



Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol buah asam kandis (*Garcinia xanthochymus*) dengan metode spektrofotometri Uv-Vis dan LCMS

Determination of total flavonoid content of ethanolic extract of yellow mangosteen (*Garcinia xanthochymus*) by spectrometry Uv-Vis method and LCMS

Hanafis Sastra Winata¹⁾, Hendri Faisal¹, Muhammad Andry^{1*}, Nurul Aulia¹, Muhammad Amin Nasution², Ika Julianti Tambunan³

¹⁾Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi dan Kesehatan, Institut Kesehatan Helvetia, Medan, Indonesia.

²⁾Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara al Washliyah, Medan, Indonesia.

³⁾Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Tjut Nyak Dhien, Medan, Indonesia.

*e-mail author: mohammadandry874@yahoo.co.id

ABSTRACT

Background: Kandis acid fruit (*Garcinia xanthocymus* Hook. f ex T. Anderson) is a plant of the Clusiace family with many species. Kandis acid fruit has various biological and pharmacological activities such as cytotoxic, anti-inflammatory, antimicrobial, antifungal and antioxidant. **Purpose:** To determine the content and total flavonoid content of tamarind kandis using quercetin as a reference standard. **Method:** This study used the TLC (Thin Layer Chromatography) method in qualitative analysis with the parameter Rf, then used the spectrophotometric method in the quantitative analysis with the parameter total flavonoid content (Value of mg QE/g sample) and the LCMS method (Liquid Chromatography Mass Spectrometry) with the parameter retention time (Rt). **Result:** Shows that tamarind kandis has an Rf value of 0.86 which states that tamarind kandis is positive for flavonoids with a reference standard of quercetin, total flavonoid content of 34.8364 mg QE/g sample with a standard deviation of 0.4355 and a percentage of 0.6967% and has five types of flavonoid compounds namely methyl dihydro quercetin, 1,5-Dihydroxy-3-methoxy xanthone, Afzelechin, Myricetin-3-O- β -D-galactopiranoside, and Myricetin 7-glucoside. Methyl dihydro quercetin is the largest flavonoid with a composition of 49.57% with a retention time of 0.485 minutes. **Conclusion:** The identified total flavonoids have different types and levels.

Keywords: *Garcinia xanthochymus*, Flavonoids, Thin Layer Chromatography, Spectrophotometry, LCMS.

ABSTRAK

Pendahuluan: Buah asam kandis (*Garcinia xanthocymus* Hook.f ex T.Anderson) merupakan tumbuhan jenis famili Clusiace dan termasuk pada jumlah spesies yang cukup banyak. Buah asam kandis mempunyai variasi dalam hal aktivitas biologis dan farmakologis diantaranya sitotoksik, antiinflamasi, antimikroba, antifungi dan antioksidan. **Tujuan:** Untuk mengetahui kandungan dan kadar flavonoid total buah asam kandis dengan menggunakan baku pembanding kuersetin.

Metode: Penelitian ini dilakukan dengan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis) menggunakan analisis kualitatif dengan parameter R_f, kemudian menggunakan metode spektrofotometri dalam analisis kuantitatif dengan parameter kadar flavonoid total (Nilai mg QE/g sampel) dan Metode LCMS (*Liquid Chromatograph Mass Spectrometry*) dengan parameter waktu retensi (R_t). Hasil: Menunjukkan bahwa buah asam kandis memiliki nilai R_f 0,86 yang menyatakan buah asam kandis positif flavonoid dengan baku pembanding quersetin, kadar flavonoid total sebesar 34,8364 mg QE/g sampel dengan standar deviasi 0,4355 dan persentase 0,6967 % dan memiliki 5 jenis senyawa flavonoid yaitu *methyl dihydro quersetin*, *1,5-Dihydroxy-3-methoxy xanthone*, *Afzelechin*, *Myricetin-3-O-β-D-galactopyranoside*, dan *Myricetin 7-glucoside*. *methyl dihydro quersetin* merupakan flavonoid dengan komposisi terbesar yakni sebesar 49,57 % dengan waktu retensi menit 0,485. Kesimpulan: Total flavonoid yang teridentifikasi memiliki jenis dan kadar yang berbeda-beda.

Kata kunci: *Garcinia xanthocymus*, Flavonoid, Kromatografi Lapis Tipis, Spektrofotometri, LCMS.

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara yang sudah diketahui banyak kekayaan alam dengan berbagai macam tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat tradisional. Obat tradisional saat ini semakin banyak diamati, dipelajari dan di uji oleh para peneliti dengan tujuan untuk mengembangkan pengobatan tradisional dimasyarakat (Aminah, Tomayahu, & Abidin, 2017).

Tanaman asam kandis (*Garcinia xanthochymus*) merupakan salah satu tanaman yang dapat digunakan dalam pengobatan tradisional. (Tursiman, Ardiningsih, dan Nofiani, 2012) *Garcinia* merupakan tanaman buah dalam famili Clusiaceae. Ini memiliki banyak spesies yang berbeda dan sering disebut kelompok manggis. Masyarakat sekitar menggunakan asam kandis untuk mengobati diare, menurunkan demam, dan mengurangi rasa sakit. Wahyuni, Putri, dan Arisanti (2017) menemukan bahwa *Garcinia* memiliki metabolit sekunder seperti triterpen, flavonoid, xanthone, dan phloroglucinol.

Asam kandis di Indonesia banyak terdapat di Sumatera dan Kalimantan. Asam kandis berasal dari tumbuhan yang sering digunakan sebagai bumbu masakan di Sumatera Barat. Produk sekunder flavonoid, steroid/triperinoid, dan glikosida ditemukan di *Garcinia xanthochymus*. *Garcinia xanthochymus* memiliki banyak efek biologis dan farmakologis, seperti sitotoksik, antiinflamasi, antibakteri, antijamur, dan antioksidan. Buah ini berwarna jingga dan sangat

masam, namun daun mudanya dimanfaatkan sebagai bahan makanan oleh masyarakat (Winata, 2018). Bagian tanaman asam kandis yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah buahnya, yang akan diuji seberapa besar kandungan antioksidannya.

Flavonoid adalah bahan kimia alami yang ditemukan pada tumbuhan. Mereka adalah senyawa fenolik, yang bersifat polar (Mukhriani, Nonci, dan Munawarah, 2015; R, Dahlia, dan Ahmad, 2016). Salah satu kelompok senyawa alami terbesar dalam tumbuhan adalah fenol, yang memiliki inti lima belas atom karbon. Ini memiliki struktur atom C6-C3-C6, yang berarti bahwa tiga atom karbon yang terikat pada dua cincin aromatik dapat membentuk cincin ketiga atau tidak. (Parwata, 2016). Flavonoid adalah zat antioksidan yang melawan radikal bebas dan membantu pertumbuhan sel kembali (Lalus et al., 2021)

Tumbuhan membuat variasi dan jumlah struktur molekul yang sangat besar, seperti banyak jenis senyawa flavonoid. Perlu ada cara untuk memisahkan, membersihkan, dan mencari tahu apa saja kandungan dalam tumbuhan. Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan salah satu metode kromatografi yang dapat digunakan untuk memisahkan dan memurnikan bagian tumbuhan. Kromatografi lapis tipis merupakan jenis kromatografi yang paling umum digunakan dalam penelitian fitokimia. Ini karena dapat digunakan dengan hampir semua jenis senyawa. (Laily, 2016).

Pereaksi AlCl₃ digunakan dengan metode kolorimetri (Azizah, Kumolowati, dan Faramayuda, 2014) untuk mengukur jumlah molekul flavonoid. Pita serapan UV dan sinar tampak adalah cara terbaik untuk mengetahui struktur flavonoid (Andry, Faisal, dan Apila, 2022). Pada rentang UV-Vis, terdapat pita serapan yang kuat pada sistem aromatik terkonjugasi flavonoid. (Fatimah. et al., 2020; Mukhriani et al., 2015). Menggunakan quercetin sebagai acuan, jumlah senyawa flavonoid diukur sebagai QE (quercetin equivalent) (Rahmayani, 2021).

Penelitian ini menggunakan LCMS untuk menemukan dan mengidentifikasi sesuatu. Ini dilakukan dengan memisahkan bahan menggunakan Kromatografi Cair (LC) dan Spektrometer Massa (MS), yang kemudian digunakan untuk menemukan muatan ionik. (Rohyami, 2008) Data dari LCMS meliputi berat molekul dan struktur molekul yang ditemukan.

Berdasarkan apa yang telah disampaikan di atas, maka penulis ingin melihat bagaimana metode spektrofotometri UV-Vis dan LCMS (Mass Spectrometry of Liquid Chromatography) dapat digunakan untuk mengetahui kandungan flavonoid secara keseluruhan pada ekstrak etanol buah asam kandis (*Garcinia xanthochymus*).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif, yang terdiri dari dua tahap analisis kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dan parameter nilai R_f. Analisis kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis untuk menentukan kadar dengan parameter persentase kadar flavonoid total (nilai QE/g sampel), dan identifikasi senyawa dilakukan dengan metode kromatografi cair masif.

Alat

Alat-alat yang digunakan *aluminium foil*, batang pengaduk ,spatula, kertas saring, kertas perkamen, *beaker glass* (pyrex) , , gelas ukur (Pyrex), labu tentukur, tabung reaksi (Pyrex), pipet tetes, corong kaca (Pyrex), *blender* (Miyako), kuvet, lemari pengering, corong pisah (Pyrex), cawan penguap, erlenmeyer (Pyrex), pipet tetes, pipet volume (Iwaki) , timbangan analitik, krus porselin, pipa kapiler, plat silika gel, chamber,

oven, *rotary evaporator*, Spektrofotometer UV-Vis, spektroskopi LCMS dan alat gelas laboratorium lainnya.

Bahan

Etanol 70% dan 96 %, etanol p.a, metanol p.a, aquadest, standar quersetin, aluminium (III) klorida (AlCl₃), natrium asetat (CH₃COONa), etil asetat, asam sulfat pekat (H₂SO₄), serbuk magnesium, asam klorida (HCl), natrium hidroksida (NaOH), kloroform, HCl 0,1 N dan buah asam kandis (*Garcinia xanthochymus*).

Pembuatan Simplisia

Setelah buah asam kandis dikumpulkan, disortir dan dicuci bersih di bawah air mengalir untuk menghilangkan kotoran atau debu. Hal ini dilakukan beberapa kali hingga bersih, kemudian ditiriskan dan ditimbang untuk mengetahui berapa beratnya saat basah. Selanjutnya buah dicacah dan dikeringkan dalam ruang jemur 50°C hingga kering. Buah tersebut kemudian ditimbang. Daging buah candid yang terkumpul dijadikan bubuk, diayak, dan disimpan dalam wadah plastik untuk menjaga kelembaban dan kotoran lainnya masuk (Ginting, 2021).

Pembuatan Ekstrak

Pengambilan ekstrak dari hasil penelitian dilakukan melalui metode yang disebut "maserasi". Merasasi adalah cara untuk mendapatkan hasil maksimal dari kesederhanaan dengan menggunakan pelarut dan pengadukan beberapa kali pada suhu kamar. Proses ini dimulai dengan memasukkan simplisia ke dalam pelarut. Hal ini memungkinkan pelarut melewati dinding sel dan masuk ke dalam tubuh sel, tempat zat aktif berada. (Winata, Andry, Nasution, Rezaldi, & Sembiring, 2023)

Untuk proses maserasi, sebanyak 500 gram serbuk simplisia buah asam kandis dicampur dengan 3,75 liter (75 bagian) pelarut etanol 70% dalam wadah. Bejana itu kemudian disegel dan dijauhkan dari sinar matahari selama lima hari sementara campuran itu diaduk sesekali. Setelah 5 hari, hasil maserasi disaring, ampasnya diperas dan dibilas dengan pelarut etanol 70% sebanyak 25 bagian hingga 1,25 liter untuk mendapatkan 100 bagian, kemudian dibiarkan selama 2 hari agar endapan tidak terekspos. terhadap sinar matahari dan rontok. Merasasi yang dihasilkan

kemudian dipekatkan menggunakan evaporator berputar dengan suhu maksimum 40°C dan diuapkan di atas penangas air hingga menjadi ekstrak kental (Andry & Winata, 2022).

Penetapan Kadar Air

Cawan atau vial keramik dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit, dinyalakan dalam desikator selama 30 menit, ditimbang, kemudian dimasukkan kembali ke dalam oven selama 30 menit. Proses ini diulang sampai jumlah air diketahui. Tiga jam dihabiskan untuk mengeringkan sampel dan wadah dalam oven dengan suhu 105°C. Cawan atau wadah beserta isinya ditimbang setelah 30 menit dalam desikator. Ulangi sampai beratnya tetap sama. Pengujian kadar air dilakukan sebanyak tiga kali. (Fitri, Khairani, Andry, Rizka, & Nasution, 2023)

Penetapan Kadar Sari Larut Dalam Air

Merasakan 5 g bubuk kering udara dalam 100 mL air-kloroform (2,5 mL kloroform dengan air suling hingga 1 liter) dalam labu terpasang selama 24 jam, aduk setiap 6 jam selama 6 jam pertama. Biarkan selama 18 jam sebelum disaring. Secangkir dan tara evaporasi mengeringkan 20 mililiter filtrat awal. Panaskan sisa penguapan hingga 105 derajat Celcius untuk menjaga berat. Persentase bahan kering yang larut dalam air dihitung. Departemen Kesehatan Indonesia (1989).

Kadar Sari Larut Air

$$= \frac{\text{Berat sari (g)}}{\text{Berat Sampel (g)}} \times \frac{100}{20} \times 100 \%$$

Penetapan Kadar Sari Larut Dalam Etanol

Masukkan 5 gram sampel kering ke dalam labu tersumbat Selama 24 jam, sampel direndam dalam 100 ml etanol 96%. Kocok sesering mungkin selama 6 jam pertama, lalu diamkan selama 18 jam sebelum dipisahkan. Kemudian, 20 ml filtrat dikeringkan dalam gelas ukur dan diukur. Cairan yang tersisa dipanaskan pada suhu 105°C sampai beratnya tetap sama. (Winata et al., 2023).

Kadar Sari Larut Etanol

$$= \frac{\text{Berat sari (g)}}{\text{Berat Sampel (g)}} \times \frac{100}{20} \times 100 \%$$

Penetapan Kadar Abu Total

Serbuk yang telah dihaluskan kemudian ditimbang, dimasukkan ke dalam cawan porselin yang telah dipanaskan, diratakan, kemudian diratakan. Crucible dipanaskan pada suhu 600°C selama tiga jam hingga arang habis, setelah itu dibakar dan ditimbang sampai diperoleh berat konstan. Sehingga kadar abu yang dihasilkan dapat dihitung pada bahan yang dikeringkan (Winata, Andry, Nasution, Rezaldi, & Sembiring, 2023).

Kadar Abu Total

$$= \frac{\text{Berat abu}}{\text{Berat Sampel (g)}} \times 100 \%$$

Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Dalam Asam

Abu yang dihasilkan selama penentuan kadar abu dididihkan dengan 25 ml asam klorida encer selama 5 menit, dan komponen yang tidak larut dalam asam dikumpulkan, disaring, dinyalakan, didinginkan, dan ditimbang untuk mencapai berat konstan. Kandungan abu yang tidak larut asam dari bahan kering dihitung (K. Fitri et al., 2023)

Kadar Abu Total

$$= \frac{\text{Berat abu}}{\text{Berat Sampel (g)}} \times 100 \%$$

Uji Alkaloid

Serbuk dan ekstrak simplisia ditimbang sebanyak 0,5 gram. 1 ml asam klorida 2N dan 9 ml air murni ditambahkan, dan campuran dipanaskan selama 2 menit dalam penangas air, didinginkan, dan disaring. Uji alkaloid dilakukan dengan cairan yang dibuat. Ketika 3 wadah uji siap, 0,5 mL filtrat ditambahkan.

- Menambahkan dua tetes reagen Meyer ke setiap tabung reaksi; alkaloid positif bila terbentuk endapan putih kekuningan.
- Ditambahkan dua tetes pereaksi bouchardat yang menandakan adanya alkaloid terdapat endapan berwarna coklat.
- Dimasukkan dua tetes pereaksi dragendorf, alkaloid positif jika terbentuk endapan merah bata. (K. Fitri et al., 2023).

Uji Flavonoid

Tambahkan 10 mililiter air hangat ke dalam 1 gram bubuk simplisia dan ekstrak.

kemudian direbus selama kurang lebih lima menit dan disaring panas. 5 mL filtrat yang diperoleh digabungkan dengan 0,1 g serbuk Mg, 1 mL HCl pekat, dan 2 mL amil alkohol sebelum diaduk dan dibiarkan memisah. Jika flavonoidnya positif, warna merah dan jingga-kuning yang pekat teramat, dan terbentuk lapisan amil alkohol (K. Fitri et al., 2023).

Uji Saponin

Serbuk dan ekstrak Simplicia dimasukkan ke dalam vial uji, ditimbang, ditambahkan 10 mL air panas, didinginkan, dan dikocok selama 10 detik. Positif saponin ditunjukkan dengan adanya buih setinggi 1 sampai 10 cm setelah 10 menit, yang tidak berkurang setelah penambahan asam klorida 2N (K. Fitri et al., 2023).

Uji Tanin

Serbuk dan ekstrak simplisia ditimbang 1 gram, direbus 3 menit dengan 5 mL air suling, kemudian dihentikan serta diganti. Filtratnya diambil dan dimasukkan 1-2 tetes reagen besi (III) klorida 1% (FeCl_3 1%) b/v, warna biru kehitaman atau hitam kehijauan menandakan adanya tanin (K. Fitri et al., 2023).

Uji Steroid/Triterpenoid

Serbuk dan ekstrak Simplicia ditimbang maksimal 1 gram, dimaserasi dengan 20 ml n-heksan selama 2 jam, kemudian diaduk dan disaring. Filtrat diuapkan sebelum sisanya dimasukkan melalui dinding mulut tabung dengan asam sulfat pekat (H_2SO_4). Jika terbentuk warna ungu atau merah kecoklatan, akan berubah menjadi rona biru-ungu atau biru-hijau, yang menunjukkan adanya triterpenoid/steroid. (K. Fitri et al., 2023).

Analisis Kualitatif

Pelat kromatografi lapis tipis diaktifkan dengan memanaskannya dalam oven antara 50 dan 60 derajat Celcius selama 30 menit. Kemudian dibuat garis lurus pada pelat dengan batas bawah 1 cm dan batas atas 0,5 cm. (Hidayah, 2018).

Fase diam adalah Silica gel 60 F254 dan fase gerak adalah 10 ml campuran kloroform dan metanol 1:1. Pertama, kloroform dan metanol dicampur secara bertahap sambil diaduk, kemudian elusi yang dihasilkan ditempatkan di dalam bejana (Asmorowati & Lindawati, 2019).

Sebanyak 10 mg ekstrak etanol 70% buah asam kandis dan standar kuersetin dilarutkan dalam 0,5 mL etil asetat dan ditotolkan 1 cm dari tepi bawah pelat KLT menggunakan pipet kapiler. Pelat KLT kemudian dikeringkan dan dielusi. Bintik kromatogram yang diperoleh (pewarnaan) diamati dengan sinar ultraviolet antara 254 dan 366 nm. Penyemprotan pelat KLT dengan reagen semprot AlCl_3 , Setelah noda terlihat kemudian dihitung nilai Rf-nya (Asmorowati & Lindawati, 2019).

Penentuan Kadar Flavonoid Total

Kadar flavonoid ditentukan menurut Farmakope Herbal Indonesia Edisi II Tahun 2017, menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi standar alumunium klorida dan quercetin dan analisis spektrofotometri UV-Vis.

Pembuatan Larutan Standar Quersetin

Larutkan 2,5 mg quercetin standar dalam 25 mL p.a. etanol hingga mencapai konsentrasi 100 ppm (LIB I). Untuk mencapai konsentrasi 14 ppm (LIB II), pipet 1,4 mL dan larutkan dalam 10 mL etanol p.a.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Quersetin

Tempatkan 0,5 mL larutan standar quercetin 14 ppm (LIB II) dalam vial menggunakan pipet. 1,5 mL etanol p.a., 0,1 mL larutan AlCl_3 10%, 0,1 mL natrium asetat 1M, dan 2,8 mL air suling ditambahkan. Kemudian, inkubasi 30 menit pada suhu sekitar diikuti. Spektrofotometri UV-Vis memanfaatkan panjang gelombang maksimal pada kisaran 400-800 nm.

Penentuan Waktu Kerja (Operating Time)

Tempatkan 0,5 mL larutan standar quercetin 14ppm dalam vial menggunakan pipet. Diinkubasi selama 30 menit setelah ditambahkan 1,5 mL etanol p.a., 0,1 mL larutan AlCl_3 10%, 0,1 mL Na asetat 1M, dan 2,8 mL air suling. Absorbansi larutan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada kisaran 400-800 nm menggunakan reagen kontrol. Waktu Pengoperasian ditentukan dengan mengukur absorbansi larutan pada panjang gelombang yang telah ditentukan setiap menit dan mengamati kapan mulai menghasilkan absorbansi yang stabil.

Penentuan Kurva Kalibrasi Quersetin

Pipet 0,6mL; 1mL; 1,4mL; 1,8mL; 2,2mL; konsentrasi 6,10,14,18, dan 22 ppm diperoleh dari distilat induk yang dilarutkan dalam etanol hingga 10mL. Pipet 0,5 mL masing-masing konsentrasi, lalu campurkan 1,5 mL p.a. etanol, 0,1 mL AlCl₃ 10%, 0,1 mL natrium asetat 1M, dan 2,8 mL air suling. Ukur absorbansi menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang yang telah ditentukan setelah 30 menit inkubasi pada suhu kamar.

Penentuan Kadar Flavonoid Total Pada Ekstrak Buah Asam Kandis

Untuk mencapai konsentrasi 5000 ppm, 25 mg ekstrak kental buah asam kandis dilarutkan dalam 5 mL etanol p.a. dengan mengocok campuran dengan kuat. Ambil 0,5 milliliter ditambah 1,5 mililiter etanol, 0,1 mililiter AlCl₃ 10%, 0,1 mililiter natrium asetat 1M, dan 2,8 mililiter air suling. 30 menit inkubasi pada suhu sekitar. Absorbansi kemudian diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh. Larutan sampel disiapkan tiga kali agar kandungan flavonoid dapat dinyatakan dalam miligram setara quersetin per gram ekstrak (mg QE/g).

Perhitungan Kadar Flavonoid Total

Kandungan flavonoid total ditentukan menggunakan persamaan regresi linier dengan program Microsoft Excel dan kurva standar quercetin sebagai absorbansi (y) dan konsentrasi quercetin dalam bagian per juta (x). Konsentrasi

flavonoid dalam larutan sampel dihitung dengan menggunakan persamaan regresi. Konsentrasi flavonoid total dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$C = \frac{C_f \times V}{M} \times FP$$

Deteksi Dan Identifikasi Senyawa Spektroskopi LCMS

Sampel mula-mula dilarutkan dengan asam format 0,1% dari fase gerak dan asam format 0,1% dari CH₃CN. Sampel cairan kemudian dicicipi dan disaring sebelum divorteks. Hasilnya disaring melalui millex 0,22 m. Hingga 5 L sampel dikumpulkan dan kemudian disuntikkan ke dalam sistem LCMS. Instrumen dengan parameter ESI (Electrospray Ionisation) memiliki suhu 500 C, tegangan kapiler 3,0 kV, dan tegangan kelembaban 30 V. Mode pemindaian penuh 50-1200 m/z. Kolom UPLC BEH C18 (1,7 m, 2,1 x 50 mm) digunakan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi dan Nilai Rendemen Ekstrak

Untuk memperoleh ekstrak kental etanol buah asam kandis, ekstrak yang diperoleh dari tahap maserasi dipekatkan menggunakan rotary evaporator untuk menguapkan pelarut pada ekstrak. Hasilnya berupa ekstrak etanol kental berwarna merah kecoklatan dengan berat 205 gram dan rendemen 41%.

Hasil Karakteristik Simplisia

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Karakteristik Simplisia Buah Asam Kandis

No.	Karakterisasi	Simplisia Kadar (%)
1	Air	2,25
2	Sari larut dalam etanol	36,67
3	Sari larut dalam air	33,33
4	Abu total	2,0
5	Abu tidak larut dalam asam	0,44

Buah asam kandis memiliki kadar air lebih rendah yaitu 10% atau 2,25 persen, sesuai dengan hasil karakteristik simplisia. Hal ini baik karena terlalu banyak air dalam bahan tanaman obat atau simplisia dapat menyebabkan pertumbuhan mikroba, adanya jamur atau serangga, dan proses hidrolisis yang berbahaya (Andry & Luthvia, 2022). Suwandi (2015) mengukur jumlah pati dalam dua cairan, air dan etanol. Sifat simplisia buah asam kandis menunjukkan bahwa ia memiliki jumlah ekstrak 36,67% yang larut dalam etanol dan 33,3% yang larut dalam air. Ini adalah glikosida, gula, polisakarida, protein, enzim, warna, dan asam organik. Konsentrasi ekstrak saat dilarutkan dalam etanol digunakan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak saat dilarutkan dalam pelarut polar. (Winata, 2018) Etanol dapat menghilangkan glikosida, antrakuinon, steroid, alkaloid, flavonoid, klorofil, serta sedikit lemak dan saponin.

Simplisia buah kandis asam memiliki kandungan abu padat 0,44 persen dan abu total 2,0 persen. Penanganan kadar abu bertujuan

untuk mengetahui kandungan mineral (abu fisiologis) yang berasal dari jaringan tanaman itu sendiri, dan kandungan eksternal (abu non fisiologis) yang berasal dari sumber luar seperti pasir dan kotoran serta ditemukan dalam sampel. Kadar abu tidak larut asam digunakan untuk mengetahui berapa banyak silika, terutama pasir, yang ada di dalam simplisia dengan merendam total abu dalam asam klorida (Pamungkas et al., 2022).

Hasil Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui apa itu ekstrak etanol buah asam kandis dan metabolit sekunder dari kelas simplisia (Hariadi, Andry, Nasution, & Sumardi, 2023). Alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid diamati pada ekstrak buah asam kandis yang dibuat dengan simplisia dan etanol. Analisis fitokimia ekstrak buah simplisia dan asam kandis menunjukkan bahwa asam kandis mengandung senyawa kimia yang disebutkan pada Tabel 2..

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia simplisia dan ekstrak etanol buah asam kandis

No.	Golongan Senyawa Kimia	Hasil	
		Simplisia	Ekstrak Etanol
1	Alkaloid	-	-
2	Flavonoid	+	+
3	Saponin	+	+
4	Tanin	-	-
5	Steroid	+	+

Keterangan : Positif (+) : ada
Negatif (-) : tidak ada

Identifikasi Komponen Senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi senyawa ini menggunakan pelat KLT silika gel 4 x 10 cm 60 F254 untuk mengidentifikasi komponen senyawa. Pelat diberi tanda batas atas 1 cm dan batas bawah 1 cm. Penandaan pada pelat mencegah ekstrak terendam dalam eluen dan hancur sebelum pemisahan. Tujuan dari penandaan batas adalah untuk menghentikan proses ketika eluen mencapai batas atas. Sebelum pelat dapat digunakan, pelat

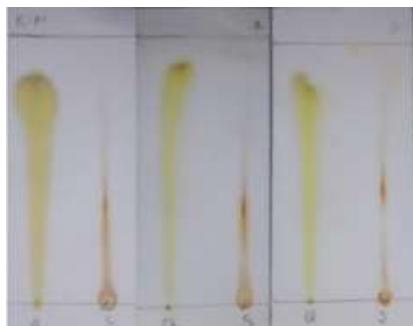
harus diaktifkan pada suhu 60°C selama 30 menit untuk menghilangkan kelembapan yang tersisa.

Penelitian ini menggunakan perbandingan eluen kloroform:metanol 1:4. Eluen ini dipilih karena menurut jurnal Hani Asmorowati dkk. 2019, sangat tepat untuk memisahkan senyawa flavonoid.

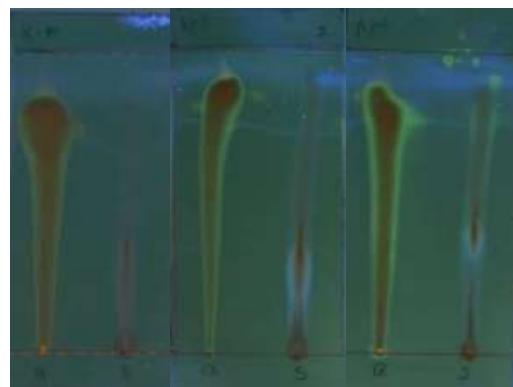
Sepuluh miligram querçetin dan ekstrak dilarutkan dalam 0,5 mililiter etil asetat dan kemudian ditandai pada pelat KLT. Pelat kemudian dimasukkan ke dalam ruang yang berisi eluen jenuh (kloroform: metanol). Dewi, N.L.A., Adnyani,

L.P.S., Pratama, R.B.R., Yanti, N.N.D., Manibuy, J.I., & Warditiani, 2018.) Jenuhnya ruang eluen berupaya menyamakan tekanan uap fase gerak agar pemisahan dapat berjalan dengan sukses. Ketika kertas saring yang dimasukkan ke dalam bejana benar-benar jenuh, ditentukan bahwa bejana tersebut jenuh. Polaritas adalah dasar dari mekanisme pemisahan TLC; senyawa dipisahkan karena perbedaan dalam polaritas (Wulandari, 2011).

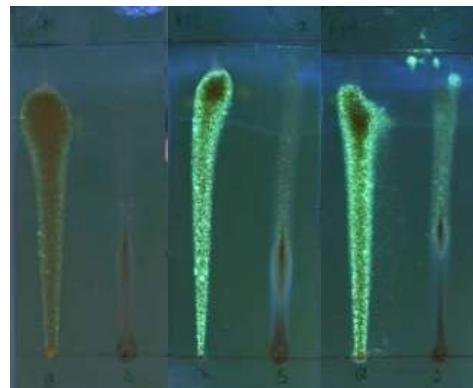
Eluen naik sepanjang pelat yang berisi komponen senyawa. Kemudian akan terjadi distribusi antara kedua fase tersebut, dengan senyawa polar lebih terkonsentrasi pada fase polar dan senyawa nonpolar pada fase nonpolar. Salah satu komponen sampel tertahan oleh fase diam, sedangkan komponen lainnya tertahan oleh fase gerak. Laju naiknya komponen pada pelat KLT bergantung pada kelarutan komponen dalam api, kelarutan komponen dalam pelarut, dan kelarutan komponen teradsorpsi dalam fase diam (Lahut, 2021). Setelah eluen yang bergerak mencapai batas atas, elusi dihentikan dan cairan dikeringkan. Pelat diperiksa di bawah sinar UV 366 nm setelah pengeringan untuk mendeteksi noda. Setelah mengamati pelat KLT di bawah sinar UV 366 nm, pelat tersebut disemprot dengan AlCl₃ dan nilai Rf ditentukan dengan mengamati noda di bawah sinar UV 366 nm.



Gambar 1. Hasil Pemisahan Komponen Senyawa dengan KLT Sebelum Di Lihat Pada Sinar UV 366 nm (Doc Pribadi, 2022)



Gambar 2. Hasil Pemisahan Komponen Senyawa dengan KLT Setelah Dilihat Pada Sinar UV 366 nm (Doc Pribadi, 2022)



Gambar 3. Hasil Pemisahan Komponen Senyawa dengan KLT Setelah Penyemprotan AlCl₃ Pada Sinar UV 366 nm (Doc Pribadi, 2022).

Gambar 1 menggambarkan hasil KLT sebelum dilihat di bawah sinar UV, sedangkan Gambar 2 menggambarkan hasil KLT positif yang terdiri dari flavonoid dalam sampel ekstrak etanol 70% asam kandis (*Garcinia xanthocymus*) di tiga ulangan. Nilai Rf dan warna bercak yang sama, kuning kecoklatan, antara sampel dan pembanding quercetin menunjukkan hasil. Hal ini disebabkan terbentuknya senyawa kompleks (Asmorowati & Lindawati, 2019). Pada Gambar 3, penyemprotan AlCl₃ menghasilkan bercak kuning yang lebih intens atau jelas. Dalam fase gerak, jarak pengembangan 8 cm ditempuh. Hasil KLT buah asam kandis ditampilkan pada tabel berikut.

Tabel 3. Data Hasil Kromatografi Lapis Tipis Buah Asam Kandis (*Garcinia xanthocymus*)

Reflikasi	Sinar UV	Kloroform : Metanol (1:4)			Rf	HRf
		Warna pada sinar UV Sebelum Penyemprotan	Warna Penampakan bercak AlCl_3			
I (Sampel) Baku Kuersetin	366 nm	Kuning Kecoklatan	Kuning Intensif	0,84	84	
		Kuning Kecoklatan	Kuning Intensif	0,85	85	
II (Sampel) Baku Kuersetin	366 nm	Kuning Kecoklatan	Kuning Intensif	0,88	88	
		Kuning Kecoklatan	Kuning Intensif	0,88	88	
III (Sampel) Baku Kuersetin	366 nm	Kuning Kecoklatan	Kuning Intensif	0,87	87	
		Kuning Kecoklatan	Kuning Intensif	0,87	87	
		Rata-Rata Sampel		0,86	86	
		Rata -Rata Kuersetin		0,87	87	

Identifikasi Senyawa Pada Plat KLT menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Analisis kualitatif mengungkapkan bahwa ekstrak etanol buah asam mengandung flavonoid. Untuk memperkuat hasil uji kualitatif yang diklaim, analisis tambahan dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis, yang mampu menentukan secara deskriptif senyawa yang diperoleh dari hasil pemisahan KLT. Dengan menghilangkan noda dari pelat KLT kemudian dilarutkan dengan etanol secukupnya, zat tersebut dapat diidentifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Berdasarkan hasil skimming kromatografi lapis tipis, yang akan diidentifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis masing-masing pada pita I, 300-550 nm, dan pita II, 210-285 nm. Pada pita I panjang gelombang 428 nm menunjukkan sampel mengandung auron, sedangkan pada pita II panjang gelombang 277 nm menunjukkan sampel mengandung flavon, flavonol, flavanon, dihidroflavonol, antosianidin, dan antosianin.

Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Pada penelitian ini untuk menentukan kadar flavonoid total langkah dilakukan adalah sebagai berikut :

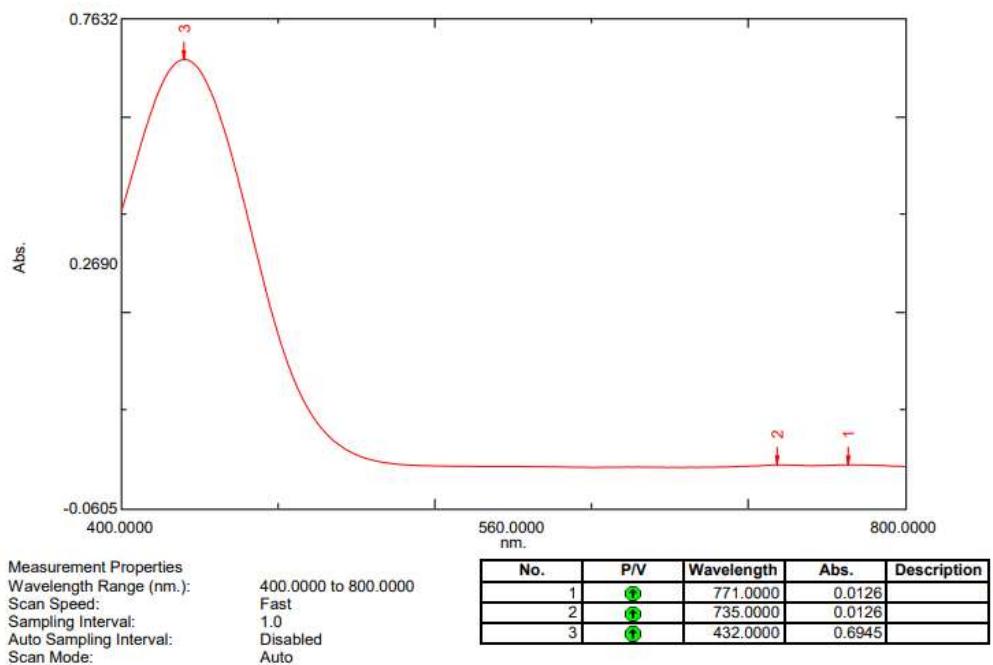
Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Panjang gelombang maksimum adalah panjang gelombang yang dipancarkan oleh suatu zat pada penyerapan maksimum. Menggunakan spektrofotometer UV-Vis, panjang gelombang serapan maksimal querisetin ditentukan menjadi 432 nm 30 menit setelah penambahan etanol p.a. reagen, 10% AlCl_3 , 1M CH_3COONa , dan akuades dengan konsentrasi 14 ppm.

Hasil Penentuan Waktu Kerja (Operating Time)

Setelah menambahkan etanol p.a., 10% AlCl_3 , 1M natrium asetat, dan air suling, spektrofotometer UV-Vis pada 405 nm menghitung durasi operasi kuersetin 14 ppm. Waktu pengoperasian adalah 28–30 menit dengan daya serap yang stabil.

Waktu Keputusan Operasi mengukur respons atau pembentukan warna. Temukan waktu pengukuran yang konsisten. Sambungan absorbansi waktu-larutan pengukuran menentukan waktu operasional (Ganjar & Rohman, 2007).

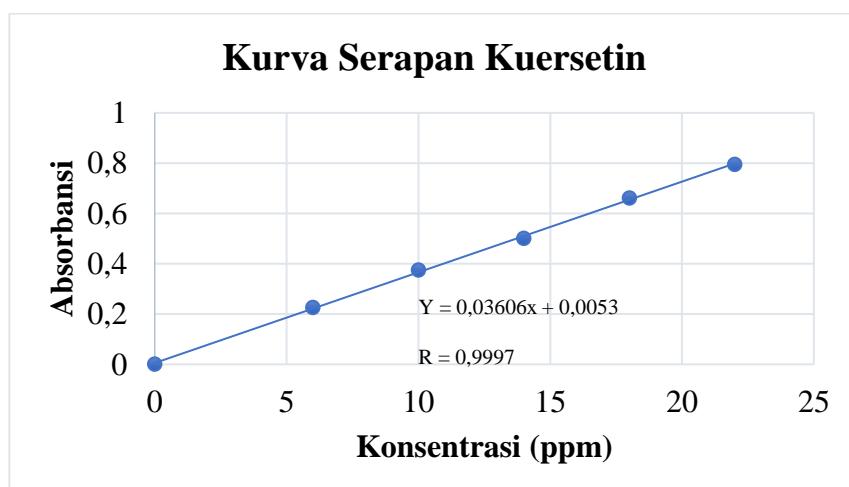


Gambar 4. Kurva Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin (432 nm)

Hasil Penentuan Kurva Kalibrasi Kuersetin

Tabel 4. Nilai Absorbansi Kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Persamaan Regresi
0	0,0000	
6	0,2258	
10	0,3740	
14	0,5009	$Y = 0,03606x + 0,0053$
18	0,6606	
22	0,7946	



Gambar 5. Kurva Kalibrasi Kuersetin

Berdasarkan hasil pengukuran nilai absorbansi larutan baku quercetin set 6,10,14,18, dan 22 didapatkan kurva kalibrasi quercetin yaitu $r = 0,9997$ dengan persamaan regresi $Y = 0,03606x + 0,00053$, dimana r mendekati 1. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi kandungan larutan standar quercetin maka nilai absorbansi juga akan meningkat. Grafik penyerapan menunjukkan bagaimana absorbansi larutan berubah dengan panjang

gelombang radiasi. Kurva serapan ini dibuat dengan meletakkan bilangan absorbansi dan konsentrasi masing-masing pada sumbu Y dan X. Pada persamaan $Y = ax + b$ untuk regresi linier, parameter hubungan linier dicari dengan menggunakan nilai korelasi r . Hubungan linier yang sempurna tercapai ketika $b = 0$ dan $r = +1$ atau -1 , berdasarkan arah garis.

Hasil Penentuan Kadar Flavonoid Total Pada Ekstrak Buah Asam Kandis

Tabel 5. Kadar Flavonoid Total pada Ekstrak Buah Asam Kandis

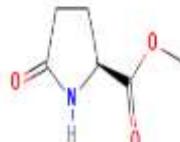
Sampel	Reflifikasi	Abs	KTF (mg QE/g Sampel)	Rata-Rata KTF (mg QE/g Sampel)	(%) KTF	SD	KTF±SD (mg QE/g Sampel)
	I	0,6414	35,28				
Ekstrak Etanol 70 % Buah Asam Kandis	II	0,6331	34,8198	34,8364	0,6967	0,4355	34,8364 ± 0,4355
	III	0,6257	34,4094				

Aluminium klorida digunakan untuk mengetahui kandungan flavonoid total. Aluminium klorida akan membentuk kombinasi yang stabil dengan gugus karbonil pada C4 dan gugus hidroksil pada C3 (flavonol, flavon C5). Quercetin memiliki gugus keto pada atom C4 dan gugus hidroksil pada atom C3 dan C5 yang berdekatan. (Azizah, 2014) Mengukur flavonoid.

Untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat, analisis kuantitatif spektrofotometer yang digunakan untuk mengetahui kandungan flavonoid dalam sediaan diuji sebanyak tiga kali. Melalui penelitian ini, jumlah total flavonoid dalam ekstrak etanol buah asam kandis (*Garcinia xanthocymus*) ditemukan sebesar 34,8364 0,4355 mg QE/g sampel.

Hasil Deteksi Dan Identifikasi Senyawa Spektroskopi LC-MS (Liquid Chromatograph Mass Spectrometry)

Tabel 6. Hasil Deteksi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Menggunakan LCMS

Senyawa	Waktu Retensi (Rt)	Komposisi (%)	Analisis	Struktur
<i>Methyl 5-oxo-L-proline</i>	0,272	0,95 %	Base Peak : 59 Rumus Kimia : C ₆ H ₉ NO ₃ Berat Molekul (g/mol) : 143,14 Major Fragment : 59; 60; 85; 143	

			Kelompok Senyawa : Amino Acid
<i>Methyl dihydro quercetin</i>	0,485	49,57 %	Base Peak : 129 Rumus Kimia : C ₁₆ H ₁₄ O ₇ Berat Molekul (g/mol) : 318,28 Major Fragment : 58; 99; 145; 177; 259 ; 319 Kelompok Senyawa : Flavonoid
<i>1,5-Dihydroxy-3-methoxyxanthone</i>	2,545	1,61 %	Base Peak : 59 Rumus Kimia : C ₁₄ H ₁₀ O ₅ Berat Molekul (g/mol) : 258,23 Major Fragment : 59; 60; 83; 143; 257 Kelompok Senyawa : Flavonoid
<i>Afzelechin</i>	6,443	2,08 %	Base Peak : 230 Rumus Kimia : C ₁₅ H ₁₄ O ₅ Berat Molekul (g/mol) : 274,27 Major Fragment : 59; 60; 83; 172; 230 ; 274 Kelompok Senyawa : Flavonoid
<i>Lupeol</i>	9,216	0,82 %	Base Peak : 59 Rumus Kimia : C ₃₀ H ₅₀ O Berat Molekul (g/mol) : 426,7 Major Fragment : 60; 83; 152; 357; 427; 428 Kelompok Senyawa : Triterpenoid
<i>Myricetin-3-O-β-D-galactopyranoside</i>	10,418	3,57 %	Base Peak : 59 Rumus Kimia : C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃ Berat Molekul (g/mol) : 480,4 Major Fragment : 60; 83; 152; 172; 371; 227; 481 Kelompok Senyawa : Flavonoid

Myricetin 7-glucoside	11,644	8,96 %	Base Peak : 427 Rumus Kimia : C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃ Berat Molekul (g/mol) : 480,4 Major Fragment : 60; 83; 152; 371; 427; 428; 479 Kelompok Senyawa : Flavonoid
Mandelic acid	15,116	1,03 %	Base Peak : 59 Rumus Kimia : C ₈ H ₈ O ₃ Berat Molekul (g/mol) : 152,15 Major Fragment : 60; 61; 152; 153 Kelompok Senyawa : Phenolic
Vanillic acid	16,172	14,21	Base Peak : 131 Rumus Kimia : C ₈ H ₈ O ₄ Berat Molekul (g/mol) : 168,15 Major Fragment : 59; 131; 152; 153; 167 Kelompok Senyawa : Phenolic
Gallic acid methyl ester	16,946	0,94 %	Base Peak : 58 Rumus Kimia : C ₈ H ₈ O ₅ Berat Molekul (g/mol) : 184,15 Major Fragment : 59; 60; 132; 155; 183 Kelompok Senyawa : Phenolic

Berdasarkan Tabel 6, senyawa flavonoid dengan konsentrasi tertinggi pada ekstrak buah asam kandis (*Garcinia xanthocymus*) adalah methyl dihydro quercetin, yang memiliki waktu retensi 0,485 menit dan massa puncak 129 dengan m/z 318,28. Diketahui bahwa senyawa flavonoid yang terdeteksi memiliki sifat obat dan farmakologis. Menurut penelitian Saewan et al., methyl dihydro quersetin merupakan senyawa flavonoid golongan flavanon yang memiliki sifat antio-ktrosinase dan antikanker. (Saewan, Mae, Luang, & Chantrapromma, 2015). Pada penelitian

Jung,Seo Yun.dkk 2012 *Methyl dihydro quersetin* juga memeliki efek neuroprotektif terhadap cedera saraf iskemik fokal sementara pada model tikus MCAO (Model oklusi arteri serebral tengah) (Yun Jung et al., 2012).

Myricetin adalah flavonoid yang berasal dari tumbuhan yang dikenal baik karena nutraceuticalnya. Senyawa ini menunjukkan berbagai aktivitas yang mencakup aktivitas antioksidan, antikanker, antidiabetes dan antiinflamasi yang kuat (Semwal, Semwal, Combrinck, & Viljoen, 2016). Glikosida myricetin

meliputi myricetin-3-HAI-(4-asetil)- α -L-arabinopyranosida, myricetin-3-HAI-(3-Esetil)- α -L-arabinopyranoside, myricetin-3-O- β -D-galactopyranoside, myricetin-3-O- α -L-rhamnopyranosida, myricetin-3-O- β -D-xylopyranoside, myricetin-3-O- α L-arabinofuranoside, myricetin-3-HAI-(6-galoil)- β -D-galactopyranosida [26], myricetin-3-HAI-(3-HAI-galoil)- α L-rhamnosida, myricetin-3-HAI-(2-HAI-galoil)- α L-rhamnosida, dan myricetin-3-O- α -L-rhamnosida (Taheri et al., 2020). Salah satu efek biologis yang menguntungkan adalah aktivitas neoprotektif yang menunjukkan aktivitas plaklinis pada penyakit Alzheimer, Parkinson, dan Huntington dan bahkan pada amyotrophic lateral sclerosis (Taheri et al., 2020).

Afzelechin merupakan flavonoid golongan flavan-3-ol nama lain 3,5,7,4-Tetrahydroxyflavan dan 3,4,5,7-Flavantetrol. Senyawa ini diketahui memiliki aktitas sebagai antioksidan yang di uji dengan metode DPPH dan ABTS yang terkandung pada tanaman ekstrak etanol batang *Rhizophora apiculata* (Pambudi, 2022).

Xanthone adalah golongan senyawa biflavonoid, dimana biflavonoid merupakan flavonoid dimer (Markham, K, 1988). Berdasarkan penelitian Muhamni.dkk, 2011 senyawa biflavonoid dari sangat batang gamboge (*Garcinia xanthochymus*) dilaporkan memiliki aktifitas biologis seperti antibakteri, antimalaria, analgesik sitotoksitas, antioksidan, antivirus, dan neurotropik serta penghambatan sikloksigenase.1,5-Dihydroxy-3-methoxy xanthone diketahui memiliki kemampuan sebagai anti kanker yang menunjukkan aktivitas dalam uji DPPH dan sitotoksitas terhadap garis sel kanker usus besar SW-480 (Muhamni, 2011).

Untuk senyawa phenolic yaitu vanilic acid merupakan asam vanilat yang memiliki senyawa aktif sebagai antimikroba, antiinflamasi dan antioksidan/antikanker (Satpute, Gangan, & Shastri, 2019). Senyawa mandelic acid adalah asam mandelic yang memiliki penetrasi kulit yang lebih lambat tetapi asam mandelic dikenal sebagai pengelupasan kulit tanpa iritasi (Saxena & Yadav, 2020). Dan untuk golongan phenolic gallic acid methyl eter adalah asam galat yang memiliki aktivitas antioksidan yang efektif dan memfasilitas untuk melindungi sel-sel kita dari oksidasi dan mencegah penyakit jantung (Asnaashari, Farhoosh, & Farahmandfar, 2019).

Senyawa methyl 5-oxo-L proline diketahui memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi pada buah *prunus persica* (Winartiana, 2019). Untuk senyawa triterpenoid yaitu lupeol diketahui memiliki aktifitas sebagai antioksidan, sitotoksitas dan antibakteri (Akwu et al., 2020).

KESIMPULAN

Buah asam kandis (*Garcinia xanthocymus*) diperoleh kadar air 2,25 persen, ekstrak larut air 36,67 persen, ekstrak larut air 33,33 persen, kadar abu total 2 persen, dan kadar abu total 2 persen. asam 0,44% tidak larut. Hasil ini menunjukkan bahwa karakteristik simplisia memenuhi persyaratan.

Analisis fitokimia kandis yang diekstraksi dari simplisia dan buah asam jawa (*Garcinia xanthocymus*) mengungkapkan adanya flavonoid, saponin, dan steroid.

Dengan menggunakan teknik Kromatografi Lapis Tipis (KLT), diketahui bahwa ekstrak buah asam jawa kandis (*Garcinia xanthocymus*) mengandung senyawa flavonoid dengan warna kuning kecoklatan yang sama dengan quercetin, menghasilkan nilai Rf sebesar 0,86. Sebagai perbandingan, quercetin memiliki nilai Rf 0,87.

Metode spektrofotometri UV-Vis menunjukkan bahwa kandungan total flavonoid ekstrak etanol daun asam kandis (*Garcinia xanthocymus*) adalah 34,8364 mg QE/g sampel, dengan standar deviasi 0,4355 dan persentase 0,6967.

Panel sampingHasil deteksi dan identifikasi senyawa spektroskopi dengan metode LC-MS (*Liquid Chromatograph Mass Spectrometry*) menunjukkan bahwa terdapat 5 jenis flavonoid yang terkandung pada ekstrak buah asam kandis (*Garcinia xanthocymus*) yang meliputi methyl dihydro quersetin, 1,5-Dihydroxy-3-methoxy xanthone, Afzelechin, Myricetin-3-O- β -D-galactopyranoside, dan Myricetin 7-glucoside. Dari 5 senyawa diketahui memiliki aktivitas sebagai anti kanker, antioksidan, antiinflamasi, antidiabetes, dan antimikroba.

SARAN

Berdasarkan pada hasil penelitian, maka penulis menyarankan untuk melanjutkan penelitian

dengan uji antikanker pada buah asam kandis (*Garcinia xanthoxymus*).

REFERENSI

- Akwu, N., Naidoo, Y., Singh, M., Thimmegowda, S. C., Nundkumar, N., & Lin, J. (2020). Isolation of lupeol from *grewia lasiocarpa* stem bark: Antibacterial, antioxidant, and cytotoxicity activities. *Biodiversitas*, 21(12), 5684–5690. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d211213>
- Aminah, A., Tomayahu, N., & Abidin, Z. (2017). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (Persea Americana Mill.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2), 226–230. <https://doi.org/10.33096/jffi.v4i2.265>
- Andry, M., & Winata, H. S. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri *Streptococcus Mutans* serta Formulasi Sediaan Pasta Gigi Ekstrak Etanol Buah Okra Hijau (*Abelmoschus esculentus*) dan Tulang Ikan Tuna (*Thunnini*). *Journal of Pharmaceutical and Sciences (JPS)*, 5(2), 170–173.
- Asmorowati, H., & Lindawati, N. Y. (2019). Penetapan Kadar Flavonoid Total Alpukat (Persea americana Mill.) dengan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 15(2), 51–63.
- Asnaashari, M., Farhoosh, R., & Farahmandfar, R. (2019). Preservation of gallic acid and methyl gallate on purified Kilka fish oil oxidation by Rancimat. *Food Science and Nutrition*, 7(12), 4007–4013. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1264>
- Hariadi, H., Andry, M., Nasution, M. A., & Sumiardi, A. (2023). *Jurnal Biologi Tropis Growth Inhibition Test of Gram and Negative Bacteria in Pharmaceutical Biotechnology Products in the Form of Hand Sanitizer Formulations Based Fermented Telang Flower Kombucha*. (2022).
- Hidayah, N. (2018). Identifikasi Kandungan Senyawa Flavonoid Ekstrak Kulit Buah Jeruk Bali EKST (Citrus maxima Merr.) Secara Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Kesehatan Yamsi Makassar*, 2(No.1).
- K. Fitri, M. Andry, Khairani, T. N., Winata, H. S., A. Violenta, N. Lubis, & Lubis, M. F. (2023). Synthesis of Silver Nanoparticles Using Ethanolic Extract of *Nelumbo nucifera* Gaertn. Leaf and Its Cytotoxic Activity Against T47D and 4T1 Cell Lines. *Rasayan Journal of Chemistry*, 16(01), 104–110. <https://doi.org/10.31788/rjc.2023.1618000>
- Markham, K. R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid* (ITB). Bandung.
- Muharni, dkk. (2011). Biflavonoid Compound From The Stem Bark Of Gamboge(*Garcinia xanthochymus*). *Indo.J.Chem*, 11(2), 169–173.
- Pambudi, D. B. dk. (2022). Efektivitas Farmakologi Senyawa Aktif Tumbuhan Mangrove. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 15(1), 39–57.
- Saewan, N., Mae, U., Luang, F., & Chantrapromma, K. (2015). Aktivitas anti-tirosinase dan anti-kanker dari flavonoid. *Jurnal Penelitian Tanaman Obat*, 5(6).
- Satpute, M. S., Gangan, V. D., & Shastri, I. (2019). Synthesis and antibacterial activity of novel 3-hydroxy benzoic acid hybrid derivatives [Part II]. *Rasayan Journal of Chemistry*, 12(3), 1077–1084. <https://doi.org/10.31788/RJC.2019.1235167>
- Saxena, V., & Yadav, K. (2020). Glycolic Acid, Lactic Acid, Mandelic Acid, Salicylic Acid, Citric Acid, Gluconolactone: Skin Exfoliators in Combination Therapy of Acne Vulgaris. *International Journal of Research in Engineering, Science and Management*, 3(10), 54–55. <https://doi.org/10.47607/ijresm.2020.334>
- Semwal, D. K., Semwal, R. B., Combrinck, S., & Viljoen, A. (2016). Myricetin: A dietary molecule with diverse biological activities. *Nutrients*, 8(2), 1–31. <https://doi.org/10.3390/nu8020090>
- Taheri, Y., Suleria, H. A. R., Martins, N., Sytar, O., Beyatli, A., Yeskaliyeva, B., ... Sharifi-Rad, J. (2020). Myricetin bioactive effects: Moving from preclinical evidence to potential clinical applications. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-03033-z>
- Winartiana. (2019). *Metabolite Profiling Ekstrak Etanol 96 % Buah Prunus Persica (L) Batsch Berdasarkan Tingkat Kematangannya Menggunakan UPLC-QT of-MS/MS*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Winata, H. S., Andry, M., Nasution, M. A., Rezaldi, F., & Sembiring, A. S. F. B. (2023). Anti-Inflammatory Activity of Stem Barks Ethanol

- Extracts of Asam Kandis On Male White Rats. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*, 9(1), 47–53.
- Yun Jung, S., Kim, H. J., Lee, J., Cho, J., Lee, Y. S., & Jin, C. (2012). Neuroprotective effects of quercetin 3-O-methyl ether, quercetin and (\pm)-Dihydroquercetin in a rat model of transient focal cerebral ischemia. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 33(7), 2443–2446.
<https://doi.org/10.5012/bkcs.2012.33.7.2443>