

## Analisis Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Folium Annona muricata* L.) menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Firja Hasan<sup>1</sup>, Moh. Rivaldi Mappa<sup>2\*</sup>, Rizky Resvita R. Bahi<sup>3</sup>, Moh. Rasyid Kuna<sup>4</sup>

<sup>1,2,3,4</sup> Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Institut Kesehatan dan Teknologi Graha Medika, Indonesia

Open Access Freely Available Online

Dikirim: 24 Mei 2026  
Direvisi: 20 Juni 2026  
Diterima: 23 Juni 2026

\*Penulis Korespondensi:

E-mail:

[mohrivaldimappa@gmail.com](mailto:mohrivaldimappa@gmail.com)

### ABSTRAK

Daun sirsak (*Annona muricata* L.) telah lama dimanfaatkan secara tradisional oleh masyarakat Kelurahan Matali, Kotamobagu Timur, Kotamobagu, Sulawesi Utara sebagai antiinflamasi dan diduga mengandung flavonoid sebagai senyawa aktif. Flavonoid memiliki sistem aromatik terkonjugasi yang memungkinkan analisis menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis keberadaan dan kadar senyawa flavonoid pada daun sirsak. Uji kualitatif dilakukan melalui ekstraksi metode maserasi, skrining fitokimia, fraksinasi, KLT, kromatografi kolom, dan KLTP. Hasil ekstraksi mendapatkan rendamen sebesar 11,1% serta skrining fitokimia dinyatakan positif ditandai perubahan warna menjadi kuning. Fraksinasi menghasilkan dua lapisan, berupa polar dan non-polar. Analisis KLT memberikan nilai  $R_f$  optimal 0,78 dengan perbandingan eluen 8:2, sedangkan kromatografi kolom dan KLTP menunjukkan pemisahan noda berwarna biru muda, merah muda, dan merah. Analisis kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan baku kuersetin serta pereaksi  $AlCl_3$  10% dan kalium asetat pada panjang gelombang 431 nm setelah inkubasi 30 menit. Kadar flavonoid rata-rata diperoleh sebesar 34,578 mgQE/g.

**Kata kunci:** *Annona muricata*, Flavonoid, Kotamobagu, Sirsak, Spektrofotometri UV-Vis

### ABSTRACT

*Soursop leaves (Annona muricata L.) have long been traditionally utilized by the community of Matali Village, East Kotamobagu District, Kotamobagu, North Sulawesi, as an anti-inflammatory agent and are presumed to contain flavonoids as active compounds. Flavonoids possess a conjugated aromatic system that enables analysis using the UV-Vis spectrophotometric method. This study aimed to analyze the presence and levels of flavonoid compounds in soursop leaves. Qualitative testing was conducted through maceration extraction, phytochemical screening, fractionation, thin-layer chromatography (TLC), column chromatography, and preparative thin-layer chromatography (PTLC). The extraction process yielded a rendement of 11.1%, while the phytochemical screening showed positive results indicated by a yellow color change. Fractionation produced two layers, namely polar and non-polar fractions. TLC analysis provided an optimal  $R_f$  value of 0.78 with an eluent ratio of 8:2, whereas column chromatography and PTLC demonstrated the separation of light blue, pink, and red spots. Quantitative analysis was carried out using UV-Vis spectrophotometry with quercetin as the standard and 10%  $AlCl_3$  and potassium acetate as reagents at a wavelength of 431 nm after 30 minutes of incubation. The average flavonoid content obtained was 34.578 mgQE/g.*

**Keywords:** *Annona muricata*, Flavonoids, Kotamobagu, Soursop, UV-Vis spectrophotometry

### PENDAHULUAN

Secara global, Indonesia termasuk di antara negara-negara dengan biodiversitas tertinggi sehingga sering dijuluki sebagai “tanah surga”.

Kondisi geografis dan iklim yang mendukung memungkinkan beragam tanaman dapat berkembang secara optimal serta memiliki potensi sebagai sumber bahan pangan, ekonomi, dan

kesehatan. Salah satu pemanfaatan kekayaan hayati tersebut adalah dalam bidang pengobatan tradisional, yang telah lama digunakan masyarakat sebagai alternatif dalam mencegah maupun mengobati berbagai penyakit (Putri & Mustakim, 2025). Satu diantaranya yang memiliki potensi tersebut adalah tanaman sirsak.

Tanaman sirsak merupakan tanaman yang dapat dibudidayakan secara komersial maupun secara sambilan untuk dimanfaatkan daging buahnya. Distribusi pertumbuhannya sangat luas, sehingga mudah ditemukan di seluruh wilayah Indonesia, baik di pekarangan rumah maupun di perkebunan (Wicaksana, 2023). Selain buahnya, bagian daun tanaman sirsak juga telah lama berperan dalam pengobatan tradisional masyarakat karena kandungan senyawa aktif yang beragam (Saputri et al., 2021). Hasil studi terdahulu menunjukkan bahwa daun sirsak digunakan untuk mengatasi kanker, infeksi bakteri, parasit, menurunkan kadar glukosa darah, meredakan wasir, nyeri kandung kemih, diare pada bayi, inflamasi, hingga disentri (Amin et al., 2024). Di Kelurahan Matali, Kecamatan Kotamobagu Timur, Sulawesi Utara, daun sirsak juga diketahui digunakan secara turun-temurun sebagai antiinflamasi dengan cara menumbuk daun muda kemudian menempelkannya pada furunkel (bisul) untuk membantu mengurangi inflamasi. Efek antiinflamasi daun sirsak tidak hanya diketahui secara empiris, tetapi juga telah diperkuat melalui data ilmiah. Penelitian pada hewan menunjukkan bahwa senyawa flavonoid yang ada pada daun sirsak berperan dalam mempercepat perbaikan jaringan pada luka insisi kulit mencit melalui mekanisme penghambatan permeabilitas kapiler, jalur asam arakidonat dan pelepasan enzim lisosom yang memediasi respon inflamasi (Saputri et al., 2021). Temuan tersebut didukung oleh penelitian (Purnamasari, 2021; Sukmara & Saptarini, 2023), yang melaporkan bahwa flavonoid dan senyawa turunannya seperti fenol dapat berperan dalam mengurangi inflamasi sehingga mempercepat proses penyembuhan luka. Meskipun manfaat daun sirsak telah banyak dilaporkan, karakterisasi senyawa aktif spesifiknya masih terbatas, terutama terkait flavonoid. Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik dengan sistem aromatik terkonjugasi yang bersifat termolabil, polar, agak asam, serta mudah teroksidasi pada suhu tinggi (Gloriana & Sagita, 2021; Guntarti et al., 2021; Harborne, 1987; Ni'ma & Lindawati, 2022). Karakteristik fisika-kimia tersebut menjadi tantangan dalam proses identifikasi menggunakan

metodekromatografi maupun uji kualitatif konvensional, sehingga diperlukan metode alternatif yang lebih efektif.

Identifikasi kandungan flavonoid dalam daun sirsak dilakukan melalui pendekatan spektrofotometri Uv-Vis. Prinsip kerja metode ini didasarkan pada pemanfaatan radiasi UV dan sinar tampak untuk mendeteksi senyawa yang memiliki kromofor serta rangkaian sistem konjugasi (Styawan & Rohmanti, 2020). Keberadaan sistem ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur flavonoid berkontribusi terhadap terbentuknya pita serapan kuat dalam spektrum UV-Vis, sehingga metode ini mampu memberikan data akurat dan sensitif dalam penentuan keberadaannya (Kurniawan et al., 2024). Penelitian terdahulu melaporkan bahwa flavonoid dapat diidentifikasi pada panjang gelombang 430 dan 435 nm melalui pengukuran dengan metode Spektrofotometri UV-Vis (Erlinawati & Wardani, 2022; Syarifuddin & Dewi, 2022).

Berdasarkan penjelasan diatas, sehingga penelitian ini dilaksanakan untuk mengkaji kandungan flavonoid dalam daun sirsak melalui analisis spektrofotometri UV-Vis.

## **METODE**

Rancangan penelitian ini adalah kuantitatif eksperimental dengan pendekatan true eksperimental untuk mengidentifikasi dan mengukur flavonoid pada daun sirsak menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.

### **Alat**

Aluminium foil, batang pengaduk, *beaker glass* (*pyrex*®), chamber, corong kaca, corong pisah (IWAKI), erlenmeyer (*pyrex*®), gelas ukur (*pyrex*®), grinder, kertas label, kertas saring, lampu Uv 254 dan 366, macerator-magnetic stirrer (M-MS) (IKA), mesh, neraca analitik (OHAUS), pipa kapiler, pipet (OneMed), plat KLT M.1.05554, rak tabung reaksi, spatula, spektrofotometri UV-Vis (EVOLUTION One), tabung reaksi (IWAKI), *water bath* (XMTE-205).

### **Bahan**

AlCl<sub>3</sub> 10%, Daun sirsak, etanol 96%, etil asetat, HCl, Kalium asetat, N-heksan, serbuk Magnesium, silika gel GF254.

### **Preparasi sampel**

Daun sirsak dibersihkan dari kotoran menggunakan air mengalir dan selanjutnya dikeringkan pada tempat teduh bersuhu ruang hingga mencapai kondisi kering, yang ditunjukkan oleh sifat rapuh, tidak elastis, dan mudah

dipatahkan. Tahap berikutnya, simplisia kering dihaluskan dengan grinder sampai diperoleh bentuk serbuk kemudian diayak dengan mesh 60 (Widodo & Subositi, 2021).

### Proses ekstraksi

Serbuk simplisia diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 400 ml dengan metode M-MS pada kecepatan pengadukan 200 rpm selama 3 × 24 jam. Ekstrak kemudian disaring dan diuapkan dengan bantuan *waterbath* dengan temperatur 40°C hingga diperoleh ekstrak kental. Selanjutnya, rendemen dihitung berdasarkan perbandingan berat ekstrak kental dan berat serbuk simplisia awal (b/b) (Kemenkes, 2017).

### Uji kualitatif

Identifikasi senyawa flavonoid pada ekstrak daun sirsak dilakukan melalui beberapa metode uji kualitatif.

### Skrining fitokimia

Sebanyak 1 gram ekstrak kental direaksikan dengan serbuk magnesium dan HCl pekat 4-5 tetes. Adanya senyawa flavonoid ditunjukkan oleh perubahan warna ekstrak menjadi kuning, jingga, merah maupun merah lembayung (Kurniawan et al., 2024).

### Fraksinasi

Ekstrak kental dilarutkan dengan 100 mL etanol 96%, kemudian dipartisi dengan 100 ml n-heksan menggunakan corong pisah hingga terbentuk dua fase. Masing-masing fase dipisahkan dan diuapkan menggunakan *waterbath*.

### Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisis kualitatif flavonoid dilakukan menggunakan KLT dengan kuersetin sebagai pembanding dan eluen n-heksan : etil asetat (8:2). Visualisasi bercak dilakukan dengan bantuan UV 254 & 366 nm. Adanya flavonoid ditunjukkan oleh munculnya fluoresensi berwarna hijau, biru, kuning atau jingga (Pujiastuti et al., 2022).

### Kromatografi Kolom

Kromatografi Kolom dilakukan pada fraksi terbaik hasil KLT. Kolom disiapkan dengan metode basah menggunakan silika gel sebagai fase diam, kemudian dibasahi dengan n-heksan. Sampel dimasukkan ke dalam kolom dan dielusi menggunakan eluen terbaik. Fraksi hasil elusi ditampung dalam vial hingga proses elusi selesai dan tidak ada lagi lapisan yang bisa dipindahkan oleh fase gerak (Candra et al., 2023).

### Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

Plat KLT berukuran 10×20 cm dielusi menggunakan campuran n-heksan : etil asetat (8:2) dalam chamber tertutup. Bercak yang terbentuk diamati di bawah sinar ultraviolet 254 dan 366 nm. Bercak yang positif mengandung flavonoid kemudian dikerok, dilarutkan dengan 10 ml etanol 96%, dan disaring untuk memisahkan ultraviolet 254 dan 366 nm.

### Uji kuantitatif

Kadar flavonoid total ditentukan melalui spektrofotometri UV-Vis dengan kuersetin sebagai baku acuan, serta AlCl<sub>3</sub> 10% dan kalium asetat sebagai pereaksi warna. Larutan standar kuersetin (2-10 ppm) dan sampel masing-masing direaksikan dengan 3 mL etanol p.a, 0,2 ml AlCl<sub>3</sub> 10%, dan 0,2 ml kalium asetat, kemudian diencerkan hingga 10 ml. campuran didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang, lalu diukur absorbansinya pada λ gelombang maksimum. Pengambilan data absorbansi dilakukan melalui tiga replikasi, dan kadar flavonoid dihitung berdasarkan persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi standar kuersetin (Bachtiar et al., 2023).

## HASIL

### Proses ekstraksi

Daun segar yang telah diolah menjadi simplisia dihaluskan hingga menjadi serbuk menggunakan grinder kemudian disaring dengan mesh 60. Serbuk simplisia selanjutnya diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan bantuan M-MS pada laju pengadukan 200 rpm, menggunakan 400 ml etanol 96% selama kurang lebih 3 kali 24 jam. Larutan maserat disaring untuk memperoleh filtrat yang bebas residu, kemudian dipanaskan diatas *waterbath* dengan suhu 40°C hingga mengental, setelah itu dilakukan perhitungan rendemen.

Tabel 1  
Hasil Rendemen

Parameter	Hasil
Berat simplisia (g)	100
Berat ekstrak kental (g)	11,10
Rendemen (%)	11,1

### Uji Kualitatif

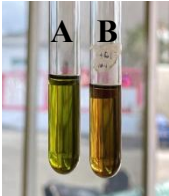
#### Skrining fitokimia

Uji skrining fitokimia terhadap daun sirsak dilakukan dengan melarutkan 0,1 gram ekstrak kental dengan sedikit etanol 96%. Larutan kemudian ditempatkan kedalam tabung reaksi, dilakukan penambahan Mg serbuk dan HCl, selanjutnya dihomogenkan dan dilakukan

pengamatan terhadap perubahan yang muncul. Perubahan warna ekstrak kental daun sirsak

menjadi kuning mengindikasikan keberadaan flavonoid dalam ekstrak daun sirsak.

Tabel 2  
Hasil skrining fitokimia senyawa flavonoid

Senyawa	Pereaksi	Hasil Uji	Gambar	Keterangan
Flavonoid	Serbuk magnesium dan HCL pekat	Kuning		Positif

Keterangan :

Warna hijau (A) : sampel

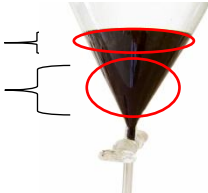
Warna kuning (B) : sampel + Mg serbuk + HCl

### Fraksinasi

Sebanyak 5 gram ekstrak kental ditimbang sebagai tahap awal fraksinasi, lalu dilarutkan menggunakan 100 mL etanol 96% dan

ditempatkan dalam corong pisah. Setelah itu, 100 mL nheksan ditambahkan, lalu campuran diagitasi setiap 15 menit hingga terbentuk dua fase yang terpisah.

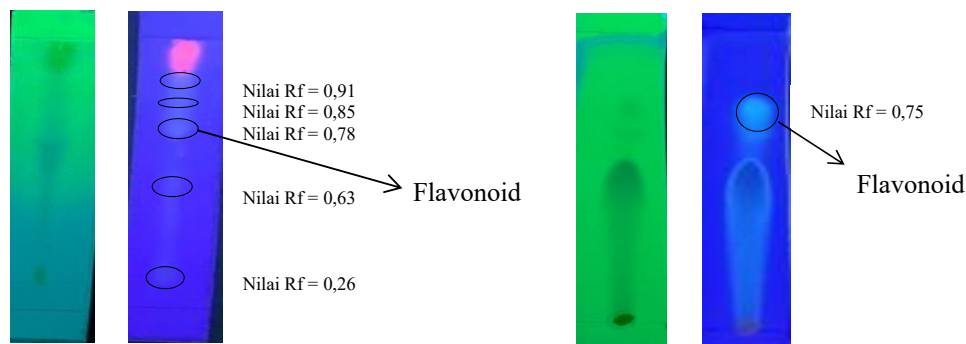
Tabel 3  
Hasil Fraksinasi

Pelarut	Berat Ekstrak	Gambar	Warna Ekstrak
N-heksan (Non-polar) Etanol (Polar)	0,71 gram 7,3 gram		Hijau kehitaman Hijau kehitaman

### Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Visualisasi noda yang muncul pada plat KLT menunjukkan bahwa warna noda sesuai dengan pembanding kuersetin yaitu warna biru muda ketika diamati dibawah sinar UV 366. Nilai  $R_F$  sebesar 0,78 pada noda ke-3 mengindikasikan keberadaan senyawa flavonoid. Nilai  $R_F$  tersebut

relatif mendekati hasil pemisahan KLT pembanding kuersetin yaitu 0,75. Kedekatan nilai  $R_F$  tersebut menguatkan dugaan bahwa ekstrak daun sirsak mengandung senyawa flavonoid (Darmawansyah et al., 2023a).



Gambar 1 Gambar 2

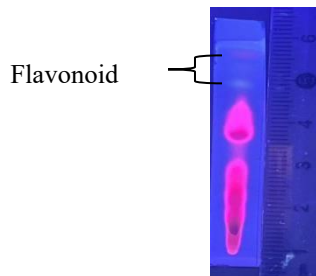
Gambar 3

Gambar 1. (1) Visualisasi noda hasil KLT etanol daun sirsak dengan UV 366 nm; (2) Visualisasi noda hasil KLT etanol daun sirsak dengan UV 254; (3) Pembanding kuersetin (Pujiastuti et al., 2022a)

### Kromatografi Kolom

Ekstrak kental dilarutkan dengan beberapa ml etanol 96% dan dimasukkan kedalam kolom secara perlahan-lahan. Ekstrak tersebut ditempatkan di atas media fase diam dan

dipisahkan menggunakan eluen berupa n-heksan : etil asetat dengan proporsi 8:2. Produk pemisahan kemudian dikumpulkan dalam vial. Elusi dihentikan ketika tidak ada lagi lapisan yang bisa dipindahkan oleh fase Gerak (Candra et al., 2023).

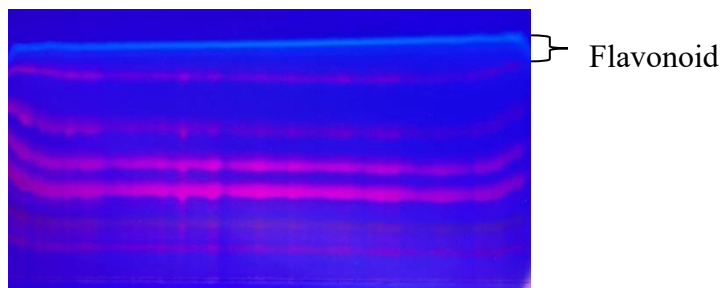


Gambar 2. Visualisasi noda dari fraksi kromatografi kolom

### Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

Gambar 3. menunjukkan hasil lempeng KLTP ketika diamati dibawah sinar UV. Proses elusi dilakukan dengan menggunakan pelarut n-heksan : etil asetat dengan perbandingan (8:2).

Berdasarkan Gambar 3, dapat dilihat bahwa senyawa flavonoid akan berfluoresensi dan menghasilkan warna merah dan biru muda intensif (Ruskim, 2023).



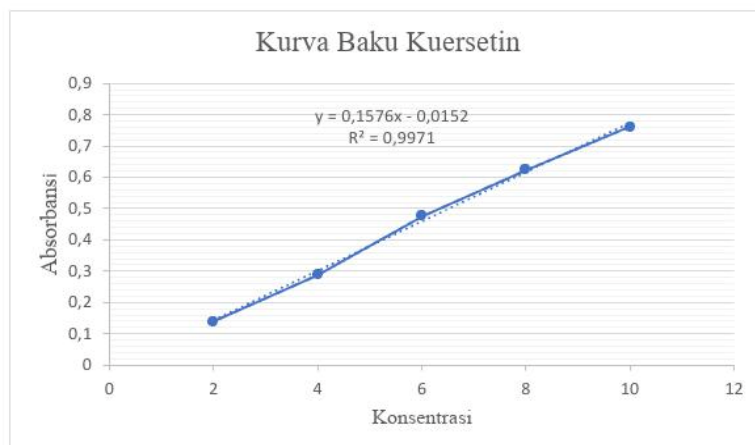
Gambar 3. Hasil KLTP yang diaamati dibawah sinar UV 366 nm

### Uji Kuantitatif

Analisis kandungan flavonoid dilaksanakan menggunakan instrumen Spektrofotometri UV-Vis, dengan kuersetin berperan sebagai standar kalibrasi. Serapan maksimum kuersetin berada pada 431 nm, yang kemudian digunakan sebagai acuan dalam perhitungan absorbansi sampel.

Selanjutnya, larutan kuersetin dibuat dalam beberapa konsentrasi, yaitu 2 hingga 10 ppm.

Merujuk pada hasil analisis yang dilakukan, diperoleh persamaan garis regresi  $y = 0.1576x - 0.0152$ . hubungan antara konsentrasi flavonoid dan serapan cahaya tampak bersifat linear, yang dibuktikan oleh koefisien korelasi ( $R^2$ ) sebesar 0,9971.



Gambar 4. Grafik kurva baku kuersetin

Penentuan kandungan flavonoid yang terdapat dalam ekstrak daun sirsak dilaksanakan dengan teknik analisis spektrofotometri UV-Vis. Hasil pengukuran menunjukkan konsentrasi flavonoid awal sebesar 0,345 µg/ml pada ulangan pertama, 0,345 µg/ml pada ulangan kedua, dan 0,346 µg/ml pada ulangan ketiga. Nilai tersebut

kemudian dihitung menggunakan persamaan penentuan kadar flavonoid ekstrak sehingga diperoleh kadar flavonoid berturut-turut sebesar 34,545 mgQE/g, 34,545 mgQE/g, dan 34,645 mgQE/g, dengan nilai rata-rata sebesar 34,578 mgQE/g ekstrak. Data pengukuran flavonoid total disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4  
Hasil pengukuran flavonoid total ekstrak daun sirsak konsentrasi 10 ppm

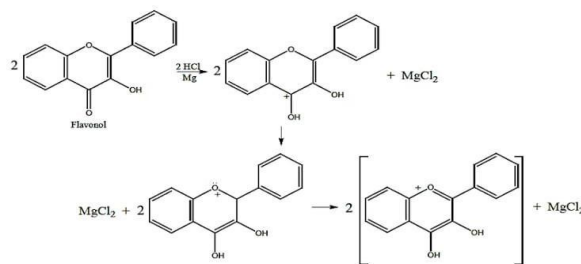
Replikasi	Abs. sampel	X (µg/ml)	X (mg/ml)	KTF (mgQE/g)	Rata-rata (%)
1	0.249	0.345	0,0003454	34.545	34,578
2	0.249	0.345	0,0003454	34.545	
3	0.25	0.346	0,0003464	34.645	

**PEMBAHASAN**

Sampel daun sirsak yang dijadikan sebagai bahan penelitian dikumpulkan dari Kelurahan Matali, Kota Kotamobagu, Sulawesi Utara. Daun yang dipilih adalah daun segar berwarna hijau tua serta tidak terserang hama. Identifikasi botani dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Institut Kesehatan dan Teknologi Graha Medika. Dari hasil penelitian yang dilakukan, ekstrak etanol daun sirsak yang diperoleh menunjukkan nilai rendemen yang memenuhi kriteria yang telah ditetapkan, yaitu lebih dari 10%. Nilai rendemen tersebut mengindikasikan bahwa proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% mampu menarik senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun sirsak secara efektif. Nilai rendemen yang semakin besar menunjukkan semakin banyak senyawa yang berhasil terestraksi dari bahan (Kemenkes, 2017). Tingginya nilai rendemen yang diperoleh dipengaruhi oleh metode maserasi dan penggunaan etanol 96% sebagai pelarut. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Budiarto et al., 2025) dimana kadar flavonoid lebih besar ketika diekstraksi menggunakan metode maserasi. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh (Helpa et al., 2024) menunjukkan bahwa kadar flavonoid lebih besar ketika diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96%. Data rendemen disajikan pada tabel 1.

Uji skrining fitokimia terhadap daun sirsak dilakukan dengan penambahan Mg serbuk dan HCl. Perubahan warna ekstrak kental daun sirsak menjadi kuning mengindikasikan keberadaan flavonoid dalam ekstrak daun sirsak. Hasil yang diperoleh sejalan dengan penelitian (Kurniawan et al., 2024), bahwa reaksi positif flavonoid ditandai oleh terbentuknya warna kuning, merah ataupun jingga. Perubahan warna

yang terjadi setelah penambahan Mg dan HCl pekat disebabkan oleh reaksi Mg dengan gugus karbonil pada struktur flavonoid. Penambahan HCl pekat selanjutnya memicu pembentukan garam favilium yang memberikan warna khas kuning, jingga hingga merah (Andriyanto et al., 2016).



Gambar 5. Reaksi yang terjadi setelah penambahan serbuk Mg + HCl

Sebanyak 5 gram ekstrak kental difraksinasi menggunakan 100 mL etanol 96% dalam corong pemisah. Setelah itu, 100 mL n-heksan ditambahkan, lalu campuran diagitasi setiap 15 menit hingga terjadi pembentukan dua fase yang terpisah. Pemisahan kedua lapisan tersebut terjadi karena perbedaan massa jenis, dimana n-heksan (0,655 g/mL) memiliki massa jenis lebih rendah dibandingkan etanol (0,789 g/mL), sehingga n-heksan berada pada lapisan atas dan etanol pada lapisan bawah (Andini et al., 2023). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Muhammad et al., 2024) perbandingan etanol 96% dan n-heksan efektif untuk pemisahan senyawa pada proses fraksinasi. Masing-masing fraksi yang diperoleh kemudian dievaporasi dan ditimbang. Data hasil fraksinasi disajikan pada tabel 3.

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis dengan tujuan untuk memperoleh bentuk noda yang baik, serta menentukan fase gerak yang

mampu menghasilkan pemisahan paling optimal. Pada pengujian ini menggunakan silika gel GF<sub>254</sub> karena dapat memancarkan cahaya fluoresen pada panjang gelombang 254 nm. Proses eluen menggunakan n-heksan : etil asetat (8:2) karena menurut perbandingan pelarut ini optimal untuk identifikasi senyawa flavonoid (Hasan et al., 2023). Visualisasi noda yang muncul pada plat KLT menunjukkan bahwa warna noda sesuai dengan pembanding kuersetin yaitu warna biru muda ketika diamati dibawah sinar UV 366. Nilai  $R_F$  sebesar 0,78 pada noda ke-3 mengindikasikan keberadaan senyawa flavonoid. Nilai  $R_F$  tersebut relatif mendekati hasil pemisahan KLT pembanding kuersetin yaitu 0,75. Kedekatan nilai  $R_F$  tersebut menguatkan dugaan bahwa ekstrak daun sirak mengandung senyawa flavonoid (Darmawansyah et al., 2023).

Fase gerak terbaik yang diperoleh setelah hasil KLT selanjutnya digunakan pada kromatografi kolom untuk proses pemisahan suatu senyawa dalam jumlah besar. Fase diam pada kolom dibuat menggunakan teknik basah. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Candra et al., 2023), dimana fase diam dibuat dengan metode basah. Produk pemisahan dikumpulkan dalam vial kemudian fraksi tersebut kemudian di uapkan. Fraksi hasil pemisahan dinalisis terlebih dahulu menggunakan KLT sebelum digunakan pada tahap KLTP. Hasil KLT dari fraksi kromatografi kolom dapat ditampilkan pada Gambar 3.

Fraksi hasil kromatografi kolom dilakukan penotolan di permukaan lempeng KLTP yang sebelumnya telah diaktifkan melalui pemanasan menggunakan oven pada suhu  $105^{\circ}\text{C} \pm 30$  menit. Proses aktivasi ini dilakukan untuk menguapkan kelembapan yang terikat pada plat permukaan lapisan KLT serta mengaktifkan gugus silanol dan siloksan pada permukaan plat (Mahdalena et al., 2022; Miranti et al., 2023). Plat KLTP selanjutnya dielusi menggunakan pelarut terpilih. Apabila pelarut telah mencapai tanda batas atas, plat KLTP dikeluarkan lalu diangin-anginkan kemudian dilakukan visualisasi noda dibawah sinar UV 254 dan 366. Noda pada hasil KLTP berpendar berwarna biru yang menandakan adanya flavonoid. Hasil noda KLTP yang diperoleh sesuai dengan penelitian (Andira et al., 2025). Penelitian yang dilaksanakan oleh (Pujiastuti et al., 2022; Ruskim et al., 2023), senyawa flavonoid akan berpendar dan berwarna hijau, biru muda, kuning. Menurut (Geissmann, 1962), beberapa flavonoid seperti antosianin, flavon, flavonol, katekin dan khalkon akan

berpendar dibawah sinar UV 366, sedangkan isoflavon, katekin, flavonon, leukoantosianin tidak berwarna.

Analisis kandungan flavonoid dilaksanakan melalui instrumen Spektrofotometri UV-Vis dengan kuersetin berperan sebagai standar kalibrasi. Serapan maksimum kuersetin berada pada 431 nm, yang kemudian digunakan sebagai acuan dalam perhitungan absorbansi sampel. Pada pengukuran kadar total flavonoid dari sampel ekstrak daun sirsak, kuersetin dimanfaatkan sebagai standar referensi. Pemilihan kuersetin didasarkan pada sifatnya sebagai salah satu flavonol, yaitu salah satu subkelompok flavonoid yang tersebar luas pada beragam spesies tumbuhan (Jatmiko & Mursiti, 2021). Selanjutnya, larutan kuersetin dibuat dalam beberapa konsentrasi, yaitu 2 hingga 10 ppm. Pembuatan variasi konsentrasi ini bertujuan membentuk kurva kalibrasi yang menghasilkan persamaan linear sebagai dasar penentuan konsentrasi flavonoid pada sampel (Nurmila et al., 2019).

Tahap berikutnya yaitu melakukan pengujian terhadap larutan blanko (larutan yang tidak mengandung sampel) yang digunakan sebagai referensi untuk menetapkan titik nol absorbansi, sehingga absorbansi yang terukur hanya berasal dari komponen yang dianalisis dalam sampel (Krisdiyanto & Sa'ad, 2023). Penentuan kadar flavonoid total pada sampel dilakukan dengan menambahkan pereaksi  $\text{AlCl}_3$  ke dalam larutan sampel. Pereaksi tersebut berfungsi membentuk kompleks asam yang stabil melalui ikatan dengan gugus karbonil pada atom C-4 serta gugus hidroksil pada posisi C-3 dan C-5 pada senyawa flavon dan flavonol. Selain itu,  $\text{AlCl}_3$  juga mampu membentuk kompleks asam yang kurang stabil dengan gugus ortodihidroksil pada cincin A maupun cincin B flavonoid, sehingga menghasilkan serapan maksimum pada panjang gelombang 431 nm. Penambahan kalium asetat bertujuan mempertahankan kestabilan panjang gelombang serapan di daerah cahaya tampak. Sebelum pengukuran dilakukan, larutan terlebih dahulu diinkubasi selama 30 menit agar reaksi berlangsung sempurna, sehingga pembentukan warna menjadi lebih optimal dan intensitas serapan yang dihasilkan maksimal (Safira et al., 2023).

Merujuk pada hasil analisis yang dilakukan, diperoleh persamaan garis regresi  $y = 0.1576x - 0.0152$ . Hubungan antara konsentrasi flavonoid dan serapan cahaya tampak bersifat linear, yang dibuktikan oleh koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,9971. Nilai  $R^2$  yang mendekati

angka satu mengindikasikan bahwa tingkat linearitas pada model regresi tersebut tinggi. Grafik dari persamaan linear yang dapat dilihat pada Gambar 4.

Analisis dilakukan pada panjang gelombang maksimum 431 nm, yang merupakan  $\lambda_{max}$  kuersetin dalam kondisi analisis. Serapan pada panjang gelombang ini disebabkan oleh transisi elektron  $\pi \rightarrow \pi^*$  pada sistem terkonjugasi flavonoid. Flavonol tanpa substituen berada pada kisaran 352-385 nm karena adanya sistem kromofor yang telah terkonjugasi dengan cincin aromatik (Mabry et al., 1970). Gugus orto-dihidroksil pada flavonol mendapatkan penambahan nilai panjang gelombang 12-30 nm (Intekhab & Aslam, 2011). Untuk perluasan konjugasi mendapatkan penambahan 30 nm, dan untuk kontribusi karbonil, mendapatkan penambahan panjang gelombang sebesar 12 nm dan untuk pelarut etanol terjadi pengurangan panjang gelombang yaitu -1 nm (Mehta, 2012).

Penentuan kandungan flavonoid yang terdapat dalam ekstrak daun sirsak dilaksanakan dengan teknik analisis spektrofotometri UV-Vis, dimana kuersetin digunakan sebagai senyawa rujukan dalam penentuan kadar. Hasil pengukuran menunjukkan konsentrasi flavonoid awal sebesar 0,345  $\mu\text{g/ml}$  pada ulangan pertama, 0,345  $\mu\text{g/ml}$  pada ulangan kedua, dan 0,346  $\mu\text{g/ml}$  pada ulangan ketiga. Nilai tersebut kemudian dihitung menggunakan persamaan penentuan kadar flavonoid ekstrak sehingga diperoleh kadar flavonoid berturut-turut sebesar 34,545 mgQE/g, 34,545 mgQE/g, dan 34,645 mgQE/g, dengan nilai rata-rata sebesar 34,578 mgQE/g ekstrak. Data pengukuran flavonoid total disajikan pada Tabel 4.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis, dapat disimpulkan bahwa teknik spektrofotometri UV-Vis efektif diterapkan untuk analisis serta pemisahan senyawa flavonoid pada daun sirsak. Pengujian menunjukkan bahwa flavonoid pada ekstrak etanol daun sirsak mencapai puncak serapan pada panjang gelombang 431 nm, menggunakan kuersetin sebagai standar referensi. Dari hasil tersebut diperoleh kadar flavonoid total sebesar 34,578 mgQE/g ekstrak.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada berbagai pihak yang telah memberikan dukungan selama pelaksanaan penelitian ini. Terima kasih kepada Institut Kesehatan dan Teknologi Graha

Medika yang telah menyediakan fasilitas yang menunjang kegiatan penelitian. Terima kasih kepada Dosen pembimbing atas masukan, arahan, serta bimbingan yang diberikan. Kontribusi tersebut memiliki peran yang sangat penting dalam keberhasilan penelitian ini.

## REFERENSI

- Andini, N. V., Sayekti, E., & Alimuddin, A. H. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan Daun Benalu (*Dendrophloe pentandra* (L.) Miq.) Dari Tanaman Jeruk Sambal Dengan Metode DPPH Antioksidan. *E-Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 10(2), 45–56. <https://doi.org/10.24198/jthp.v1i1.23977>
- Andira, A. Jufri, U. & Faizal, M. (2025). Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol 96% Cacing Tambelo (*Bactronophorus Thoracites*) Menggunakan Metode KLT. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, <http://jurnal.unw.ac.id/index.php/ijpnp>
- Andriyanto, B. E., Ardiningsih, P., & Idiawati, N. (2016). Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Belimbing Hutannya (*Baccaurea angulata* Merr.). *JKK*, 5(4), 9–13.
- Angela, M. P. B., Danang, R., & Annie, R. (2025). Pengaruh Metode Ekstraksi Maserasi dan Infudasi terhadap Kadar Flavonoid Total serta Aktivitas Antioksidan Daun Kunyit (*Curcuma Longa* L.). *Jurnal Kesehatan Amanah*, 9(2), 196–206. <https://doi.org/10.57214/jka.v9i2.943>
- Candra, R. M., Isnindar, & Luliana, S. (2023). Isolasi Dan Identifikasi Terpenoid Fraksi Heksan Daun *Premna serratifolia* L. Menggunakan GC-MS. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research (JSSCR)*, 5(2), 363–371.
- Darmawansyah, A., Nurlansi, & Haeruddin. (2023a). Pemisahan Senyawa Terpenoid Ekstrak n-Heksan Daun Kaembu-Embu (*Blumea balsamifera*) Menggunakan Kromatografi Kolom Gravitasi. *Sains: Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia*, 12(1), 24–30. <https://doi.org/10.36709/sains.v12i1.29>
- Darmawansyah, A., Nurlansi, & Haeruddin. (2023b). Pemisahan Senyawa Terpenoid Ekstrak n-Heksan Daun Kaembu-Embu (*Blumea balsamifera*) Menggunakan Kromatografi Kolom Gravitasi. *Sains: Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia*,

- 12(1), 24–30.  
<https://doi.org/10.36709/sains.v12i1.29>
- Geissmann, T. A. (1962). *The Chemistry of Flavonoids Compounds*.
- Hasan, H., Andy Suryadi, A. M., Bahri, S., & Widiastuti, N. L. (2023). Penentuan Kadar Flavonoid Daun Rumpuk Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 5(2), 200–211.  
<https://doi.org/10.37311/jsscr.v5i2.19371>
- Helpa Adriana, U., Marcelia, S., & Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Malahayati, P. (2024). Uji AKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum x africanum* Lour.) DAN PANDAN WANGI (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) SEBAGAI ANTIBAKTERI PADA *Salmonella typhi*. In *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan* (Vol. 11, Number 1).  
<http://ejournalmalahayati.ac.id/index.php/kesehatan>
- Intekhab, J., & Aslam, M. (2011). Isolation of a flavone glucoside from *Glycosmis mauritiana* (Rutaceae). *Arabian Journal of Chemistry*, 4(1), 79–81.  
<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.06.023>
- Jatmiko, M. P., & Mursiti, S. (2021). Isolation, Identification, and Activity Test of Flavonoid Compounds in Jamblang Leaves (*Syzygium cumini* L.) Skeel as Antioxidants. *Indonesia Journal of Chemical Science*, 10(2), 129–138.
- Kemenkes, I. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia* (Edisi II). kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Krisdiyanto, & Sa'ad, M. (2023). *Pharmacy Medical Journal Vol.6 No.1, 2023*. 6(1), 34–42.
- Kurniawan, T. D., Elfia, M., & Hikmawati. (2024). PENGARUH LAMA SONIKASI TERHADAP KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOL 70% DAUN SIRSAK GUNUNG (*Annona montana* Macf.). *Ensiklopedia of Journal*, 6(4), 30–39.
- Mabry, T. J., Markham, K. R., & Thomas, M. B. (1970). *The Ultraviolet Spectra of Flavones and Flavonols BT - The Systematic Identification of Flavonoids* (T. J. Mabry, K. R. Markham, & M. B. Thomas, Eds.; pp. 41–164). Springer Berlin Heidelberg.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-642-88458-0\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-642-88458-0_5)
- Mahdalena, Hakim, A. R., & Darsono, P. V. (2022). PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL FRAKSI N-BUTANOL DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS TERHADAP EKSTRAK DAUN SUKUN (*Artocarpus altilis*). *Sains Medisina*, 1(1), 1–8.
- Mehta, A. (2012). *Ultraviolet-Visible (UV-Vis) Spectroscopy – Sample Problems Using Woodward-Fieser Rules*. 1–8.
- Midi Candra, R., Isnindar, I., & Luliana, S. (2023). Isolasi Dan Identifikasi Terpenoid Fraksi Heksan Daun *Premna serratifolia* L. Menggunakan GC-MS. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 5(2).  
<https://doi.org/10.37311/jsscr.v5i2.15311>
- Miranti, M. R., Anisyah, L., & Hasana, A. R. (2023). Uji Kandungan Rhodamin B Pada Sediaan Masker Wajah Di Kota X Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Farmasi Ma Chung: Sains Teknologi Dan Klinis Komunitas*, 1(2), 8–13.
- Muhammad, A. Azis, Tatiana, S. W., & Anna, F. (2024). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi n-Heksan, Etil Asetat, Air Kulit Buah Naga Putih (*Hylocereus Undatus*) Terhadap *Staphylococcus Epidermidis* ATCC 12238. *OBAT: Jurnal Riset Ilmu Farmasi Dan Kesehatan*, 2(4), 41–56.  
<https://doi.org/10.61132/obat.v2i4.478>
- Nurmila, Sinay, H., & Watuguly, T. (2019). IDENTIFIKASI DAN ANALISIS KADAR FLAVONOID EKSTRAK GETAH ANGSANA (*Pterocarpus indicus* Willd) DI DUSUN WANATH KECAMATAN LEIHITU KABUPATEN MALUKU TENGAH. *Biopendix*, 5(2), 65–71.
- Pujiastuti, A., Erwiyani, A. R., & Sunnah, I. (2022a). Perbandingan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Labu Kuning dengan Variasi Pelarut. *Journal of Holistics and Health Sciences*, 4(2).
- Pujiastuti, A., Erwiyani, A. R., & Sunnah, I. (2022b). Perbandingan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Labu Kuning dengan Variasi Pelarut.

*Journal of Holistics and Health Sciences*,  
4(2).

- Ruskim, J., Budiono, R., Oktavianti, N. D., & Setiawan, F. (2023). Isolasi berbasis aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 80% kulit batang faloak (*Sterculia quadrifida* R. Br.). *Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy)*, 102–115.
- Safira, F., Handayani, V., & Pratama, M. (2023). Penetapan Kadar Flavonoid Total Pada Ekstrak Buah Dengan ( *Dillenia serrata* Thumb ) Kecamatan Nuha Kabupaten Luwu Timur Provinsi Sulawesi Selatan dan bagian sampel yang. *Makassar Natural Product Journal*, 1(4), 260–267.