

Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 96% Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam) dengan Spektrofotometer UV-Vis

Lusi Indriani¹, Dewi Gulya Hari¹, Arabella Natasya¹, Nurdina Putri^{1*}

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Riau

*Email: nurdinaputri@umri.ac.id

ABSTRACT

Gaharu leaves (*Aquilaria malaccensis* Lam) are a type of plant commonly used as a raw material for pharmaceuticals, cosmetics, and perfumes due to its secondary metabolic compounds such as flavonoids, alkaloids, terpenoids, steroids, and quinones. This study aims to determine the total flavonoid content of 96% ethanol extract of gaharu leaves using UV-Vis spectrophotometry. Gaharu leaves were extracted using the Microwave-Assisted Extraction (MAE) method with 96% ethanol as the solvent. The resulting extract was then qualitatively tested and the flavonoid content was measured using UV-Vis spectrophotometry with quercetin as the standard. The results of the determination of the total flavonoid content of the 96% ethanol extract of gaharu leaves were $2.539 \pm 0.005\%$ equivalent to quercetin.

Keywords: Gaharu leaves, Microwave Assisted Extraction, Flavonoid, UV-Vis spectrophotometry.

Article Information

Received: Dec, 1, 2024

Revised: Dec, 30, 2024

Available online: Dec, 31, 2024

Keywords :

Gaharu leaves, Microwave Assisted Extraction, Flavonoid, UV-Vis spectrophotometry.

Correspondence E-mail:

nurdinaputri@umri.ac.id



INTRODUCTION

Tanaman gaharu adalah jenis pohon yang dikenal sebagai tanaman penghasil gaharu dan tergolong dalam kelompok Hasil Hutan Bukan Kayu (HHBK) yang memiliki banyak kegunaan seperti sebagai bahan baku untuk obat-obatan, kosmetik, dan parfum sehingga termasuk komoditi komersial yang bernilai ekonomis tinggi [1]. *Aquilaria malaccensis* Lam merupakan jenis yang paling banyak dimanfaatkan.

Di Indonesia sendiri, memiliki pohon penghasil gaharu yang sangat beragam dari berbagai macam genus dan memiliki karakteristik yang khas pada masing-masing daerah yang berbeda-beda [2]. *Aquilaria* spp mengandung metabolit sekunder antara lain seperti Alkaloid, Tanin, Fenol, Terpenoid, Flavonoid dan Quinon. *Aquilaria* spp juga memiliki efek yang menguntungkan bagi kesehatan berupa aktivitas analgesik, antipiretik, antioksidan, antiinflamasi, antihiperglikemia, dan antimikroba [3]. Pada ekstrak daun gaharu *Aquilaria malaccensis* Lam mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, dan saponin [4].

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar di alam. Banyaknya senyawa flavonoid ini tergantung dari jenis tingkat hidroksilasi, alkoksilasi dan glikosilasi pada strukturnya. Lebih dari 2000 flavonoid yang berasal dari tumbuhan telah diidentifikasi, diantaranya seperti senyawa antosianin, flavonol, dan flavon [5]. Flavonoid termasuk ke dalam kelas metabolit sekunder tumbuhan. Flavonoid memiliki struktur polifenolik dan banyak ditemukan pada buah-buahan, sayur, dan minuman tertentu. Flavonoid sendiri memiliki beragam keuntungan efek biokimia dan antioksidan yang terkait dengan berbagai penyakit seperti kanker, penyakit Alzheimer (AD), aterosklerosis, dan lain-lain [6].

Perolehan senyawa-senyawa metabolit sekunder perlu dilakukan proses pemisahan kimia, salah satunya melalui metode ekstraksi. Ekstraksi dapat dilakukan dengan cara maserasi atau perlakuan dingin atau dengan cara panas seperti dengan Microwave Assisted Extraction (MAE). Keuntungan dari metode maserasi adalah alat yang dibutuhkan sederhana, membutuhkan biaya yang murah tetapi juga membutuhkan waktu yang sedikit lama [7].

Analisis kuantitatif flavonoid total dapat dilakukan dengan menggunakan metode kolorimetri. Metode kolorimetri digunakan untuk penetapan kadar Flavonoid yaitu dengan menggunakan pereaksi $AlCl_3$. Karena terjadi kompleks tatanan asam antara gugus hidroksi dan keton yang bertetangga dengan pereaksi $AlCl_3$ dan membentuk kompleks tidak tatanan asam dengan gugus ortohidroksi pada flavonoid. Oleh karena itu, pereaksi $AlCl_3$ digunakan untuk mendeteksi kedua gugus tersebut [8]. Prinsip penetapan kadar flavonoid dengan metode kolorimetri $AlCl_3$ adalah terbentuknya kompleks antara $AlCl_3$ dengan gugus keton pada atom C-4 dan juga dengan gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-4 yang bertetangga dari flavon dan flavonol [9]. Kelebihan dari instrumen Spektrofotometer UV-Vis sendiri yaitu dapat digunakan untuk menganalisis banyak zat organik dan anorganik, selektif, mempunyai ketelitian yang tinggi dengan kesalahan

relatif sebesar 1% hingga 3%, analisis dapat dilakukan dengan cepat dan tepat, serta dapat digunakan untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil [10].

MATERIAL AND METHODS

Alat dan Bahan

alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain Timbangan analitik, botol gelap, botol vial, toples kaca, batang pengaduk, penjepit buaya, Tabung reaksi, Rak tabung reaksi, Ayakan mesh no 60, Kaca arloji, Blender, Beaker gelas, gelas ukur, Spatel, Rotary Evaporator, Labu ukur, Pipet volume, Pipet tetes, Vortex, Blue Tip, Termometer, Oven, Microwave R-725DA-BK, Waterbath, Desikator, Krus tang, Krus porselen, Furnance, Mikropipet, Spektrofotometri Uv-vis.

Bahan yang digunakan antara lain adalah bagian daun dari tanaman gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam) yang diperoleh dari desa Mayang pongkai, Kec. Kampar kiri tengah, Kab. Kampar. Kemudian etanol 96%, Etanol Pro analisa, Aluminium Foil, $AlCl_3$, Kalium Asetat, Kuertesin, Kertas saring, Kain flannel, Aquadest, NaoH 10%, Asam Klorida (HCL), dan Serbuk Magnesium.

Pembuatan ekstrak Daun Gaharu

Ekstrak dengan microwave di lakukan secara triplo. Sebanyak 50 gram serbuk simplisia dimasukan kedalam erlemeyer dan ditambahkan 500 ml pelarut etanol 96%. Pada pengulangan pertama di berikan pelarut sebanyak 200 ml, lalu di masukan kedalam microwave R-725DA-BK dengan daya 900 watt selama 1 menit, lalu kemudian di keluarkan dan diam kan selama 2 menit di ukur suhunya menggunakan thermometer dengan suhu kurang dari 80°C. Kemudian pengulangan kedua dan pengulangan ketiga di tambahkan dengan pelarut 96% sebanyak 150 ml dimasukan kembali kedalam microwave selama 1 menit dan di keluarkan lalu di di amkan selama 2 menit. setelah itu pekatkan dengan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 50°C hingga memperoleh ekstrak yang kental.

Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak

Uji Fitokimia dilakukan pada Ekstrak etanol daun Gaharu meliputi uji Flavonoid, Alkaloid, Saponin, Tanin, Alkoloid, Polifenol, Steroid. Uji kadar air dilakukan dengan metode gravimetri menggunakan panas oven di suhu 105°C. Kadar abu ekstrak diukur menggunakan tanur pada suhu 600°C

Analisa Kadar Flavonoid

Pembuatan larutan induk (Kuersetin 100 ppm)

Pembuatan larutan induk dilakukan dengan menimbang kuersetin sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan dengan etanol PA dalam labu ukur 100 mL. Sehingga diperoleh larutan kuersetin 100 ppm. Pembuatan larutan seri standar kuersetin Pembuatan larutan standar dengan cara larutan induk dipipet sebanyak 0,4;0,6;0,8,1,0 dan 1,2 mL masing-



masing di masukkan ke dalam labu ukur 10 mL menggunakan mikropipet. Volume nya dicukupkan dengan etanol PA sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 4, 6, 8,10 dan 12 ppm.

Pembuatan Larutan Blanko

Larutan blanko dalam penelitian ini menggunakan etanol PA sebanyak 3 mL, kalium asetat 0,2 mL dan aluminium klorida 0,2 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL.

Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum (λ Maks)

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara larutan standar 4, 6, 8,10 dan 12 ppm dipipet sebanyak 0,4;0,6;0,8,1,0 dan 1,2 mL ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian Etanol PA ditambahkan sebanyak 3 mL, aluminium klorida 10% sebanyak 0,2 mL, kalium asetat 1 M sebanyak 0,2 mL dikocok sampai homogen. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang 350-500 nm.

Pembuatan Kurva Kalibrasi

Panjang gelombang maksimum diperoleh kemudian dilakukan pembuatan kurva kalibrasi dengan cara larutan standar 4, 6, 8,10 dan 12 ppm dipipet sebanyak 0,4;0,6;0,8,1,0 dan 1,2 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan 3 mL etanol PA, 0,1 mL aluminium klorida 10% sebanyak 0,2 mL, dan kalium asetat 1 M 0,2 mL , ad etanol PA sampai tanda batas , lalu masing masing larutan standar 4, 6, 8,10 dan 12 ppm di pipet menggunakan pipet volume masing masing 5 ml dimasukan ke dalam tabung reaksi, dikocok sampai homogen dengan menggunakan vortex. Lalu ditutup dengan menggunakan aluminium foil, Larutan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit kemudian serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

Pembuatan Larutan Ekstrak

Pembuatan larutan sampel ekstrak daun gaharu ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan dengan 5 mL etanol PA dalam gelas kimia 100 mL. Larutan diaduk menggunakan batang pengaduk, setelah itu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Gelas kimia dibilas dengan etanol PA kemudian, dimasukkan ke dalam labu ukur hingga tanda batas, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm. Setelah diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 1000 ppm, dilakukan pengenceran dengan cara dipipet 1 mL larutan sampel 1000 ppm kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan dengan etanol PA sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 100 ppm, lalu dipipet sebanyak 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan 3 mL etanol PA 0,2 mL aluminium klorida 10%, 0,2 mL kalium asetat 1M dan ad etanol PA sampai tanda batas ,kemudian kocok sampai homogen. Larutan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit Serapan diukur dengan

spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Kemudian dilakukan perhitungan kadar flavonoid menggunakan rumus metode (Chang, 2002)

RESULT AND DISCUSSION

Hasil Ekstraksi dan Penentuan Karakteristik Daun Gaharu

Hasil dari Rendemen yang di dapatkan pada simplisia daun gaharu (*Aquilaria malaccensis*) ini sebesar 38,3 % dan hasil dari rendemen Ekstrak kental daun gaharu sebesar 40,5 % ditunjukkan pada Tabel 1. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian [12]. Hasil kadar air pada simplisia gaharu (*Aquilaria malaccensis Lam*) sebesar 10,5% ditunjukkan pada Tabel 2. Menurut penelitian [13]. Kadar air pada daun gaharu jenis (*Aquilaria malaccensis*) ini lebih tinggi di banding dengan daun gaharu jenis (*Gyrinops versteegii*) sebesar 9,79 [14] dan relative sama dengan daun gaharu jenis (*Wikstroemia tenuiramis* Miq) sebesar 4,95% [15]. Sedangkan hasil kadar air pada Ekstrak daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis Lam*) 10,25%. Kadar air pada Ekstrak daun Gaharu memenuhi persyaratan yakni kadar air pada Ekstrak kental tidak lebih 22,2% [16].

Tabel 1. Hasil Rendemen Simplisia dan Ekstrak Daun Gaharu

Sampel	Berat (g)	Rendemen
Simplisia	Berat Basah = 6000 gram Berat Kering = 2300 gram	38,3%
Ekstrak	Berat Simplisia = 500 gram Berat Ekstrak = 92,37 gram	18,49%

Pengukuran kadar abu pada Ekstrak simplisia daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis Lam*) memberikan hasil sebesar 5% ditunjukkan pada Tabel 2. Hasil kadar abu ini tidak jauh berbeda pada penelitian Batubara (2021) dan Thitikornpong (2017). Menurut [18] untuk kadar abu pada simplisia pada umumnya berada pada 2% hingga 14%, sedangkan kadar abu memenuhi syarat yaitu tidak lebih dari 3,9% sampai 17,4%.

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Karakteristik Simplisia dan Ekstrak

Parameter Mutu	Simplisia (%)	Ekstrak (%)	Persyaratan
Kadar Air	10,5	10,25	<10
Kadar Abu	5	4,5	<10



Hasil Skrining Fitokimia Simplisia dan Ekstrak Daun Pucuk Merah

Hasil Skrining Fitokimia dari penelitian yang dilakukan diketahui bahwa ekstrak etanol daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam) Pada uji wilstater dan uji Bate-Smith Uji skrining Fitokimia daun gaharu pada simplisia, ekstrak microwave negatif mengandung senyawa Flavonoid dikarenakan Komponen Bioaktif seperti senyawa pada flavonoid dapat rusak pada suhu diatas 50°C dan kurang dari 80°C, karena jika suhu lebih dari 80°C dapat menyebabkan rusaknya senyawa senyawa yang terkandung didalamnya. karena dapat mengalami perubahan pada struktur serta menghasilkan ekstrak yang rendah. Maka dari itu pemilihan metode ekstraksi sangat penting dilakukan agar hasil ekstraksi akan mencerminkan tingkat keberhasilan metode dan menghindari kehilangan senyawa tersebut [19].

Senyawa saponin pada uji Skrining fitokimia daun gaharu pada simplisia, sedangkan ekstrak microwave daun gaharu negatif mengandung senyawa saponin, itu dikarenakan menurut penelitian yang dilakukan oleh Puspitasari dan Prayogo (2016) waktu perebusan sangat berpengaruh terhadap senyawa metabolit sekunder yang ikut tersari, memiliki senyawa yang titik didihnya rendah akan mengalami kerusakan jika dipanaskan dengan suhu yang cukup tinggi.

Senyawa Tanin pada uji skrining fitokimia pada simplisia ekstrak microwave daun gaharu positif mengandung senyawa tanin. Pereaksi mayer alkaloid pada uji skrining fitokimia pada simplisia, dan ekstrak microwave daun gaharu negatif mengandung senyawa alkaloid, berdasarkan beberapa sumber mengatakan pada uji pereaksi mayer dikatakan bahwa alkaloid memiliki sifat yang tidak tahan akan pemanasan. Kemudian pada uji pereaksi dragendrof pada simplisia, dan juga ekstrak microwave daun gaharu positif mengandung senyawa alkaloid, sedangkan pada uji pereaksi bouchardat pada simplisia, microwave daun gaharu positif mengandung senyawa alkaloid.

Senyawa Polifenol merupakan salah satu metabolit sekunder yang paling banyak ditemui pada tanaman. Polifenol sendiri memiliki potensi untuk dikembangkan karena memiliki berbagai manfaat seperti antioksidasi, anti-tumor dan anti-inflamasi. Senyawa Polifenol pada uji skrining simplisia, ekstrak maserasi dan ekstrak microwave daun gaharu positif mengandung senyawa polifenol.

Senyawa steroid sendiri merupakan senyawa organik bahan alam yang dihasilkan oleh organisme melalui metabolit sekunder, senyawa steroid ini banyak ditemukan pada jaringan tumbuhan dan hewan. Senyawa steroid pada uji skrining simplisia, ekstrak maserasi dan juga ekstrak microwave daun gaharu positif mengandung senyawa steroid.



Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Simplisia dan Ekstrak

Golongan Senyawa	Pereaksi	Simplisia	Ekstrak
Flavonoid	Wilstater	+	-
	Bate-Smith	+	-
	NaoH	+	+
Saponin	Aquadest panas + HCl 2N	+	-
Tanin	FeCl ₃ 10%	+	+
Alkaloid	Mayer	-	-
	Dragendrof	+	+
	Bouchardat	+	+
Polifenol	FeCl ₃ 10%	+	+
Steroid	Lieberman-Bouchardat	+	+

Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol 96% Daun Gaharu (Aquilaria malaccensis Lam) (Aquilaria malaccensis Lam)

Penetapan kadar flavonoid ekstrak etanol daun gaharu dilakukan dengan kolorimetri dengan aluminium klorida. Analisis dilakukan dengan pembuatan larutan induk kuersetin, larutan standar, penentuan panjang gelombang, penentuan absorbansi panjang kadar senyawa flavonoid dan kalibrasi hasil pengukuran dengan standar yang sudah dibuat. Kuersetin digunakan sebagai larutan induk karena kuersetin tersebut dapat membentuk kompleks antara AlCl₃ dengan gugusan keto pada atom C-4 dan juga dengan gugusan hidroksil pada atom C3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol (Chang, 2002).

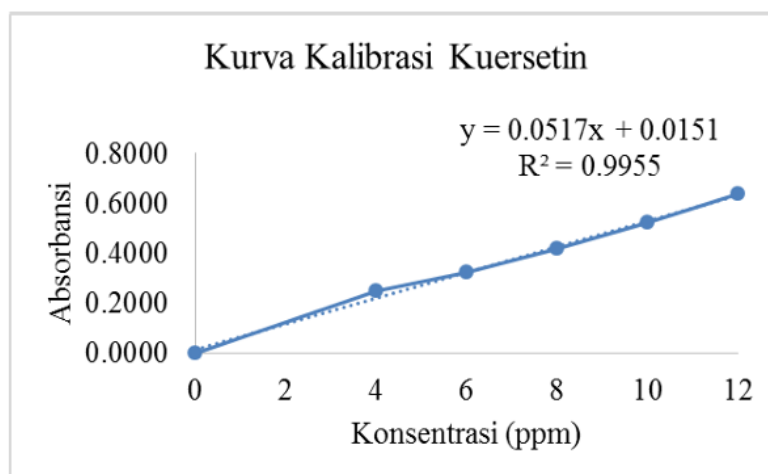
Setelah dibuat larutan induk kuersetin selanjutnya dibuat serangkaian larutan standar 4,6,8,10,12 ppm dari larutan induk kuersetin 100 ppm. Blanko yang digunakan pada penelitian ini yaitu etanol PA, AlCl₃ 10%. Kalium asetat 1M dan Aquadest. Larutan kemudian di inkubasi selama 30 menit yang bertujuan agar reaksi dapat berjalan dengan sempurna, sehingga dapat memberikan intensitas warna yang maksimal (Azizah, 2014). Penambahan aluminium klorida yang bertujuan untuk membentuk kompleks dengan kuersetin. Sedangkan penambahan kalium asetat pada penelitian ini untuk menstabilkan pembentukan kompleks antara AlCl₃ dengan kuersetin (Wahyulianingsih, 2016).

Pengukuran kurva kalibrasi bertujuan untuk mengetahui persamaan garis linear. Panjang gelombang yang didapat sesuai dengan panjang gelombang yang telah ditetapkan yaitu panjang gelombang kompleks dari 15 standar dengan aluminium klorida menunjukan bahwa kompleks yang terbentuk oleh flavonol dengan C3 dan C-5 kelompok hidroksil, seperti galangin, kaempferol, serta memiliki serta ortodihidroksil seperti kuersetin, rutin, serta miricetin, maksimal absorbansi sekitar 415- 440 nm (Chang, 2002).

Hasil dari penentuan absorbansi larutan standar dapat dilihat pada hukum Lambert-Beer yakni konsentrasi berbanding lurus dengan absorbansi dimana semakin tinggi nilai absorbansi maka akan berbanding lurus dengan konsentrasi zat yang terkandung di dalam suatu sampel. Hasil dari pengukuran absorbansi ini, larutan standar pada berbagai konsentrasi kurva kalibrasi yang diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y = 0,0517x + 0,0151$ dengan nilai koefisiensi kolerasi (r) = 0,9955. Nilai r yang mendekati 1 yaitu menunjukkan kurva kalibrasi linier dan terdapat hubungan antara konsentrasi larutan kuersetin dengan nilai serapan (Azizah, 2014). Selanjutnya menghitung konsentrasi dari masing-masing sampel daun gaharu yaitu pada pengulangan (1) 5,0676 $\mu\text{g/ml}$, Pengulangan (2) 5,0831 $\mu\text{g/ml}$ dan pengulangan (3) 5,0851 $\mu\text{g/ml}$. sehingga hasil penelitian ini diperoleh rata-rata flavonoid sebesar $2,539 \pm 0,005 \%$ setara kuersetin.

Tabel 4. Hasil Analisa Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Gaharu

SAMPEL EKSTRAK ETANOL GAHARU METODE MICROWAVE							
Variasi Massa	Nilai a	Nilai b	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Rata-Rata	Konsentrasi
Blanko	0.0517	0.0151	0.0028	0.0028	0.0029	0.002833	-0.23727
EE 96 microwave	0.0517	0.0151	0.2771	0.2771	0.2772	0.277133	5.06834
EE 96 microwave	0.0517	0.0151	0.2771	0.2779	0.2779	0.277633	5.07801
EE 96 microwave	0.0517	0.0151	0.2779	0.278	0.278	0.277967	5.08446



Gambar 1. Kurva Baku Larutan Standar

Pada penelitian Syamsul (2019) menunjukkan bahwa kadar flavonoid yang terdapat dalam ekstrak etanol daun kelakai memiliki rata rata kadar flavonoid sebesar $2,2159 \pm 0,083\%$ Ekstrak etanol menghasilkan kadar flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak air, hal ini menunjukkan bahwa pelarut etanol dapat mengekstrak senyawa senyawa flavonoid.



CONCLUSION

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa hasil ekstrak daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam) yang diperoleh dari metode (Microwave Assisted Extraction) yaitu dengan rata-rata $2,539 \pm 0,005$ % setara kuersetin.

REFERENCES

- [1] F. . Wahyuni, R, Triadiati, T, “Induksi Pembentukan gaharu pada *Aquilaria malaccensis* menggunakan pupuk urea dan *Fusarium Solani*,” *Penelit. Kehutan. Wallacea*, 2018.
- [2] Faizal A, *Bioprospek Mikroba Hutan Tropis Indonesia*, IPB Press. IPB Press., 2018.
- [3] B. Yesmin, “Study on agarwood (*Aquilaria malaccensis*) to evaluate antibacterial and antioxidant activities of n-hexane, chloroform and ethyl acetate extracts,” *Bangladesh Dep. Pharmacy, Southeast Univ. Banan. Dhaka*, 2016.
- [4] S. Silaban, “Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk).,” *Medan USU Pres*, 2013.
- [5] Tatang sabur, *Fitokimia tinjauan metabolit sekunder dan skrining fitokimia*. 2018.
- [6] J. Y. Lee, J. Y., Cole, T. B., Palmiter, R. D., & Koh, “Accumulation of zinc in degenerating hippocampal neurons of ZnT3-null mice after seizures: evidence against synaptic vesicle origin.,” *J. Neurosci.*, 2000.
- [7] D. L. Y. Handoyo, “Pengaruh Lama Waktu Maserasi (Perendaman) Terhadap Kekentalan Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle*).,” *J. Farm. Tinctura*, 2020.
- [8] F. Azizah, D. N., Kumolowati, E., Faramayuda, “Penetapan Kadar Flavonoid Metode $AlCl_3$ Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.),” *Kartika J. Ilm. Farm.*, 2014.
- [9] Y. K. Parthasarathi, S., and Park, “Determination of total phenolics, Flavonoid contents and antioxidant activity of different mBHT fractions: A polyherbal medicine.,” *Pakistan J. Pharm. Sci.*, 2015.
- [10] E. Hasibuan, “Pengenalalan Spektrofotometer pada Mahasiswa yang Melakukan Penelitian di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran USU,” *Medan Fak. Kedokteran, Univ. Sumatra Utara.*, 2015.
- [11] and C. J. Chang, C, Ming, H., Hwei, M., ““Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods,” *J. Food Drug Anal.*, 2002.
- [12] L. Luginda, R. A., Sari, B. L., & Indriani, “Pengaruh Variasi Konsentrasi Pelarut Etanol Terhadap Kadar Flavonoid Total Daun Beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) Dengan Metode Microwave–Assisted Extraction (MAE).,” *J. Online Mhs. Bid. Farm.*, 2018.
- [13] D. Santoso,B., Ginting,B,S,K,. Widowati, T,W,.Pangawikan,A, “Kandungan Senyawa Fungsional Daun Tanaman Gaharu (*Aquilaria malaccensis*) berdasarkan posisidaun pada cabang.,” *Jurnal Ilmu Kehutan.*, 2022.
- [14] H. Samsuri, T, Fitriani, “Pembuatan the dari daun gaharu jenis *Gyrinops versteegi*,” *J. Ilm. Biol. “Bioscientist*, 2013.
- [15] T. Batubara, R, Wirjosentono, B, Siregar, HA, Harahap, U, “Phytochemical



- screening and Py-GC- Ms analysis of agarwood leaves (*Aquilaria malaccensis* Lamk).,” *Cultiv. baborok, Langka Regency, North Sumatera.Indonesia. Rasayan J. Chem.*, 2021.
- [16] DepKes RI, *Farmakope Indonesia (Edisi enam)*. 2020.
- [17] N. Thitikornpong,W,Ongpipattanakul,B.,Palanuvej,C.,Ruangrunsi, “Pharmacognostic specification and mangiferin content of *aquilaria crassna* leaves,” *Pharmacog J.*, 2017.
- [18] DepKes RI, *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta., 2013.
- [19] and F. H. S. Handayani,H., “Ekstraksi Antioksidan dan Daun Sirsak Metode Ultrasonik Bath (Kajian Rasio Bahan: Pelarut dan Lama Ekstraksi).,” *J. Pangan dan Agroindustri*, 2016.
- [20] L. S. Puspitasari, A. D., & Prayogo, “Pengaruh waktu perebusan terhadap kadar flavonoid total daun kersen (*Muntingia calabura*).,” *J. Inov. Tek. Kim.*, 2016.
- [21] M. Wahyulianingsih,Selpida,H.dan Abdul, “Penetapan Kadar flavonoid Total Ekstrak Daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L). Merr & Perry),” *J. Fotofarmaka Indones.*, 2016.
- [22] H. Syamsul, E. S., Hakim, Y. Y., & Nurhasnawati, “Penetapan kadar flavonoid ekstrak daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd.) Dengan metode spektrofotometri uv-vis.,” *J. Ris. kefarmasian Indones.*, 2019.