

## Penetapan Kadar Flavonoid Total Dari Fraksi n-Heksana Ekstrak Daun Gelinggang dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Romi Satria<sup>1</sup>, Ali Rakhman Hakim<sup>1</sup>, Putri Vidiyasari Darsono<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Jurusan Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Sari Mulia. Banjarmasin, Indonesia.

### Article History

**Received:**  
18.02.2022

**Revised:**  
14.03.2022

**Accepted:**  
20.04.2022

**\*Corresponding Author:**  
Ali Rakhman Hakim  
**Email:**  
alirakhmanhaki@unism.ac.id

This is an open access article,  
licensed under: **CC-BY-SA**



**Abstrak:** Indonesia memiliki kekayaan alam yang berlimpah, yang dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk masyarakat. Daun Gelinggang (*Senna alata L*) memiliki aktivitas antijamur berdasarkan senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, saponin, tanin steroid, alkaloid yang diharapkan dapat menjadi alternatif lain dalam pengobatan antijamur. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis kadar flavonoid total dari fraksi Daun Gelinggang dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Penelitian ini menggunakan Analisis kualitatif mengidentifikasi senyawa flavonoid sedangkan analisis kuantitatif untuk menentukan kadar flavonoid menggunakan spektrofotometri uv-vis yang akan diperoleh nilai dari absorbansi dimasukkan ke dalam persamaan regresi linear yaitu  $y = bx + a$  yang diperoleh dari kurva kalibrasi perbandingan dan hasil dinyatakan dalam satuan mg/gram dan persen. Hasil penelitian dari identifikasi uji warna shinoda pada ekstrak daun gelinggang positif mengandung flavonoid yang berwarna hijau lumut dan penetapan kadar flavonoid total dari daun gelinggang sebesar 2,563%. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa fraksi n-heksana memiliki kadar flavonoid sebesar 2,563%.

**Kata Kunci:** Daun Gelinggang, Fraksi N-heksana, Kadar flavonoid total, Metode Spektrofotometri UV-VIS.

### Determination of Total Flavonoid Content of the n-Hexane Fraction of Gelinggang Leaf Extract by UV-Vis Spectrophotometric Method

**Abstract:** Indonesia has abundant natural resources, which are used as traditional medicine for the community. Gelinggang leaf (*Senna alata L*) have antifungal activity based on secondary metabolites in the form of flavonoids, saponins, steroid tannins, and alkaloids which are expected to be other alternatives in antifungal treatment. The research objective is to analyze the total flavonoid content of the Gelinggang Leaf fraction using the UV-Vis spectrophotometry method. This study used qualitative analysis to identify flavonoid compounds and quantitative analysis to determine flavonoid levels using UV-Vis spectrophotometry. The absorbance value obtained is entered into the linear regression equation, namely  $y = bx + a$  from the comparison calibration curve and the results are expressed in units of mg/gram and percent. The results of the identification of the Shinoda color test on Gelinggang leaf extract were positive for moss-green flavonoids and the determination of the total flavonoid content of Gelinggang leaf was 2.563%. From this study, it can be concluded that the n-hexane fraction has a flavonoid content of 2.563%.

**Keywords:** Gelinggang Leaf, N-hexane Fraction, Total Flavonoid Content, UV-VIS Spectrophotometry Method.



## 1. Pendahuluan

Indonesia memiliki kekayaan alam yang berlimpah, yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk masyarakat. Akhir-akhir ini penggunaan tanaman obat tradisional sebagai bahan pilihan pengobatan sehari-hari kembali meningkat. Salah satu bahan alam yang memiliki potensi untuk diteliti adalah daun gelinggang atau sering disebut ketepeng cina (*Senna alata* L) [1].

Tumbuhan gelinggang atau juga sering disebut ketepeng cina (*Senna alata* L) tersebar luas di daerah tropis yang memiliki sekitar 1.260 spesies. Di Indonesia tumbuhan daun gelinggang memiliki sebutan yang berbeda-beda yaitu ketepeng kebo (jawa), ketepeng badak (sunda), acon-aconan (Madura), kupang-kupang (ternate), tabankun (tidore), daun kupang, daun kurapan dan gelinggang (sumatra) [2]. Tumbuhan daun gelinggang ini dikenal sebagai pohon lilin, tanaman kurap dan semak lilin. Daun gelinggang sudah sangat jarang digunakan untuk kehidupan sehari-hari sehingga tanaman ini sering kali dibasmi oleh masyarakat. Daun gelinggang mempunyai peranan yang sangat besar dalam bidang kesehatan karena menghasilkan zat-zat kimia yang memiliki kegunaan yang potensial dalam pengobatan hepatitis, gangguan kulit, penyakit kuning dan eksema. Tanaman ini mempunyai peranan penting bagi para ilmuwan yaitu sebagai pengobatan infeksi dan kanker. Daun gelinggang mengandung zat kimia yang memiliki

aktivitas antibakteri dan antijamur yang bersifat toksik terhadap jamur. Para ilmuwan kimia juga menyatakan bahwa ekstrak dari daun gelinggang dapat menghambat pertumbuhan mikroba [1].

Daun gelinggang (*Senna alata* L). merupakan jenis tanaman yang besar dan banyak tumbuh secara liar di tempat-tempat yang lembab. Kini tumbuhan ini sering dipelihara sebagai perindang halaman rumah atau gedung. Daun gelinggang atau sering disebut sebagai ketepeng kerbau mempunyai ukuran daun yang besar dengan bentuk bulat telur yang letaknya berhadapan-hadapan satu sama lain dan terurai lewat ranting daun (bersirip genap). Bunga daun gelinggang mempunyai mahkota yang pada bagian bawahnya berwarna kuning. Buahnya berupa buah polong yang bersayap dan pipih berwarna hitam. Daun gelinggang tumbuh subur pada dataran rendah sampai ketinggian 1400 meter di atas permukaan laut [1].

Daun gelinggang banyak dimanfaatkan secara tradisional antara lain adalah antiparasit, laksan, kurap, kudis, panu, malaria, sembelit, radang kulit bertukak, sifilis, influenza dan bronkhitis. Daun gelinggang memiliki kandungan penting seperti alkaloid, saponin, tannin, steroid, antrakuinon, flavonoid dan karbohidrat. Flavonoid pada tanaman herbal yang berpotensi sebagai anti bakteri dan anti jamur serta mampu menghambat pertumbuhan mikroba *Mucor* sp, *Rhizopus* sp, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Saccharomyces*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Staphylococcus aureus* [3].

Flavonoid adalah suatu metabolit sekunder yang tersebar dalam dunia tumbuhan dan merupakan salah satu golongan senyawa fenol yang tersebar. Flavonoid dan isoflavonoida adalah salah satu golongan senyawa metabolit sekunder yang tersebar secara meluas pada daerah tumbuh-tumbuhan, terdapat pada akar, ranting, bunga, buah, biji dan daun. Senyawa flavonoid banyak ditemukan sebagai zat warna alam berupa warna merah, kuning dan ungu. Warna-warna flavonoid ditimbulkan oleh sistem konjugasi elektron senyawa aromatik tersebut. Kandungan senyawa flavonoid sendiri dalam tanaman sangat rendah, yaitu sekitar 0,25% [4].

Fraksinasi merupakan suatu proses pemisahan senyawa yang didasarkan pada kelarutan senyawa pada dua macam pelarut yang tidak saling bercampur. Fraksinasi ini biasa dikenal juga dengan istilah ekstraksi cair-cair. Pelarut yang biasa digunakan adalah pelarut organik dan pelarut air [5]. Menurut penelitian Fraksi n-Heksana digunakan untuk mengetahui kandungan flavonoid dan mempunyai aktivitas antioksidan yang ada ditanaman daun gelinggang (*Senna alata* L). Penelitian tentang flavonoid total terhadap fraksi n-heksan pada ekstrak Daun Saliara (*Lantana camara* L.) Dilakukan ekstraksi cair cair secara bertahap dari ekstrak kental hasil ekstraksi. Fraksinasi dengan n-Heksan dilakukan sebanyak tiga kali replikasi. Fraksi n-Heksan selanjutnya dikumpulkan dan dipekatkan. Dengan pelarut n-heksan yang bersifat non polar dan dengan pelarut air yang bersifat polar, n-heksan memiliki bobot jenis lebih kecil dari air. Proses fraksinasi n-heksan: air dilakukan sebanyak tiga kali replikasi, diperoleh rendemen fraksi n-heksan sebesar 2,67 %. [6].

## 2. Tinjauan Pustaka

### 2.1. Tanaman Daun Gelinggang

#### 2.1.1. Klasifikasi Daun Gelinggang

Daun gelinggang (*Senna alata* L). Merupakan tanaman asli Indonesia daerah tropik Amerika dan biasanya tumbuh di daerah hingga pegunungan dengan ketinggian 1.400 meter di atas permukaan laut.

Daun gelinggang adalah tanaman suku fabacea yang memiliki berbagai macam nama daerah di antaranya adalah gelinggang di Kalimantan selatan, ketepeng kebo atau ketepeng cina di Jawa, ketepeng badak di sunda, ketepeng kurap atau gelinggang ketepeng kupang-kupang di Manado, ancon-anconan di Madura, sajamera di Halmahera, kupang-kupang di Ternate, tabunkun di Tidore, dan gelinggang di Sumatra [7].

Tanaman daun gelinggang (*Senna alata* L) banyak digunakan sebagai pengobatan salah satunya terdapat pada bagian daunnya, dan daun gelinggang ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Tumbuhan Daun Gelinggang

Klasifikasi tumbuhan daun gelinggang sebagai berikut:

|         |                  |
|---------|------------------|
| Kingdom | : Plantae        |
| Divisi  | : Angiospermae   |
| Kelas   | : Dicotyledoneae |
| Ordo    | : Rosales        |
| Family  | : Fabaceae       |
| Genus   | : Senna          |
| Spesies | : Senna alata L  |

### 2.1.2. Morfologi Gelinggang

Daun Gelinggang merupakan salah satu jenis tumbuhan perdu yang besar dan banyak tumbuh secara liar di tempat-tempat yang lembab dengan tinggi  $\pm 5$  meter. Batang berkayu berbentuk bulat memiliki cabang simpodial dan berwarna coklat. Daun majemuk menyirip genap dengan anak daun delapan sampai dua puluh empat pasang, berbentuk bulat panjang, ujung tumpul bertepi rata dengan pangkal membulat, panjangnya 3,5-15 cm dan lebar 2,5-9 cm, pertulangan menyirip, tangkai pendek, berwarna hijau. Bunga majemuk berbentuk tandan dengan kelopak terbagi lima, benang sari tiga, berwarna kuning, daun pelindung pendek berwarna jingga, mahkota berbentuk kupu-kupu berwarna kuning. Buah polong panjang berbentuk persegi empat dengan panjang  $> 18$  cm dan lebar  $> 2,5$  cm, berwarna hijau pada saat muda dan hitam kecoklatan setelah tua. Biji berbentuk segi tiga lancip, pipih berwarna hijau pada saat muda dan hitam setelah tua apabila sudah pecah akan berisi 50-70 biji. Akar tunggang, bercabang, berbeentuk bulat dan berwarna hitam [8].

### 2.1.3. Kandungan Gelinggang

Kandungan kimia yang terkandung dalam daun gelinggang adalah senyawa flavonoid, glikosida, terpenoid, tannin, saponin, dan antarkuinon [8]. Hasil skrining flavonoid yang dilakukan oleh Lumbessy et al [9] menyatakan bahwa kandungan flavonoid yang terdapat pada daun gelinggang dengan konsentrasi 50% adalah sebesar 26.8633 mg/ml. Flavonid memiliki aktivitas sebagai anti oksidan yang dapat mengaktifasi antikarsinogen, antibakteri, antifungi antivirus, antiradang, dan anti

kanker [10]. Antioksidan adalah senyawa pemberi elektron atau reduktan yang dapat memperlambat proses oksidasi [9].

#### **2.1.4. Kegunaan Gelinggang**

Tanaman daun gelinggang atau sering disebut ketepeng cina yang bermanfaat dalam pengobatan adalah bagian daunnya yang memiliki berbagai macam kandungan kimia yang digunakan untuk hepatitis, gangguan kulit, penyakit kuning, dan eskema [11]. Menurut Putri [7]. Secara aktivitas daun gelinggang paling sering digunakan dengan cara di remas lalu dioleskan pada bagian terinfeksi secara rutin selama tiga hari untuk pengobatan penyakit kulit, kudis, panu, kurap, dan malaria. Secara tradisional daun gelinggang juga digunakan untuk menurunkan kolestrol dengan cara meminum air rebusan.

#### **2.2. Ekstraksi**

Proses ekstraksi terdiri dari beberapa metode yaitu, maserasi, perkolasi, sokletasi, refuks, dan destilasi uap. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa target yang akan di isolasi. Ekstraksi pada tanaman obat adalah pemisahan secara kimia atau fisika suatu atau sejumlah bahan padat atau bahan cair dari suatu padatan, yaitu tanaman obat [12].

Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Maserasi merupakan proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar. Maserasi dimaksudkan untuk menarik zat-zat berkhasiat yang tahan akan proses pemanasan maupun tidak tahan proses pemanasan. Secara teknologi maserasi merupakan ekstraksi yang memiliki prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling sederhana. Setelah selesai waktu maserasi, artinya terjadi keseimbangan antara bahan yang di ekstraksi pada bagian dalam sel dengan masuk ke dalam cairan, telah mencapai maka proses difusi segera berakhir, selama maserasi atau proses peredaman dilakukan pengocokan secara berulang-ulang. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi pelarut dalam simplisia. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian dari metode maserasi ini adalah memerlukan waktu yang cukup lama, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan adanya kemungkinan beberapa senyawa yang hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit di ekstraksi pada suhu kamar. Namun pada sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya sesenyawa-senyawa yang memiliki sifat termolabil [13].

#### **2.3. Fraksinasi**

Fraksinasi merupakan pengetahuan penting dalam bekerja dengan bahan alam. Teknik ini berguna untuk memurnikan suatu bahan alam baik dalam bentuk fraksi maupun senyawa tunggal. Fraksinasi adalah kelanjutan dari ekstraksi. Setelah mendapatkan ekstrak kasar dari proses ekstraksi maka tahap selanjutnya adalah pemurnian atau pemisahan fraksi, atau bahkan isolasi senyawa metabolit sekundernya [14].

##### **2.3.1. Fraksinasi Ekstrak Bahan Alam**

Sebuah ekstrak dari suatu bahan tanaman dapat mengandung puluhan atau ratusan senyawa. Melalui proses fraksinasi maka misalkan dari sebuah ekstrak yang mengandung 100 senyawa dapat dibagi menjadi 4 fraksi atau kelompok (fraksi A, B, C, dan D), dengan masing-masing anggotanya sekitar 25 jenis senyawa. Setelah itu dapat dilakukan pembagian kelompok tahap kedua, dengan melakukan fraksinasi pada kelompok target atau terpilih. Ada beberapa macam tujuan dari fraksinasi. Fraksinasi dapat ditujukan untuk mendapatkan fraksi bagian tertentu dari suatu ekstrak, dimana bagian itulah yang merupakan fraksi aktif, dan perlu dipisahkan dari fraksi lainnya yang kurang aktif. Tujuannya adalah dalam rangka mendapatkan ekstrak yang lebih murni, sehingga perlu dihilangkan senyawa-senyawa lain yang mengotori atau mengganggu. Fraksinasi juga diperlukan ketika akan melakukan isolasi atau pemisahan satu senyawa metabolit sekunder tunggal. Dengan fraksinasi maka proses pemisahan senyawa menjadi lebih mudah. Fraksinasi dapat dilakukan dengan beberapa teknik,

diantaranya adalah dengan liquid-liquid extraction (ekstraksi cairan-cairan) atau menggunakan kolom kromatografi dengan fase diam dan fase gerak tertentu [14].

### **2.3.2. Fraksinasi dengan Liquid-Liquid Extraction**

Fraksinasi dengan liquid-liquid extraction adalah pemisahan sekelompok senyawa dari kumpulan senyawa dalam sebuah ekstrak yang telah dilarutkan pada suatu pelarut dengan cara menambahkan jenis pelarut lain yang memiliki polaritas berbeda dan tidak dapat tercampur antara keduanya (immiscible). Pada umumnya fraksinasi dengan metode ini dilakukan dengan menggunakan labu pemisah (separating funnel) [14].

### **2.3.3. Fraksinasi dengan Kolom Kromatografi**

Dengan metode kromatografi kolom pada dasarnya prinsip kerjanya hampir sama dengan liquid-liquid extraction yang membedakan adalah media yang digunakan. Pada fraksinasi dengan kromatografi kolom, maka proses pembagian fraksinya dilakukan pada sebuah kolom dengan menggunakan prinsip-prinsip kromatografi dimana sama-sama mengaplikasikan prinsip tingkat kepolaran/polaritas, prinsip yang sama seperti pada liquid-liquid extraction. Pada kromatografi kolom dikenal fase gerak (mobile phase) dan fase diam (stationary phase). Untuk memahami teknik ini maka perlu dijelaskan lebih detail dari kromatografi [14].

## **2.4. Etanol**

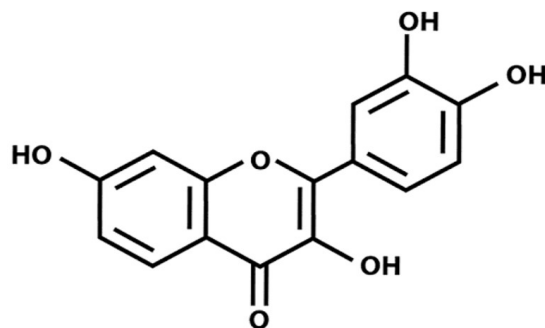
Penggunaan etanol sebagai pelarut dikombinasikan dengan air yang dinyatakan dengan satuan persen (%) dan sekaligus dapat dijadikan parameter dalam proses ekstraksi. Kombinasi etanol-air menghasilkan perbedaan konsentrasi polaritas dari pelarut ekstraksi. Konsentrasi dari etanol sangat menentukan kekuatan hidrofobik pada proses pelarutan serta kekuatan ikatan-ikatan hydrogen atau gaya Van Der Waals dari komponen target dalam proses pelarut dan penyarian dari komponen target. Mengacu pada teori kesamaan dan kemampuan saling bercampur, semakin mirip polaritas pelarut dengan zat terlarut, semakin cepat pelarutan zat terlarut dari sel tumbuhan. Meningkatkan konsentrasi etanol dapat meningkatkan laju disolusi dan ekstraksi. Ketika konsentrasi etanol lebih besar dari 70%, tingkat ekstraksi komponen target sedikit menurun, kemungkinan karena dinaturasi protein meningkatkan resistensi difusi pada konsentrasi etanol yang lebih tinggi [15].

Penggunaan pelarut etanol dalam upaya mendapatkan kadar senyawa flavonoid dan senyawa fenolik yang optimal sangat tergantung kepada factor konsentrasi, suhu, waktu dan pemilihan metode ekstraksi. Salah satu metode ekstraksi yang sering digunakan untuk optimasi adalah Ultrasound-Assisted Extraction (UAE). Parameter yang digunakan pada saat optimasi menggunakan UAE adalah frekuensi ultrasonik pada beberapa penelitian telah diakui sebagai metode yang andal dan cepat untuk mengekstraksi berbagai senyawa dari matriks alami [15].

## **2.5. Flavonoid**

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak ditemui di dalam tanaman. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenolik dengan struktur kimia C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> dari 15C akan membentuk konfigurasi yang menghasilkan tiga macam struktur dasar yaitu struktur 1,3-diarilpropana sebagai flavonoid, struktur 1,2-diarilpropana sebagai isoflavonoid dan struktur 1,1-diarilpropana sebagai neoflavonoid [16].

Flavonoid adalah senyawa polar yang memiliki gugus hidroksil atau gula yang larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, etil asetat, dimetilsulfoksida, dimetilformamida dan air. Flavonoid memiliki berbagai macam efek biologis seperti aktivitas imunomodulasi, hipolipidemia, hipoglikemi, melenturkan pembuluh darah dan antioksidan. Flavonoid senyawa preduksi yang baik untuk menghambat reaksi oksidasi, baik secara enzim atau nonenzim. Flavonoid juga sebagai penampung yang baik terhadap radikal bebas dan superoksida sehingga melindungi lemak membrane terhadap reaksi yang merusak [4].



Gambar 2. Struktur Dasar Flavonoid

Sumber gambar : <https://id.wikipedia.org/wiki/Flavonoid>

Pada manusia Flavonoid berfungsi sebagai stimulan pada jantung, diuretik, menurunkan kadar gula darah, dan sebagai antijamur, memiliki fungsi sebagai antibakteri, antiinflamasi, antitumor, antialergi, dan mencegah osteoporosis. Flavonoid juga dapat mencegah penyakit kardiovaskular dengan cara menurunkan laju oksidasi LDL pada kasus penyakit jantung oleh flavonoid, dapat mencegah pembentukan sel-sel busa dan kerusakan lipid [17].

Flavonoid merupakan senyawa dengan bobot molekul rendah dan memiliki struktur dasar C<sub>6</sub>C<sub>3</sub>C<sub>6</sub> yaitu terdiri dari 2 buah cincin benzene yang dihubungkan dengan 3 karbon. Flavonoid memiliki aktivitas antioksidan didalam tubuh sehingga disebut bioflavonoid [4]. Lebih dari 4,000 flavonoid telah diakui, banyak dalam sayuran, buah-buahan dan minuman seperti teh, kopi dan buah minuman.

Analisis kualitatif flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Spektrum serapan ultra violet dan serapan tampak merupakan cara tunggal yang paling bermanfaat untuk mengidentifikasi struktur flavonoid. Flavonoid menunjukkan pita serapan kuat pada UV-Vis. Metode tersebut juga dapat digunakan untuk melakukan uji secara kuantitatif untuk menentukan jumlah flavonoid yang terdapat dalam ekstrak dilakukan dengan mengukur nilai absorbansinya. Absorbansinya sebagai analisa kuantitatif dilakukan berdasarkan Hukum Lambert-Beer. Absorbansi dengan kadar flavonoid memiliki hubungan yang linear yaitu semakin tinggi absorbansi yang terukur maka kadar flavonoid yang terkandung didalam tanaman juga semakin tinggi [4]. Menurut Dirjen POM [18] range nilai absorbansi yang baik yaitu berkisar 0,2-0,8 di daerah ultraviolet atau cahaya tampak. Kadar flavonoid didalam suatu tanaman berbeda-beda diantara setiap bagian, jaringan dan umur tanaman, serta dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan. Faktor-faktor ini adalah temperature, sinar ultraviolet dan tampak, nutrisi, ketersediaan air, dan kadar CO<sub>2</sub> pada atmosfer [19].

Kadar flavonoid didalam suatu tanaman berbeda-beda diantara setiap bagian, jaringan, dan umur tanaman, serta dipengaruhi oleh factor-faktor lingkungan. Faktor-faktor ini yaitu temperatur, sinar ultraviolet dan tampak, nutrisi, ketersediaan air, dan kadar C<sub>02</sub> pada atmosfer [4]. Berdasarkan pada penelitian tentang aktivitas antiinflamasi dan kadar flavonoid total bahwa kadar flavonoid total 0,95% hingga 16,937% memiliki aktivitas inflamasi.

## 2.6. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis Merupakan salah satu instrument yang paling sering diterapkan dalam analisis atau mendeteksi kadar senyawa seperti flavonoid berdasarkan absorbansinya cahaya [20]. Daerah pengukuran spektrofotometer UV-Vis adalah pada panjang gelombang 200-400 nm. Spektrum UV disebut juga spektrum elektronik karena berlangsung sebagai hasil intraksi radiasi UV terhadap molekul yang menyebabkan molekul tersebut mengalami transisi elektronik. Apabila radiasi elektromagnetik dikenakan pada suatu molekul apapun atom hingga sebagian dari radiasi tersebut diserap oleh molekul ataupun atom tersebut sesuai dengan strukturnya yang memiliki gugus kromofor [13]. Analisis kuantitatif flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis menggunakan aluminium klorida (AlCl<sub>3</sub>), standar yang digunakan adalah kuersetin. Kuersetin merupakan salah satu jenis flavonoid yang umum digunakan sebagai standar dalam penentuan kadar flavonoid, yang secara biologis amat kuat, memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi [21].

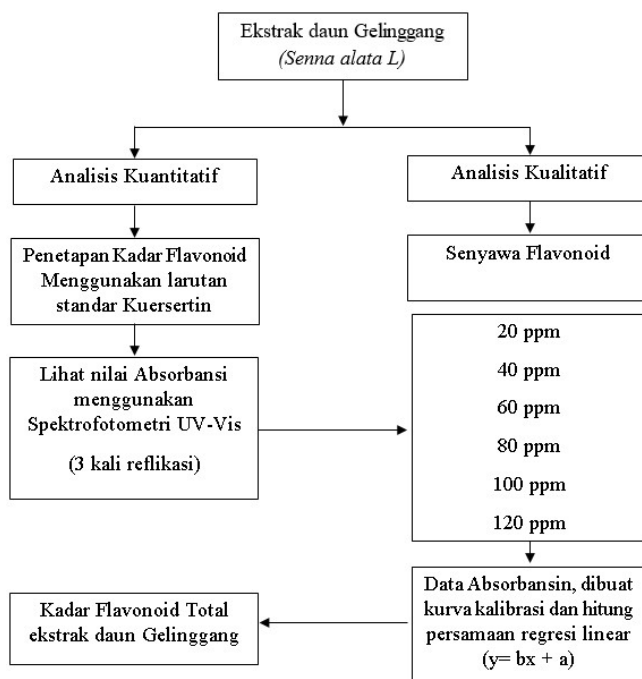
Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk uji kuantitatif dengan cara interaksi antara radiasi elektromagnetik (REM) yang dipancarkan dengan sampel yang selanjutnya akan diukur absorbansi dari sampel oleh detektor untuk mengetahui kadar flavonoid dalam sampel tersebut.

Spektrum serapan ultra violet dan serapan tampak merupakan cara tunggal yang paling bermanfaat untuk mengidentifikasi struktur flavonoid. Karena flavonoid mengandung sistem aromatis yang terkonjugasi dan dapat menunjukkan pita serapan kuat pada daerah UV-Vis. Metode tersebut juga dapat digunakan untuk melakukan uji secara kuantitatif untuk menentukan jumlah flavonoid yang terdapat dalam ekstrak yang dilakukan dengan mengukur nilai absorbansinya. Absorbansi sebagai analisa kuantitatif dilakukan berdasarkan Hukum Lambert-Beer. Absorbansi dengan kadar flavonoid memiliki hubungan yang linear yaitu semakin tinggi absorbansi yang terukur maka kadar flavonoid yang terkandung didalam suatu tanaman juga semakin tinggi [22].

### 3. Metodologi

Metode penelitian ini bersifat Deskriptif Observasional, metode ini merupakan penelitian yang bertujuan untuk menganalisis Penetapan Kadar Flavonoid dari n-Heksan Ekstrak Daun Gelinggang (*Senna alata* L) dengan menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. Penelitian ini Dilakukan Di Laboratorium Kimia Jurusan Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Sari Mulia Banjarmasin, waktu penelitian akan dilaksanakan selama 1 bulan dengan sasaran penelitian yaitu daun gelinggang (*Senna alata* L).

Kerangka konsep penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Kerangka Konsep Penelitian

## 4. Hasil Penelitian dan Pembahasan

### 4.1. Ekstrak dan Maserasi

Maserasi ini menggunakan simplisia kering sebanyak 10 gram. Kemudian di ekstrak dengan menggunakan pelarut etanol 70% menghasilkan ekstrak kental sebanyak 14 gram.



Gambar 4. Ekstrak Daun Gelinggang

#### 4.2. Fraksinasi

Pada proses fraksinasi terbentuk 2 lapisan, lapisan atas berupa lapisan n-heksana dan lapisan bawah berupa lapisan etanol-air. Lapisan n-heksana diuapkan di hotplate dengan suhu 50°C didapatkan ekstrak kental dari fraksi n-heksana yang telah dipekatkan sebanyak 289,3 mg.

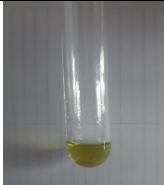


Gambar 5. Ekstrak Fraksinasi

#### 4.3. Uji Kualitatif Senyawa Flavonoid

Hasil uji kualitatif senyawa flavonoid dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Kualitatif Senyawa Flavonoid

| Sampel             | Reagen            | Gambar  | Deskripsi | Hasil |
|--------------------|-------------------|---|-----------|-------|
| Ekstrak Etanol 70% | FeCl <sub>3</sub> |  | Hijau     | +     |

Keterangan:

- Simbol positif (+) menunjukkan hasil reaksi dari penelitian dianggap sesuai dengan literature (Deskripsi).



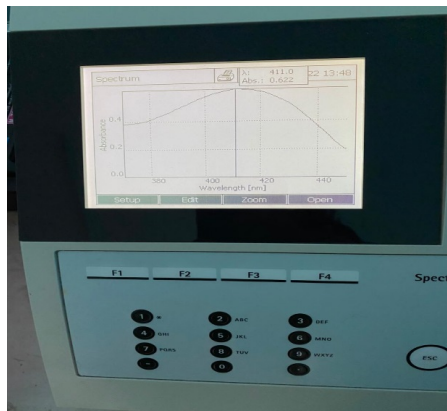
- Simbol negatif (-) menunjukkan hasil reaksi dari penelitian tidak sesuai dengan literature (Deskripsi).

Pada uji senyawa flavonoid sebanyak 0,1 mg ekstrak yang telah diencerkan dengan pelarut n-heksana sebanyak 1 ml, ditambahkan 3 tetes FeCl<sub>3</sub>. Positif mengandung flavonoid dengan perubahan warna hijau.

#### 4.4. Penentuan Kadar Spektrofotometri UV-Vis

##### 4.4.1. Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Pada penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin dilakukan running dan didapatkan hasil yaitu pada ekstrak etanol 70% didapatkan panjang gelombang sebesar 411 nm.



Gambar 6. Panjang Gelombang

##### 4.4.2. Operating Tim

Penentuan operating time selama 60 menit ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Penentuan Operating Time Selama 60 menit

| Waktu (menit) | Absorbansi | Waktu (menit) | Absorbansi |
|---------------|------------|---------------|------------|
| 2             | 0,593      | 32            | 0,594      |
| 4             | 0,594      | 34            | 0,593      |
| 6             | 0,594      | 36            | 0,594      |
| 8             | 0,593      | 38            | 0,594      |
| 10            | 0,593      | 40            | 0,594      |
| 12            | 0,593      | 42            | 0,594      |
| 14            | 0,594      | 44            | 0,594      |
| 16            | 0,594      | 46            | 0,593      |
| 18            | 0,593      | 48            | 0,594      |
| 20            | 0,593      | 50            | 0,593      |
| 22            | 0,594      | 52            | 0,594      |
| 24            | 0,594      | 54            | 0,594      |
| 26            | 0,593      | 56            | 0,594      |
| 28            | 0,594      | 58            | 0,594      |
| 30            | 0,593      | 60            | 0,594      |

Operating time dilakukan dengan menggunakan larutan baku kuersetin 100 ppm dengan interval waktu 2 menit dan dilakukan selama 60 menit. Hasil penentuan operating time diperoleh pada menit 40 menit.

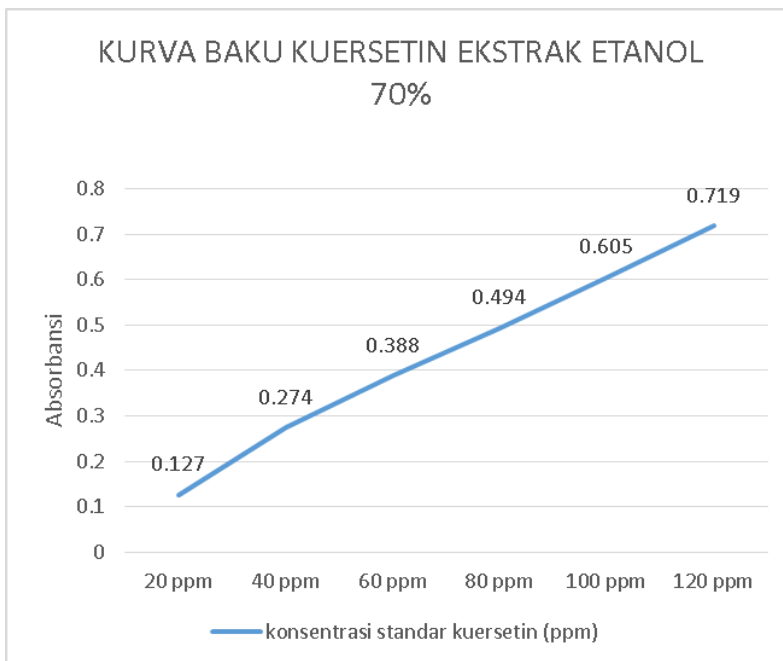
#### 4.4.3. Konsentrasi Kurva Baku

Hasil pengukuran absorbansi larutan baku kuersetin dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Absorbansi Larutan Baku Kuersetin

| Konsentrasi (ppm) | 20    | 40    | 60    | 80    | 100   | 120   |
|-------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Absorbansi        | 0,127 | 0,274 | 0,338 | 0,494 | 0,605 | 0,719 |
|                   | 0,127 | 0,273 | 0,389 | 0,495 | 0,606 | 0,719 |
|                   | 0,127 | 0,274 | 0,389 | 0,494 | 0,606 | 0,720 |
| Rata-rata         | 0,127 | 0,274 | 0,388 | 0,494 | 0,605 | 0,719 |

Hasil yang didapat pada Tabel 3 yaitu pengukuran absorbansi dari larutan baku kuersetin yang menggunakan spektrofotometri Uv-vis, mulai dari konsentrasi 20 ppm didapatkan absorbansi 0,127, 40 ppm sebesar 0,274, 60 ppm sebesar 0,388, 80 ppm sebesar 0,494, 100 ppm sebesar 0,605, 120 ppm sebesar 0,719 dengan menggunakan panjang gelombang 411 nm, setiap kenaikan konsentrasi maka nilai absorbansi semakin tinggi.



Gambar 7. Kurva Baku Standar Kuersetin

#### 4.4.4. Penentuan Nilai Absorbansi

Tabel 4 menunjukkan penentuan absorbansi sampel ekstrak daun gelinggang. Hasil pada Tabel 4 menunjukkan bahwa nilai dari absorbansi sampel daun gelinggang yang telah direplikasi 3 kali memiliki hasil yang sama pada replikasi pertama dan kedua sebesar 0,178 dan replikasi ke tiga sebesar 0,176 jadi memiliki nilai absorbansi rata-rata senilai 0,177 menggunakan panjang gelombang 411 nm.

Tabel 4. Penentuan Absorbansi Sampel Ekstrak Daun Gelinggang

| Sampel      | Absorbansi | Rata-rata |
|-------------|------------|-----------|
| Replikasi 1 | 0,178      | 0,177     |
| Replikasi 2 | 0,178      |           |
| Replikasi 3 | 0,176      |           |

#### 4.4.5. Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Gelinggang

Tabel 5 menunjukkan penentuan kadar flavonoid ekstrak daun gelinggang. Hasil pada Tabel 5 menunjukkan bahwa penentuan kadar flavonoid didapatkan dengan memasukkan nilai rata-rata absorbansi sampel sebesar 0,177 kedalam rumus  $y = 0,0057x + 0,0286$  didapatkan hasil 25,630. Melalui perhitungan rumus kadar flavonoid didapatkan kadar flavonoid daun gelinggang sebesar 25,630 mg QE/g atau 2,563%.

Tabel 5. Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Gelinggang

| Berat ekstrak (gram) | Absorbansi (rata-rata) | Kadar ekivalen (ppm) | Kadar flavonoid total (%) |
|----------------------|------------------------|----------------------|---------------------------|
| 0,025 gram           | 0,177                  | 25,63                | 2,563 %                   |

Pada penelitian bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol 70% daun gelinggang (*Senna alata L*). Dengan menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis. Metode spektrofotometri uv-vis dipilih karena metode yang sederhana, mudah, dan cepat dibandingkan dengan metode lain, selain itu juga dapat digunakan untuk analisis suatu zat warna maupun tidak berwarna dalam kadar kecil.

Sampel tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah Daun Gelinggang (*Senna alata L*) yang diambil dibagian daunnya. Sampel yang telah dikeringkan terlebih dahulu kemudian diekstraksi. Tujuan dari proses ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam sampel. Metode ekstraksi ini karena merupakan metode yang sederhana, mudah, dan tanpa melalui proses pemanasan, sehingga kemungkinan rusaknya komponen senyawa kimia dapat diminimalisir.

Ekstraksi pada penelitian ini menggunakan metode maserasi. Pelarut yang digunakan pada maserasi adalah etanol 70% yang bersifat polar, sehingga dapat menarik secara maksimal senyawa flavonoid yang bersifat polar juga, proses maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam. Tujuan dilakukan maserasi untuk memaksimalkan proses penyarian sehingga ekstrak yang didapat lebih maksimal. Pada proses maserasi cair penyari akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif, pelarut yang telah menyari zat aktif ada pada kondisi terpekat dan akan didesak keluar karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam sel dan dengan yang diluar sel [23].

Seluruh ekstraksi yang diperoleh selama proses maserasi dilakukan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu maksimal 50°C dan dengan kecepatan 70 rpm. Maksimal suhu yang digunakan adalah 50°C bertujuan agar senyawa flavonoid yang terkandung didalam ekstrak tidak terjadi kerusakan. Tujuan dari pengentalan adalah untuk memisahkan pelarut etanol 70% dengan ekstrak yang diperoleh sehingga didapatkan ekstrak kental [23].

Fraksinasi dari ekstrak Daun Gelinggang (*Senna alata L*) dilakukan dengan prinsip perbedaan tingkat kepolaran dan bobot jenis antar pelarut untuk fraksi yang digunakan. Fraksi pertama dengan pelarut n-heksan dengan berat jenis 0,659 g/ml yang bersifat non polar dan dengan pelarut air dengan berat jenis 0,997 mg/ml yang bersifat polar. N-heksan memiliki bobot jenis lebih kecil dari air [6]. Proses fraksinasi n-heksan: air dilakukan sebanyak tiga kali replikasi kemudian dipekatkan menggunakan hotplate sehingga mendapatkan ekstrak kental sebesar 289,3 mg. Menurut [14]. Fraksinasi tujuannya untuk mendapatkan fraksi (bagian) tertentu dari suatu ekstrak, dimana bagian itulah yang merupakan fraksi aktif, dan perlu dipisahkan dari fraksi lainnya yang kurang aktif. Tujuan lainnya adalah dalam rangka mendapatkan ekstrak yang lebih murni, sehingga perlu dihilangkan senyawa-senyawa lain yang mengotori atau mengganggu. Fraksinasi juga diperlukan ketika akan melakukan isolasi atau pemisahan satu senyawa metabolit sekunder tunggal dengan fraksinasi maka proses pemisahan senyawa menjadi lebih mudah.

Analisis kualitatif uji senyawa flavonoid yang dilakukan dengan  $\text{FeCl}_3$ . Identifikasi senyawa flavonoid ini digunakan untuk mendeteksi senyawa yang mempunyai inti abenzopyron [24]. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau. Uji dilakukan dengan menambahkan 3 tetes  $\text{FeCl}_3$  pada pelarut ekstrak Daun Gelinggang (*Senna alata L*). Penambahan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  yaitu untuk menguji adanya gugus fenol dalam sampel uji positif memberikan warna hijau karna terbentuknya garam kompleks besi dengan fenol [24].

Analisis kuantitatif kadar flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometri Uv-vis. Spektrum serapan ultra violet dan serapan tampak adalah cara tunggal yang bermanfaat sebagai identifikasi struktur senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid terdapat sistem aromatis yang terkonjugasi dan dapat menunjukkan pita serapan kuat pada daerah Uv-Vis. Metode tersebut juga dapat digunakan untuk melakukan uji secara kuantitatif untuk menentukan jumlah flavonoid yang terdapat dalam ekstrak yang dilakukan dengan mengukur nilai absorbansinya. Nilai absorbansi merupakan analisa kuantitatif dilakukan berdasarkan Hukum Lambert-Beer. Absorbansi dengan kadar flavonoid memiliki hubungan yang linear yaitu semakin tinggi absorbansi yang terukur maka kadar flavonoid yang terkandung didalam tanaman juga semakin tinggi [4].

Uji kuantitatif ini menggunakan penentuan *operating time* bertujuan untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil yaitu ketika sampel bereaksi sempurna dan membentuk senyawa kompleks [23]. *Operating time* dilakukan dengan menggunakan larutan baku kuersetin 100 ppm dengan interval waktu 2 menit dan dilakukan selama 60 menit. Hasil penentuan *operating time* diperoleh pada menit ke 40.

Pengukuran panjang gelombang maksimum yaitu bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang saat mencapai serapan maksimum, selain itu juga memiliki daya serapan yang relatif konstan. Penentuan panjang gelombang maksimum untuk kuersetin dengan cara membaca serapan larutan baku kerja kuersetin dengan konsentrasi 100 ppm pada panjang gelombang 370-450 nm [23]. Hasil yang diperoleh dari panjang gelombang yaitu 411 nm. Langkah selanjutnya dilakukan penentuan kurva baku menggunakan larutan baku kuersetin dengan konsentrasi 20 ppm dengan nilai rata-rata absorbansi sebesar 0,127, 40 ppm dengan nilai rata-rata absorbansi sebesar 0,274, 60 ppm nilai rata-rata absorbansi sebesar 0,388, 80 ppm dengan nilai rata-rata absorbansi sebesar 0,494, 100 ppm nilai rata-rata absorbansi sebesar 0,605, dan 120 ppm nilai rata-rata absorbansi sebesar 0,719. Nilai rata-rata absorbansi dari ekstrak daun gelinggang sebesar 0,177, kadar ekuivalen (ppm) sebesar 25,63 dan kadar flavonoid total yaitu 2,563% dimana hasil ekstrak etanol 70% mengandung kadar flavonoid.

Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan panjang gelombang maksimum 411 dan *operating time* selama 40 menit. Konsentrasi kurva baku standar kuersetin menunjukkan bahwa konsentrasi berbanding lurus dengan nilai absorbansi, semakin besar konsentrasi larutan baku standar kuersetin maka semakin tinggi pula nilai absorbansi yang dihasilkan pada pengukuran absorbansi diperoleh persamaan regresi kuersetin  $y = 0,00579x + 0,0286$ . Hasil nilai linearitas ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,998. Nilai ( $r$ ) yang diperoleh mendekati angka 1 menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linear, sehingga dapat dikatakan bahwa absorbansi dan konsentrasi memiliki korelasi yang sangat kuat [23].

Penentuan kadar flavonoid total dalam sampel Daun Gelinggang (*Senna alata L*) yaitu lakukan preparasi sampel Daun Gelinggang (*Senna alata L*) dari masing-masing replikasi dilakukan sebanyak tiga kali, nilai absorbansi replikasi pertama sebesar 0,178, replikasi kedua sebesar 0,178 dan yang ketiga sebesar 0,176 dari tiga replikasi tersebut didapat nilai rata-rata absorbansi sebesar 0,177. Dengan dilakukannya replikasi bertujuan untuk memperoleh data yang lebih akurat.

Menurut Rahmati & Lestari [6] hasil kadar total flavonoid dibandingkan pada fraksi etil asetat, fraksi n-heksan dan ekstrak etanol. Etil asetat bersifat polar sehingga dapat menarik senyawa flavonoid yang bersifat polar maupun non polar. Hal ini disebabkan karena didalam tumbuhan yang terdapat beberapa flavonoid bebas seperti flavon, flavanon dan flavonol yang lebih mudah larut dalam pelarut semi polar. Kadar total flavonoid terendah yaitu fraksi n-heksan yang bersifat non polar. Terdapat beberapa jenis flavonoid yang dapat larut dalam pelarut non polar seperti aglikon polimetoksi atau isoflavon yang gugus gula atau bentuk glikosidanya sudah terlepas sehingga hanya dapat larut dalam pelarut non polar yaitu n-heksan. Dari perbandingan fraksi yang tertinggi kadar total flavonoid yaitu etil asetat sebesar 14,14% sedangkan ekstrak etanol sebesar 2,72%, dan-heksan sebesar 2,45%. Perbandingan hasil kadar flavonoid total daun gelinggang (*Senna alata L*) dengan fraksi n-heksan yaitu lebih tinggi kadar flavonoid total ekstrak daun gelinggang sebesar 2,563% dibandingkan pelarut n-heksan sebesar 2,45%.

Perbandingan menggunakan kuersetin sebagai larutan standar karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol. Kandungan flavonoid total ditentukan berdasarkan reaksi kolorimetri yaitu setelah sampel direaksikan dengan  $AlCl_3$  dalam medium asal. Penambahan  $AlCl_3$  dalam sampel dapat membentuk kompleks antara aluminium klorida dengan kuersetin sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang kearah visible (tampak) dan ditandai dengan larutan menghasilkan warna lebih kuning. Fungsi penambahan asam asetat untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah visible (tampak) [23].

## 5. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun gelinggang (*Senna alata L*) dengan fraksi pelarut n-heksana dan menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis didapat hasil identifikasi uji warna shinoda pada ekstrak daun gelinggang (*Senna alata L*) positif mengandung flavonoid yang berwarna hijau. Penetapan kadar flavonoid total flavonoid dari daun gelinggang (*Senna alata L*) sebesar 2,563%.

## Daftar Pustaka

- [1] A. Nugraha and D. Anwar, "Manfaat Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata L*) Sebagai Antifungi pada *Tinea Pedis*," *Journal Agromed Unila Gema Kesehatan*, p-ISSN, pp. 2088-5083, 2015.
- [2] M. Fajri, N. Marfu'ah, L. O. Artanti, "Aktivitas antifungi daun ketepeng cina (*Cassia Alata L.*) fraksi etanol, N-heksan, dan kloroform terhadap jamur *microsporium canis*," *Pharmasipha: Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy*, vol. 2, no. 1, pp. 28-33, 2018.
- [3] M. Yakubu, O. Adeshina, Oladijhi, M. Akanji, Oloyede, G. Jimoh, Olatinwo and Afolayan, "Abortifacient potential of aqueous Extract Of *Senna Alata* Leaves in Rats," *Journal of Reproduction & Contraception*, vol. 21, no. 3, 2010.
- [4] R. Gusnedi, "Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat," *Pillar of Physics*, vol. 2, pp. 76-83, 2013.
- [5] Prof. Dr. Endang Hanani MS., Apt, *Analisis Fitokimia*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC, 2014.
- [6] A. Rahmati, and T. Lestari, " Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Saliara (*Lantana Camara L.*) dengan Metode Spektrofotometri". Tasikmalaya: Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada Tasikmalaya, 2018.
- [7] Putri, "Perbandingan Efektivitas Terbinafin dengan Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata. L*) terhadap Pertumbuhan Jamur (*Malassezia Furfur*) sebagai Etiologi Pityriasis Versicolor." *Agromedicine Unila*, vol. 5, no. 2, pp. 567-573, 2018.
- [8] D. Intannia, R. Amelia, L. Handayani and , H. B. Santoso, Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol dan Ekstrak n -Heksan Daun Ketepeng Cina (*Cassia Alata . L*) terhadap Waktu Kematian Cacing Pita Ayam (*Raillietina Sp.*) secara In Vitro," *Jurnal Pharmascience*, vol. 2, no. 2, pp. 24-30, 2015.
- [9] M. Lumbessy, J. Abidjulu and J. J. E. Paendong, "Uji Total Flavonoid Pada Beberapa Tanaman Obat Tradisional Di Desa Waitina Kecamatan Mangoli Timur Kabupaten Kepulauan Sula Provinsi Maluku Utara," *Jurnal MIPA*, vol. 2, no. 1, pp. 50, 2013.
- [10] D. Masitoh, "Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata L.*) Terhadap Jumlah Leukosit dan Bobot Limpa Relatif Ayam Broiler Yang Diinfeksi *Salmonella typhimurium* [Skripsi]. Malang. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim," 2019. [Online] Available:

- <http://Etheses.uin-malang.ac.id/13977/1/12620112.pdf>. [Accessed: November 2020].
- [11] Rahmawati, A. Muflihunna, A.T. Kusuma and Hardiyanti, “Analisis Kadar Flavonoid dan Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Daun Ketepeng Cina (*Senna alata* (L.) Roxb) Dengan Metode Spektrofotometri Uv- Visible,” *Jurnal Farmasi As Syifaa*, vol. 7, no. 1, pp. 10-18, 2015.
- [12] G. Agoes, *Teknologi Bahan Alam (Serial Farmasi Industri-2)*. Bandung : Penerbit ITB, 2009.
- [13] A. Damayanti and E. A Fitriana, “Pemungutan Minyak Atsiri Mawar (Rose Oil) dengan Metode Maserasi”, *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*, vol. 1, no. 2, 2012.
- [14] A. Nugroho, *Teknologi Bahan Alam*. Banjarmasin: Lambung Mangkurat University, 2017.
- [15] Hakim, R. Ali, and S. Rina, “Narrative Review : Optimasi Etanol Sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid Dan Fenolik Narrative Review : Optimization of Ethanol as a Solvent for Flavonoids and Phenolic Compounds Abstrak,” *Jurnal Surya Medica (JSM)*, vol. 6, pp. 177–180, 2020.
- [16] N.A. Idris, “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sarang Lebah Dan Madu Hutan Dari Luwu Utara Dengan Metode,” 2017. [Online] Available: [http://repositori.uinalauddin.ac.id/4150/1/NABILA0ALIYAH0IDRIS0%860500113077%29%20PDF\\_opt.pdf](http://repositori.uinalauddin.ac.id/4150/1/NABILA0ALIYAH0IDRIS0%860500113077%29%20PDF_opt.pdf). [Accessed: February 2020].
- [17] Zulviyati, “Uji Aktivitas Antioksidan dan Antihiperlipidemia Ekstrak Daun Kepuh (*Sterculia foetida*) Metode DPPH dan Hambatan Lipase In Vitro Jember Universitas Jember,” 2015. [Online] Available: <http://repository.unej.ac.id/bitstream/handle/123456789/73199/ZULVIYATI.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. [Accessed: December 2021]
- [18] P. O. M. Dirjen, *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Depkes RI, 2014.
- [19] Neldawati, “Analisis nilai absorbansi dalam penentuan kadar flavonoid untuk berbagai jenis daun tanaman obat,” *Pillar of Physics*, vol. 2, no. 1, 2013.
- [20] A. Irawan, “Kalibrasi Spektrofotometer Sebagai Penjaminan Mutu Hasil Pengukuran Dalam Kegiatan Penelitian dan Pengujian,” *Journal Of Laboratory*, vol. 1, no. 2, 2019.
- [21] T. Panji, *Teknik Spektroskopis*. Yogyakarta: Graha Ilmu, 2012.
- [22] I. G. Gandjar, and A. Rohman, *Kimia Farmasi Analis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar, 2013.
- [23] H. Asmorowati, and N. Y. Lindawati, “Penetapan kadar flavonoid total alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan metode spektrofotometri,” *Ilmiah Farmasi*, vol. 15, no. 2, pp. 51–63, 2019.
- [24] A. Aminah, N. Tomayahu, and Z. Abidin, “Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea Americana* Mill.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis,” *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, vol. 4, no. 2, pp. 226–230, 2017.