

ANALISIS TOTAL FENOLIK DAUN GEDI HIJAU (*Abelmoschus manihot L.*) DENGAN MENGGUNAKAN SPEKTROSKOPI FTIR DAN KEMOMETRIK

Jhon David Rumoroy¹⁾, Sri Sudewi¹⁾, Jainer Pasca Siampa¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

Natural phenolic compounds, including organic compounds, is the natural substances that produced by organisms. This study aims to determine the total phenol content and optimization using the FTIR method for rapid phenols analysis. Gallic acid was used as a comparison standard to measure the total phenol content using a UV-Vis spectrophotometer. The calorimetric method was used to determine the total Phenolic content of the Green Gedi Leaf extracts in 8 samples of growing sites, namely Minahasa 855.8 $\mu\text{g GEA} / \text{g extract} \pm 0.033$, Southeast Minahasa 283.7 $\mu\text{g GEA} / \text{g extract} \pm 0.006$, Manado 580.2 $\mu\text{g GEA} / \text{g extract} \pm 0.012$, North Minahasa 716.2 $\mu\text{g GEA} / \text{g extract} \pm 0.091$, Kotamobagu 793 $\mu\text{g GEA} / \text{g extract} \pm 0.03$, Minahasa Selatan 290.6 $\mu\text{g GEA} / \text{g extract} \pm 0.027$, Bitung 365.6 $\mu\text{g GEA} / \text{g extract} \pm 0.035$, Tomohon as much as 546.5 $\mu\text{g GEA} / \text{g extract} \pm 0.003$. This result involves a combination of variables x (FTIR measurement results) and y variables (data from the analysis of Folin-Ciocalteu). Error value (standard error calibration (SEC = 0.003), standard error of prediction (SEP = 0.042)) and calibration r value 0.999 and r validation 0.98.

Keywords: *Green Gedi Leaves, UV-Vis Spectrophotometer, Kemometrics, Phenol Total, FTIR Spectrophotometry.*

ABSTRAK

Senyawa fenolik alam termasuk senyawa organik bahan alam yang dihasilkan oleh organisme. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan fenol total Daun Gedi Hijau dan optimasi menggunakan metode FTIR untuk analisis fenol secara cepat. Asam galat digunakan standar pembandingan dalam mengukur kandungan total fenol menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Metode kemometrik digunakan untuk mengetahui kandungan Total Fenolik pada ekstrak Daun Gedi Hijau pada 8 sampel tempat tumbuh yaitu Minahasa 855,8 $\mu\text{g GEA/g ekstrak} \pm 0,033$, Minahasa Tenggara 283,7 $\mu\text{g GEA/g ekstrak} \pm 0,006$, Manado 580,2 $\mu\text{g GEA/g ekstrak} \pm 0,012$, Minahasa Utara 716,2 $\mu\text{g GEA/g ekstrak} \pm 0,091$, Kotamobagu 793 $\mu\text{g GEA/g ekstrak} \pm 0,03$, Minahasa Selatan 290,6 $\mu\text{g GEA/g ekstrak} \pm 0,027$, Bitung 365,6 $\mu\text{g GEA/g ekstrak} \pm 0.035$, Tomohon sebesar 546,5 $\mu\text{g GEA/g ekstrak} \pm 0,003$. Hasil ini melibatkan kombinasi variable x (hasil pengukuran FTIR) dan variable y (data hasil analisis Folin-Ciocalteu). Nilai kesalahan (*standard error calibration* (SEC = 0.003), *standard error of prediction* (SEP = 0.042)) dan nilai r kalibrasi 0,999 serta r validasi 0,98.

Kata Kunci: Daun Gedi Hijau, Spektrofotometer UV-Vis, Kemometrik, Total Fenol, Spektrofotometri FTIR.

PENDAHULUAN

Daun Gedi Hijau (*Abelmoschus manihot L.*) adalah tumbuhan yang berasal dari suku Malvaceae. Daun gedi mudah tumbuh dengan cara stek batang pada tanah gembur. Didaerah Sulawesi utara masyarakat mengenal dua jenis *Abelmoschus manihot L.* yaitu gedi merah dan gedi hijau. Daun gedi hijau dapat dimanfaatkan oleh masyarakat Manado sebagai bahan makanan yang dikenal sebagai Bubur Manado (Tinutuan), sedangkan untuk daun gedi merah digunakan masyarakat untuk pengobatan penyakit (Mamahit dan Soekarno, 2010).

Senyawa fenolik adalah senyawa yang memiliki gugus hidroksil yang menempel di cincin aromatik (Vermerris dan Nicholson, 2006). Senyawa fenolik alam termasuk senyawa organik bahan alam yang dihasilkan oleh organisme melalui metabolit sekunder, paling banyak tersebar dan ditemukan pada jaringan tumbuhan, sebagai respon terhadap berbagai kondisi seperti infeksi, radiasi UV, dan lain sebagainya. Penetapan kadar fenol total dalam ekstrak dapat dilakukan dengan pereaksi Folin Ciocalteu (Ravangpai, 2011). Metode Folin-Ciocalteu merupakan metode yang umum digunakan sebagai standar penentuan kandungan total fenolik karena merupakan metode yang cepat dan sederhana yang dinyatakan sebagai masa ekuivalen asam galat tiap mg sampel (Fu dkk., 2011). Asam galat digunakan sebagai standar yang direkomendasikan untuk mendapatkan hasil yang reliabel karena mempunyai reaktivitas yang cukup tinggi terhadap reagen Folin-Ciocalteu (Prior dkk., 2005).

Spektrofotometri Sinar Visible (UV-Vis) adalah pengukuran energi cahaya oleh suatu sistem kimia pada panjang gelombang tertentu (Day dkk., 2002). Sinar ultraviolet (UV) mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm, dan sinar tampak (visible) mempunyai panjang gelombang 400-750 nm. Pengukuran spektrofotometri menggunakan alat spektrofotometer yang melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometer UV-Vis dipakai untuk tujuan analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif. Spektrum UV-Vis sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer (Rohman, 2007).

Penggunaan *Spektrofotometer Fourier transformed infrared* (FTIR) yang dikombinasikan dengan kalibrasi multivariat untuk analisis suatu komponen dalam tumbuhan telah banyak dikembangkan. Spektrofotometer FTIR yang dikombinasikan dengan kalibrasi multivariat dapat mengukur sampel secara cepat tanpa merusak dan mampu menganalisis beberapa komponen secara serentak (Rohaeti dkk., 2011). Penggunaan spektrofotometer FTIR dalam analisis tumbuhan masih terbatas karena matriks dan spektrum yang dihasilkan cukup kompleks. Kombinasi dengan kemometrik dapat memperluas potensi spektroskopi FTIR sebagai metode alternatif untuk menganalisis komponen dalam tumbuhan. Metode analisis ini dikembangkan dengan memanfaatkan informasi pola sidik jari yang bersifat khas (Wold dkk., 2001).

Kemometrik memanfaatkan ciri serapan IR yang khas dari setiap molekul untuk mengklasifikasi sampel atau untuk membuat model kalibrasi multivariat (dengan melibatkan data referensi) yang dapat digunakan dalam prediksi hasil pengukuran suatu sampel (Naes dkk., 2002).

Berdasarkan hal-hal diatas maka mendorong penulis melakukan penelitian yang intensif untuk mengetahui kadar total fenolik *Abelmoschus manihot L.* menggunakan Spektrofotometer inframerah tertransformasi Fourer karena metode ini merupakan suatu metode yang dapat mengukur secara cepat tanpa merusak dan mampu menganalisis beberapa komponen secara serentak, yang dikombinasikan dengan kemometrik yang digunakan untuk menemukan korelasi statistika antara data spektrum dan informasi yang telah diketahui dari sampel, yang dalam hal ini berupa total fenolik. Usulan penelitian ini akan ditentukan kandungan total fenol *Abelmoschus manihot L* yang berasal dari daerah di Sulawesi Utara yaitu Minahasa, Minahasa Utara, Minahasa Selatan, Minahasa Tenggara, Manado, Bitung, Tomohon dan Kotamobagu.

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Februari - Juli 2019 di Laboratorium Kimia Farmasi Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi.

Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu*[®] 00780), Komputer pengolah data (*HP*[®]), timbangan analitik (*ADAM*[®]), alat-alat gelas (*iwaki*[®]), Blender (*Nanotec*[®]), corong pisah, Vortex (*Mixer Hwashin*[®]), Rotary Evaporator (*RV 10 digital V*[®]), Rotary shaker (*Infors HT*[®]), dan Mikropipet (*Ecopipete*[®]), *software minitab*.

b. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu: simplisia kering daun gedi hijau Kota Manado, Bitung, Tomohon, Kota Mobagu, Minahasa, Minahasa Tenggara, Minahasa Selatan, Minahasa Utara, Asam Galat (p.a), reagen Folin-Ciocalteu (p.a), Etanol teknis 96 %, Natrium Karbonat (Na_2CO_3) dan akuades.

Pengambilan Sampel

Sampel *Abelmoschus manihot L.* diambil dari daerah Kota Manado, Bitung, Tomohon, Kotamobagu, Kabupaten Minahasa, Minahasa Tenggara, Minahasa Selatan, Minahasa Utara. Selanjutnya setiap sampel *Abelmoschus manihot L.* dibuat simplisia.

Ekstraksi

Sebanyak 250 gram simplisia daun gedi hijau dari masing-masing daerah dimasukkan ke dalam labu alas bulat, selanjutnya ditambahkan etanol 96 %. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi selama 3 hari dengan menggunakan maserator. Ekstrak hasil maserasi kemudian difiltrasai, filtratnya diuapkan

dengan *rotary evaporator* hingga terbentuk ekstrak kental.

Penentuan Kandungan Total Fenolik Ekstrak *Abelmoschus manihot L.*

a. Penentuan *Operating Time*

Sebanyak 300 μL larutan asam galat konsentrasi 30 $\mu\text{g/mL}$ ditambah 1,5 mL reagen Folin Ciocalteu 25 %, kemudian digojog dan didiamkan selama 3 menit. Ke dalam larutan tersebut ditambahkan 1,2 mL larutan Natrium Karbonat (Na_2CO_3) 5 %, digojog homogen, dan diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dalam rentang waktu 0-90 menit pada panjang gelombang 750 nm (Thesalonika dkk, 2018).

b. Penentuan Panjang Gelombang Absorbansi Maksimum

Sebanyak 300 μL larutan asam galat konsentrasi 30 $\mu\text{g/mL}$ ditambah 1,5 mL reagen Folin-Ciocalteu 25 %, kemudian digojog dan didiamkan selama 3 menit. Ke dalam larutan tersebut ditambahkan 1,2 mL larutan Natrium karbonat 5 %, digojog homogen, dan didiamkan pada suhu kamar pada range *operating time*, kemudian absorbansinya diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 700-800 nm.

c. Pembuatan Kurva Baku Asam Galat

Sebanyak 300 μL larutan asam galat konsentrasi 20, 30, 40, 50, dan 60 $\mu\text{g/mL}$ masing-masing dimasukkan ke dalam tabung, kemudian ditambah 1,5 mL reagen Folin Ciocalteu 25 % dan digojog. Setelah didiamkan selama 3 menit, masing-masing larutan ditambah 1,2 mL

larutan Natrium Karbonat 5 %, digojog homogen dan didiamkan pada range *operating time* pada suhu kamar. Semua larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang absorbansi maksimum, kemudian di buat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat ($\mu\text{g/mL}$) dengan absorbansi.

d. Penentuan kandungan ekstrak daun gedi hijau

Sebanyak 10,0 mg ekstrak dari masing-masing ekstrak daun gedi hijau dilarutkan sampai volume 10,0 mL akuades. Larutan ekstrak yang diperoleh dipipet sebanyak 300 μL , dan ditambah reagen 1,5 mL Folin-Ciocalteu 25 % dan digojog, didiamkan selama 3 menit, ditambah 1,2 mL pelarut Natrium Karbonat (Na_2CO_3) 5 % dan didiamkan lagi pada range *operating time* pada suhu kamar. Absorbansi ekstrak diukur pada panjang gelombang maksimum. Perhitungan kandungan total fenolik menggunakan rumus berikut:

$$\text{TPC} = \frac{c.v.fp}{g}$$

Keterangan:

c = konsentrasi fenolik (nilai x)

v = volume ekstrak yang digunakan (mL)

fp = faktor pengenceran

g = berat sampel yang digunakan

Pembuatan spektrum FTIR

Sebanyak 0.5 mg serbuk daun gedi hijau (*Abelmoschus manihot L.*) dicampurkan dengan 180 mg KBr, dihomogenisasi. Pengukuran spektrum FTIR dilakukan pada daerah IR tengah ($4000-400\text{ cm}^{-1}$) dengan melibatkan pengontrol kerja berupa personal komputer yang dilengkapi perangkat lunak OPUS

versi 4.2. Spektrum dihasilkan dengan kecepatan 32 detik dan resolusi 4 cm^{-1} . Tampilan data spektrum akan menampilkan jumlah titik serapan kemudian diubah ke dalam format DPT (*data point table*) untuk keperluan pengolahan data. Data ini dapat dibuka dengan program *Microsoft Excel*. Selanjutnya data jumlah titik serapan yang ditampilkan (telah dihilangkan serapan CO₂-nya pada 2399-2252 cm⁻¹) diolah dengan program *Minitab* (CAMO, Norwegia) yang dijalankan dengan sistem operasi *Microsoft Windows 10*. Selain data spektrum asli, dihasilkan pula data dengan perlakuan pendahuluan berupa koreksi garis dasar, normalisasi (nilai serapan diatur sehingga serapan tertinggi bernilai satu dan serapan terendah bernilai nol), derivatisasi, dan penghalusan hasil derivatisasi dengan metode Savitsky-Golay (Rohaeti dkk, 2011).

Analisis Data

Model kalibrasi multivariat dibuat dengan program Mini Tab menggunakan metode regresi PLS. Pembentukan model prediksi total fenolik dilakukan oleh PLS dengan melibatkan variabel x (hasil pengukuran FTIR) dan variabel y (data hasil analisis Asam Galat). Kalibrasi dan validasi model diolah dengan teknik validasi silang. Keakuratan model dapat dilihat pada nilai korelasi atau koefisien determinasi dan nilai kesalahan yang dihasilkan. Model dapat digunakan bila memiliki nilai kesalahan (*standar error calibration SEC*, *standar error of cross validation SECV* atau *standard error of prediction SEP*) rendah dan nilai korelasi atau koefisien determinasinya tinggi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstrak

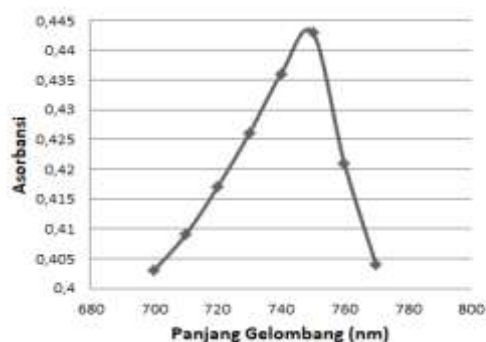
Berdasarkan hasil ekstraksi 250 gram daun gedi hijau maka diperoleh jumlah hasil rendemen dari masing-masing ekstrak adalah, kota Bitung sebesar 5,50%, Minahasa Selatan sebesar 5,80%, Kotamobagu sebesar 5,25%, Minahasa Utara sebesar 5,34%, Manado sebesar 6,59%, Minahasa Tenggara sebesar 7,23%, Minahasa sebesar 7,34% dan Kota Tomohon sebesar 5,63%.

Operating Time

Berdasarkan hasil pengukuran yang diperoleh, absorbansi yang stabil di menit ke-30 sehingga dapat disimpulkan *Operating time* untuk penetapan kandungan total fenolik ekstrak daun gedi hijau adalah 30 menit. Penetapan *operating time* bertujuan untuk mendapatkan waktu pengukuran pada saat reaksi telah berjalan optimal yang ditandai dari absorbansi yang stabil, sehingga dapat memaksimalkan pengukuran (Pangestuty, 2016). Data hasil *operating time* yang diukur absorbansinya pada spektrofotometer UV-Vis dalam rentang waktu 0-90 menit dengan mereaksikan asam galat dengan reagen Folin-Ciocalteu dan pelarut Natrium karbonat. Kenaikan absorbansi secara terus menerus dari menit ke menit tidak dapat dijadikan sebagai *operating time* karena perubahan absorbansi masih terus berjalan, sehingga pengukuran menjadi tidak maksimal jika dilakukan pada waktu tersebut. Sebaliknya ketika absorbansi sudah mulai stabil merupakan waktu yang tepat dijadikan sebagai *operating time* (Pangestuty, 2016).

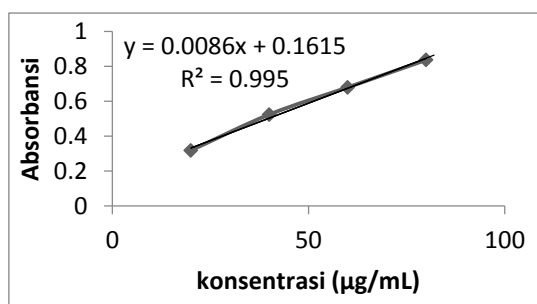
Panjang Gelombang Maksimum

Hasil panjang gelombang maksimum pada konsentrasi 30 µg/mL asam galat diperoleh panjang gelombang maksimum 750 nm dengan hasil absorbansi 0,443.



Gambar 1. Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan Kurva Baku dan Linearitas



Gambar 2. Kurva Baku dan Linearitas

Hasil pengukuran persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi yang diperoleh adalah $y = 0,0086x + 0,1615$ dengan koefisien korelasi $R^2 = 0,995$. Persamaan kurva kalibrasi merupakan hubungan antara sumbu x dan sumbu y. Sumbu x dinyatakan dengan konsentrasi yang diperoleh sedangkan sumbu y merupakan absorbansi atau serapan yang diperoleh. Harga koefisien korelasi menyatakan hubungan yang linear antara konsentrasi dengan serapan yang dihasilkan. Berdasarkan hasil R^2 yang

diperoleh bahwa koefisien korelasi memberikan hasil yang linear karena memenuhi kriteria yang dapat diterima yaitu 0,99 (Miller dan Miller, 2010).

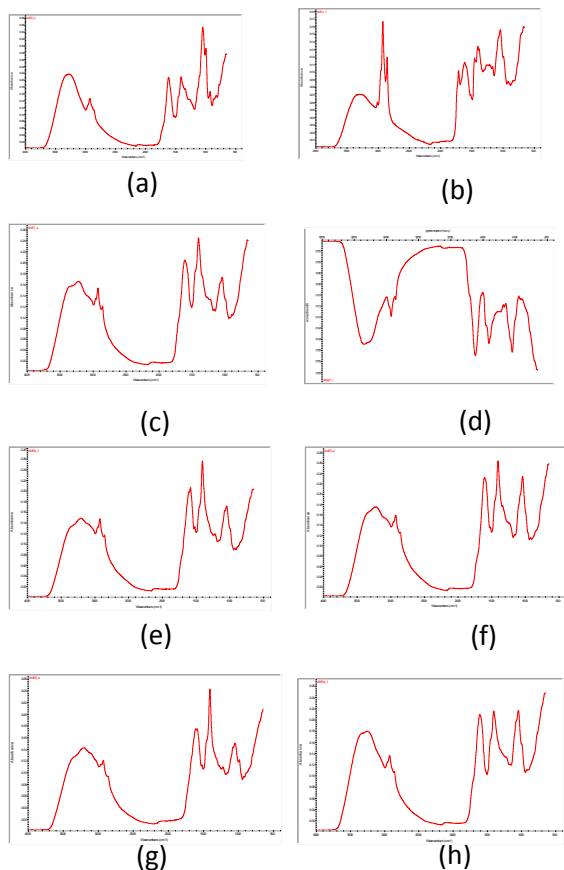
Penentuan Kandungan Total Fenolik Daun Gedi Hijau

Perhitungan Kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Gedi Hijau dengan menggunakan perhitungan Persamaan Regresi Linear Kurva Baku $y = ax + b$ menghasilkan kandungan fenolik pada kota Tomohon sebesar 546,5 µg GEA/g ekstrak $\pm 0,003$, Bitung 365,6 µg GEA/g ekstrak $\pm 0,035$, Minahasa Selatan 290,6 µg GEA/g ekstrak $\pm 0,027$, Kotamobagu 793 µg GEA/g ekstrak $\pm 0,03$, Minahasa Utara 716,2 µg GEA/g ekstrak $\pm 0,091$, Manado 580,2 µg GEA/g ekstrak $\pm 0,012$, Minahasa Tenggara 283,7 µg GEA/g ekstrak $\pm 0,006$, Minahasa 855,8 µg GEA/g ekstrak $\pm 0,033$. Dari data di atas menunjukkan bahwa kandungan Total Fenolik tertinggi berasal dari daerah Minahasa (Dataran Tinggi) dengan nilai kandungan fenolik sebesar 855,8 µg GEA/g ekstrak. Pada daerah dataran tinggi yang meliputi dataran yang luas dan letaknya di daerah tinggi atau pegunungan yang tingginya berkisar 700 m di atas permukaan laut, secara geografis tanah di daerah ini merupakan Tanah Alluvial, tanah alluvial merupakan jenis tanah yang terbentuk dari hasil erosi dan sedimentasi sehingga cukup mendukung untuk bercocok tanam karena tanahnya yang subur (Kasenda dkk, 2014).

Pembuatan Spektrum FTIR

Fourier Transformed Infrared (FTIR) adalah suatu metode yang dapat mengukur secara cepat contoh tanpa

merusak dan mampu menganalisis beberapa komponen secara serentak (Wold dkk, 2001).



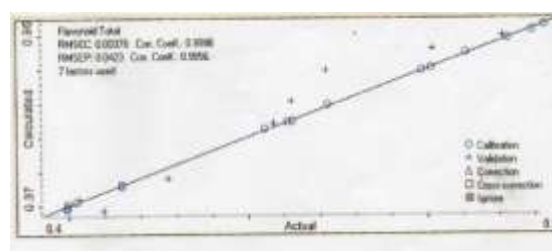
Gambar 3. Spektra FTIR Daun Gedi Hijau (a) Bitung, (b) Minahasa Selatan, (c) Kotamobagu, (d) Minahasa Utara, (e) Manado, (f) Minahasa Tenggara, (g) Minahasa, (h) Tomohon

Hasil pengujian dari ke 8 sampel diatas dengan menggunakan spectrum FTIR, diperoleh puncak absorbansi pada panjang gelombang $3580,05\text{ cm}^{-1}$ – $3649,76\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan gugus OH (alcohol), pada panjang gelombang $3392,69\text{ cm}^{-1}$ – $3496,99\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus NH (Amina Sekunder). Pada ikatan C=O (Keton) pada $1675 - 1725\text{ cm}^{-1}$, C=O (Asam karboksilat) pada $1700 - 1725\text{ cm}^{-1}$. Adanya ikatan C=C

(Alkena) pada panjang gelombang $1620 - 1680\text{ cm}^{-1}$. Selain itu pada $1550 - 1570\text{ cm}^{-1}$ terdapat $-C-NO_2$ (Nitro). Serapan di daerah $1400 - 1500\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya C-C aromatic.

Analisis Data

Bentuk kalibrasi multivariat dibuat dengan menggunakan program Mini Tab dengan menggunakan metode regresi PLS. Kalibrasi multivariat dengan metode PLS (*Partial Least Squares Regression*) secara otomatis akan memberikan informasi spektrum yang khusus dan relevan dengan suatu sifat kimia dari model kalibrasi pada bilangan gelombang tertentu (Van Der Vort dkk, 1992). Melibatkan variabel x (hasil pengukuran FTIR) dan Variabel y (data hasil analisis Folin-Ciocalteu). Kalibrasi dan validasi model diolah dengan Teknik validasi silang. Model dapat digunakan bila memiliki nilai kesalahan (*standar error calibration* (SEC), *standar error of cross validation* (SECV) atau *standar error of prediction* (SEP)) rendah dan nilai dari korelasi atau koefisien determinasinya tinggi (Miller dan Miller, 2010).



Gambar 4. Plot Regresi PLS Daun Gedi Hijau

Hasil prediksi PLS menunjukkan nilai korelasi (r) kalibrasi = 0,999, nilai korelasi (r) validasi = 0,985 dan nilai SEP = 0,042 dan SEC = 0,003. Hasil ini

menunjukkan model kalibrasi dapat diterima karena memenuhi syarat dengan nilai koefisien determinasi yang tinggi dan galat yang rendah (Miller dan Miller, 2010).

KESIMPULAN

1. Kandungan total fenolik ekstrak *Abelmoschus manihot L.* memperoleh hasil untuk kota Tomohon sebesar 546,5 µg GEA/g ekstrak ± 0,003, Bitung 365,6 µg GEA/g ekstrak ± 0,035, Minahasa Selatan 290,6 µg GEA/g ekstrak ± 0,027, Kotamobagu 793 µg GEA/g ekstrak ± 0,03, Minahasa Utara 716,2 µg GEA/g ekstrak ± 0,091, Manado 580,2 µg GEA/g ekstrak ± 0,012, Minahasa Tenggara 283,7 µg GEA/g ekstrak ± 0,006, Minahasa 855,8 µg GEA/g ekstrak ± 0,033.
2. Hasil korelasi total fenol dengan metode standar nilai korelasi (r) kalibrasi = 0,999, nilai korelasi (r) validasi = 0,985 dan nilai SEP = 0,042 dan SEC = 0,003. Hasil ini menunjukkan model kalibrasi dapat diterima karena memenuhi syarat dengan nilai koefisien determinasi yang tinggi dan galat yang rendah.
3. Korelasi yang diperoleh sebesar 0,999 (r) kalibrasi dan 0,985 (r) validasi. Perhitungan total fenol dengan menggunakan metode standar memiliki korelasi dengan perhitungan total fenol dengan metode FTIR yang dikalibrasikan dengan kemometrik.

SARAN

Disarankan agar dalam penentuan kandungan total fenol menggunakan spektrofotometer FTIR dan dapat menggunakan metode kemometrik yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Day, R.A., dan Underwood, A.L. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif Edisi Keenam*. Erlangga, Jakarta.
- Fu, L., Xu, B.T., Gan, R.Y., Zhang, Y. 2011. Total Phenolic Contents and Antioxidant Capacities of Herbal and Tea Infusion. *International Journal of Molecular Sciences*. 12: 2112-2124.
- Kasenda, Ivanny, M.Sylviah., H.Wungouw. 2014. Perbandingan Denyut Nadi antara Penduduk yang Tinggal di Dataran Tinggi dan Dataran Rendah. *E- Biomedik*, 2(2): 1-6.
- Mamahit L.P., Soekarno, N.H., 2010. Satu senyawa organik yang diisolasi dari daun gedi (*Abelmoschus manihot L. Medik*) Asal Sulawesi Utara. *Jurnal of Agricultural and Food Chemistry*, 49:3106-3112.
- Miller, J.N., Miller, J.C. 2010. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry Sixth edition*. Pearson Education Limited, England.
- Naes, T., Isaksson, T., Fearn, T., Davies, T., 2002, *A User Friendly Guide to Multivariate Calibration and Classification*, NIR Publication, Chichester.
- Pangestuty, A. 2016. *Uji aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Ekstrak Buah Buni dengan Metode 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH) dan Metode Folin-Ciocalteu*

[skripsi]. Fakultas Farmasi,
Yogyakarta.

Ravangpai, W. 2011. Limonoids from seeds of Thai *Xylocarpus moluccenci*. *Bioorganic & Medical Chemistry Letters*. 21: 4485-4489.

Rohaeti, E., Heryanto, R., Rafi, M., Kurniasari, I., Darusman, L. K. 2011. Prediksi kadar flavonoid total tempuyung (*sonchus arvensis* l.) Menggunakan kombinasi spektroskopi ir dengan regresi kuadrat terkecil parsial. *Jurnal Kimia* 5 (2) : 101-108.

Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka pelajar, Yogyakarta.

Thesalonika, G. A., Sudewi, S., Rorong, J. A. 2018. Optimasi dan Validasi Metode Analisis dalam Penentuan Kandungan Total Fenolik pada Ekstrak Daun Gedi Hijau (*Albemuschos manihot* L.) yang Diukur dengan Spektrofotometer UV-Vis. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 7(3) : 14-21

Vermerris, W, Nicholson, R. 2006. *Phenolic Compound Biochemistry*. Spinger, Dordrecht.

Wold, S., Sjostrom, M., Eriksson, L., 2001, PLS-Regression: a Basic Tool of Chemometrics, *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 58 :p 109-130