

**PROFIL KROMATOGRAFI DAN PENENTUAN KADAR FLAVONOID TOTAL
FRAKSI AQUADEST DAUN KALANGKALA (*LITSEA ANGULATA*. BLUM)
MENGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

***CHROMATOGRAPHY PROFILE AND DETERMINATION OF TOTAL
FLAVONOID CONTENT OF AQUADEST FRACTION OF KALANGKALA
LEAVES (*LITSEA ANGULATA*. BLUM) USING UV-VIS
SPECTROPHOTOMETRY***

Putri Rizky Amalia¹, Rohama¹, Mia Audina¹

Email : putririzkyamalia13@gmail.com

ABSTRACT

Kalangkala (*Litsea angulata*) is a typical plant of South Kalimantan which is empirically used to treat ulcers, diarrhea, dyspepsia, diabetes and in research the leaves of kalangkala have antibacterial activity. One of the secondary metabolites that play a role in the pharmacological activity is flavonoid compounds. The type of flavonoid depends on its solubility in the solvent. The purpose of this study was to find out the chromatographic profile of detected flavonoid compounds using the best eluent and total flavonoid content from the aquadest fraction of kalangkala (*Litsea angulata*) leaves. This study used a true experimental method obtained from the Thin Layer Chromatography (TLC) profile of flavonoids with the best eluent then calculated the R_f value and determined the total flavonoid content using UV-Vis Spectrophotometry. The results showed that the best eluent that could separate flavonoid content in the aquadest fraction of kalangkala leaves (*Litsea angulata*) was butanol : acetic acid : aquadest (4:1:5) which produced two spots in visible light, two yellow spots on UV light at 254 nm, and one blue spot UV light at 366 nm and a total flavonoid content of 0,7 mg/QE g fraction.

Keywords : Kalangkala, Chromatography Profile, Flavonoid Content, UV-Vis Spectrophotometry

ABSTRAK

Kalangkala (*Litsea angulata*) merupakan tumbuhan khas Kalimantan Selatan yang secara empiris digunakan untuk mengobati bisul, diare, dyspepsia, diabetes dan secara penelitian daun kalangkala memiliki aktivitas antibakteri. Salah satu metabolit sekunder yang berperan terhadap aktivitas farmakologi tersebut adalah senyawa flavonoid. Jenis flavonoid tergantung dari kelarutannya terhadap pelarut. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui profil kromatografi senyawa flavonoid yang terdeteksi menggunakan eluen terbaik dan kadar senyawa flavonoid total dari fraksi aquadest daun kalangkala (*Litsea angulata*). Metode yang digunakan yaitu *true experimental* yang diperoleh dari profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) flavonoid dengan eluen terbaik kemudian dihitung nilai R_f dan penetapan kadar flavonoid total menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Hasil penelitian menunjukkan eluen terbaik yang dapat memisahkan senyawa flavonoid pada fraksi aquadest daun kalangkala (*Litsea angulata*) adalah butanol : asam asetat : aquadest (4:1:5) yang menghasilkan dua noda pada sinar tampak, dua noda berwarna kuning pada sinar UV 254 nm, dan satu noda berwarna biru pada sinar UV 366 nm serta kadar flavonoid total sebesar 0,7 mg QE/g fraksi.

Kata kunci : Kalangkala, Kadar Flavonoid, Profil Kromatografi, Spektrofotometri UV-Vis.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara dengan tingkat kekayaan biodiversitas tertinggi di dunia kedua setelah Brazil. 40.000 jenis tumbuhan yang ada di dunia sebesar 30.000 jenis dijumpai di Indonesia serta 940 jenis diantaranya diketahui memiliki kegunaan sebagai obat yang telah dipergunakan secara turun-temurun oleh berbagai etnis di Indonesia [1]. Kalangkala (*Litsea angulata*) merupakan tumbuhan yang biasanya buahnya diolah masyarakat Kalimantan Selatan sebagai asinan, secara empiris Kalangkala digunakan untuk mengobati penyakit seperti diare, sakit perut, dyspepsia, gastroenteritis, diabetes, serta sebagai obat bisul, sedangkan menurut penelitian yang dilakukan oleh Ramadhan, Kalangkala memiliki aktivitas antibakteri berkategori sedang [2].

Daun kalangkala diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, tanin, terpenoid, karbohidrat dan kumarin [3]. Flavonoid adalah senyawa bioaktif polifenol dengan berat molekul rendah yang terdapat di berbagai bagian tumbuhan.

Mekanisme senyawa flavonoid sebagai antibakteri ditunjukkan dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga fosfolipid tidak dapat mempertahankan bentuk membran sel dan akan bocor yang mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan bakteri bahkan hingga kematian. Senyawa fitokimia ini bekerja secara terus-menerus untuk menghambat pertumbuhan bakteri [4]. Salah satu cara untuk menentukan kadar flavonoid ialah dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis [5]. Dari uraian diatas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai profil kromatografi dan kadar flavonoid total dari fraksi polar yaitu aquadest yang terkandung dalam daun Kalangkala (*Litsea angulata*) menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan adalah Spektrofotometri UV-Vis (Spectroquant Pharo 300), silica GF254, sinar UV, chamber (Pyrex), *waterbath*, oven (Esco), *hotplate* (Cimarec), corong pisah (Pyrex),

timbangan analitik , toples kaca, cawan penguap, labu ukur (Pyrex), gelas ukur (Herma), pipet volume, pipa kapiler, kuvet.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun kalangkala (*Litsea angulata*), kuersetin, etanol 96%, aquadest, etil asetat, n-heksana, metanol, butanol, $AlCl_3$, asam asetat.

Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Simplisia Daun Kalangkala

Sampel daun Kalangkala (*Litsea angulata*) berwarna hijau tua yang telah dipetik, dicuci menggunakan air mengalir, dipotong kecil-kecil, dan dikeringkan menggunakan oven dengan suhu $45^{\circ}C$, setelah kering kemudian dihaluskan dan didapatkan simplisia untuk proses maserasi.

2. Pembuatan Ekstrak Daun Kalangkala

Serbuk daun Kalangkala (*Litsea angulata*) sebanyak 898,25 gram dimasukkan ke dalam wadah maserasi, tambahkan pelarut etanol 96% sampai simplisia terendam seluruhnya setinggi 2-3 cm. Diamkan selama 3×24 jam

dengan sesekali pengadukan. Saring dan pisahkan residu dengan filtratnya. Dan pekatkan filtrat dengan *waterbath* pada suhu $45^{\circ}C$ sehingga didapatkan ekstrak kental.

3. Pembuatan Fraksi Daun Kalangkala

Ekstrak kental daun Kalangkala (*Litsea angulata*) sebanyak 10 gram dilarutkan dengan n-heksana sebanyak 50 mL dan dimasukkan kedalam corong pisah. Setelahnya ditambahkan aquadest sebanyak 50 mL, kocok hingga homogen dan terbentuk 2 lapisan. Lapisan aquadest yang sudah dipisahkan dengan lapisan n-heksana dilarutkan dengan etil asetat sebanyak 50 mL, kocok hingga homogen dan terbentuk 2 lapisan, pisahkan lapisan aquadest dan lapisan etil asetat, kemudian pekatkan lapisan aquadest sehingga didapatkan fraksi aquadest [6].

4. Uji Warna dengan Pereaksi Wilstater

Siapkan sebanyak 1 mL fraksi aquadest daun Kalangkala (*Litsea angulata*),

tambahkan HCl pekat beberapa tetes dan sedikit serbuk Mg. sampel positif mengandung flavonoid bila larutan mengalami perubahan warna menjadi merah-orange [5].

5. Uji dengan Kromatografi Lapis Tipis

Identifikasi flavonoid dengan KLT dilakukan menggunakan fase diam berupa plat silika gel GF254. Siapkan fraksi aquadest daun Kalangkala (*Litsea angulata*) dan kuersetin standar, larutkan kuersetin dengan aquadest, kemudian totolkan pada plat silika gel dengan jarak 1-2 cm dari tepi bawah plat, keringkan, dan diamkan plat didalam chamber yang sudah dijenuhkan dengan fase gerak. Setelah fase gerak merambat hingga batas jarak rambat, plat diambil dari chamber dan dikeringkan. Kemudian perhatikan bercak di bawah sinar UV 254 dan 366 nm. Setelahnya plat diuapkan dengan amonia, jika plat menunjukkan warna kuning di bawah sinar UV 254 dan warna biru di bawah sinar UV 366

maka positif mengandung flavonoid [5].

6. Pembuatan Larutan Baku Kuersetin

Larutkan 25 mg kuersetin dengan etanol 96% di dalam labu ukur 25 mL untuk 1000 ppm, pipet sebanyak 1 mL dan tambahkan etanol 96% sebanyak 10 mL di dalam labu ukur untuk 100 ppm [5].

7. Pembuatan Larutan Blangko

Masukkan AlCl_3 10% sebanyak 1 mL dan asam asetat 5% sebanyak 8 mL di labu ukur, tambahkan etanol 96% ad 10 mL [5].

8. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Ambil 1 mL larutan standar kuersetin 100 ppm, tambahkan AlCl_3 10% sebanyak 1 mL dan asam asetat 5% sebanyak 8 mL. Lakukan pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 370-450 nm. Hasil panjang gelombang maksimum tersebut digunakan untuk mengukur absorbansi sampel [5].

9. Penentuan *Operating Time*

Ambil 1 mL larutan standar kuersetin 100 ppm,

tambahkan AlCl_3 10% sebanyak 1 mL dan asam asetat 5% sebanyak 8 mL. Ukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dengan dengan selang waktu 2 menit sampai diperoleh absorbansi yang stabil. Amati kurva hubungan antara absorbansi dan waktu dan tentukan *operating time* [5].

10. Pembuatan Kurva Baku Kuersetin

Pipet sebanyak 0,2 mL, 0,4 mL, 0,6 mL, 0,8 mL, 1 mL, 1,2 mL dari larutan baku kuersetin 100 ppm, tambahkan etanol 96% sampai batas tanda labu ukur 10 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10 dan 12 ppm. Tiap konsentrasi seri kuersetin standar dipipet 1 mL, kemudian ditambahkan AlCl_3 10% sebanyak 1 mL dan asam asetat 5% sebanyak 8 mL, diamkan selama *operating time*. Absorbansi ditentukan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh [5].

11. Penentuan Kadar Flavonoid Total Fraksi Aquadest Daun Kalangkala

Siapkan 25 mg fraksi aquadest daun kalangkala, larutkan dengan etanol 96% sampai 25 mg. Pipet 1 mL dan tambahkan larutan AlCl_3 10% sebanyak 1 mL dan asam asetat 5% sebanyak 8 mL. Diamkan sampel selama *operating time*. Tentukan absorbansi pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali [5].

12. Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dibagi menjadi dua, pada data kualitatif yang didapatkan dari profil kromatografi flavonoid dengan penguapan menggunakan amonia yang selanjutnya dihitung nilai R_f nya dengan rumus [7] :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solut}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

Sedangkan untuk data kuantitatif berupa penetapan kadar flavonoid total yang kemudian dimasukkan data absorbansi sampel yang diperoleh dari Spektrofotometri UV-Vis dengan persamaan

kurva baku kuersetin dengan rumus $y = bx + a$, dilanjutkan perhitungan kadar flavonoid total dengan rumus [8] :

$$\text{Kadar flavonoid total} = \frac{CxV}{M}$$

Dimana :

C : Konsentrasi sampel (ppm)

V : Volume sampel (L)

M : Massa sampel (gr)

HASIL PENELITIAN


1. Hasil Ekstraksi Daun Kalangkala (*Litsea angulata*)

Nama Simplisia	Bobot Simplisia (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen Ekstrak (%)
Daun Kalangkala (<i>Litsea angulata</i>)	898,25	55,97	6,23

2. Hasil Fraksinasi Daun Kalangkala (*Litsea angulata*)

Nama simplisia	Pelarut fraksinasi	Bobot fraksi (g)	Rendemen fraksi (%)
Daun Kalangkala (<i>Litsea angulata</i>)	Aquadest	3,09	30,9

3. Uji Warna dengan Perekasi Wilstater

Senyawa	Pereaksi	Tanda Positif	Hasil Pengamatan	Kesimpulan
Flavonoid	HCl pekat dan serbuk Mg	Warna merah-oranye		Positif

4. Uji Kromatografi Lapis Tipis

Eluen	Keterangan	Nilai Rf		
		Sinar Tampak	UV 254	UV 366
Butanol : asam	Sebelum direaksikan	0,66	0,66	-
		0,86	0,86	0,86
asetat :		0,66	0,66	-

aquadest (4:1:5)	Sesudah direaksikan	0,86	0,86	0,86
Metanol : aquadest (7:3)	Sebelum direaksikan	0,78	0,78	0,78
	Sesudah direaksikan	0,78	0,78	0,78
Etil asetat : metanol : aquadest (4:1:5)	Sebelum direaksikan	-	-	-
	Sesudah direaksikan	-	-	-

5. Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Pada penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin dilakukan *running* sehingga didapatkan hasil sebesar 413 nm.

6. Operating Time

Waktu (menit)	Absorbansi	Waktu (menit)	Absorbansi
2	0,515	32	0,510
4	0,514	34	0,509
6	0,514	36	0,509
8	0,513	38	0,509
10	0,513	40	0,509
12	0,512	42	0,509
14	0,512	44	0,509
16	0,511	46	0,509
18	0,511	48	0,509
20	0,511	50	0,508
22	0,511	52	0,508
24	0,511	54	0,508
26	0,510	56	0,508
28	0,510	58	0,508
30	0,510	60	0,508

7. Kurva Baku

Konsentrasi (ppm)	2	4	6	8	10	12
Absorbansi	0,018	0,029	0,037	0,042	0,045	0,049
	0,019	0,029	0,037	0,042	0,046	0,049
	0,019	0,030	0,038	0,043	0,046	0,049
Rata-rata	0,018	0,029	0,037	0,042	0,045	0,049

8. Penentuan Nilai Absorbansi

Sampel	Absorbansi	Rata-rata
Replikasi 1	0,018	0,018
Replikasi 2	0,018	
Replikasi 3	0,018	

9. Penentuan Kadar Flavonoid Fraksi Aquadest Daun Kalangkala (*Litsea angulata*)

Berat ekstrak (gram)	Absorbansi (rata-rata)	Konsentrasi (ppm)	Kadar flavonoid total (mg QE/g)
0,025 gram	0,018	0,7	0,7

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan cara membuat daun Kalangkala menjadi simplisia. Pembuatan simplisia daun Kalangkala dimulai dengan proses sortasi basah, pencucian, pemotongan, pengeringan, sortasi kering, dan penyerbukan sehingga diperoleh 898,25 gram simplisia kering. Simplisia daun Kalangkala kemudian diekstraksi untuk memisahkan zat aktif dari simplisia menggunakan metode maserasi, pemilihan metode tersebut karena metode maserasi merupakan metode sederhana yang dilakukan hanya dengan merendam simplisia dalam satu atau campuran pelarut [9]. Pemilihan pelarut etanol 96% didasari beberapa keunggulan seperti tidak toksik, mempunyai daya absorpsi yang baik, dapat

menghambat pertumbuhan mikroorganisme seperti jamur atau bakteri, dan dapat melarutkan berbagai zat aktif dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda [10]. Hasil ekstraksi yang didapatkan kemudian dilakukan pengentalan menggunakan *waterbath* dengan suhu 45°C sehingga didapatkan ekstrak kental daun Kalangkala sebanyak 55,97 gram.

Ekstrak kental daun Kalangkala selanjutnya di fraksinasi dengan cara di timbang sebanyak 10 gram yang dilarutkan dengan n-heksana sebanyak 50 mL dan dimasukkan kedalam corong pisah. Setelahnya ditambahkan aquadest sebanyak 50 mL, kocok hingga homogen dan terbentuk 2 lapisan. Lapisan aquadest yang sudah dipisahkan dengan lapisan n-heksana dilarutkan dengan etil asetat sebanyak 50 mL, kocok hingga homogen dan terbentuk 2 lapisan, pisahkan lapisan aquadest dan lapisan etil asetat, kemudian pekatkan lapisan aquadest sehingga didapatkan fraksi aquadest sebanyak 3,09 gram. Tujuan dari fraksinasi adalah untuk memisahkan senyawa berdasarkan perbedaan tingkat kepolaran dalam dua pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda [6].

Setelah didapatkan fraksi aquadest daun Kalangkala yang sudah kental, selanjutnya dilakukan analisis kualitatif uji senyawa flavonoid dengan menambahkan HCl pekat dan serbuk Mg yang menunjukkan hasil positif ditandai dengan perubahan warna merah-orange. Penambahan HCl bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa yang mengandung inti benzopiron, sehingga setelah ditambahkan HCl pekat akan menghasilkan garam benzopirilium juga dikenal sebagai garam flavilium. Reduksi dengan Mg dan HCl menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna orange [5].

Uji KLT pemisahan senyawa flavonoid pada fraksi aquadest daun Kalangkala menggunakan 3 variasi eluen berupa butanol : asam asetat : aquadest (4:1:5) yang menghasilkan dua noda pada sinar tampak, dua noda berwarna kuning pada sinar UV 254 nm, dan satu noda berwarna biru pada sinar UV 366 nm dengan Rf masing-masing noda 0,66 dan 0,86, untuk fase gerak metanol : aquadest (7:3) menghasilkan satu noda pada sinar tampak, satu noda berwarna kuning pada sinar UV 254 nm, dan satu noda berwarna biru pada sinar UV

366 nm dengan Rf masing-masing noda 0,78, dan untuk fase gerak etil asetat : metanol : aquadest (4:1:5) tidak menghasilkan noda pada sinar tampak, sinar UV 254 nm, dan sinar UV 366 nm. Didapatkan fase gerak terbaik yaitu butanol : asam asetat : aquadest karena dari hasil komposisinya fase gerak butanol : asam asetat : aquadest bersifat sangat polar sehingga bisa memisahkan senyawa flavonoid yang bersifat sangat polar.

Terbentuknya noda kuning pekat pada sinar UV 254 nm setelah direaksikan dengan amonia menandakan adanya senyawa flavonoid yang terkandung pada fraksi aquadest daun Kalangkala. Hal tersebut terjadi karena flavonoid membentuk quinoid jika direaksikan dengan amonia. Warna kuning terjadi karena adanya pembentukan quinoid pada β -ring yang mengandung ikatan terkonjugasi yang lebih panjang [11]. Selanjutnya noda biru pada sinar UV 366 nm setelah diuapkan dengan amonia terjadi perubahan warna atau tanpa perubahan warna maka jenis flavonoid yang mungkin terlibat adalah isoflavon tidak mengandung 5-OH bebas [12].

Setelah didapatkan eluen atau fase gerak terbaik menggunakan KLT, kemudian dilanjutkan dengan uji analisis kuantitatif kadar flavonoid total yang terkandung dalam fraksi aquadest daun Kalangkala menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Kadar 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) [5].

Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin dilakukan dengan cara membaca serapan larutan baku kuersetin dengan konsentrasi 100 ppm pada panjang gelombang 370-450 nm [5], hasil panjang gelombang maksimum yang didapatkan yaitu 413 nm. Selanjutnya dilakukan penentuan *operating time* yang dilakukan dengan menggunakan larutan baku

kuersetin 100 ppm dengan interval waktu 2 menit selama 60 menit, sehingga diperoleh *operating time* pada menit ke 34. Konsentrasi kurva baku kuersetin menunjukkan bahwa konsentrasi berbanding lurus dengan nilai absorbansi, semakin besar konsentrasi larutan baku kuersetin maka semakin tinggi juga nilai absorbansi yang diperoleh pada pengukuran absorbansi sehingga didapatkan persamaan regresi kuersetin $y = 0,003x + 0,0159$.

Penentuan kadar flavonoid total dalam fraksi aquadest daun Kalangkala dilakukan replikasi sebanyak tiga kali, sehingga diperoleh rata-rata absorbansi sebesar 0,018. Tujuan dari replikasi adalah untuk memperoleh data yang lebih akurat. Penggunaan pelarut aquadest yang bersifat polar akan menarik senyawa flavonoid yang bersifat polar juga seperti glikosida flavonoid, aglikon, dan antosianidin. Perbandingan menggunakan kuersetin sebagai larutan standar dikarenakan kuersetin merupakan senyawa yang paling luas penyebarannya yang terdapat pada tumbuhan [13]. Kadar flavonoid total fraksi aquadest daun Kalangkala sebesar 0,7 mg QE/g fraksi menunjukkan hasil yang lebih

tinggi dibandingkan dengan kadar flavonoid total fraksi aquadest daun Srigading (*Nyctanthes arbortristis* L.) sebesar 0,6 mg QE/g [14].

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa fraksi aquadest daun Kalangkala (*Litsea angulata*) mengandung senyawa flavonoid yang ditunjukkan dengan eluen terbaik berupa butanol : asam asetat : aquadest (4:1:5) serta kadar flavonoid total sebesar 0,07 mg QE/g.

SARAN

Diharapkan peneliti selanjutnya dapat melanjutkan pemurnian senyawa flavonoid dari fraksi aquadest daun Kalangkala.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] H. A. Simanjuntak, "Studi Pemanfaatan Tumbuhan Obat Antidiare oleh Masyarakat di Etnis Sumatera Utara," *Herb. Med. J.*, vol. 4, no. 1, 2021.
- [2] H. Ramadhan, M. Arsyad, and P. I. Sayakti, "Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70 % Biji Kalangkala (*Litsea angulata* Bl.) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat *Propionibacterium acnes*," *Borneo J. Phamascientech*, vol. 04, no. 01, pp. 60–70, 2020, [Online]. Available: <http://jurnalstikesborneolestari.ac.id/index.php/borneo/article/view/283>.
- [3] I. Wulandari, H. Kuspradini, and I. W. Kusuma, "Analisis metabolit sekunder lima jenis tumbuhan berkayu dari genus *Litsea*," *J. AGRIFOR*, vol. XVII, no. 2, pp. 275–280, 2018.
- [4] D. M. Villiya and S. Maimunah, "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jelatang (*Urtica Dioica* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*," *J. Kim. Saintek dan Pendidik.*, vol. 5, no. 1, pp. 23–30, 2021.
- [5] H. Asmorowati and N. Y. Lindawati, "Penetapan kadar flavonoid total alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan metode spektrofotometri," *Ilm. Farm.*, vol. 15, no. 2, pp. 51–63, 2019.
- [6] D. N. Pratiwi, N. Utami, and D. Pratimasari, "Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Ekstrak, Fraksi Polar, Semi Polar serta Non Polar Bunga Pepaya Jantan (*Carica papaya* L.) Identification Flavonoids on Extract, Fraction Polar,

- Semi Polar and Non Polar of Male Papaya Flower (*Carica papaya* L .),” *J. Farm.*, vol. 2, no. 1, 2021.
- [7] Dwiwarso Rubiyanto, *Metode Kromatografi: Prinsip Dasar, Praktikum dan Pendekatan Pembelajaran Kromatografi*. Yogyakarta: Deepublish, 2017.
- [8] A. S. H. Assagaf, Nursamsiar, and S. A. Gani, “Total flavonoids Contain of Leaves of Sapodilla (*Manilkara zapota* L .),” *J. Pharm. Med. Sci.*, vol. 4, no. 2, pp. 51–54, 2019.
- [9] S. Islamiah, S. Rezeki, and W. D. Ivontianti, “Studi Pengaruh Tingkat Kematangan Buah Kelapa Sawit Terhadap Kandungan Asam Lemak Melalui Metode Maserasi,” *Rjnas*, vol. 1, no. 1, pp. 40–49, 2021.
- [10] N. Nurhayat, Y. Yuliar, and M. P. Marpaung, “Analisis Efek Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus*,” *J. Kesehat. Poltekkes Kemenkes Ri Pangkalpinang*, vol. 8, no. 1, p. 17, 2020, doi: 10.32922/jkp.v8i1.115.
- [11] Warsi and A. R. Sholichah, “Phytochemical screening and antioxidant activity of ethanolic extract and ethyl acetate fraction from basil leaf (*Ocimum basilicum* L.) by DPPH radical scavenging method,” *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.*, vol. 259, no. 1, 2017, doi: 10.1088/1757-899X/259/1/012008.
- [12] P. E. S. K. Yuda, E. Cahyaningsih, and N. P. Y. Winariyanthi, “SKRINING FITOKIMIA DAN ANALISIS KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS EKSTRAK TANAMAN PATIKAN KEBO (*Euphorbia hirta* L.),” *J. Ilm. Medicam.*, vol. 3, no. 2, pp. 61–70, 2017, doi: 10.36733/medicamento.v3i2.891.
- [13] D. Susiloningrum and D. Indrawati, “PENAPISAN FITOKIMIA DAN ANALISIS KADAR FLAVONOID TOTAL RIMPANG TEMU MANGGA (*Curcuma mangga* Valetton & Zijp.) DENGAN PERBEDAAN POLARITAS PELARUT,” *J. Keperawatan dan Kesehat. Masy. Cendekia Utama*, vol. 9, no. 2, p. 126, 2020, doi: 10.31596/jcu.v9i2.593.
- [14] M. Kurniawan, M. K. Yuliatwati,

and E. R. Sadiyah, "Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Srigading (*Nyctanthes arbor-tristis* L .) The Effect of Different Methods of Extraction on Total Flavonoid Content of Srigading : Magnoliophyta : Magnoliops," *Pros. Farm. Spes. Unisba*, vol. 2, no. 2, pp. 503–508, 2016.