et al.*, 2020). Kuersetin merupakan senyawa kelompok flavonoid terbesar, kuersetin juga merupakan senyawa alami golongan flavonoid yang memiliki inti flavon, yang memiliki sifat antikanker yang telah dibuktikan dengan percobaan *in vivo* dan *in vitro* (Dwitiyanti, 2015). Salah satu tumbuhan yang mengandung kuersetin adalah daun jambu biji (Fratwi, 2015). Dalam daun jambu biji terdapat sebanyak 2883,08 mg/kg kuersetin (Gutierrez dkk., 2008).

Menurut Farmakope Herbal Indonesia analisis kuersetin pada ekstrak daun Jambu Biji dapat ditentukan dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Beberapa penelitian sebelumnya telah melakukan analisis kuersetin dengan berbagai metode seperti kromatografi (densitometri dan HPLC), spektrofotometri, elektroforesis kapiler, dan spektrofotometri (Yola dkk., 2013). Penelitian yang dilakukan oleh Elis (2021) menggunakan metode spektrofotometri *Uv-Vis*, menunjukkan bahwa dari sampel daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang memiliki kadar flavonoid lebih tinggi adalah pada sampel daun kering jambu biji (*Psidium guajava* L.) dengan sebesar 57,16 mg/L atau 5,71%. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui ada tidaknya senyawa Kuersetin dan jumlah kadar kuersetin pada ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) apabila menggunakan metode Spektrofotometri *UV-Vis* dan profil Kromatografi Lapis Tipis.

2. Metode

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental yang dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Sahid Surakarta. Populasi dari penelitian ini adalah daun jambu biji (*Psidium guajava* L.). Sampel dari penelitian ini adalah ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.). Variabel yang digunakan variabel bebas yaitu ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.), variabel terikat meliputi pemeriksaan kualitatif kuersetin dengan melihat profil Kromatografi Lapis Tipis serta uji kuantitatif kadar kuersetin dengan metode Spektrofotometri *UV-Vis* pada ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.). Analisa data yang digunakan menggunakan spektrofotometri *Uv-Vis* dan validasi metode.

2.1. Alat

Alat-alat gelas (*pyrex*), cawan porselin (China), neraca analitik (Acis), baskom plastik (Lokal), toples 2500 L (*Pyrex*), blender (Maspion), oven, *waterbath* (memmert), pipet tetes (*Pyrex*), Spektrofotometer *UV-Vis* (*Gynesis*) dan *rotary evaporator* (*Bio base*), chamber (CAMAG™), UV Lamp (*Gynesis*), mikropipet (DragonLab), plat KLT (Silika gel F₂₅₄), tabung reaksi.

2.2. Bahan

Aquadest (*Merck*), Etil asetat (*Merck*), Kuersetin (*Merck*), Kertas saring (Whatman), methanol (*Merck*), Ammonium Klorida (*Merck*), Natrium Asetat (*Merck*), Kalium Asetat (*Merck*), Daun jambu biji (*Psidium guajava* L.), Etanol 96% (*Merck*), Kloroform (*Merck*), Asam format (*Merck*), serbuk magnesium, HCl pekat (*Merck*), pereaksi dragendorf, HCl 2N, FeCl₃ 5%, kloroform, anhidra asetat, H₂SO₄.

2.3. Rencana Jalannya Penelitian

a. Determinasi Tanaman

Tahap pertama dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman untuk menetapkan kebenaran yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi pada sampel tanaman jambu biji (*Psidium guajava* L.) secara makroskopis dan dengan acuan

buku yang dibuktikan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) di Tawangmangu.

b. Ekstraksi Sampel

Pembuatan ekstrak daun jambu biji dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Simplisia sebanyak 400g dimasukkan kedalam wadah kaca berwarna gelap dan tertutup, di maserasi dengan etanol 96% sampai serbuk simplisia terendam. Diamkan selama 3 hari sambil sesekali diaduk. Setelah hari ke 3 sampel di saring dan dipisahkan ampas dan filtratnya, selanjutnya ampas diremaserasi dengan pelarut etanol 96% yang baru sampai ampas terendam, dilakukan 2 kali penyaringan. Filtrat dikumpulkan dan dipekatkan dengan alat *rotary evaporator* dengan suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental. (Aslamiyah dkk., 2023).

c. Analisa Kualitatif Kuersetin

1) Uji Tabung Flavonoid

Sebanyak 1 mL sampel ditambahkan 0,5 gram serbuk magnesium dan 10 tetes HCl pekat, bila bereaksi positif akan menghasilkan larutan berwarna jingga, merah muda atau merah (Abdul, 2020)

2) Profil Kromatografi Lapis Tipis

Larutan uji dilakukan dengan mengambil sebanyak 100 mg ekstrak kental, kemudian dilarutkan dengan etanol 96% dan diencerkan sampai 10 mL pada labu takar. Larutan tersebut disaring dan didapatkan ekstrak daun jambu biji.

Identifikasi senyawa kuersetin yang terkandung dalam ekstrak dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Fase gerak yang digunakan yaitu, (kloroform: etil asetat: asam format 5:4:1) dengan fase diam plat silika gel F₂₅₄. Fase gerak disiapkan sebanyak 10 mL dan didiamkan selama ± 1 jam. Kemudian larutan standar kuersetin dan ekstrak daun jambu biji ditotolkan pada plat silika gel F₂₅₄ masing-masing sebanyak 2 µL. Plat dieluasi dengan fase gerak sampai batas. Pengamatan kualitatif kuersetin di bawah sinar UV 254nm dan 366nm menggunakan pereaksi semprot AlCl₃ 5% (Ahwan et al., 2024).

d. Validasi Metode

1) Uji Linieritas

Uji linieritas dilakukan dengan mengukur konsentrasi kuersetin 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 258 nm. Hasil uji linieritas diperoleh persamaan regresi linier dari hubungan antara konsentrasi dan absorbansi yang didapat dari pengukuran dengan spektrofotometri UV-Vis (Qonitah, 2023).

2) Uji Presisi

Uji ketelitian dilakukan dengan mengukur larutan baku kuersetin dengan konsentrasi 2 ppm dibuat dalam volume 10 mL sebanyak 6 kali dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 258 nm (Qonitah, 2023)

3) Uji Akurasi

Uji ketepatan dilakukan dengan mengukur sampel ekstrak etanol daun jambu biji yang telah di preparasi dibuat konsentrasi sama dengan konsentrasi baku sebesar 100 ppm kemudian dipipet sama seperti baku kuersetin dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm pada masing-masing sampel. Larutan dalam labu ukur dicukupkan volumenya dengan etanol 96% dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 258 nm (Qonitah, 2023).

4) Uji Batas Deteksi (*Limit of Detection*) dan Batas Kuantitasi (*Limit of Quantitation*)

Uji batas deteksi (*LOD*) dan batas kuantitas (*LOQ*) ditentukan berdasarkan nilai simpangan (*SD*) dan kemiringan (*slope*) pada persamaan linieritas. Batas kuantitas atau *Limit of Quantitation* (*LOQ*) merupakan batas

konsentrasi minimum analit dalam sampel yang masih memenuhi kriteria cermat dan seksama. Data yang digunakan untuk menghitung batas deteksi dan batas kuantitasi adalah nilai b pada persamaan regresi $y = a + bx$ dan nilai simpangan baku (SD) (Romsiah, 2017).

e. **Analisis Dengan Spektrofotometri Uv-Vis**

1) Pembuatan Larutan Baku Kuersetin

Larutan baku kuersetin dibuat dengan melarutkan 10 mg kuersetin dalam pelarut yang sama hingga volume 100 mL. Larutan uji dibuat dengan seri konsentrasi 2; 4; 6; 8; dan 10 ppm dalam labu takar 10 mL kemudian diadkan menggunakan etanol 96 %.

2) Penetapan Kadar Kuersetin Dalam Ekstrak Daun Jambu Biji

Penetapan kadar kuersetin dalam ekstrak dikuantifikasi menggunakan alat spektrofotometer *UV-Vis*. Larutan sampel dibuat dengan menimbang 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 kemudian diencerkan lagi dengan mengambil 0,25 ditambah etanol ad 25,0 mL. Nilai absorbansi diukur pada panjang gelombang 258 nm terhadap larutan blanko pelarut. Kadar kuersetin sampel dinyatakan dalam % kadar (Sudjarwo dkk., 2022).

3. Hasil dan pembahasan

3.1 Determinasi Tanaman

Determinasi dari suatu tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman tersebut, apakah tanaman tersebut benar-benar tanaman yang diinginkan (Safitri *et al.*, 2020). Dengan demikian kesalahan dalam pengumpulan bahan yang akan diteliti dapat dihindari. Berdasarkan hasil determinasi yang telah dilakukan di B2P2TOOT di Tawangmangu diperoleh kepastian bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar daun jambu biji (*psidium guajava* L).

3.2 Ekstraksi Daun Jambu Biji

Berdasarkan hasil penelitian (Tabel 1) dihasilkan rendemen ekstrak etanol daun jambu biji sebesar 12,28 % b/b dengan berat simplisia kering 400 gram dan berat ekstrak etanol 96 % setelah pengeringan sebesar 49,12 gram. Rendemen merupakan perbandingan antara hasil banyaknya metabolit yang didapatkan setelah proses ekstraksi dengan berat sampel yang digunakan. Penentuan rendemen berfungsi untuk mengetahui kadar metabolit sekunder yang terbawa oleh pelarut namun tidak dapat menentukan jenis senyawa yang terbawa oleh pelarut (Aminah *et al.*, 2017). Rendemen dikatakan baik jika nilai lebih dari 10 % b/b (Utami *et al.*, 2020). Oleh karena itu, rendemen ekstrak pada penelitian ini dapat dinyatakan baik karena hasil rendemen > 10 % b/b. Semakin besar rendemen yang dihasilkan, maka semakin efisien perlakuan yang diterapkan. Nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya bioaktif yang terkandung dalam ekstrak (Dewitasari *et al.*, 2017).

Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstraksi Maserasi Daun Jambu Biji (*psidium guajava* L)

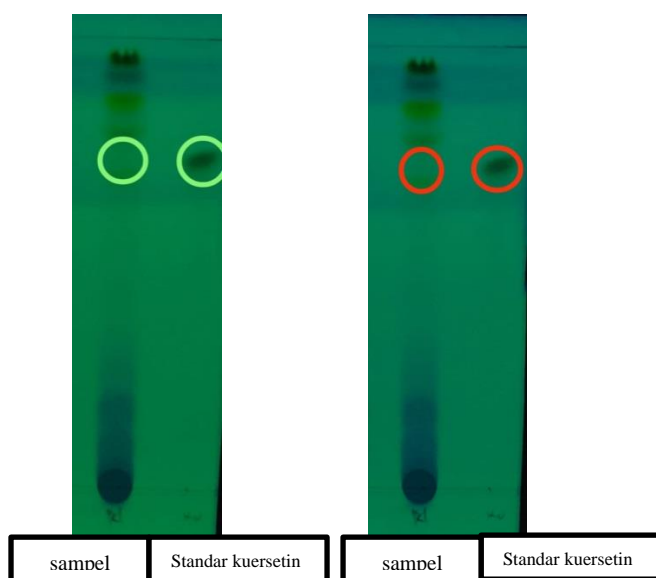
Simplisia	Berat simplisia kering (gram)	Berat ekstrak etanol 96% (gram)	%Rendemen (% b/b)
Daun jambu biji (<i>psidium guajava</i> L)	400	49,12	12,28

3.3 Analisis Kualitatif Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji

Analisis kualitatif kuersetin ekstrak etanol daun jambu biji menggunakan uji tabung flavonoid dan profil Kromatografi Lapis Tipis dibawah UV 254 dan 366 nm. Pada uji tabung didapatkan hasil positif flavonoid ditandai dengan larutan ekstrak tanol daun jambu biji menjadi berwarna merah.



Gambar 1. Hasil Skrining Kandungan Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*psidium guajava* L)



Gambar 2. Hasil Profil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*psidium guajava* L) pada UV 254 (kiri) dan 366nm (kanan)

3.4 Uji Validasi

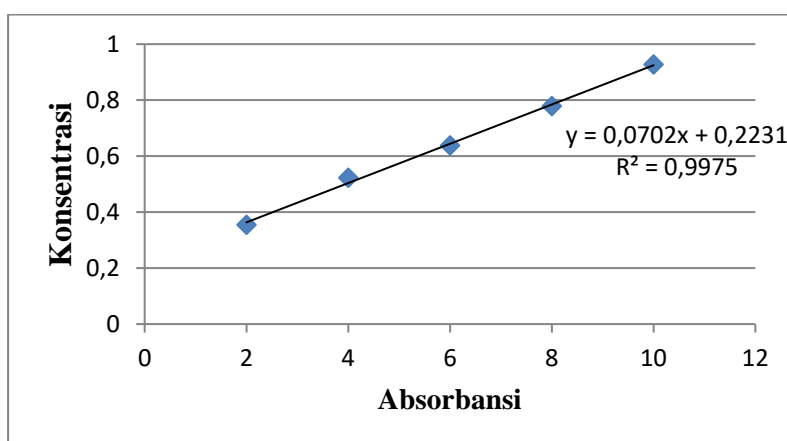
Uji validasi ini bertujuan mendapatkan metode yang valid untuk penetapan kadar kuersetin ekstrak etanol daun jambu biji. Hasil uji yang apabila hasil uji validasi metode diperoleh linieritas, presisi, akurasi, batas deteksi (*LOD*) dan batas quantifikasi (*LOQ*) yang baik.

a. Uji Linieritas

Uji linieritas dilakukan terhadap larutan seri konsentrasi kuersetin 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 258 nm. Hasil uji linieritas ini didapatkan persamaan regresi linier yaitu $y = 0,0702x + 0,222$ dengan nilai R^2 0,9975. Penelitian Romsiah (2017) yang mendapatkan nilai R^2 sebesar 0,99. Nilai koefisien relasi (R^2) pada penelitian ini telah memenuhi kriteria linieritas optimum karena nilai R^2 yang didapat mendekati 1 dan hal tersebut menyatakan bahwa adanya hubungan yang linier antara konsentrasi dengan absorbansi yang didapat (Romsiah, 2017).

Tabel 2. Hasil Uji Linieritas

Konsentrasi (ppm)	Replikasi	Absorbansi	Rata-Rata Absorbansi	Persamaan Regresi Linier
2	1	0,351	0,354	$y = 0,0702x + 0,2231$ $R^2 = 0,9975$
	2	0,359		
	3	0,354		
4	1	0,523	0,522	
	2	0,520		
	3	0,525		
6	1	0,646	0,638	
	2	0,631		
	3	0,638		
8	1	0,784	0,779	
	2	0,787		
	3	0,788		
0,30	1	0,924	0,927	
	2	0,927		
	3	0,931		



Gambar 3. Linieritas larutan baku Kuersetin

b. Uji Presisi

Uji presisi dilakukan dengan mengukur larutan baku kuersetin konsentrasi 2 ppm dalam labu ukur 10 mL, dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 258 nm. Pengukuran dilakukan sebanyak 6 kali replikasi. Hasil dari uji presisi didapatkan nilai % RSD (*Relatif Standart Deviation*) sebesar 0,403 % dan nilai ketelitian alat sebesar 99,59 %. Penelitian oleh Romsiah (2017) mendapatkan nilai % RSD 1,25 % dengan nilai ketelitian alat 98,75 % . nilai RSD yang didapat pada penelitian ini telah memenuhi syarat untuk uji presisi yaitu ≤ 5 % dan tingkat ketelitian alat digunakan sudah baik karena menunjukkan nilai mendekati 100 % (Romsiah, 2017)

Tabel 3. Hasil Uji Presisi

Konsentrasi (ppm)	Rata-rata absorbansi	SD (%)	RSD (%)	Ketelitian alat (%)
2	0,347	0,0014	0,403	99,59

c. Uji Akurasi

Uji akurasi dilakukan dengan cara mengukur sampel ekstrak etanol daun jambu biji yang telah di preparasi kemudian ditambahkan dengan larutan baku kuersetin konsentrasi 2, 4 dan 6 ppm pada masing-masing sampel dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 258 nm. Hasil uji akurasi dapat dilihat pada tabel 4 sebagai berikut:

Tabel 4. Hasil Uji Akurasi

Konsentrasi (ppm)	Rata-rata recovery (%)	SD (%)	Rata-rata recovery ± SD (%)
2	104,8	6,748	105,4 ± 3,89
4	107,8	3,56	
6	103,6	1,39	

Berdasarkan pada tabel 4 menunjukkan bahwa rata-rata nilai recovery seluruh konsentrasi pada sampel ekstrak etanol daun jambu biji yaitu sebesar 105,4 ± 3,89%. Hasil yang diperoleh telah memenuhi syarat nilai perolehan kembali yaitu berkisar 90-107 % (Romsiah, 2017). Berdasarkan hasil tersebut membuktikan bahwa metode analisis kuersetin pada ekstrak etanol daun jambu biji dengan metode spektrofotometri *UV-Vis* mampu memberikan hasil yang akurat.

d. Batas Deteksi (*LOD*) dan batas quatifikasi (*LOQ*)

Batas kuantitas atau *Limit of Quantitation (LOQ)* merupakan batas konsentrasi minimum analit dalam sampel yang masih memenuhi kriteria cermat dan seksama. Data yang digunakan untuk menghitung batas deteksi dan batas kuantitasi adalah nilai b pada persamaan regresi $y = a + bx$ dan nilai simpangan baku (*SD*) (Romsiah, 2017).

Pada penelitian ini uji batas deteksi dan batas kuantitas dihitung dari persamaan regresi linier yang diperoleh. Pada uji linieritas Batas deteksi (*LOD*) ditentukan dengan 3 kali simpangan baku dan kemiringan (*slope* atau *b*).

Tabel 5. Hasil Uji *LOD* dan *LOQ*

Konsentrasi (ppm)	Rata-rata absorbansi	SD (%)	<i>LOD</i> (ppm)	<i>LOQ</i> (ppm)
6	0,636	0,006	0,28	0,85

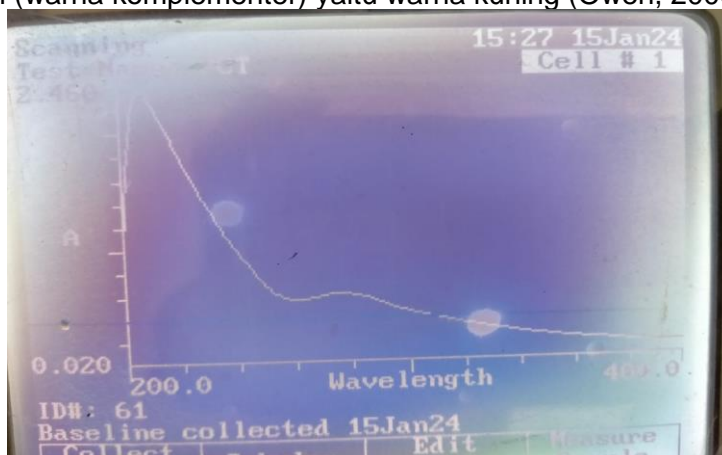
Berdasarkan tabel 5 hasil uji *LOD* dan *LOQ*, penelitian ini diperoleh nilai sebesar 0,28 ppm dan batas kuantitas (*LOQ*) ditentukan dengan 10 kali simpangan baku dan kemiringan (*slope* atau *b*) diperoleh nilai sebesar 0,85 ppm. Hasil yang didapat berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Romsiah (2017) yang mendapatkan nilai *LOD* sebesar 0,0170 ppm dan nilai *LOQ* sebesar 0,0568 ppm. Sampel yang diuji harus berada diatas nilai *LOD* dan *LOQ* untuk dapat dipastikan bahwa hasil penelitian dapat dideteksi dan dikuantifikasi kadarnya (Romsiah, 2017).

3.5 Analisis Kuantitatif Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji

Penetapan kadar kuersetin dalam ekstrak dikuantifikasi menggunakan alat spektrofotometer *UV-Vis*. Prinsip kerja spektrofotometri *UV Vis* yaitu jika cahaya monokromatik berjalan melalui suatu media, maka sebagian cahayanya akan terserap, sebagian dipantulkan dan sebagian lagi dipancarkan dengan hasil yang didapat berupa spektra dan nilai absorbansi. Uji Kuantitatif ini meliputi panjang gelombang maksimal, kurva baku, dan penetapan kadar ekstrak etanol pada daun jambu biji (*Psidium guajava* L).

a. Panjang Gelombang Maksimal Kuersetin

Penentuan panjang gelombang serapan maksimum kuersetin menggunakan spektrofotometri UV-Vis, warna yang dihasilkan adalah kuning dengan panjang gelombang serapan maksimum yang diperoleh adalah 258 nm. Panjang gelombang maksimum yang dihasilkan termasuk ke dalam rentang panjang gelombang pada literatur yang berkaitan dengan warna larutan uji yaitu pada rentang panjang gelombang 240-400 nm, warna yang diserap yaitu warna biru dan warna yang diamati (warna komplementer) yaitu warna kuning (Owen, 2000).



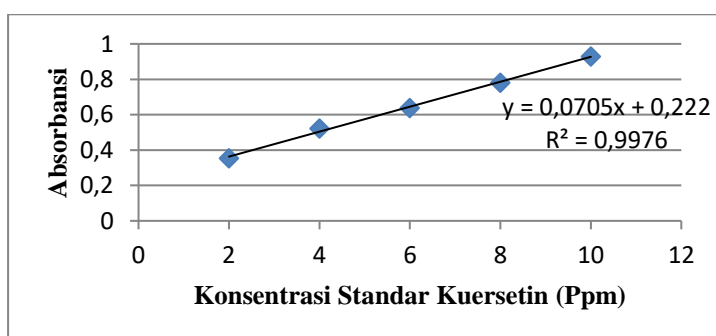
Gambar 4. Kurva Panjang Gelombang Maksimal Kuersetin

b. Penentuan Kurva Baku Kuersetin

Penentuan kurva baku kuersetin dilakukan dengan variasi konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm dan diukur pada panjang gelombang 258 nm. Pemilihan konsentrasi ini didasarkan pada hukum Lambert-Beer yang menyatakan syarat serapan adalah 0,2-0,8. Hal ini bertujuan untuk menghindari terjadinya kesalahan fotometrik sehingga kesalahan analisis masih dalam batas yang diterima yaitu 0,5-1% (Gandjar & Rohman, 2007).

Tabel 6. Hasil Kurva Baku Kuersetin

No	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Rata-rata
1	2	0,354
2	4	0,522
3	6	0,638
4	8	0,782
5	10	0,929



Gambar 5. Kurva Baku Kuersetin

Kurva baku memberikan hasil berupa persamaan kurva kalibrasi. Persamaan kurva kalibrasi yaitu hubungan antara sumbu y dan sumbu x. Sumbu x merupakan konsentrasi yang diperoleh dari hasil pengukuran dan sumbu y merupakan serapan

yang diperoleh dari hasil pengukuran (Saifuddin, 2011). Penetapan kandungan kuersetin ekstrak etanol pada jambu biji dilakukan dengan cara eksternal yaitu memasukkan absorbansi dari sampel ekstrak etanol daun jambu biji (*psidium guajava* L) ke dalam persamaan kurva baku kuersetin yaitu $y = 0,0705x + 0,222$ dengan $r = 0,9976$ dan dinyatakan dalam % b/b EK (Ekivalen Kuersetin). Nilai r yang mendekati 1 menunjukkan kurva kalibrasi linier dan terdapat hubungan antara konsentrasi larutan kuersetin dengan nilai serapan.

c. Penetapan Kadar Kuersetin Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji

Pengukuran nilai absorbansi ekstrak etanol daun jambu biji dilakukan pada panjang gelombang 258 nm. Masing-masing sampel uji diukur sebanyak tiga kali pengulangan (*triplo*) agar data yang diperoleh akurat. Nilai absorbansi yang diperoleh kemudian disubstitusikan ke dalam persamaan regresi sehingga kadar kuersetin dapat dihitung. Kadar kuersetin masing-masing sampel dinyatakan dalam % kadar.

Tabel 7. Kandungan Kuersetin Sampel Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji

Sampel	Rata-rata Kadar (%)	SD (%)	RSD (%)	Jumlah Rata-rata Kadar \pm SD (%)
A	1,425	0,147	10,3	2,87 \pm 1,59
B	5,98	4,37	73	
C	1,23	0,255	20,7	

Kandungan kuersetin yang diperoleh untuk ekstrak etanol daun jambu biji (*psidium guajava* L) pada sampel replikasi A, B dan C adalah sebesar 2,87 \pm 1,59 % b/b. Pemilihan daun jambu biji dikarenakan daun jambu biji memiliki kandungan flavonoid berupa kuersetin, pada penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat kandungan kuersetin dalam sampel ekstrak etanol daun jambu biji.

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian terhadap ekstrak etanol pada daun jambu biji (*Psidium guajava* L) yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa: Uji validasi metode meliputi uji linieritas, uji ketelitian, uji ketepatan dan uji batas deteksi telah memenuhi persyaratan. Hasil profil kromatografi ekstrak etanol pada daun jambu biji didapatkan harga R_f sebesar 0,68 yang hasilnya sama dengan R_f standard kuersetin yaitu 0,68. Kandungan kuersetin yang diperoleh untuk ekstrak etanol pada daun jambu biji (*Psidium guajava* L) pada sampel replikasi A, B dan C sebesar 2,87 \pm 1,59 % b/b.

Daftar Pustaka

- Agustina, R. (2018). *Efektifitas ekstrak daun jambu biji (psidium guajava l.) Terhadap bakteri aeromonas hydrophila secara in vitro*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Raden Intan Lampung.
- Abdul, A. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Adas (*Foeniculum Vulgare* Mill) Dengan Metode DPPH Dan FRAP. *Pharmed: Journal of Pharmaceutical Science and Medical Research*, 3(2), 43–54.
- Ahwan, A., Suwarni, A., Ariastuti, R., Hafidz, R., & Enjelina, S. M. (2024). Effect Of Total Phenolic and Total Flavonoid Levels on The Antioxidant Power of Water Extract, Ethanol and Chloroform of Green Tea Leaves (*Camellia Sinensis* L). *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 9(1), 17–28.
- Akila, B., Vijayalakshmi, R., Hemalatha, G., & Arunkumar, R. (2018). Development and evaluation of functional property of guava leaf based herbal tea. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(3), 3036-3039.
- Azizah, Z., & Wati, S. W. 2018.

- Skринing Fitokimia dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Pare (Momordica Charantina L).* Farmasi Higea, 10(2): 163–172.
- Alrawaiq, N. S., & Abdullah, A. (2014). *A review of flavonoid quercetin: metabolism, bioactivity and antioxidant properties.* International Journal of PharmTech Research, 6(3), 933-941.
- Arya, V., Thakur, N. & Kashyap, C. P., (2012). *Preliminary phytochemical analysis of the extracts of Psidium leaves.* Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 1 (1), 1-5
- Azizah, Z., & Wati, S. W. (2018). *Skринing fitokimia dan penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol daun Pare (Momordica charantia L.).* Jurnal Farmasi Higea, 10(2), 163-172.
- Bakri, T. K., & Harun. F. R. 2015. *Validation Method of Ultraviolet Spectrophotometry Determination of Content in Ambroxol HCl Tablet.* Jurnal Natural, 15(2): 15.
- Barbalho, S. M., Farinazzi-Machado, F. M., de Alvares Goulart, R., Brunnati, A. C. S., Otoboni, A. M., & Ottoboni, B. J. M. A. P. (2012). *Psidium guajava (Guava): A plant of multipurpose medicinal applications.* Med Aromat Plants, 1(4), 1-6.
- Biswas, B., Rogers, K., McLaughlin, F., Daniels, D., & Yadav, A. (2013). *Antimicrobial activities of leaf extracts of guava (Psidium guajava L.) on two gram-negative and gram-positive bacteria.* International journal of microbiology, 2013.
- Behera, S., Ghanty, S., Ahmad, F., Santra, S., & Banerje, S. 2012. *Uv-Visible Spectrophotometric Method Development and Validation of Assay of Paracetamol Tablet Formulation.* J Anal Bional Techniques, 3(6): 2–6.
- Daud, M. F., Sadiyah, E. R., & Rismawati, E. (2011). *Pengaruh perbedaan metode ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu biji (Psidium guajava L.) berdaging buah putih.* Prosiding SNaPP: Sains, Teknologi, 2(1), 55-62.
- Day, JR. R. A., & Underwood. A.L. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif Edisi Keenam.* Erlangga, Jakarta
- Dwitiyanti, D. (2015). *Daun Jambu Biji (Psidium guajava L.) sebagai Antikanker Payudara.* Pharmaceutical Sciences and Research, 2(2), 3.
- Fратиwi, Y. (2015). *The potential of guava leaf (Psidium guajava L.) for diarrhea.* Jurnal Majority, 4(1).
- Gandjar, I. G., & Rohman. A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis.* Pustaka Pelajar, Jakarta.
- Girsang, G. E., Indriarini, D., & Woda, R. R. (2020). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (Psidium guajava linn) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli.* Cendana Medical Journal (CMJ), 8(1), 450-455.
- Guo, Y., & Bruno, R. S. (2015). *Endogenous and exogenous mediators of quercetin bioavailability.* The Journal of Nutritional Biochemistry, 26(3), 201-210.
- Gutiérrez, R. M. P., Mitchell, S., & Solis, R. V. (2008). *Psidium guajava: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology.* Journal of ethnopharmacology, 117(1), 1-27.
- Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.* Institut Teknologi Bandung, Jawa Barat.
- Ihsan, B. R. P. (2019). *Validasi Metode KLT-Densitometri untuk Analisis Kuersetin dalam Ekstrak dan Produk Jamu yang Mengandung Daun Jambu Biji (Psidium guajava L.).* Pharmaceutical Journal of Indonesia, 5(1), 45-51.
- Khopkar, S. M. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik Terjemahan A. Saptorahardjo.* Universitas Indonesia.
- Marjoni, R. 2016. *Dasar-Dasar Fitokimia Untuk Diploma III Farmasi.* Trans Infomasi Media, Jakarta.
- Materska, M. (2008). *Quercetin and its derivatives: chemical structure and bioactivity-a review.* Polish journal of food and nutrition sciences, 58(4).
- Maulana, M. (2018). *Profil kromatografi lapis tipis (KLT) ekstrak daun bidara Arab (Ziziphus spina-cristi. L) berdasarkan variasi pelarut.* Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Redha, A. 2010. *Flavonoid: Struktur, Sifat, Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis.* Jurnal Berlian, 9(2): 196–202.

- Rivai, H., Putriani, L., & Mahyuddin, M. (2010). *Karakterisasi Flavonoid Antioksidan Dari Daun Jambu Biji (Psidium guajava L.)*. Jurnal Farmasi Higea, 2(2), 127-136.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Institut Teknologi Bandung.
- Santos, E. L., Maia, B. H., Ferriani, A. P., & Teixeira, S. D. 2017. *Flavonoids: Classification, Biosynthesis, and Chemical Ecology*. Flavonoids - From Biosynthesis to Human Health: 1–14.
- Sekarsari, S., Widarta, I. W. R., & Jambe, A. A. G. N. A. (2019). *Pengaruh suhu dan waktu ekstraksi dengan gelombang ultrasonik terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun jambu biji (Psidium guajava L.)*. Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan, 8(3), 267-277.
- Sudjarwo, S., Rovitasari, R., & Prihatiningtyas, S. (2022). *Penetapan Kadar Kuersetin dalam Sediaan Sirup Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa Bilimbi) dengan Metode Spektrofotometri UV*. Camellia: Clinical, Pharmaceutical, Analytical and Pharmacy Community Journal, 1(2), 61-68.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. H. (2006). *Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts*. Journal of food composition and analysis, 19(6-7), 669-675.
- Tiwari, P., Bimlesh, K., Mandeep, K., & Gurpreet, K. H. K. 2017. *Phytochemical Screening and Extraction*. Hepatology, 66(6): 1866–1884.
- Umrah, S. S. (2017). *Uji Potensi Tabir Surya Ekstrak Daun Jambu Biji (Psidium Guajava L.) Berdaging Putih Secara In Vitro*. Makassar: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Uin Alauddin.
- Uron Leba, M. A. 2017. *Ekstraksi dan Real Kromatografi*. Deepublish, Jakarta.
- Utami, N. F., S. M. Nurdayanty. Sutanto. U. Suhendar. 2020. *Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi Pada Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Iler (Plectranthus scutellarioides)*. Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi, 10(1): 76-83. XXX
- Qonitah, F. (2023). *Analisis Kandungan Asam Retinoat Pada Sediaan Krim Malam Yang Beredar Di Toko Online Kota Surakarta*. Jurnal Farmasi Sains Dan Teknologi, 1(01), 14–24.