

Determination of Total Flavonoid Content from the Ethyl Acetate Fraction of Soursop Leaves (*Annona muricata* L.) Using the UV-Vis Spectrophotometry Method

Penetapan Kadar Flavonoid Total dari Fraksi Etil Asetat Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis

Nadia Ananda ^a, Ainil Fithri Pulungan ^{a*}, Haris Munandar Nasution ^a, Anny Sartika Daulay ^a

^a Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah, Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

*Corresponding Authors: ainilfithri@umnaw.ac.id

Abstract

Background: The use of plants as traditional medicine is supported by their bioactive compounds, particularly secondary metabolites such as flavonoids. Soursop leaves (*Annona muricata* L.) are known to be rich in these compounds; however, quantitative data, especially in specific fractions, remain limited. Determining the total flavonoid content is essential for the standardization of herbal raw materials. **Objective:** This study aimed to identify the classes of chemical compounds present in the ethanol extract and ethyl acetate fraction of soursop leaves and to determine the total flavonoid content of both samples. **Methods:** Soursop leaf simplicia was extracted using 70% ethanol by the maceration method. The resulting ethanol extract was then fractionated with ethyl acetate. Phytochemical screening was conducted to identify compound classes, while the determination of total flavonoid content was quantitatively analyzed using the UV-Vis spectrophotometry method with quercetin as the standard. **Results:** Phytochemical screening revealed that both the ethanol extract and the ethyl acetate fraction tested positive for alkaloids, flavonoids, tannins, and steroids/triterpenoids. The total flavonoid content obtained in the ethanol extract was 31.524 ± 0.1524 mg QE/g, while the ethyl acetate fraction showed a significantly higher content of 41.425 ± 0.1363 mg QE/g. **Conclusion:** Fractionation with ethyl acetate effectively concentrated flavonoid compounds from the crude soursop leaf extract, as indicated by the higher total flavonoid content in the ethyl acetate fraction. These findings support the potential of the ethyl acetate fraction of soursop leaves as a source of flavonoids for the development of standardized herbal medicines.

Keywords: Soursop, Flavonoid, Uv-Vis Spectrophotometry.

Abstrak

Latar Belakang: Penggunaan tumbuhan sebagai obat tradisional didukung oleh kandungan senyawa bioaktifnya, khususnya metabolit sekunder seperti flavonoid. Daun sirsak (*Annona muricata* L.) dikenal kaya akan senyawa tersebut, namun data kuantitatif khususnya pada fraksi spesifik masih terbatas. Penentuan kadar flavonoid total penting untuk standarisasi bahan baku herbal. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi golongan senyawa kimia dalam ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun sirsak serta menentukan kadar flavonoid total dari kedua sampel tersebut. **Metode:** Siplisia daun sirsak diekstraksi menggunakan etanol 70% melalui metode maserasi. Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian difraksinasi dengan etil asetat. Identifikasi golongan senyawa dilakukan melalui skrining fitokimia, sedangkan penetapan kadar flavonoid total dianalisis secara kuantitatif menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis dengan kuersetin sebagai standar. **Hasil:** Skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi etil asetat positif mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, dan steroid/triterpenoid. Kadar flavonoid total yang diperoleh pada ekstrak etanol adalah $31,524 \pm 0,1524$ mg QE/g, sedangkan pada fraksi etil asetat significantly lebih tinggi, yaitu $41,425 \pm 0,1363$ mg QE/g. **Kesimpulan:** Fraksinasi dengan etil asetat efektif dalam memekatkan senyawa flavonoid dari ekstrak kasar daun sirsak, yang ditunjukkan oleh kadar flavonoid total fraksi etil asetat yang

lebih tinggi. Hasil ini mendukung potensi fraksi etil asetat daun sirsak sebagai sumber senyawa flavonoid untuk pengembangan obat herbal terstandar.

Kata Kunci: Daun sirsak, Flavonoid, Spektrofotometri Uv-Vis.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received:14/06/2025,
Revised:20 /08/2025,
Accepted:23/08/2025,
Available Online:25/08/2025.

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i3.1023>

Pendahuluan

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik yang banyak ditemukan pada tumbuhan dan telah dilaporkan memiliki beragam aktivitas biologis, termasuk antioksidan, antikanker, antidiabetes, dan antiinflamasi [1,2]. Aktivitas farmakologis tersebut menjadikan penentuan kadar flavonoid total sebagai langkah penting dalam upaya standardisasi bahan baku obat herbal [3–5].

Daun sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan salah satu tanaman obat yang telah dilaporkan mengandung flavonoid berdasarkan uji fitokimia kualitatif [1,6]. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan [4,7]. Namun, data kuantitatif mengenai kadar flavonoid total masih terbatas, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut untuk memberikan gambaran yang lebih spesifik mengenai potensi farmakologisnya.

Salah satu pendekatan untuk meningkatkan konsentrasi senyawa aktif adalah melalui fraksinasi. Teknik ini memisahkan senyawa berdasarkan kepolaran pelarut, sehingga dihasilkan fraksi yang lebih kaya akan senyawa target [8]. Etil asetat dipilih karena sifat semipolarnya sesuai dengan karakter flavonoid aglikon, sehingga diharapkan dapat memberikan konsentrasi flavonoid total lebih tinggi dibandingkan ekstrak kasar atau fraksi non-polar [9,10]. Berdasarkan sifat like-dissolve-like, senyawa semi-polar tersebut akan terpartisi optimal ke dalam fraksi etil asetat dibandingkan ekstrak kasar etanol yang polar atau fraksi n-heksana yang non-polar [9]. Beberapa studi sebelumnya juga menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun sirsak mengandung flavonoid dengan aktivitas antioksidan yang signifikan [7,11].

Penentuan kadar flavonoid total umumnya dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis menggunakan standar rutin atau ekuivalen senyawa flavonoid lain pada panjang gelombang tertentu [12]. Metode ini telah digunakan secara luas pada berbagai tanaman termasuk daun sirsak, dan terbukti mampu memberikan data kuantitatif yang dapat mendukung standardisasi herbal [3,4].

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar flavonoid total pada fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* L.). Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah dalam penyediaan data kuantitatif flavonoid yang relevan bagi pengembangan obat herbal berbasis daun sirsak yang terstandarisasi.

Metode Penelitian

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dilakukan di laboratorium. Rancangan Penelitian ini meliputi pengumpulan dan pengolahan sampel, karakterisasi simplisia, pembuatan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* L.), skrining fitokimia, dan penetapan kadar

flavonoid total ekstrak etanol dan fraksi etil asetat, fraksi Etil Asetat daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

Alat dan Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan meliputi: daun sirsak, etanol 70%, etil asetat, metanol, asam asetat anhidrida, asam nitrat, asam sulfat, amil alkohol, besi(III) klorida, bismut(III) nitrat, iodium, kalium iodida, serbuk magnesium, raksa(II) klorida, alfa-naftol, timbal(II) asetat, toluena, kloroform, akuades, asam klorida, kuersetin, aluminium klorida, dan natrium asetat.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: blender, botol berwarna gelap, rotary evaporator, alas bulat, corong pisah, kapas, tisu, aluminium foil, timbangan analitik, pipet tetes, batang pengaduk, corong, gelas ukur, erlenmeyer, gelas beaker, tabung reaksi, labu ukur, cawan penguap, krus porselen, hot plate, dan seperangkat alat spektrofotometer UV-Vi

Pengambilan Sampel Tumbuhan

Sampel daun sirsak yang digunakan pada penelitian ini. Metode pengambilan dilakukan dengan cara *purposive*. Sampel diambil pada satu tempat atau daerah saja tidak membandingkannya dengan daerah lain.

Determinasi Tumbuhan

Determinasi tumbuhan dilakukan oleh Herbarium Medanense (MEDA) Universitas Sumatera Utara terhadap daun sirsak yang diteliti.

Pengolahan Simplisia

Sampel daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang masih segar dikumpulkan disortasi basah untuk memisahkan cemaran (kotoran dan bahan asing lain) dari bahan simplisia dan ditimbang berat basahnya. Kemudian dikeringkan di dalam lemari pengering hingga kering dan dilakukan sortasi kering yaitu membuang benda-benda asing yang tertinggal pada simplisia. Kemudian ditimbang berat keringnya, dihaluskan dengan blender. Pembuatan serbuk halus bertujuan untuk memaksimalkan proses ekstraksi, semakin kecil ukuran serbuk semakin besar luas permukaannya sehingga interaksi sampel dengan pelarut akan semakin efektif.

Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi simplisia daun sirsak (*Annona muricata* L.) dilakukan melalui serangkaian pengujian meliputi pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik, penetapan kadar air, kadar sari larut dalam air, kadar sari larut dalam etanol, serta penentuan kadar abu total dan abu tidak larut asam. Pemeriksaan makroskopik dilakukan terhadap daun segar dengan mengamati warna, bentuk, bau, dan ukuran, sedangkan pemeriksaan mikroskopik dilakukan pada serbuk simplisia menggunakan larutan kloralhidrat sebagai pereaksi dan diamati di bawah mikroskop. Penetapan kadar air menggunakan metode azeotropi (destilasi toluen), dengan perhitungan hasil destilasi dinyatakan dalam persen terhadap bobot sampel kering. Kadar sari larut dalam air dan etanol masing-masing ditentukan melalui proses maserasi selama 24 jam, diikuti penguapan filtrat dan penghitungan bobot residu kering. Penetapan kadar abu total dilakukan dengan pemijaran serbuk simplisia pada suhu 600°C hingga bobot tetap, sedangkan kadar abu tidak larut asam ditentukan dengan memanaskan abu total dalam larutan HCl 2 N, menyaring residu, memijarkannya kembali, lalu menghitung persen kandungan terhadap bobot sampel kering [13].

Pembuatan Larutan Pereaksi

Pembuatan larutan pereaksi Bouchardat dibuat dengan melarutkan 4 g kalium iodida dalam 20 mL akuades, ditambahkan 2 g iodium secara bertahap, lalu diencerkan hingga 100 mL [14]. Larutan Mayer disiapkan dengan melarutkan 1,569 g raksa(II) klorida dalam air suling hingga 100 mL, sedangkan 5 g kalium iodida dilarutkan dalam 10 mL air suling, kemudian kedua larutan dicampur dan diencerkan hingga 100 mL. Larutan Dragendorff diperoleh dengan melarutkan 0,8 g bismut(III) nitrat dalam 20 mL asam nitrat pekat, dicampur dengan 27,2 g kalium iodida dalam 50 mL air suling, diendapkan hingga terpisah, diambil lapisan jernih, dan diencerkan sampai 100 mL. Larutan asam klorida 2 N dibuat dengan mengencerkan 17 mL asam klorida pekat dalam akuades hingga 100 mL. Larutan Lieberman-Burchard disiapkan dengan mencampurkan 5 bagian volume asam sulfat pekat dengan 50 bagian volume etanol 95%, kemudian ditambahkan 5 bagian volume asam asetat anhidrida dan didinginkan. Larutan besi(III) klorida 1% dibuat dengan melarutkan 1 g

besi(III) klorida dalam akuades hingga 100 mL, larutan Molisch dengan melarutkan 3 g alfa-naftol dalam asam nitrat 0,5 N hingga tanda 100 mL, dan larutan timbal(II) asetat 0,4 M dengan melarutkan 15,17 g timbal(II) asetat dalam air suling bebas CO₂ hingga 100 mL [14].

Pembuatan Ekstrak Etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.)

Pembuatan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dilakukan dengan cara maserasi. Sebanyak 500 g serbuk simplisia dimasukkan ke dalam bejana, dituangi dengan pelarut etanol 70 % sebanyak 3750 mL, didiamkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk, lalu diperas sehingga diperoleh maserat I. Kemudian ampas yang diperoleh dibilas dengan etanol 70 % sebanyak 1250 mL, pindahkan ke dalam satu bejana tertutup (maserat I dan maserat II) biarkan ditempat yang sejuk terlindung dari cahaya matahari selama 2 hari, kemudian enap tuangkan atau disaring sehingga diperoleh hasil maserat, lalu dipekatkan dengan cara diuapkan pada *rotary evaporator* dengan suhu tidak lebih dari 50 °C hingga diperoleh ekstrak kental [15].

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

Pembuatan Fraksi

Ekstraksi cair-cair dilakukan berturut-turut dengan pelarut n-heksana dan etil asetat. Sebanyak 40 gram ekstrak etanol dilarutkan dalam 100 mL etanol 70% dan ditambahkan 100 mL aquadest lalu dimasukkan ke dalam corong pisah, kemudian ditambah larutan n-heksana 200 mL, digojok dan didiamkan hingga terpisah sempurna. Fase n-heksana akan berada pada bagian atas dan fase etanol-air berada pada bagian bawah, kemudian dipisahkan. Fase etanol-airnya diekstraksi lagi dengan n-heksana sebanyak 8 kali. Fase etanol-air kemudian ditambahkan dengan etil asetat 200 mL, digojok dan didiamkan hingga terpisah sempurna. Fase etil asetat akan berada pada bagian atas dan fase etanol-air berada pada bagian bawah, kemudian dipisahkan. Fase etanol-airnya diekstraksi lagi dengan etil asetat sebanyak 8 kali. Kemudian larutan n-heksana dan larutan etil asetat yang dihasilkan masing-masing dipekatkan hingga didapatkan fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat [16].

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* L.) dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid/triterpenoid, dan glikosida. Uji alkaloid dilakukan dengan penambahan pereaksi Mayer, Bouchardat, dan Dragendorff pada filtrat hasil perlakuan, dengan hasil positif ditandai pembentukan endapan atau perubahan warna pada sedikitnya dua dari tiga uji [17]. Uji flavonoid menggunakan metode serbuk magnesium dengan hasil positif berupa warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol [17]. Uji tanin dilakukan dengan pereaksi besi(III) klorida 1% yang memberikan warna biru kehitaman atau hijau kehitaman [17]. Uji saponin melibatkan pengocokan larutan sampel hingga membentuk buih stabil yang tidak hilang setelah penambahan asam klorida 2 N [17]. Uji steroid/triterpenoid dilakukan dengan pereaksi Liebermann-Burchard, menghasilkan warna biru/hijau untuk steroid dan merah/ungu untuk triterpenoid [17]. Uji glikosida dilakukan melalui serangkaian ekstraksi, presipitasi, dan reaksi Molisch, dengan cincin ungu pada batas cairan sebagai indikator positif [18].

Penetapan Kadar Flavonoid Total

Pembuatan Larutan Kuersetin

Sebanyak 25 mg kuersetin ditimbang dan dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 25 mL hingga tanda untuk memperoleh larutan induk baku I (LIB I, 1.000 µg/mL). Selanjutnya, 5 mL LIB I diencerkan dengan metanol dalam labu ukur 50 mL hingga tanda untuk memperoleh larutan induk baku II (LIB II, 100 µg/mL).

Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Sebanyak 0,4 mL larutan induk baku II (LIB II) dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL (konsentrasi akhir 4 µg/mL), kemudian ditambahkan 0,1 mL aluminium klorida (AlCl₃) 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, dan 2,8 mL akuades. Selanjutnya, ditambahkan metanol hingga tanda batas, dihomogenkan, dan didiamkan selama 30 menit. Pengukuran serapan dilakukan pada rentang panjang gelombang 400–800 nm, dan hasilnya menunjukkan bahwa kuersetin memiliki panjang gelombang maksimum pada 436 nm [19].

Pengukuran Operating Time

Sebanyak 0,4 mL larutan induk baku II (LIB II) dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL (konsentrasi akhir 4 µg/mL), kemudian ditambahkan 0,1 mL aluminium klorida (AlCl₃) 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, dan 2,8 mL akuades. Selanjutnya, ditambahkan metanol hingga tanda batas, dihomogenkan, dan dilakukan pengukuran *operating time* kuersetin selama 60 menit pada panjang gelombang 436 nm [19].

Pembuatan Kurva Kalibrasi Kuersetin

Sebanyak 25 mg kuersetin ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL, kemudian ditambahkan metanol hingga tanda batas untuk memperoleh larutan induk baku I (LIB I) dengan konsentrasi 1000 µg/mL. Selanjutnya, sebanyak 5 mL LIB I dipipet ke dalam labu ukur 50 mL, ditambahkan metanol hingga tanda batas untuk menghasilkan larutan induk baku II (LIB II) dengan konsentrasi 100 µg/mL. Dari LIB II, dibuat seri konsentrasi dengan memipet masing-masing 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; dan 0,6 mL ke dalam labu ukur 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi akhir 2, 3, 4, 5, dan 6 µg/mL, kemudian ditambahkan metanol hingga tanda batas. Dari masing-masing larutan tersebut, dipipet 1 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan 1,5 mL metanol, 0,1 mL aluminium klorida 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, serta 2,8 mL akuades, kemudian ditambahkan metanol hingga tanda batas. Larutan dihomogenkan, didiamkan selama 6–9 menit, dan diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum 436 nm [19].

Penetapan Kadar Flavonoid Total dari Ekstrak Etanol dan Fraksi Etil Asetat Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat, daun sirsak (*Annona muricata* L.) ditimbang sebanyak 25 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL ditambah metanol sampai tanda batas (C= 1000 µg/mL), lalu di pipet 1 mL dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL kemudian ditambahkan dengan 1,5 mL metanol, 0,1 mL aluminium klorida 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, ditambahkan 2,8 mL aquades, lalu dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda, dihomogenkan dan didiamkan selama 6-9 menit. Diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum 436 nm. Sampel dibuat dalam enam replikasi untuk setiap analisis dan diperoleh nilai rata-rata absorbansi [19].

Perhitungan Kadar Flavonoid

Perhitungan kadar total flavonoid pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* L.) dilakukan berdasarkan nilai absorbansi sampel yang diperoleh dari konsentrasi kuersetin dengan menggunakan persamaan garis regresi linear: $y = a + bx$, di mana y adalah luas kurva, a merupakan intercept (titik perpotongan garis), b adalah slope (kemiringan garis), dan x adalah konsentrasi sampel. Nilai absorbansi sampel yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam rumus perhitungan kadar flavonoid:

$$\text{Kadar (g/g)} = \frac{C \times V \times Fp}{W}$$

Keterangan: C adalah konsentrasi sampel (mg/mL), V adalah volume larutan sampel (mL), Fp adalah faktor pengenceran, dan W adalah berat sampel (g) (Winahyu dkk., 2019).

Hasil Dan Pembahasan

Hasil Identifikasi Sampel

Hasil identifikasi sampel yang dilakukan di Laboratorium *Herbarium Medanese* (MEDA) Universitas Sumatera Utara menunjukkan bahwa tumbuhan daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang diteliti termasuk famili *Annonaceae*.

Hasil Pengolahan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.) Berat basah 8000 gram kemudian berat sampel setelah pengeringan dan diperoleh berat serbuk simplisia adalah 1520 gram . metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%, diperoleh ekstrak kental berwarna coklat kehitaman dengan bau yang khas.

Hasil Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

Penetapan karakterisasi simplisia dilakukan untuk mengetahui kualitas simplisia sehingga kriteria umum kualitas simplisia dapat terpenuhi dan menjamin mutu dan efek farmakologinya. Penetapan karakterisasi ini dilakukan sesuai dengan prosedur yang telah ditetapkan dalam Materia Medika Indonesia. Berdasarkan hasil dari karakterisasi simplisia pada pengujian makroskopik, bentuk fisik dari daun sirsak (*Annona muricata* L.) yaitu berwarna hijau.

Tabel 1 Hasil Pemeriksaan Karakterisasi Simplisia Daun Sirsak (*Annona muricata* L.

No	Parameter	Rata-rata	MMI (%)
1	Kadar Air	6%	<10
2	Kadar Sari Larut Air	13,46%	>7
3	Kadar Sari Larut Etanol	13,17%	>3,5
4	Kadar Abu Total	1,75%	<8
5	Kadar Abu Tidak Larut Asam	0,8%	<1

Berdasarkan Tabel 1, seluruh parameter karakterisasi simplisia daun sirsak memenuhi persyaratan yang ditetapkan oleh Materia Medika Indonesia (MMI). Kadar air sebesar 6% (di bawah batas maksimal 10%) menjamin stabilitas simplisia dengan meminimalkan pertumbuhan jamur dan kapang selama penyimpanan, sehingga aktivitas biologinya tetap terjaga. Kadar sari larut air (13,46%) dan kadar sari larut etanol (13,17%) yang tinggi menunjukkan bahwa simplisia kaya akan kandungan senyawa aktif polar hingga semipolar yang dapat terekstrak dengan baik. Sementara itu, kadar abu total (1,75%) dan abu tidak larut asam (0,8%) yang rendah mengindikasikan kemurnian simplisia yang tinggi dengan kontaminan mineral anorganik yang minimal. Secara keseluruhan, hasil karakterisasi ini membuktikan bahwa simplisia daun sirsak yang digunakan merupakan bahan baku yang memenuhi standar mutu farmakope sehingga dapat menjamin efek farmakologis yang konsisten dan keamanan dalam penggunaannya [20].

Penetapan kadar sari yang larut dalam air menyatakan jumlah zat yang tersari dalam pelarut air (bersifat polar) yang terkandung dalam simplisia, pada penelitian ini diperoleh hasil penetapan kadar sari yang larut dalam air pada simplisia daun sirsak yaitu 13,46%. Penetapan kadar sari yang larut dalam etanol menyatakan jumlah zat yang tersari dalam pelarut etanol (bersifat polar atau non polar), pada penelitian ini diperoleh hasil penetapan kadar sari yang larut dalam etanol pada simplisia daun sirsak yaitu 13,17%. Penetapan kadar abu total simplisia daun sirsak pada penelitian ini diperoleh sebesar 1,75% kadar abu yang didapatkan memenuhi persyaratan yaitu tidak lebih dari 8%. Penetapan kadar abu tidak larut asam pada penelitian ini hasilnya diperoleh sebesar 0,8% kadar tersebut memenuhi persyaratan yaitu tidak lebih dari 1%.

Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Metode maserasi merupakan metode sederhana yang sering digunakan untuk menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil [21].

Hasil ekstraksi dari 500 gram serbuk simplisia daun sirsak diperoleh ekstrak kental 119,5 gram dengan ekstrak berwarna coklat kehitaman. Metode fraksinasi yang digunakan adalah partisi cair-air. Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan sifat kepolarannya. Hasil fraksi etil asetat yang didapat yaitu 6,003 gram. Hasil ini menunjukkan bahwa proses fraksinasi berhasil memisahkan dan memekatkan senyawa flavonoid (bersifat semipolar) dari pengotor lain yang lebih polar (tertinggal dalam fase air) atau non-polar (terekstrak dalam fraksi n-heksana) yang ada dalam ekstrak kasar. Dengan demikian, fraksi etil asetat yang dihasilkan memiliki kemurnian dan konsentrasi flavonoid total yang lebih tinggi, seperti yang terbukti dari hasil analisis kuantitatif.

Hasil Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun sirsak (*Annona muricata* L.) dapat dilihat pada tabel 2. Berdasarkan tabel 2 hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol mengandung senyawa kimia alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan glikosida. Fraksi etil asetat menunjukkan adanya senyawa kimia golongan alkaloid, flavonoid, tanin, steroid, dan glikosida.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol dan Fraksi Etil Asetat Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

No	Golongan Senyawa	Ekstrak	Etanol	Fraksi Etil Asetat
1	Alkaloid	+		+
2	Flavonoid	+		+
3	Tanin	+		+
4	Saponin	+		-
5	Steroid/ Triterpenoid	+ Steroid		- Steroid
6	Glikosida	+		+

Keterangan:

(+) Positif: Mengandung golongan senyawa

(-) Negatif: Tidak mengandung golongan senyawa

Pada uji alkaloid menyatakan reaksi positif pada ekstrak etanol, dan fraksi etil asetat daun sirsak dengan terbentuknya endapan. Alkaloid merupakan senyawa yang mengandung asam nitrogen yang bersifat basa. Penambahan HCL pada uji alkaloid bertujuan untuk mengekstrak alkaloid yang bersifat basa dengan menggunakan larutan asam.

Pada uji flavonoid ekstrak etanol dan fraksi di peroleh hasil yang positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah pada ekstrak, warna kuning pada fraksi etil asetat. Menurut Harborne (1987), senyawa flavonoid akan tereduksi dengan Mg dan HCl sehingga menghasilkan warna merah, kuning atau jingga.

Pada uji tanin di peroleh hasil yang positif pada ekstrak etanol, dan fraksi etil asetat dengan terbentuknya warna hijau kehitaman. Tanin akan tertarik oleh pelarut polar dan menghasilkan warna hijau kehitaman yang menunjukkan adanya tanin terkondensasi. Penambahan ekstrak dengan FeCl₃ 1% dalam air menimbulkan warna hijau, merah, ungu atau hitam yang kuat. Terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak setelah ditambahkan FeCl₃ 1% karena tanin akan beraksi dengan ion Fe³⁺ membentuk senyawa kompleks [22].

Hasil positif kandungan saponin dalam ekstrak etanol ditunjukkan dengan terbentuknya busa 1-10 cm tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang setelah penambahan HCl, sedangkan pada fraksi etil asetat tidak menunjukkan adanya saponin. Saponin memiliki gugus polar dan non polar bersifat aktif pada permukaan sehingga dapat membentuk misel pada saat dikocok dengan air. Pada struktur misel gugus polar menghadap keluar sedangkan gugus non polarnya menghadap kedalam keadaan inilah yang tampak seperti busa [23].

Hasil positif kandungan steroid dalam ekstrak etanol daun sirsak ditandai dengan terbentuknya warna hijau. Menurut sangi et al (2008) prinsip ini berdasarkan pada kemampuan senyawa triterpenoid/steroid membentuk jika direaksikan dengan asam sulfat pekat dalam pelarut asam asetat anhidrat (pereaksi Liebermann-burchard) [23].

Pada pemeriksaan glikosida menunjukkan hasil yang positif, karena terbentuk cincin berwarna ungu pada batas cairan larutan sisa setelah penambahan pereaksi molisch dan asam sulfat pekat. Mekanisme terbentuknya cincin ungu berasal dari karbohidrat yang terhidrolisis oleh asam sulfat menjadi monosakarida kemudian keduanya terkondensasi membentuk furfural yang bereaksi sehingga membentuk cincin ungu [24].

Hasil Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

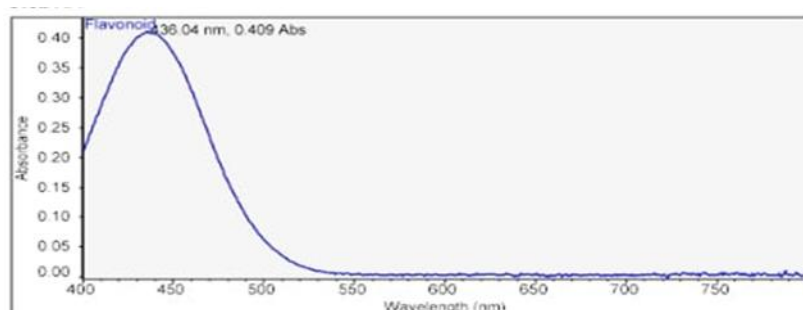
Flavonoid harus direaksikan dengan reagen pembentuk warna yaitu AlCl₃ untuk dapat dibaca serapannya pada daerah panjang gelombang sinar tampak. Pengujian flavonoid diawali dengan pengukuran panjang gelombang maksimum dari larutan kuersetin dengan konsentrasi 4 µg/mL dalam metanol sehingga diperoleh panjang gelombang 436,04 nm dengan absorbansi 0,409. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada gambar 1 berikut.

Hasil Operating Time

Operating Time memiliki tujuan untuk mengetahui waktu pengukuran suatu senyawa yang diperoleh saat absorbansi paling stabil. Operating Time dilakukan dengan mengukur antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan. Penetapan operating time perlu dilakukan untuk meminimalkan terjadinya kesalahan pengukuran. Hal ini disebabkan karena senyawa-senyawa yang akan diukur absorbansinya dalam penelitian ini merupakan suatu senyawa kompleks antara kuersetin. Senyawa kompleks ini membutuhkan waktu agar

reaksi yang terbentuk stabil. Bila pengukuran dilakukan sebelum waktu operating time, maka terdapat kemungkinan reaksi yang terbentuk belum sempurna [25].

Warna dari larutan kuersetin perlu dicari waktu kerjanya yang tepat untuk melakukan pengukuran karena besarnya absorbansi pada spektrofotometri sangat dipengaruhi oleh warna. Penentuan waktu kerja dilakukan dengan menggunakan larutan kuersetin konsentrasi 4 µg/mL di yang diukur pada panjang gelombang 436,04 nm. Hasil pengukuran operating time di peroleh waktu stabil pada menit 14 sampai menit ke 19.



Gambar 1. Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

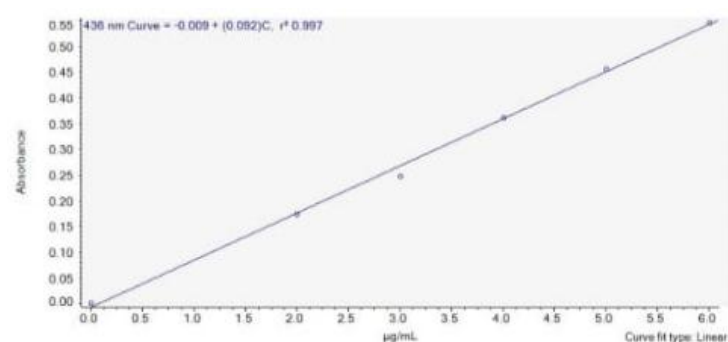
Hasil Pengukuran Kurva Kalibrasi Kuersetin

Pengukuran kurva kalibrasi di pipet dari larutan kuersetin konsentrasi 100 µg/mL. Selanjutnya dibuat 5 seri konsentrasi yaitu 2 µg/mL, 3 µg/mL, 4 µg/mL, 5 µg/mL dan 6 µg/mL. Dipipet masing-masing 0,2 mL, 0,3 mL, 0,4 mL, 0,5 mL dan 0,6 mL dimasukkan kedalam labu tentukur 10 mL, ditambahkan metanol sampai tanda batas. Kemudian pipet 1 mL dari masing-masing konsentrasi tersebut masukan kedalam labu tentukur 10 mL ditambahkan 0,1 mL AlCl₃ 10%, 0,1 mL natrium asetat, dan 2,8 mL aquadest lalu ditambahkan etanol sampai tanda batas kemudian diukur pada panjang gelombang 436,04 nm. Dari hasil pengukuran diperoleh absorbansi masing-masing larutan baku yang kemudian dikonversi menjadi persamaan regresi linear.

Tabel 3 Nilai Absorbansi Larutan Baku Kuersetin

Konsentrasi	Absorbansi	Persamaan Regresi
0	0	
2	0,174	
3	0,247	
4	0,360	$y = 0,0918x + 0,0088$
5	0,456	
6	0,546	

Persamaan regresi yang diperoleh dari larutan baku kuersetin yaitu $y = 0,0918x + 0,0088$ dengan koefisien korelasi yang diperoleh sebesar 0,999 . Nilai linieritas menunjukkan korelasi antara konsentrasi dan absorbansi yang dihasilkan.



Gambar 2. Kurva Kalibrasi Kuersetin

Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol, dan Fraksi Etil Asetat Daun Sirsak

Analisis kadar flavonoid menggunakan metode spektrofotometri. Prinsip penetapan flavonoid dengan metode spektrofotometri direaksikan dengan AlCl_3 yaitu terjadinya pembentukan kompleks antara AlCl_3 dengan gugus keto pada atom C-4 dan juga gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol. Dalam penambahan aluminium klorida membentuk kompleks asam yang stabil dengan gugus orthohidroksil pada cincin A-atau B- dari senyawa-senyawa flavonoid [26].

Senyawa yang digunakan sebagai standar pada penetapan kadar flavonoid adalah kuersetin. Pemilihan kuersetin sebagai larutan standar karena kuersetin merupakan senyawa yang paling luas penyebarannya yang terdapat pada tumbuhan. Kuersetin dan glikosida berada dalam jumlah sekitar 60-75% dari flavonoid. Kuersetin juga merupakan salah satu senyawa golongan flavonoid yang dapat bereaksi dengan AlCl_3 membentuk kompleks [9]. Pada pengukuran senyawa flavonoid total, larutan sampel ditambahkan AlCl_3 berfungsi untuk membentuk warna kompleks, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah visible (tampak) yang ditandai dengan larutan menghasilkan warna kuning. Penambahan kalium asetat bertujuan untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah visible (tampak) [26].

Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol, dan fraksi etil asetat dihitung masing-masing absorbansi sampel yang telah dibuat 6 kali replikasi dengan menggunakan persamaan garis regresi linier $y = ax + b$ yang diperoleh dari kurva kalibrasi kuersetin sehingga diperoleh konsentrasinya (x). Nilai x kemudian disubstitusikan dalam rumus perhitungan kadar flavonoid total.

Tabel 4. Kadar Flavonoid Total Pada Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

Sampel	Kadar Flavonoid Total (mgQE/g)
Ekstrak Etanol	$31,524 \pm 0,1524$ mgQE/g
Fraksi Etil Asetat	$41,425 \pm 0,1363$ mgQE/g

Dapat dilihat bahwa hasil penelitian ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun sirsak positif mengandung flavonoid. Hal ini dibuktikan dengan hasil analisa dengan metode Spektrofotometri sinar tampak dengan 6 kali replikasi pada setiap konsentrasi ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun sirsak. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai rata-rata kadar sebenarnya flavonoid total dalam sampel ekstrak etanol adalah $31,524 \pm 0,1524$ mgQE/g dan kadar fraksi etil asetat adalah $41,425 \pm 0,1363$ mgQE/g. Sehingga dari data diatas dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar flavonoid pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat. Perbedaan kadar yang signifikan pada kedua pelarut disebabkan karena memiliki perbedaan tingkat kepolaran, etanol termasuk kedalam senyawa polar sedangkan etil asetat termasuk kedalam senyawa semi polar, hal tersebut yang menyebabkan kadar kedua pelarut berbeda.

Pada fraksi etil asetat didapat kadar yang lebih besar dibandingkan etanol, pada prinsipnya senyawa polar akan larut dalam senyawa polar dan senyawa non polar akan larut dalam senyawa non polar. Hal ini menyebabkan pelarut etil asetat yang bersifat semi polar lebih efektif menarik senyawa flavonoid yang bersifat semi polar juga. Pelarut etanol dan etil asetat memiliki kepolaran yang berbeda sehingga akan mempengaruhi waktu ekstraksi, pelarut yang memiliki kepolaran sama dengan senyawa yang akan di ekstraksi akan lebih mudah terserap sedangkan pelarut yang memiliki kepolaran berbeda akan lebih memerlukan waktu yang lama. Dengan demikian faktor tersebut mempengaruhi kadar flavonoid.

Berdasarkan perbandingan dengan penelitian sebelumnya, kadar flavonoid total pada fraksi etil asetat daun sirsak dalam penelitian ini ($41,425$ mgQE/g) secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan temuan Salim (2021) yang melaporkan kadar flavonoid total ekstrak etanol daun sirsak sebesar $35,99$ mgQE/g [27]. Namun, hasil ini berbeda dengan penelitian Welianto dkk. (2025) yang melaporkan bahwa fraksi etil asetat justru memiliki kadar flavonoid terendah ($4,760$ mgQE/g) dibandingkan fraksi aquadest ($9,819$ mgQE/g) dan n-heksana ($6,028$ mgQE/g) [28]. Perbedaan hasil yang kontras ini sangat mungkin disebabkan oleh variasi metode ekstraksi dan fraksinasi yang digunakan, serta karakteristik tumbuhan yang dipengaruhi oleh faktor geografis, musim panen, dan kondisi pertumbuhan. Temuan penelitian kami justru mengonfirmasi efektivitas etil asetat sebagai pelarut semipolar yang optimal untuk memekatkan senyawa flavonoid, yang konsisten dengan teori "like-dissolves-like" dimana flavonoid aglikon yang bersifat semipolar akan terekstrak secara selektif ke dalam fraksi etil asetat. Dengan demikian, polaritas pelarut memang berperan krusial, namun hasil akhir sangat dipengaruhi oleh strategi fraksinasi dan urutan pemisahan yang diterapkan [10,27].

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid, dan glikosida. Sementara itu, fraksi etil asetat daun sirsak mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, steroid, dan glikosida. Metode spektrofotometri UV-Vis yang digunakan telah divalidasi dan berhasil diterapkan untuk analisis kuantitatif. Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar flavonoid total pada ekstrak etanol adalah sebesar $31,524 \pm 0,1524$ mgQE/g ekstrak, sedangkan kadar flavonoid total pada fraksi etil asetat secara signifikan lebih tinggi, yaitu sebesar $41,425 \pm 0,1363$ mgQE/g. Temuan ini membuktikan bahwa proses fraksinasi dengan etil asetat efektif dalam memekatkan dan meningkatkan kandungan flavonoid total dibandingkan ekstrak etanol kasar. Implikasinya, fraksi etil asetat daun sirsak berpotensi sebagai sumber senyawa flavonoid yang lebih unggul untuk pengembangan obat herbal terstandar.

Conflict of Interest

Penelitian ini dilakukan secara independen dan objektif, tanpa adanya konflik kepentingan atau intervensi eksternal yang dapat memengaruhi validitas dan integritas hasil.

Acknowledgment

Keberhasilan penelitian ini tidak terlepas dari dukungan berbagai pihak. Kami menyampaikan rasa terima kasih yang mendalam, khususnya kepada Universitas Muslim Nusantara, atas bantuan dan fasilitasi yang sangat berarti dalam mendukung kelancaran pelaksanaan penelitian ini.

Supplementary Materials

Referensi

- [1] Harnita N, Putri AM, Fitria D, Fajriati M. Identifikasi Metabolit Sekunder Ekstrak N-Heksana dari Daun Sirsak (*Annona muricata* L.). JSSIT J Sains Dan Sains Terap 2024;2:1–5.
- [2] Sahrianti N, Mastura AA. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) di Kabupaten Majene, Mamuju dan Mamuju Tengah. J Ilm Farm Simplisia 2023;3:161–8.
- [3] Carole NC, Ekpe IP, Ifeanchio NW, Erhijakpor O, Damilola E, Juachi E. Evaluation of Phytochemical Profile and Comparative Free Radical Scavenging Activities of Ethanolic Extract of *Annona Muricata* Leaf and Fruit. Int Res J Mod Eng Technol Sci 2022. <https://doi.org/10.56726/irjmets29737>.
- [4] Faradiba F, Amin A, Sukmawati S, Achmad CA, Ananda R, Saputri D, et al. Total Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Soursop Leaves From the Three Largest Producing Areas of South Sulawesi Province, Indonesia. Wind Heal J Kesehat 2024;400–12. <https://doi.org/10.33096/woh.v7i4.1385>.
- [5] Birendra S, Ramappa H, Kotha S, M RR, Siddamsetty RS. Pharmacognostic Evaluation of Fruits and Leaves of *Annona Muricata* L. Int J Pharm Investig 2020;10:86–92. <https://doi.org/10.5530/ijpi.2020.1.16>.
- [6] Kurang RY, Adang B. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona Muricata* L) Dengan Metode 1, 1-Difenil-2-Pikrylhidrazyl (Dpph). Partner 2018;23:567–74.
- [7] Ginting B, Yahya M, Saidi N, Maulana I, Murniana M, Safitri E, et al. Antioxidant and Cytotoxicity Screenings of Ethyl Acetate Extract From *Annona Muricata* Leaves and Its Fractions. J Adv Pharm Technol Amp Res 2024;15:70–4. https://doi.org/10.4103/japtr.japtr_470_23.
- [8] Suhaenah A, Pratama M, Amir AHW. Penetapan Kadar Flavonoid Fraksi Etil Asetat Daun Karet Kebo (*Ficus elastica*) dengan metode spektrofotometri UV-VIS. As-Syifaa J Farm 2021;13:48–54.
- [9] Bangun PPA, Rahman AP. Analisis kadar total flavonoid pada daun dan biji pepaya (*Carica papaya* L.) menggunakan metode spektrofotometer UV-vis. J Ilm Farm Attamru 2021;2:1–5.
- [10] Yani NKLP, Nastiti K, Noval N. Pengaruh Perbedaan Jenis Pelarut Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.): The Effect of Different Types of Solvents on Total Levels of

- Flavonoid Extract (*Annona muricata* L.). *J Surya Med* 2023;9:34–44.
- [11] Qorina F, Arsianti A, Fithrotunnisa Q, Tejaputri NA. Phytochemistry and Antioxidant Activity of Soursop (*Annona Muricata*) Leaves. *Int J Appl Pharm* 2019;1–6. <https://doi.org/10.22159/ijap.2019.v11s6.33524>.
- [12] Rahmawati R, Muflihunna A, Kusuma AT. Analisis Kadar Flavonoid dan Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Daun Ketepeng Cina (*Senna Alata* (L.) Roxb) DENGAN Metode Spektrofotometri Uv-Visible. *As-Syifaa J Farm* 2015;7:10–8. <https://doi.org/10.33096/ja.v7i1.16>.
- [13] Anggraeni R. Uji Karakteristik Simplisia Buah Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.). *JIFI (Jurnal Ilm Farm Imelda)* 2020;3:32–8. <https://doi.org/10.52943/jifarmasi.v3i2.210>.
- [14] Sari RP, Laoli MT. Karakterisasi Simplisia Dan Skrining Fitokimia Serta Analisis Secara Klt (Kromatografi Lapis Tipis) Daun Dan Kulit Buah Jeruk Lemon (*Citrus Limon* (L.) Burm. F.). *JIFI (Jurnal Ilm Farm Imelda)* 2019;2:59–68.
- [15] DepKes R. *Farmakope Indonesia Edisi Ketiga* 1979:33.
- [16] Sarker SD, Latif Z, Gray AI. *Methods in Biotechnology, Natural products isolation*. Hum Press Nothern Ireland-United Kingdom 529pp Spampinato, C Leonardi, D(2013) *Candida Infect Causes, Targets, Resist Mech Tradit Altern Antifung Agents J Biomed Res Int* 2006;2013:1–13.
- [17] Mayasari U, Laoli MT. Karakterisasi simplisia dan skrining fitokimia daun jeruk lemon (*citrus limon* (l.) burm. f.). *KLOROFIL J Ilmu Biol Dan Terap* 2018;2:7–13.
- [18] Anggraeni R. Uji karakteristik simplisia buah andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.). *J Ilm Farm Imelda* 2019;3:34–40.
- [19] Aminah A, Tomayahu N, Abidin Z. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *J Fitofarmaka Indones* 2017;4:226–30. <https://doi.org/10.33096/jffi.v4i2.265>.
- [20] Salim M, Sulistyaningrum N, Isnawati A, Sitorus H, Yahya, Ni'mah T. Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak Kulit Buah Duku (*Lansium domesticum* Corr) dari Provinsi Sumatera Selatan dan Jambi. *J Kefarmasian Indones* 2016;6:117–28.
- [21] Mukhriani M. *Farmakognosi Analisis* 2014.
- [22] Setyowati E, Sujono TA. Aktivitas antidiabetes melitus ekstrak kulit buah jeruk manis (*Citrus sinensis*) dan kulit buah kelengkeng (*Euphoria longan* (Lour.) Steud) terhadap tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi aloksan 2014.
- [23] Sangi M, Runtuwene MRJ, Simbala HEI, Makang VMA. Analisis fitokimia tumbuhan obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chem Prog* 2019;1:47–53.
- [24] Wahid AR, Safwan S. Efek Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria Malaccensis* L.) Pada Tikus Jantan Galur Sprague Dawley Yang Diinduksi Paracetamol (Kajian Aktivitas Enzim Katalase, SGOT Dan SGPT). *Pharmauho J Farm Sains, Dan Kesehat* 2019;4.
- [25] Suharyanto S, Prima DAN. Penetapan kadar flavonoid total pada juice daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) yang berpotensi sebagai hepatoprotektor dengan metode spektrofotometri uv-vis. *Cendekia J Pharm* 2020;4:110–9.
- [26] Chang C-C, Yang M-H, Wen H-M, Chern J-C. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J Food Drug Anal* 2002;10.
- [27] S.Salim N. Effect of Ethanolic Leaves Extracts of *Annona Muricata*. Linn on Hyperlipidemic Rats. *Ann Agric Sci Moshtohor* 2021;59:339–48. <https://doi.org/10.21608/assjm.2021.194820>.
- [28] Weliyanto Y, Hakim AR, Hidayah N. Penetapan Kadar Flavonoid Total Berdasarkan Tingkat Fraksinasi Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.): Determination Of Total Flavonoid Content Based On Soursop Leaf Extract Fractionation Level (*Annona muricata* L.). *J Surya Med* 2025;11:114–9. <https://doi.org/10.33084/jsm.v11i2.10537>.