

STANDARISASI SIMPLISIA DAN PENETAPAN KADAR FLAVONOID PADA EKSTRAK ETANOL 96% BUAH OKRA MERAH DAN HIJAU (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench)

Emah Hermawati^{1*}, Pra Panca Bayu Chandra², Yulius Evan Christian³

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan, Jl. Pakuan, Tegallega, Kecamatan Bogor Tengah, Kota Bogor. Indonesia 16143

²Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan IKIFA, Jl. Buaran 2 Nomor 30 A, Klender, Kecamatan Duren Sawit, Kota Jakarta Timur. Indonesia 13470

³Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945, Jl. Sunter Permai Raya, Kota Jakarta Utara. Indonesia 14350

Korespondensi: emahermawati2011@gmail.com

ABSTRAK

Buah Okra merupakan salah satu tanaman yang memiliki nilai ekonomis. Buah okra memiliki kandungan flavonoid yang berpotensi dikembangkan sebagai obat bahan alam. Telah dilakukan penelitian terhadap buah okra dimana buah okra berpotensi sebagai antidiabetes, antiinflamasi dan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan standarisasi simplisia, skrining fitokimia dari ekstrak etanol 96% dua varietas buah okra, yaitu buah okra hijau dan buah okra merah serta penetapan kadar flavonoid dengan menggunakan metode $\text{Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaNO}_2$ secara spektrofotometri UV-Vis.

Berdasarkan nilai kadar air dan kadar abu yang diperoleh, simplisia buah okra merah dan buah okra hijau memenuhi persyaratan standar. Kadar flavonoid ekstrak etanol 96% buah okra hijau dan okra merah yang di analisis menggunakan metode $\text{Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaNO}_2$ yaitu sebesar 0,887 mg/g sedangkan kadar flavonoid ekstrak etanol 96% buah okra merah sebesar 1,079 mg/g.

Kata kunci: Kadar flavonoid, Ekstrak Etanol 96% Buah Okra Hijau dan Merah, skrining fitokimia, Metode $\text{Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaNO}_2$,

ABSTRACT

Okra fruit is one of the plants that has economic value. Okra fruit contains flavonoids that have the potential to be developed as natural medicine. Has been conducted research on okra fruit where okra fruit has the potential as antidiabetic, anti-inflammatory and antioxidant. This study aims to standardize simplisia, phytochemical screening of 96% ethanol extract of two okra fruit varieties, namely green okra fruit and red okra fruit and determination of flavonoid levels using the $\text{Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaNO}_2$ method by UV-Vis spectrophotometry.

Based on the moisture content and ash content values obtained, the simplisia of red okra fruit and green okra fruit meets the standard requirements. The flavonoid content of 96% ethanol extract of green okra and red okra analyzed using the $\text{Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaNO}_2$ method was 0.887 mg / g while the flavonoid content of 96% ethanol extract of red okra fruit was 1.079 mg / g.

Keywords: Flavonoid levels, 96% Green and Red Okra Fruit Ethanol Extract, phytochemical screening, $\text{Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaNO}_2$ Method,

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang melimpah baik dari sumber nabati, hewani maupun pelikan. Berbagai tanaman sudah di kembangkan sebagai obat tradisional. Beberapa literatur memaparkan bahwa buah okra memiliki potensi untuk dikembangkan

sebagai antidiabetes, antioksidan dan antiinflamasi. Okra merupakan tanaman asli Afrika Barat [1], sangat dikenal diberbagai Negara di Asia, namun di Indonesia masyarakat banyak yang belum mengenal manfaatnya. Beberapa pasar dan swalayan telah menjual buah ini. Masyarakat telah menggunakan buah

okra muda sebagai lalapan atau dimasak menjadi sayur rebusan. Manfaat okra dilaporkan untuk mengobati diabetes, kanker, antiinflamasi, pencahar, menurunkan kadar kolesterol dan digunakan untuk diet [4].

Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang dapat ditemukan pada tanaman, senyawa ini termasuk dalam golongan senyawa fenolik, diketahui bioaktivitas flavonoid yaitu berpotensi sebagai antibakteri, antioksidan, antivirus, antiradang, antialergi dan antikanker [5]. Buah okra juga mengandung flavonoid yang telah diidentifikasi sebagai prosianidin B1, prosianidin B2, rutin, kuersetin, katekin dan epikatekin [7] sedangkan dilaporkan kulit buah okra merah mengandung flavonoid 0,84339% [8].

Untuk mengetahui kadar flavonoid pada suatu sampel, dapat dilakukan dengan berbagai metode. Salah satunya menggunakan instrument spektrofotometer UV-Vis. Struktur flavonoid dapat diidentifikasi melalui serapan tampak dan spektrum ultra violet [9].

Penetapan kadar flavonoid buah okra hijau telah dilakukan dengan metode kolorimetri menggunakan aluminium klorida [10]. Pada penelitian ini penetapan kadar flavonoid buah okra dilakukan pada dua varietas yaitu buah okra hijau dan buah okra merah menggunakan metode Al (NO₃).

Standarisasi merupakan upaya untuk meningkatkan kualitas dan keamanan produk, dan merupakan persyaratan untuk menentukan mutu dari produk ataupun bahan sediaan obat (Taurina & Andrie, 2022). standarisasi perlu dilakukan pada penelitian ini sebagai langkah awal apabila nantinya ekstrak yang diteliti dibuat akan dilanjutkan menjadi suatu produk (sediaan obat herbal).

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquades, buah okra merah dan hijau yang diperoleh dari perkebunan organik di daerah Cipanas Kota Jawa Barat.

Etanol 96%, aquades, aluminium nitrat 10%, natrium nitrit 5%, natrium hidroksida 4,3 %, magnesium, zink, ferri klorida, gelatin, NaCl-gelatin, metanol, eter, asam klorida 2N, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, aluminium klorida, asam klorida, besi(III) amonium sulfat, etanol 80%, kuersetin

dan kloroform merupakan pelarut dan pereaksi yang digunakan pada penelitian ini.

Alat

Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), *moisture balance* (Shimadzu), neraca analitik (ohaus), Oven, tanur, Aluminium foil, Kertas Saring, plat tetes, beaker glass (pyrex), erlenmeyer (pyrex)

Pembuatan Serbuk Simplisia Buah okra merah dan Hijau

Pembuatan serbuk simplisia diawali dengan melakukan sortasi basah yaitu memisahkan buah okra dengan bagian-bagian tanaman yang tidak diperlukan serta memisahkan dari bahan-bahan asing atau kotoran-kotoran yang terbawa pada saat pemanenan, selanjutnya dilakukan pencucian buah okra dengan menggunakan air yang mengalir, selanjutnya bagian daging dipisahkan dari bijinya. Selanjutnya dilakukan perajangan buah dengan dipotong menjadi 20 bagian, selanjutnya dilakukan pengeringan menggunakan oven suhu 50°C. Setelah kering dilakukan sortasi kering. Simplisia tersebut kemudian dihaluskan menggunakan alat grinder dan diayak menggunakan mesh 40, bobot akhir ditimbang, selanjutnya simplisia dikemas dalam wadah kering, tertutup rapat dan diberi silika gel.

Penetapan Kadar Air

Sebanyak kurang lebih 3 gram serbuk simplisia okra merah dan okra hijau di ukur kadar air menggunakan *moisture balance* sebanyak triplo.

Penetapan Kadar Abu

Sebanayak kurang lebih 3 gram simplisia okra merah dan okra hijau di uji kadar abu, simplisia yang telah ditimbang lalu dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dalam tanur dan ditara, lalu diratakan. Simplisia dipijarkan hingga menjadi arang, didinginkan, lalu ditimbang. [11].

Ekstraksi Buah Okra

Dimasukkan masing-masing serbuk varietas buah okra 15 gram ke dalam botol coklat untuk dimaserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 150 mL. Setelah terendam, dibiarkan selama 6 jam sambil sesekali diaduk, selanjutnya didiamkan kembali selama 18 jam,

hasil maserat selanjutnya disaring. Penyarian dilakukan sebanyak dua kali (duplo) dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Semua maserat dimasukkan kedalam labu ukur 500 mL dan ditepatkan dengan etanol 96 % sampai batas 500 mL kemudian dienaptuangkan selama 24 jam, sehingga diperoleh ekstrak cair [12].

Skrining Fitokimia

Uji Alkaloid

Ekstrak cair buah okra hijau dan merah sebanyak 5 mL masing-masing ditambahkan 1 mL asam kuat (HCl) 2 N dan 9 mL aquades, kemudian dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, di angkat lalu didinginkan dan disaring. Lalu filtrat di bagi pada 3 tabung reaksi.ada tabung reaksi pertama filtrat tersebut diteteskan 2 tetes pereaksi Bouchardat, pada tabung kedua diteteskan 2 tetes pereaksi Mayer, dan pada tabung ketiga diteteskan 2 tetes pereaksi dragendoff [14].

Uji Flavonoid

Ekstrak cair buah okra merah dan hijau sebanyak 5 mL masing-masing diekstraksi dengan 30 mL metanol. Selanjutnya, di bagi ke 2 tabung reaksi sebanyak masing-masing 2 ml. Tabung pertama ditambah 0,5 mL HCl pekat dan 3-4 pita logam Mg, tabung kedua ditambahkan HCl pekat dan 3-4 pita logam Zn. [14].

Uji Tanin

Ekstrak cair buah okra merah dan hijau Sebanyak 2 mL masing-masing ditambahkan etanol 80% sebanyak 30 mL, dikocok selama 15 menit, selanjutnya disaring untuk memperoleh filtratnya. Filtrat tersebut selanjutnya diuapkan pada penangas air. Sisa penguapannya ditambahkan aquadest panas lalu diaduk, dan didinginkan sebelum akhirnya disentrifugasi. Cairan yang berada di atas dipisahkan dengan cara dekantasi, dan larutan di bawah digunakan sebagai larutan uji. [15] larutan uji tersebut diuji dengan gelatin 10%, NaCl-gelatin, dan 3% besi (III) klorida,

Uji Saponin

Sebanyak 1 mL ekstrak cair buah okra hijau dan buah okra merah, masing-masing sediaan ditambahkan 10 mL air dan dikocok dengan kuat selama 10 menit, jika terbentuk buih dan setelah penambahan 1 tetes HCl 2 N buih masih tetap ada setinggi 1 cm sampai 10

cm, selama kurang lebih 10 menit itu menandakan sampel uji mengandung saponin [13].

Analisis Flavonoid

Pembuatan Larutan Pereaksi

- Natrium Hidroksida 4,3 %

Larutan Natrium Hidroksida 4,3% dibuat dengan cara ditimbang serbuk sebanyak 4,3 gram, kemudian dimasukkan ke dalam *beaker glass* (ukuran 50 ml) dan ditambahkan 50 ml akuades, diaduk sampai larut lalu ditunggu sampai dingin, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan akuades sampai tanda batas 100 mL lalu dihomogenkan [9].

- Natrium Nitrit 5%

Larutan Natrium Nitrit 5% dibuat dengan cara melarutkan 5 gram Natrium Nitrit dengan aquadest pada labu ukur. akuades di add sampai tanda batas 100 mL dan dihomogenkan [9].

- Alumunium Nitrat 10%

Larutan Alumunium Nitrat 10% dibuat dengan cara melarutkan 10 gram Alumunium Nitrat dengan aquadest pada labu ukur. akuades di add sampai tanda batas 100 mL dan dihomogenkan [9].

- Larutan Blanko

Diipipet 0,6 mL NaNO_2 5%, dicampur dan diamkan selama 5 menit, lalu di tambahkan 0,5 mL $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 10% dicampur dan didiamkan selama 6 menit, ditambahkan 3 mL NaOH 4,3 % dan dicukupkan sampai tanda batas 10 mL menggunakan etanol [9].

- Standar Induk Kuersetin

Untuk membuat 1000 ppm kuersetin ditimbang 25 mg, selanjutnya dilarutkan dengan etanol pada labu 50 mL sampai tanda batas. Lalu dilakukan pengenceran untuk mendapatkan larutan induk standar 100 ppm, [9].

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Sebanyak 1 mL larutan standar kuersetin 100 ppm dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan 0,6 mL NaNO_2 5%, dicampur dan didiamkan selama 5 menit, lalu ditambahkan 0,5 mL $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 10% dicampur dan didiamkan selama 6 menit, ditambahkan 3

mL NaOH 21,5 % dan diencerkan sampai tanda batas 10 mL menggunakan etanol. Dikocok homogen lalu dibiarkan selama 10 menit lalu diukur absorbannya pada panjang gelombang 380 sampai 780 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis [15].

Penentuan Waktu Inkubasi Maksimum

Sebanyak 1 mL larutan standar kuersetin 100 ppm dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan 0,6 mL NaNO₂ 5%, dicampur dan diamkan selama 5 menit, lalu ditambahkan 0,5 mL Al(NO₃)₃ 10% dicampur dan didiamkan selama 6 menit, ditambahkan 3 mL NaOH 21,5 % dan diencerkan sampai tanda batas 10 mL menggunakan etanol 96%. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum pada 5, 10, 15, 20, 25 dan 30 menit, sehingga diperoleh waktu optimum yang stabil [16].

Penetapan Kadar Flavonoid

Ekstrak etanol 96% buah okra merah maupun hijau sebanyak 1 mL dimasukkan dalam labu ukur 10 mL ditambahkan 0,6 mL NaNO₂ 5%, dicampur dan diamkan selama 5 menit, lalu ditambahkan 0,5 mL Al(NO₃)₃ 10% dicampur dan diamkan selama 6 menit, ditambahkan 3 mL NaOH 21,5% dan

diencerkan sampai tanda batas 10 mL menggunakan etanol. Dikocok dengan homogen lalu dibiarkan selama waktu optimum, diukur absorbannya pada panjang gelombang maksimum [18]:

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman

Buah okra telah diidentifikasi oleh Herbarium Bogoriense Bidang Botani Pusat Lembaga Penelitian Biologi-LIPI, hasil determinasi menunjukkan bahan sampel pengujian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) dengan Suku Malvaceae

Hasil Standarisasi Simplisia Buah Okra Hijau dan Buah Okra Merah secara Spesifik (Uji organoleptik)

Serbuk simplisia buah okra berwarna krem kemerahan, aromanya khas lemah, berbentuk halus dan memiliki rasa. Sedangkan serbuk simplisia buah okra hijau memiliki warna krem kehijauan, aromanya khas lemah, berbentuk halus dan memiliki rasa yang hambar. Adapun rendemen simplisia buah okra hijau yang diperoleh adalah 8,62% lebih sedikit daripada buah okra merah yaitu 9,25%.



Gambar 1. Serbuk Simplisia buah okra merah (kiri) dan hijau (kanan)

Hasil Standarisasi Secara non Spesifik Simplisia Buah Okra Merah dan Buah Okra Hijau Secara non Spesifik

Tabel 1. Pemeriksaan Parameter Uji Standarisasi Simplisia Secara non Spesifik

No	Sampel	Jenis Pemeriksaan (%)	Nilai SD	Jenis Pemeriksaan (%)	Nilai SD
		Kadar Air		Kadar Abu	
1	Serbuk Simplisia Buah Okra Merah	4,65	0,05	9,25	0,05
2	Serbuk Simplisia Buah Okra Hijau	4,26	0,02	7,8	0,07

Kadar air merupakan salah satu parameter uji non spesifik pada standarisasi simplisia untuk memenuhi salah satu syarat bahan baku herbal [12]. Kadar air dapat mempengaruhi mutu simplisia, hal ini karena semakin besar kadar air yang terdapat pada simplisia maka berpotensi menumbuhkan mikroorganisme karena bersifat lembab sehingga daya tahannya lebih pendek. Kadar air serbuk simplisia buah okra hijau adalah 4,25 % sedangkan serbuk simplisia buah okra merah adalah 4.65 % hasil ini menunjukkan bahwa kadar air simplisia serbuk buah okra hijau maupun buah okra merah sesuai dengan persyaratan umum kadar air yaitu tidak lebih dari 5% [20] adapun penelitian yang dilakukan oleh Joel et al., (2013) rata-rata kadar air pada beberapa varietas okra sebesar 6,9-7,85 % [21].

Kadar abu merupakan salah satu parameter non spesifik yang bertujuan untuk mengetahui adanya kandungan zat anorganik maupun mineral yang terdapat dalam simplisia buah okra merah dan buah okra hijau.

Kadar abu pada serbuk simplisia buah okra hijau sebesar 7,8 % sedangkan kadar abu serbuk simplisia buah okra merah adalah sebesar 9,25% hal ini menunjukkan bahwa kadar abu simplisia buah okra hijau maupun merah memenuhi persyaratan umum kadar abu yaitu tidak lebih dari 15% [10] hasil penelitian tidak berbeda jauh dengan penelitian yang dilakukan oleh Joel et al., (2013) rata-rata kadar abu pada beberapa varietas okra yaitu sebesar 9,2-9,8 % [20].

Uji Fitokimia Ekstrak

Ekstrak cair buah okra hijau dan buah okra merah diperoleh melalui maserasi dengan pelarut etanol 96%. Pembuatan ekstrak bertujuan untuk memperoleh salah satu senyawa metabolit yang diperlukan pada penelitian ini yaitu flavonoid. Kandungan flavonoid yang terdapat di dalam buah okra merah maupun hijau dapat tertarik menggunakan etanol 96% karena sifat flavonoid yang polar [8]. ekstrak cair buah okra merah dan buah okra hijau berbentuk cair dan memiliki aroma yang khas. Adapun warna dari ekstrak cair buah okra hijau berwarna hijau kecoklatan, sedangkan ekstrak cair buah okra merah berwarna kuning kecoklatan.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Estrak buah okra hijau dan merah

Jenis Ekstrak	Jenis Pengujian	Hasil
Buah okra hijau	Alkaloid	-
	Flavonoid	+
	Saponin	+
	Tannin	-
Buah okra merah	Alkaloid	-
	Flavonoid	+
	Saponin	+
	Tannin	-

Keterangan :

(+) positif = mengandung golongan senyawa

(-) negatif = tidak mengandung golongan senyawa

Pengujian fitokimia dilakukan secara kualitatif dengan melihat perubahan warna

dengan reagen secara spesifik. Ekstrak cair yang di uji masing-masing positif flavonoid dan saponin. Hasil positif flavonoid karena terjadi perubahan warna menjadi merah yang menandakan terjadinya reaksi reduksi struktur flavonoid oleh Mg yang menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah [21] Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Joel *et al.*, (2013).

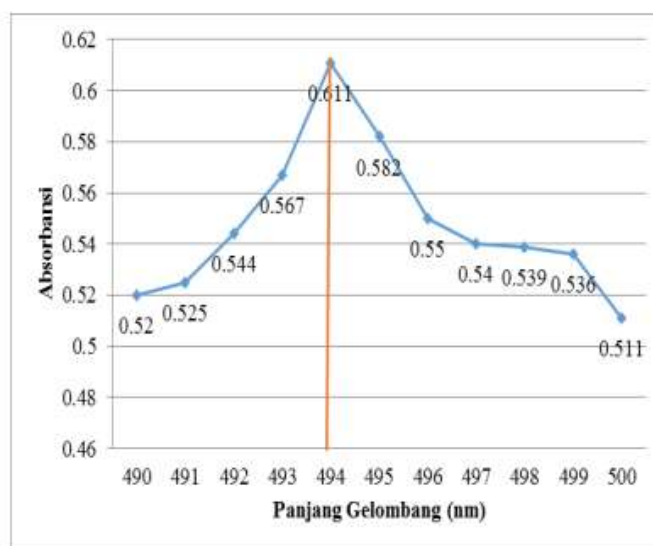
Hasil Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimal dapat ditentukan untuk mendapatkan serapan maksimal suatu larutan sampel uji, karena larutan standar kuersetin 10 ppm membentuk warna merah maka penentuan panjang gelombang dilakukan pada daerah sinar tampak

dengan panjang gelombang 380-780 nm. Hasil serapan tertinggi terdapat pada panjang gelombang 494 nm, sehingga penentuan kadar flavonoid selanjutnya dilakukan pada panjang gelombang 496 nm. Panjang gelombang yang diperoleh tersebut mendekati literatur, dimana panjang gelombang maksimum yang digunakan adalah 493 nm [23].

Terdapat pergeseran puncak absorpsi ke arah panjang gelombang yang lebih besar atau disebut pergeseran batokromik.

Peristiwa ini terjadi dikarenakan pada penelitian ini digunakan standar yang berbeda dengan literatur sehingga terdapat perbedaan struktur dan gugus ausokromnya yang mempengaruhi hasil absorpsi [24].

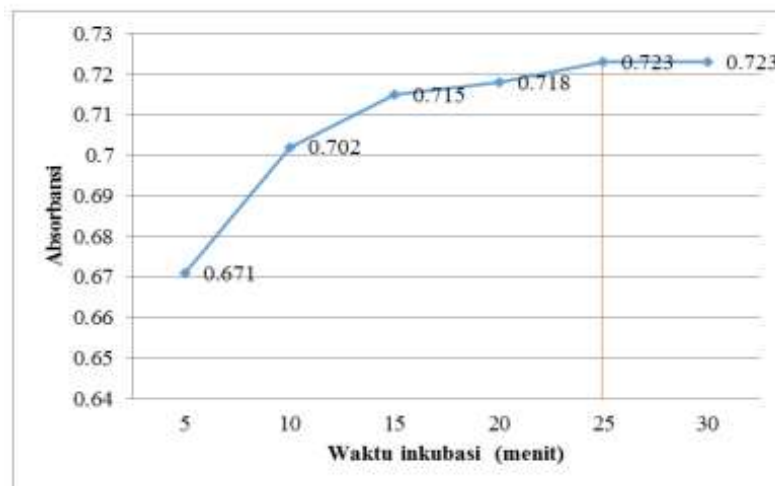


Gambar 2. Kurva panjang gelombang maksimum

Hasil Penentuan Waktu Inkubasi Maksimum

Reaksi terjadinya perubahan warna hasil reaksi antara kuersetin dengan aluminium nitrat membutuhkan waktu tertentu agar diperoleh absorbansi maksimum, karena itu dilakukan

pengujian optimasi waktu inkubasi. Penentuan waktu inkubasi ini ditentukan menggunakan larutan standar kuersetin 10 ppm dan pada panjang gelombang 494 nm. Diperoleh waktu inkubasi paling optimum yaitu pada waktu 25 menit.



Gambar 3. Kurva hubungan waktu (menit) dan absorbansi

Waktu inkubasi paling optimum pada penelitian ini yaitu pada waktu 25 menit, hasil ini tidak jauh berbeda dari penelitian yang dilakukan oleh Wang *et al.*, (2015) dimana waktu optimasi maksimum yang digunakan

yaitu 20 menit, perbedaan waktu optimum tersebut disebabkan karena suhu atau temperatur pada saat inkubasi tidak stabil sehingga dapat memperlama proses reaksi [17].

Hasil Penetapan Kadar Flavonoid

Tabel 3. Hasil Penetapan Kadar Flavonoid

No	Sampel (Ekstrak Cair)	Kadar Flavonoid (mg/g)	Rata-rata Kadar Flavonoid (mg/g)	Nilai SD
1.	Buah Okra Hijau	0,825	0,877	0,08
		0,949		
2.	Buah Okra Merah	1,090	1,079	0,01
		1,068		

Kadar flavonoid buah okra merah lebih tinggi daripada kadar buah okra hijau. Hasil kadar yang diperoleh berbeda dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Ahiakpa *et al.*, (2013) bahwa kadar flavonoid pada ekstrak buah okra hijau yang menggunakan metode $AlCl_3$ kadarnya lebih besar yaitu 12,9 mg/g/QE [5]. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi hasil tersebut diantaranya yaitu Simplisia yang digunakan dan metode ekstraksi. [26] Terdapat perbedaan tempat untuk sumber (bahan segar) simplisia, iklim dan cuaca bisa mempengaruhi terhadap kuantitas zat aktif yang diperiksa adapun metode ekstraksi pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi, sedangkan pada penelitian Akhiapa

menggunakan metode soxletasi, dimana terdapat perbedaan suhu dari kedua metode tersebut .

SIMPULAN

Berdasarkan nilai kadar air dan kadar abu yang diperoleh, simplisia buah okra merah dan buah okra hijau memenuhi persyaratan standar Kadar flavonoid ekstrak etanol 96% buah okra hijau dan okra merah yang di analisis menggunakan metode $Al(NO_3)_3-NaNO_2$ yaitu sebesar 0,887 mg/g sedangkan kadar flavonoid ekstrak etanol 96% buah okra merah sebesar 1,079 mg/g.

DAFTAR PUSTAKA

- (1) Setiawan,A.D. 1995. Sayuran Dataran Tinggi. Penebar Swadaya. Jakarta. Hal.7-9
- (2) Uraku,A.J., P.M Ajah, A.N.Cokaka, U.Albiam and P.M Onu. 2010. The Effect of *Abelmoschus esculentus* Fruit on ALP, AST and ALT of diabetic Albino Rats.J.Sci.Technol. Vol 2(3): 2-3.
- (3) Miller A.L. 1996. Antioxidant Flavonoids : Structure, Function and Clinical Usage. *Alt Med. Rev. UK. Vol 1(2): 1- 3.*
- (4) Ahiakpa J.K, E.K Quartey, H.M Amoatey, G.Y.P Klu, D.G Achel, E.Achoribo and Agbenyegah, S. 2013. Total Flavonoid, Phenolic contents and antioxidant scavenging activity in 25 accessions of okra (*Abelmoschus spp L.*). *African Journal of Food Science and Technology. Vol 4(5) :129-135.*
- (5) Khomsug. P, Thongjaroen Buangam, Pakdeenaron.N, Suttajit.M and Chantirakul.P. 2010. Antioxidative Activities and Phenolic Content of Extracts from Okra (*Abelmoschus esculentus L.*). *Research Journal of Biological Sciences. Vol 5(5) : 310- 313.*
- (6) Lisnawati Nia, Astuti indri dan Fajrianti Ni'matul. 2016. Analisis Flavonoid dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Buah Okra Merah (*Abelmoschus esculentus L.,Moench*) Secara Kromatografi Lapis Tipis dan Spektrofotometer Uvvis. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina. Vol 1(1) : 105-112.*
- (7) Markham KR. 1988. Cara Mengidentifikasi Flavonoid. Terjemahan dari: *Techniques of Flavonoid Identification*, Padmawinata K, penerjemah. Penerbit ITB. Bandung. Hal 8-14.
- (8) Hu Shuai,Y.Congying, Z.Cheng,W.Ping, Li Qiang, Wan Jie,H.Chang, Ye Jiazhou, G.Xinhong. 2013. Comparative Study of Total Flavonoid Contents from the Different Tissues and Varieties of *Abelmoschus esculentus*. *Issue-III. Vol 1(1). Page 3.*
- (9) Depkes RI. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta. Hal. 1, 10.
- (10) Depkes RI. 2013. Farmakope Herbal Indonesia. Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta. Hal. 106- 107.
- (11) Depkes RI. 1979. *Materia Medika Indonesia*. Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta. Hal.155, 160, 167, 170, 171.
- (12) Kristanti, A.N., Nanik, S. A., Mulyadi, T. dan Bambang, K. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press. Hal. 48-49.
- (13) Hanani, E. 2015. *Analisis Fitokimia*. EGC. Jakarta.
- (14) Roy A, Shanker L.S. and Santi M.M. 2014. Functional properties of Okra *Abelmoschus esculentus L.*, (Moench) : tradisional claims and scientific evidences. *Plant Science Today. Vol 1 (3) : 121-130.*
- (15) Wang F, Pan T, Yuan R, Li C and Li K. 2015. Optimization of extraction process of flavonoids in *Phyllanthus emblica L.* by response surface methodology and content determination. *Indian Journal of Traditional Knowledge. Vol.14 (2) : 213-219.*
- (16) Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian. Vol 1(3) : 117-135.*
- (17) Zhu,H.,Wang,Y.Z., Liu, Y.X and Xia, Y.L. 2009. Analysis of Flavonoid in *Portulacaoleracea L.* by UV-Vis Spectrophotometry with comparative study on different extraction technologies in food *Analytical Method. Springer Science. Issue. Vol 3(2) : 90-97.*
- (18) Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. ITB. Bandung.
- (19) Joel B.K, Massara C, Tiahou G.G, Monde A.A, Sess D.E and Vama E.T. 2013

- (20) Determination of physic-chemical properties of two varieties of okra traditionally dried. *Journal of Food and Nutrition Sciences*. Vol 1 (4) : 38-42.
- (21) Robinson T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Edisi ke-4 Terjemahan Padmawinata K, SoediraI, ITB. Bandung.
- (22) Panca, P. P. B. C., Ratih Laksmiawati, D., & Rahmat, D. (2022). Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* L.). *Jurnal Kefarmasian Akfarindo*.
- (23) Wu Q. 1998. Determination of total flavonoids in *Tribulusterrestris* L. *Journal of Guangdong Pharmaceutical College*. Vol 14 (4) :273-275.
- (24) Cairns, D. 2008. *Intisari Kimia Farmasi*. Edisi II. Terjemahan dari *Essentials of Pharmaceutical Chemistry 2sd* : Penerjemah Rini Maya Puspita. EGC. Jakarta. Hal.147
- (25) Poblocka O.L, Glod D, Maria E.Z, Sznitowska M and Mirosława K.B. 2016. TLC determination of flavonoids from different cultivars of *Allium cepa* and *Allium ascalonicum*. *Acta Pharm*. Vol 66 : 543- 554
- (26) Voight, R.. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Penerjemah Soendari, N.S.Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.