



Penentuan Kadar Flavonoid Daun Sembung (*Blumea balsamifer*) menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Mohamad Adam Mustapa¹, Muhammad Taupik^{2*}, A. Mu'thi Andy Suryadi³, Andi Makkulawu⁴, Mohamad Aprianto Paneo⁵

^{1,2,3,4,5} Jurusan Farmasi, Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo, Kota Gorontalo, Indonesia.

*E-mail: muhtaupik@ung.ac.id

Article Info:

Received: 06 Februari 2024

in revised form: 21 April 2024

Accepted: 30 Mei 2024

Available Online: 1 Juni 2024

Keywords:

Sembung Leaves;

Flavonoids;

Uv-VIS Spectrophotometry

Corresponding Author:

Muhammad Taupik

Jurusan Farmasi

Fakultas Olahraga dan
Kesehatan

Universitas Negeri Gorontalo

E-mail: E-mail:

muh.taupik@ung.ac.id

ABSTRACT

Indonesian people use herbal medicines for the prevention and treatment of disease Data collected in 2010 show that the use of herbal medicine in Indonesia reaches 59.12%. This shows that the use of herbal medicines in Indonesia has increased. One of the medicinal plants used by the community is Sembung leaves (*Blumea balsamifer*). People in Gorontalo used to call this plant Tapulapunga. Sembung leaves (*Blumea balsamifer*) is one of the biopharmaceutical plants that has many benefits. Indonesia people use Sembung leaves to treat influenza, rheumatism, menstrual pain, irregular menstruation, fever, asthma, cough, bronchitis, flatulence, diarrhea, and diabetes. This study aims to identify the flavonoid compounds in Sembung leaves (*Blumea balsamifer*). The results of the study showed that the three samples, namely n-hexane extract, ethyl acetate, and ethanol 96% with the results of qualitative analysis with a cycling test showing positive that they contained flavonoids. Meanwhile, in the thin-layer chromatographic test, the R_f value for flavonoid compounds ranges from 0.2 - 0.8 with other states can be seen from the fluorescence results formed. Based on color, it appears spots of light green, green, red, yellow fluorescent colors. The results of the quantitative analysis with a wavelength of 400 nm of ethanol extraction of 96% showed $y = 0.030x + 0.342$ with a value of $R^2 = 0.961$. The flavonoid content was 1.8521% for ethanol extract 96%, 1.6032% for ethyl acetate extract and 0.1253% for n-hexane extract. This study showed the presence of flavonoid compounds in Sembung leaves by looking at the wavelength produced from each of the extracts.



This open access article is distributed under a Creative Commons Attribution (CC-BY-NC-SA) 4.0 International license.

How to cite (APA 6th Style):

Mustapa, M.A., Taupik, M., Suryadi, A.M., Makkulawu, A., Paneo, M.A (2024). Penentuan Kadar Flavonoid Daun Sembung (*Blumea balsamifer*) menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. Indonesian Journal of Pharmaceutical (e-Journal), 4(2), 255-261.

ABSTRAK

Masyarakat Indonesia menggunakan obat herbal untuk pencegahan dan pengobatan penyakit. Data yang berhasil dikumpulkan pada tahun 2010 menunjukkan penggunaan obat herbal di Indonesia mencapai 59,12%. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan obat herbal di Indonesia mengalami peningkatan. Salah satu tumbuhan yang berkhasiat obat yang digunakan oleh masyarakat adalah daun sembung (*Blumea balsamifer*) masyarakat Gorontalo biasa menyebut tanaman sembung dengan sebutan tapulapunga daun sembung (*Blumea balsamifer*) merupakan salah satu tanaman biofarmaka yang memiliki banyak khasiat masyarakat Indonesia memanfaatkan daun sembung untuk mengatasi influenza, rematik, nyeri haid, haid tidak teratur, demam, asma, batuk, bronchitis, perut kembung, diare, dan diabetes. Tujuan penelitian yaitu Untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid yang ada dalam daun sembung (*Blumea balsamifer*). Hasil penelitian menunjukan pada ketiga sampel yaitu ekstrak n-heksan, etil asetat, dan etanol 96% dengan hasil analisis kualitatif dengan uji sikring menunjukkan positif mengandung flavonoid. Sedangkan pada uji kromatografi lapis tipis nilai R_f untuk senyawa flavonoid berkisar antara 0,2 -0,8 dengan dinyatakan lain dapat dilihat dari hasil fluoresensi yang terbentuk. Berdasarkan warna menampilkan bercak warna fluoresensi hijau muda, hijau, merah, kuning. Hasil Analisis kuantitatif dengan pada panjang gelombang 400 nm ekstrak etanol 96% menunjukkan $y = 0,030x + 0,342$ dengan nilai $R^2 = 0,961$. Kadar flavonoid sebesar 1,8521% untuk ekstrak etanol 96%, 1,6032% untuk ekstrak etil asetat dan 0,1253 % untuk ekstrak n-heksan. Penelitian ini menunjukan adanya senyawa flavonoid pada daun sembung dengan melihat panjang gelombang yang di hasilkan dari masing-masing ekstrak tersebut.

Kata Kunci: Daun Sembung; Flavonoid; Spektrofotometri UV-Vis

1. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara tropis yang dikenal memiliki keanekaragaman hayati kedua terbesar setelah Brasil. Diperkirakan ada sekitar 25.000-30.000 tanaman ditemukan di Indonesia. Data yang berhasil dikumpulkan pada tahun 2010 menunjukkan penggunaan obat herbal di Indonesia mencapai 59,12% [1]. Salah satu tumbuhan yang berkhasiat obat yang digunakan oleh masyarakat adalah daun sembung (*Blumea balsamifer*) atau yang bisa didengar pada masyarakat Gorontalo biasa menyebut tanaman sembung dengan sebutan Tapulapunga. Konsumsi obat tradisional yang berefek bagi kesehatan telah dilakukan secara turun temurun pada masyarakat Gorontalo.

Daun sembung (*Blumea balsamifer*) merupakan salah satu tanaman biofarmaka yang memiliki banyak khasiat. Masyarakat Indonesia memanfaatkan daun sembung untuk mengatasi influenza, rematik, nyeri haid, haid tidak teratur, demam, asma, batuk, bronchitis, perut kembung, diare, dan diabetes [2,7]. Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, dan biru, dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan mineral, sediaan galenik atau campuran dari bahan turun temurun. Salah satu obat tradisional yang masih sering kita jumpai adalah jamu.

Berdasarkan uraian tersebut akan dilakukanlah penelitian terhadap tanaman sembung (*Blumea balsamifer*) dimana dalam penelitian ini akan dilakukan identifikasi senyawa flavonoid pada daun sembung (*Blumea balsamifer*) dengan metode Spektrofotometri UV-Vis sehingga diharapkan hasil penelitian ini menambah data ilmiah mengenai kandungan kimia dari daun sembung khususnya di bidang kesehatan.

2. Metode

Jenis penelitian ini adalah jenis penelitian eksperimental di lakukan di laboratorium bahan alam jurusan farmasi. Fakultas Olahraga Dan Kesehatan. Untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid pada daun sembung (*Blumea balsamifer*). Dengan metode Spektrofotometri UV-VIS.

Alat dan Bahan

Alat yang akan di gunakan dalam penelitian ini yaitu batang pengaduk, bejana maserasi, gelas kimia (pyrex), gelas ukur (pyrex), timbangan ohaus (Triple beam balance), pipet tetes, cawan porselin, corong (pyrex), corong pisah (pyrex), pipet mikro, pipet tetes, kuvet, gelas ukur (pirex), mista, pensil, lempeng KLT, spektrofometer UV-VIS (HITACHI U-2810). Aluminium foil, lampu ultraviolet 254nm dan 366nm. Bahan yang akan digunakan pada penelitian ini adalah sampel dau sembung (*Blumea balsamifer*) yang di ambil dari Desa Dambalo Kabupaten Pohuwato dalam keadaan segar. Bahan kimia yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah n-heksan, etil asetat, etanol 96%, serbuk magnesium, HCl, alkohol 70% , HCl pekat dan aquades.

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Pengambilan sampel daun sembung (*Blumea balsamifer*) diambil adalah daun ke ketiga dari pucuknya di Desa Dambalo didekat perkebunan warga pada pagi hari pukul 08.00-11.00 WITA. Pengolahan sampel daun sembung (*Blumea balsamifer*) yang telah di ambil di sortasi kering terlebih dahulu kemudian setelah di sortasi kering di cuci menggunakan air yang mengalir sampai bersih setelah di cuci selanjutnya sampel di rajang dan di keringkan dengan cara di angin-anginkan di tempat yang tidak terpapar langsung sinar mata hari. Setelah itu disortasi kembali untuk memisahkan sampel yang rusak pada pengirangan dan di masukan kedalam wadah tertutup rapat. Sampel siap di gunakan.

Pembuatan Ekstrak

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi bertingkat dengan sampel serbuk simplisia sembung, pelarut yang digunakan adalah pelarut dengan kepolaran makin meningkat yaitu n-heksan, etil asetat, dan etanol 96% masing-masing pelarut. Serbuk simplisia ditimbang 300 gram dimasukkan ke dalam wadah maserasi. Maserasi pertama simplisia direndam dengan 2 L n-heksan selama 3 x 24 jam sambil sesekali diaduk (setiap 6 jam), setelah 24 jam residu dipisahkan dari filtrat. Simplisia dikeringkan dengan cara di angin-anginkan. Setelah residu kering dimaserasi kembali selama 24 jam dengan etil asetat 1 L sambil sesekali diaduk (setiap 6 jam), setelah 24 jam residu dipisahkan dari filtrat, setelah maserasi dengan etil asetat selesai, residu dikeringkan kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol 96% sambil sesekali diaduk (setiap 6 jam), setelah 24 jam residu dipisahkan dari filtrat, setelah maserasi dan dilanjutkan dengan proses evaporator

Analisis Kualitatif Flavonoid

Proses analisis kualitatif diawali dengan skrining fitokimia dan di lanjutkan dengan melakukan pengujian menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pada proses skrining fitokimia, ekstrak daun sembung dilarutkan dengan masing-masing pelarut yang digunakan untuk maserasi. Dimasukkan kedalam tabung reaksi. Setelah itu dimasuka HCl dikocok dan biarkan memisah sejenak. Setelah terjadi pemisahan, ditambahkan serbuk magnesium (mg). Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah,kuning atau jingga.

Setelah proses skrining fitokimia selesai dilanjutkan pengujian Kromatografis Lapis Tipis (KLT) Fase gerak (eluen) yang digunakan adalah N-neksan dan etil asetat dengan perbandingan 7:3, 6:4, v/v. Sedangkan untuk fase diam digunakan plat KLT Kresgol 60 F 254 dengan panjang lempeng 5 cm, lebar 1cm, batas atas 0,5 dan batas bawa 0,5 cm.

Identifikasi senyawa flavonoid

Ditimbang sebanyak 25 mg ekstrak kental etil asetat, n-heksan, etanol 96% daun sembung (*Blumea balsamifer*) dan dilarutkan dalam 25 ml etanol 96% larutan sampel sebanyak 1 ml

dan dicukupkan volumenya sampai 10 mL dengan sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Dari larutan standar kuersetin 100 ppm, kemudian dibuat beberapa konsentrasi yaitu 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, 30 ppm, 35 ppm, dan 40 ppm. Selanjutnya dilakukan pengujian menggunakan spektrofotometri UV-Vis

3. Hasil dan Pembahasan

Tanaman merupakan salah satu sumber berbagai jenis senyawa-senyawa kimia yang memiliki khasiat sebagai obat. Kandungan senyawa kimia yang ada dalam tanaman disebut dengan fitokimia. Untuk mengetahui kandungan senyawa kimia dalam tanaman dilakukan analisis fitokimia [10].

Sampel daun yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun yang segar untuk dipanen yang jika di lihat dengan kasat mata duan yang di ambil yaitu daun yang tidak terlalu tua dan tidak juga terlalu muda pengambilan sampel sampel daun ini di lakukan pada pagi hari yaitu pada pukul 08.00-11.00 WITA pengambilan sampel daun sembung ini dilakukan dalam satu hari. Pengolahan sampel meliputi beberapa tahap yaitu yang pertama sortasi basa di lakukanya sortasi basa ini agar kita dapat memisahkan mana sampel yang layak kita gunakan untuk penelitian dan mana yang tidak layak (rusak) selanjutnya sampel daun sembung (*Blumea balsamifer*) telah selesai di sortasi basa akan di lakukan pencucian dengan air yang mengalir bertujuan untuk membersihkan sampel dari kotoran yang masi menempel pada sampel [1].

Tabel 1. Hasil perhitungan berat ekstrak daun sembung (*Blumea balsamifer*)

Berat sampel (gr)	Pelarut (ml)	Berat Ekstrak (gr)	Rendamen (%)
300	1500 ml	N-heksan 11,6	3,87 %
272	1000 ml	etil asetat 8,5	3,12 %
200	1000 ml	etanol 96% 9,6	4,8%

Simplisia yang telah dibuat terlebih dahulu dilakukan standarisasi agar simplisia memenuhi standar pada Farmakope Herbal [6]. Sebanyak 300 gram sampel halus duan sembung (*Blumea balsamifer*) dimaserasi dengan menggunakan metode maserasi bertingkat dimulai dengan pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol 96 % sebanyak 2000 mL berturut-turut selama 3 x 24 jam [6].

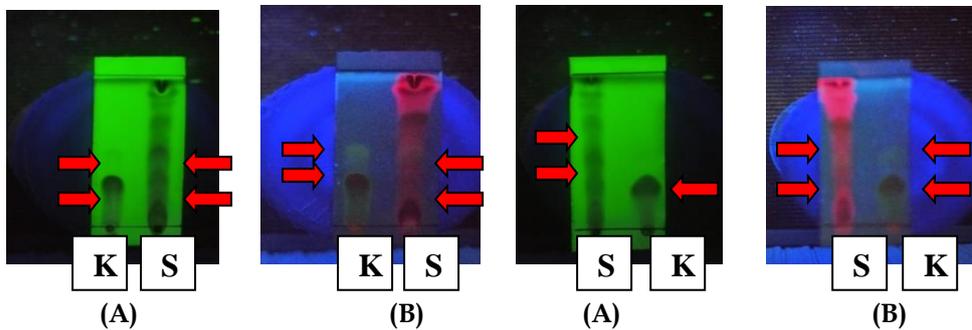
Filtrat yang di hasilkan dari masing - masing pelarut kemudian diuapkan dengan alat penguap vakum pada suhu 50°C dan menghasilkan ekstrak kental n-heksan sebanyak 3,8 % dan etil asetat sebanyak 3,13% dan untuk etanol 96% 4,8% (Tabel 1). Menurut Amalia dkk, (2019) kecilnya nilai rendamen yang diperoleh diduga karena kurangnya waktu yang digunakan saat proses ekstraksi, proses pengadukan kurang baik, dan pelarut yang digunakan tidak diganti pada saat pelarut sudah jenuh Proses pemekatan menggunakan rotaru vacum evaporator dengan suhu 50°C untuk menjaga agar kandungan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak tidak mengalami kerusakan [5].

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun sembung (*Blumea balsamifer*)

No	Senyawa	Ekstrak	Pereaksi	Hasil
1	Flavonoid	Ekstrak n-heksan		-
2	Flavonoid	Ekstrak etil asetat	HCl pekat + Logam Magnesium	+
3	Flavonoid	Ekstrak etanol 96%		+

Uji kandungan kimia dilakukan untuk tujuan memberikan gambaran awal jenis senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam suatau ekstrak [3]. Hasil uji kualitatif menggunakan metode skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 2. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak

etanol 96%, ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksan positif mengandung senyawa flavanoid. Senyawa yang akan di uji dalam penelitian ini yaitu senyawa flavonoid dalam pengujian senyawa flavanoid ekstrak etil asetat dan etanol 96% daun sembung (*Blumea balsamifera*) menggunakan HCL pekat ditambah serbuk logam magnesium, Hasil positif flavonoid ditandai dengan adanya perubahan warna merah, kuning, atau jingga [9].



Eluen n-heksan: etil asetat 7:3 Eluen n-heksan: etil asetat 6:4

Keterangan:

(A) = UV 254 nm

(B) = UV 366 nm

K = Kuarsetin

S = Sampel

Keterangan:

(A) = UV 254 nm

(B) = UV 366 nm

K = Kuarsetin

S = Sampel

Nilai Rf Ekstrak Nilai Rf Kuarsetin

Rf 1 = 0,47

Rf 2 = 0,62

Rf 3 = 0,7

Rf 4 = 0,72

Rf 1 = 0,47

Rf 2 = 0,62

Nilai Rf Ekstrak Nilai Rf Kuarsetin

Rf 1 = 0,47

Rf 2 = 0,57

Rf 3 = 0,87

Rf 4 = 0,97

Rf 1 = 0,47

Rf 2 = 0,62

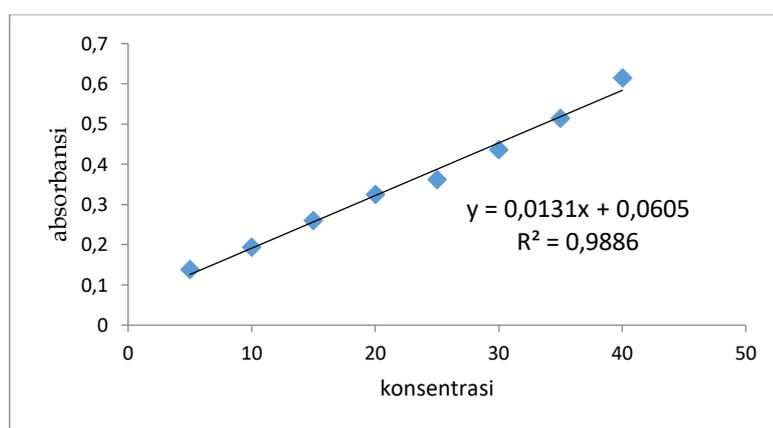
Gambar 1. Hasil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak etanol 96%

Berdasarkan proses pemisahan dari kromatografi lapis tipis (KLT), diperoleh hasil kombinasi dari dua eluen yang berbeda kepolaran ini yaitu dengan kombinasi pelarut n-heksan: etil asetat dengan perbandingan 7:3 dan 6:4 (gambar 1). Digunakannya kombinasi pelarut tersebut karena adanya perbedaan kepolaran antara keduanya pelarut di harapkan dari kedua perbandingan tersebut agar mendapatkan noda terbaik yang dihasilkan dari eluen tersebut. Metode kromatografi lapis tipis merupakan salah satu metode pemisahan salah satu senyawa berdasarkan distribusi dua fase yaitu fase diam dan fase gerak [14]. Ekstak etanol 96% dan perbandingan 7:3 dan 6:4 yang harus dijenuhkan terlebih dahulu dengan menggunakan kertas saring. Tujuan dari penjenuhan eluen dimaksudkan untuk mempercepat proses elusi. Selanjutnya ekstak kental etanol 96% ditotolkan pada lempeng dan di masukan ke dalam gelas yang berisi beberapa perbandingan pelarut. Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mengandung senyawa flavonoid karena dilihat dari nilai Rf dan warna fluoresensi yang di peroleh untuk setiap noda. Dimana menurut Gita Resiskawat (2016), nilai Rf untuk senyawa flavonoid berkisar antara 0,2 -0,8 dengan dinyatakan lain dapat dilihat dari hasil fluoresensi yang terbentuk. Berdasarkan warna yang di hasilkan oleh ekstrak etanol 96% daun sembung pada penampakan UV 254 dan 366. Berdasarkan hasil KLT dalam penelitian ini lakukan pada ekstrak etanol 96% menampakan bercak warna fluoresensi hijau muda, hijau, merah, kuning dengan nilai Rf ekstrak etil asetat perbandingan pelarut 7:3 yaitu noda pertama nilai Rf 0,47, noda kedua nilai Rf 0,62, noda ketiga nilai Rf 0,7 dan noda yang ke empat nilai Rf 0,72 dan untuk perbandingan 6:4 noda pertama nilai Rf 0,47, noda kedua nilai Rf 0,57, noda ketiga nilai Rf 0,57 dan untuk noda keempat nilai Rf 0,97 [11].

Tabel 3. penentuan panjang gelombang maksimum dengan baku kuarsetin

Panjang gelombang	Absorbansi
400	1,301
420	1,205
440	1,025
460	1,290
480	1,119
500	1,194

Penentuan kadar flavanoid didahului dengan menentukan panjang gelombang baku standar kuarsetin. Berdasarkan dari hasil pada tabel 3 diperoleh panjang gelombang maksimum larutan kuarsetin adalah 400 nm. Hal ini dilihat dari nilai absorbansi tertinggi yang di peroleh dari hasil raning senyawa kuarsetin dari panjang gelombang 400 -500 nm.



Gambar 2. Kurva Standar kuarsetin

Berdasarkan hasil uji penentuan panjang gelombang flavonoid yang di dihasilkan oleh ekstak n-heksan pada panjang gelombang maksimum yaitu 400 nm hal ini dilihat dari nilai absorbansi tertinggi larutan kuarsetin. Panjang gelombang flavonoid ditentukan melalui persamaan regresi kurva standar dengan konsentrasi larutan kuarsetin adalah 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, 30 ppm, 35 ppm dan 40 ppm hasil absorbansi dapat dilihat pada gambar 2. Dapat dilihat pada kurva semakin tinggi konsentrasi zat maka semakin tinggi pula nilai absorbansi yang diperoleh. Sehingga menunjukkan hubungan lurus antara konsentrasi dan nilai absorbansi[12].

Berdasarkan hasil penentuan kadar flavonoid sebesar 1,8521% untuk ekstrak etanol 96%, 1,6032% untuk ekstrak etil asetat dan 0,1253 % untuk ekstrak n-heksan. Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa kadar flavonoid tertinggi diperoleh pada ekstrak etanol 96%. Hal ini menunjukkan adanya senyawa flavonoid pada daun sembung dengan melihat panjang gelombang yang di dihasilkan dari masing-masing ekstak tersebut. Menurut Tomayahu, (2018), senyawa flavonoid dapat memberikan aktifitas seperti anti radang, anti kangker, antioksidan, anti virus, antibakteri, dan anti alergi.[15]

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah di lakukan maka dapat disimpulkan bahwa hasil identifikasi senyawa flavonoid pada daun sembung (*Blumea balsamifer*) menunjukkan terdapat senyawa flavonoid. Hal ini berdasarkan uji skrining fitokimia yang dilakukan, serta pengujian lebih lanjut menggunakan kromatografi lapis tipis. Pada penentuan kadar senyawa menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis diperoleh masing-masing ekstrak n-heksan, etil

asetat dan enatnol 96% mengndung flavanoid, dengan persen kadar tertinggi terdapat pada ekstrak etanol 96%.

Referensi

- [1] Amalia, A., Sari, I. and Nursanty, R. (2017) .*Aktivitas Aantibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung (Blumea balsamifera (L.) DC.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*, pp. 387–391.
- [2] Amalia dkk, 2019. *Faktoe-faktor yang mempengaruhi hasil rendamen dengan menggunakan metode analisis of variance*. Jurnal fakultas teknik unoversitas Malikussaleh Aceh-Indonesia.
- [3] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Direktorat jendral pengawasan obat dan makanan : Jakarta.
- [4] Hakim Aliefman. 2017. *Perbedaan Pola Okasidasi Flavonoid Pada Genus Artocarpus dan Intsia*. Jurnal program studi pendidikan kimia Universitas Mataram [5] Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Menganalisis Tumbuhan, Terjemahan Padmawina*. Bandung: ITB press.
- [5] Khoirani, N. 2013. *Karakteristik Simplisia dan Standarisasi Ekstraketanol Herbal Kemangi (Ocimum americanum.)*. Skripsi. Jurusan Farmasi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta. Jakarta.
- [6] Lenny, S., (2006), *Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida*, Karya Ilmiah, FMIPA, USU, Medan.
- [7] Marzouk, M. M. 2016. *Flavonoid Constituents And Cytotoxic Activiy Of Erucaria Hispanica (L.) Druce Growing Wild In Egypt*. Arabian Journal Of Chemistry, 9, 411–415.
- [8] Marjoni R. *Dasar-Dasar Fitokimia Untuk Diploma III Farmasi*. Jakarta: Trans Info Media; 2016.
- [9] Mulyani, A. dan Agus, F, Hairiah, K 2011. *Panduan Metode Pengukuran Karbon Tersimpan di Lahan Gambut*. Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian. Badan Litbang Pertanian. Kementrian Pertanian dan World Agroforestry Center, SEA. Bogor. 58 hal.
- [10] Pradhan D., Suri K. a, Pradhan D.K. and Biswasroy P., 2013, *Golden Heart of the Nature: Piper betleL.*, Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 1 (6), 147–167.
- [11] Rijke, E. 2005. *Trace-level Determination of Flavonoids and Their Conjugates*. https://dare.uvu.vu.nl/bitstream/1871/9048/1/Dissertation_E_de_Rijke.pdf 14 Maret 2006.
- [12] Salmia, 2016. *Analisis kadar flavonoid total ekstrak kulit batang kedondong Bangkok (Spondias dulcis) dengan metode spektrofotometri Uv-Vis*. Skripsi Jurusan Farmasi. Universitas Negeri Alaudin Makassar.
- [13] Sutrisna, E. M., & Sujono, T. A. (2015). *The combination of belimbing wuluh fruit (Averrhoa bilimbi L.) and leaves of tapak dara (Catharanthus roseus G.) from Indonesia as a candidate hypoglycemic agents and thin layer chromatography profiles*. Biomedical and Pharmacology Journal, 8(1), 39–46. <https://doi.org/10.13005/bpj/580>.
- [14] Sastrohamidjojo. (2007). *Spektroskopi*. Edisi Ketiga. Yogyakarta: Liberty.
- [15] Tomayahu dkk, 2018. *Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol kulit buah apokat (Persea Americana mill). Dengan metode spektrofotometri Uv-Via*. Jurnal Fitofarmaka Indonesia Vol 4 No 2.