

ANALISIS PROFIL FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK ETANOL BATANG KAYU WAMPEE (*Clausena lansium* (Lour.)) MENGGUNAKAN METODE DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

Dedi Kusnadi, Iqbal Musthapa, Fajar Fauzi Abdullah
Prodi Farmasi FMIPA, Universitas Garut

Email: dedikusnadi94@yahoo.com

Abstrak

Wampee (*Clausena lansium* (Lour.)) dengan sinonim *Clausena wampi* (Blanco.) merupakan spesies dari famili *Rutaceae*. Berdasarkan studi literatur, tanaman wampee (*Clausena lansium* (Lour.)) memiliki aktivitas pelindung otak, hepatoprotektif, hipoglikemik, antikonvulsan, kardiovaskular, dan antitumor. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak etanol batang kayu wampee (*Clausena lansium* (Lour.)) dan aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol batang kayu wampee (*Clausena lansium* (Lour.)). Ekstraksi batang kayu wampee (*Clausena lansium* (Lour.)) dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% selama 3x24 jam dan diperoleh ekstrak sebanyak 1,15 gram dengan nilai persentase rendemen sebesar 0,23%. Ekstrak etanol batang kayu wampee (*Clausena lansium* (Lour.)) dilakukan analisis profil fitokimia menggunakan spektroskopi inframerah dan kromatografi lapis tipis (KLT) serta uji aktivitas antioksidan. Hasil analisis spektroskopi inframerah diperoleh beberapa gugus fungsi yaitu gugus hidroksil (-OH), gugus (C-H alifatik), gugus karbonil (C=O), cincin aromatik (C=C aromatik), gugus amina (C-N bending), dan (C-O eter). Kemudian hasil analisis KLT dengan eluen etilasetat:*n*-heksan (1:1) serta menggunakan penampak bercak H₂SO₄ dan Dragendroff menunjukkan adanya 6 spot noda dengan nilai R_f 0,1; 0,34; 0,6; 0,7; 0,98; dan 1. Hasil pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yang diukur pada panjang gelombang 516 nm menggunakan pembanding vitamin C diperoleh nilai IC₅₀ vitamin C sebesar 6,22 ppm dan ekstrak etanol batang kayu wampee (*Clausena lansium* (Lour.)) sebesar 131,49 ppm, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol batang kayu wampee (*Clausena lansium* (Lour.)) memiliki aktivitas antioksidan dengan kekuatan sedang.

Kata kunci: Wampee (*Clausena lansium* (Lour.)), Antioksidan, KLT, FTIR, DPPH

1 Pendahuluan

Indonesia memiliki kekayaan hayati yang sangat besar, berbagai jenis tumbuhan di negeri telah menjadi sumber potensial untuk agen terapeutik selama bertahun-tahun dan telah banyak yang berkembang menjadi obat-obatan modern⁽¹⁾. Penemuan dan identifikasi terhadap metabolit sekunder dari spesies obat baru adalah salah satu cara paling efektif untuk mengembangkan dan mempelajari tanaman. Salah satu diantaranya adalah genus *Clausena* dari famili rutaceae yang menarik banyak para peneliti di bidang farmakologi.⁽²⁾ *Clausena* adalah genus dari sekitar 14 spesies, sebagian besar tumbuh baik di India dan Asia tropis. Salah satu hal yang menguntungkan dari spesies genus ini adalah ketersediaannya di berbagai belahan dunia, terutama di India, Asia Tropis dan Afrika Selatan. Tumbuhan ini mudah untuk tumbuh dan bebas dari hama dan penyakit. Ditemukan beberapa spesies genus *Clausena* yang telah dieksplorasi dan diidentifikasi studi secara kimia dan biologi. Salah satunya yaitu *Clausena lansium* (Lour.).⁽²⁾

Wampee (*Clausena lansium* (Lour.)), dengan sinonim *Clausena wampi* (Blanco) dan *Clausena punctata* (Sonn.) yang merupakan anggota famili *Rutaceae*. Tanaman ini berupa semak atau pohon kecil dengan buah mirip grapel atau seperti buah jeruk dan umumnya disebut wampee. Di Taiwan dan Cina, daunnya secara empiris telah digunakan untuk pengobatan penyakit batuk, asma dan gastrointestinal seperti peradangan gastro-intestinal akut dan kronis, bisul, dll. Buahnya memiliki efek pendingin perut dan digunakan secara etnomedis sebagai *vermifuge* dan gangguan pencernaan. Irisan akar dan batang kering digunakan sebagai obat tradisional di Vietnam untuk pengobatan penyakit bronkitis dan malaria. Bagian yang berbeda digunakan dalam pengobatan hepatitis virus akut dan kronis di Cina.⁽³⁾

Investigasi fitokimia sebelumnya telah menunjukkan bahwa tanaman ini mengandung alkaloid C₁₃ dan C₁₈ karbazol, kumarin, furokumarin, amina, dan amida dan beberapa komponen lainnya. Beberapa efek farmakologi seperti peroksidasi anti-lipid, pelindung otak, hepatoprotektif, hipoglikemik, antikonvulsan, kardiovaskular dan antitumor telah dilaporkan untuk beberapa kumarin dan amida, seperti clausenamida dan clausenakumarin, yang diisolasi dari daun. Namun, kulit batang belum diselidiki secara rinci⁽²⁾. Sebanyak 17 senyawa golongan alkaloid karbazol dan 17 furanokumarin dari batang *Clausena lansium* (Lour.) dilaporkan menunjukkan efek neuroprotektif selektif.⁽⁴⁾

Senyawa fenol diantaranya kumarin merupakan antioksidan yang efektif karena dapat bereaksi dengan radikal intermediet menghasilkan radikal fenolik yang stabil dan tidak reaktif. Pembentukan radikal yang tidak reaktif ini mengakhiri proses oksidasi radikal yang tidak dikehendaki. Sehingga diduga senyawa golongan fenolik yang terdapat pada batang *Clausena lansium* (Lour.) memiliki aktivitas sebagai antiradikal alami.⁽⁸⁾

Antioksidan merupakan suatu molekul pendonor elektron atau penghambat reaksi reduksi. antioksidan merupakan suatu senyawa yang mempunyai berat molekul yang kecil, dan dapat menginaktivasi proses terjadinya reaksi oksidasi, dengan menghambat terbentuknya

radikal bebas dan molekul yang reaktif. manfaat antioksidan yaitu menetralkan radikal bebas, sehingga mencegah dari penyakit degeneratif.⁽⁶⁾

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak etanol batang kayu wampee (*Clausena lansium* (Lour.)) melalui metode analisis fitokimia dan informasi tentang aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol batang kayu wampee (*Clausena lansium* (Lour.)). Adapun manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi tentang kandungan senyawa metabolit melalui analisis fitokimia dan aktivitas antioksidan.

2. Metode Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan dengan beberapa tahapan, diantaranya determinasi tumbuhan, penyiapan bahan, karakterisasi simplisia, ekstraksi simplisia, pemantauan pola kromatografi lapis tipis (KLT) ekstrak, serta pemantauan spektrum inframerah dari ekstrak batang kayu wampee (*Clausena lansium* (Lour.)) dan dilakukan pengujian aktivitas antioksidan.

Tahap awal penelitian akan dimulai dengan *determinasi tanaman yang dilakukan di Herbarium Kebun Raya Bogor. Selanjutnya dilakukan pengumpulan batang kayu wampee (Clausena lansium (Lour.)). Batang kayu wampee (Clausena lansium (Lour.)) yang terkumpul akan dibersihkan, dilakukan sortasi basah, dilakukan proses pengeringan dan kemudian dibuat dalam bentuk serbuk yang selanjutnya akan dilakukan karakterisasi simplisia dan proses ekstraksi. Simplisia yang digunakan adalah batang kayu wampee (Clausena lansium (Lour.)) yang diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%, yang dilakukan perendaman selama 3x24 jam secara continue. Ekstrak yang diperoleh dievaporasi atau diuapkan dengan menggunakan evaporator untuk menghasilkan ekstrak kental batang kayu wampee (Clausena lansium (Lour.)).*

Karakterisasi akan dilakukan terhadap serbuk simplisia batang kayu wampee (Clausena lansium (Lour.)) yang meliputi penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut etanol, penetapan susut pengeringan, penetapan kadar air, penetapan kadar abu total, kadar abu larut air, dan kadar abu tidak larut asam. Selain itu, dilakukan juga pemantauan pola kromatografi lapis tipis (KLT), dan pemantauan spektrum infra merah

3 Hasil Penelitian dan Pembahasan

3.1 Determinasi Tanaman

Penelitian ini menggunakan simplisia batang kayu wampee (*Clausena lansium* (Lour.)) yang diperoleh dan dideterminasi di LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia) Pusat Konservasi Tumbuhan dan Kebun raya Bogor, untuk memastikan spesies tanaman yang digunakan dalam penelitian. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah famili *Rutaceae*, genus *Clausena* dengan nama spesies *Clausena lansium* (Lour). Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.2 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

Pemeriksaan karakteristik simplisia dimulai dengan pemeriksaan makroskopik dapat dilihat pada tabel 1 Selanjutnya dilakukan pemeriksaan karakteristik simplisia seperti penetapan kadar air, kadar abu total, kadar abu larut air, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut etanol, kadar sari larut air, dan susut pengeringan dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 1 Hasil Pemeriksaan Makroskopis

No	Parameter	Simplisia
1	Warna	Putih gading
2	Bau	Khas
3	Rasa	Tidak berasa

Tabel 2 Karakteristik Simplisia Batang kayu Wampee (*Clausena lansium* (Lour.))

No.	Pemeriksaan	Kadar (%)	Standar FHI (%)
1	Kadar air	9,187 (v/b)	≤ 10
2	Kadar abu total	1,01 (b/b)	≤ 8,0
3	Kadar abu larut air	0,822 (b/b)	-
4	Kadar abu tidak larut asam	0,033 (b/b)	≤ 1,2
5	Kadar sari larut air	3,22 (b/b)	≥ 17,0
6	Kadar sari larut etanol	2,25 (b/b)	≥ 4,2
7	Susut pengeringan	7,681 (b/b)	≤ 9

3.3 Ekstraksi Batang Wampee (*Clausena Lansium* (Lour.))

Tahap selanjutnya adalah proses pembuatan simplisia yang dilakukan dengan metode maserasi. Maserasi adalah salah satu metode pemisahan senyawa dengan cara perendaman menggunakan pelarut organik pada suhu ruangan. Prinsip dari metode maserasi adalah terdapat waktu kontak yang cukup antara sampel dan pelarut, sehingga pelarut organik dapat secara terus menerus berdistribusi masuk ke dalam sel sampel atau tumbuhan dan dapat menyebabkan dinding sel dari tanaman menjadi pecah. Dengan pecahnya dinding sel tanaman, maka senyawa aktif yang berupa metabolit sekunder yang terdapat dalam sitoplasma tumbuhan akan keluar dan larut ke dalam pelarut.⁽¹²⁾

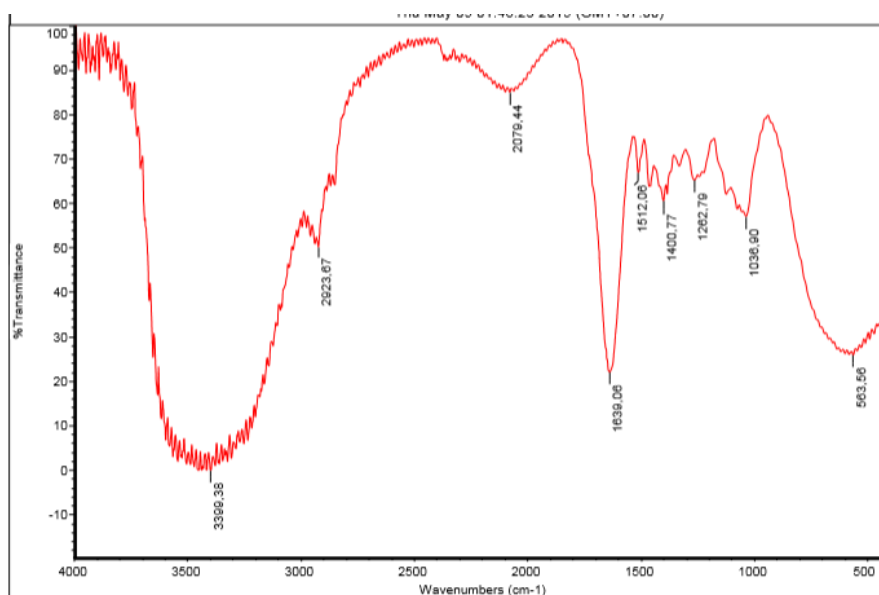
Pada proses pembuatan ekstrak pada penelitian ini melakukan penyarian serbuk batang kayu wampee (*Clausena lansium* (Lour.)) sebanyak 500 gram yang kemudian di ekstraksi dengan cara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Cairan penyari yang digunakan adalah etanol karena bersifat polar dan dapat melarutkan banyak senyawa aktif yang terkandung dalam tumbuhan. Kemudian dilakukan proses maserasi selama 3x24 jam dengan suhu ruang dan setiap 6 jam sekali dilakukan pengadukan, dan kemudian dilakukan pergantian pelarut dan

menampung filtrat setiap 1x24 jam. Kemudian maserat yang diperoleh dilakukan evaporasi yang bertujuan untuk memisahkan ekstrak dengan pelarut. Hasil yang dihasilkan sekitar 500 mL, kemudian dilakukan *freeze dry* yang bertujuan untuk menghilangkan kadar air yang terdapat dalam simplisia dan hasil yang didapat sekitar 1,1514 gram. Sehingga diperoleh persentase rendemen sebesar 0,23 %.

3.4 Pemantauan Spektrum Inframerah

Karakteristik gugus fungsi dari golongan senyawa alkaloid karbazol dan kumarin pada tanaman wampee (*Clausena lansium* (Lour.)) adalah adanya gugus karbonil (C=O), gugus amina (-NH), gugus hidroksil (-OH), gugus (C-O) eter, cincin aromatik dan isopren. Maka dari ciri-ciri ini ekstrak etanol batang kayu wampee (*Clausena lansium* (Lour.)) berdasarkan hasil spektrum inframerah memperlihatkan gugus yang sama, menunjukkan adanya ciri karakteristik yang identik dengan gugus fungsi golongan senyawa alkaloid dan kumarin. Analisis menggunakan spektroskopi inframerah dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel 3 .

Berdasarkan hasil analisis spektroskopi inframerah, diperoleh data berupa pita-pita pada bilangan gelombang tertentu, dengan dugaan gugus fungsi yang khas pada golongan alkaloid dan kumarin. ditunjukkan dengan adanya pita melebar pada daerah bilangan gelombang $3399,28\text{ cm}^{-1}$ yang diduga dari serapan gugus -OH. serapan kuat pada bilangan gelombang $2923,67\text{ cm}^{-1}$ yang diduga gugus C-H sp^3 alifatik. Pita tajam dengan intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang $1639,06\text{ cm}^{-1}$ diduga karena adanya regang pada gugus fungsi karbonil C=O. Pita ini merupakan pita yang kuat dijumpai didaerah $1640\text{-}1820\text{cm}^{-1}$.⁽¹⁴⁾ Selanjutnya pita tajam intensitas sedang pada bilangan gelombang $1512,06\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan gugus C=C sp^2 aromatik. Pita tajam dengan intensitas sedang pada bilangan gelombang $1036,90\text{ cm}^{-1}$ C-O eter. Pita tajam dengan intensitas sedang pada bilangan gelombang $1262,79\text{ cm}^{-1}$ terdapat gugus amina C-N bending.



Gambar1 Spektrum Inframerah ekstrak etanol batang kayu wampee (*Clausena lansium*(Lour.))

Tabel 3 Hasil Analisa dari Spektrum Inframerah

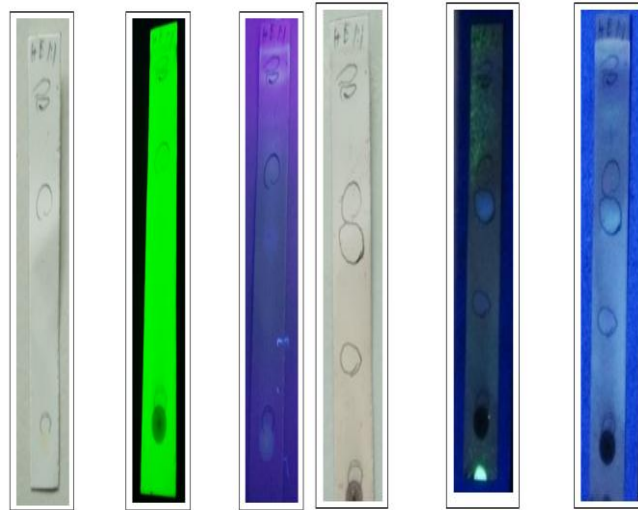
Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Bentuk pita	Intensitas	Dugaan
3399,38	Lebar	Kuat	-OH
2923,67	Tajam	Sedang	C-H alifatik
1639,06	Tajam	Kuat	Karbonil
1512,06	Tajam	Sedang	C=C
1262,79	Tajam	Kuar	C-N bending
1036,90	Tajam	Sedang	C-O eter

3.5 Pemantauan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

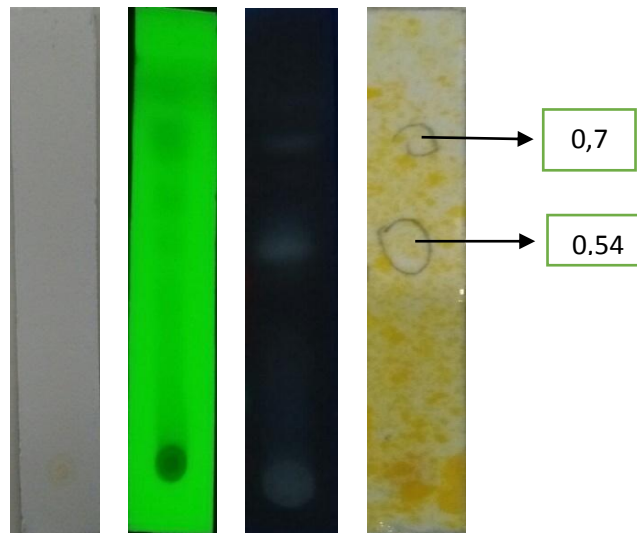
Analisis dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) yaitu proses pemisahan komponen-komponen yang terdapat dalam suatu sampel, yang didasarkan pada perbedaan polaritas dari masing-masing komponen dengan melibatkan dua fasa yaitu fasa diam sebagai adsorben dan fasa gerak sebagai eluen. Komponen kimia dalam sampel dapat bergerak maju ke atas bersama dengan fasa gerak karena memiliki tingkat kepolaran yang berbeda atau tidak sama sehingga akan menghasilkan jarak yang berbeda-beda. Peristiwa ini dapat mengakibatkan terjadinya proses pemisahan dari komponen-komponen dalam sampel atau ekstrak. Dilakukan beberapa kali percobaan dengan menggunakan berbagai konsentrasi fasa gerak untuk memperoleh pelarut yang dapat memberikan bercak noda bagus dan proses pemisahan yang terbaik.⁽¹³⁾

Analisis KLT pada ekstrak dilakukan dengan menotolkannya pada plat KLT yang dielusikan dengan fase gerak *n*-heksan:etil asetat dengan perbandingan 1:1. Hasil yang didapatkan dilihat di bawah sinar UV 254 nm dan 365 nm. Plat yang diamati di bawah sinar UV 365 nm memperlihatkan beberapa noda. Senyawa yang mempunyai gugus kromofor akan mengalami fluoresensi jika dilihat di bawah sinar UV 365 nm.⁽¹³⁾

Selanjutnya dilakukan penyemprotan plat dengan menggunakan pereaksi asam sulfat. Penggunaan pereaksi asam sulfat untuk mengidentifikasi senyawa seperti komponen minyak yang mudah menguap (minyak atsiri), terpenoid serta steroid. Perubahan yang terjadi dari warna bercak menjadi warna ungu menandakan hasil yang positif. Setelah penyemprotan pereaksi asam sulfat. Plat yang diamati sudah disemprot diamati di bawah sinar UV 365 nm dan memperlihatkan 6 noda dengan Rf yang berbeda-beda yaitu Rf 1= 0,1; Rf 2= 0,34; Rf 3= 0,6; Rf 4= 0,7; Rf 5= 0,98 dan Rf 6= 1 (Gambar V.5). Sedangkan pereaksi warna lainnya seperti Dragendroff digunakan untuk mendeteksi senyawa alkaloid. Hasil pewarnaan dengan pereaksi Dragendroff menunjukkan hasil yang positif ditandai dengan perubahan warna menjadi jingga coklat atau orange (Gambar 3).



Gambar 2 Hasil pemantauan KLT ekstrak etanol batang kayu wampee (*Clausena lansium* (Lour.)) sebelum dan sesudah disemprot H_2SO_4 .



Gambar 3 Hasil pemantauan KLT ekstrak etanol batang kayu wampee (*Clausena lansium* (Lour.)) sebelum dan setelah disemprot Dragendorff

3.5 Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Batang Wampee (*Clausena lansium* (Lour.))

Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam IC_{50} (*Inhibition Concentration 50*) adalah konsentrasi ekstrak yang memberikan persen aktivasi antioksidan senilai 50% dibanding kontrol melalui suatu persamaan garis regresi linier. Semakin kecil IC_{50} suatu ekstrak maka semakin besar aktivitas antioksidannya dan sebaliknya, secara spesifik suatu senyawa dinyatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50, kuat 50-100, sedang 100-150 dan lemah jika nilai IC_{50} 150-200. Sedangkan % inhibisi merupakan persentase penghambat radikal DPPH oleh senyawa antioksidan.⁽¹⁷⁾

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan adanya aktivitas peredaman radikal bebas DPPH, yang dilihat dari adanya penurunan nilai absorban radikal DPPH yang disebabkan oleh sampel uji pada berbagai konsentrasi dan semakin meningkatnya nilai persen aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Perubahan warna tersebut juga terlihat secara kasat mata, dengan semakin mudarnya warna menjadi agak kekuningan setelah di inkubasi sekitar 30 menit. Perubahan warna ini terjadi dikarenakan adanya senyawa dalam

sampel yang mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas DPPH sehingga tereduksi menjadi serbuk yang lebih stabil.

Dari hasil pengukuran vitamin C sebagai pembanding didapat persen (%) perendaman radikal bebas DPPH dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm, sehingga diperoleh nilai IC_{50} sebesar 6,22 ppm yang dapat dilihat pada Tabel V.4. Ini artinya vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Dan hasil dari pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol batang kayu wampee (*Clausena lansium* (Lour.)) dapat dilihat pada lampiran yaitu dilakukan dengan beberapa konsentrasi, mulai dari konsentrasi 0, 40, 80, 120, 160 dan 200 ppm. Sehingga diperoleh nilai IC_{50} sebesar 131,49 ppm yang dapat dilihat pada Tabel 5. Ini artinya ekstrak etanol batang kayu wampee (*Clausena lansium* (Lour.)) memiliki aktivitas antioksidan yang sedang. Tujuan dilakukannya variasi konsentrasi ini untuk mendapatkan persamaan regresi linier, sehingga diperoleh nilai IC_{50} dari ekstrak etanol batang kayu wampee (*Clausena lansium* (Lour.)), yang selanjutnya diperoleh gambaran mengenai aktivitas antioksidannya. Berdasarkan aktivitas antioksidan Vitamin C dan ekstrak etanol batang kayu wampee (*Clausena lansium* (Lour.)), didapatkan aktivitas antioksidan yang lebih kuat yaitu Vitamin C. Hal itu dikarenakan vitamin C mempunyai gugus hidroksi bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas dan jika mempunyai gugus polihidroksi akan meningkatkan aktivitas antioksidan.⁽¹⁶⁾

Tabel 4 Tabel % Inhibisi Vitamin C Terhadap DPPH Pada Absorban 1,1040

Konsentrasi Vitamin C	Absorban Vitamin C			Rata-Rata	SD	% Inhibisi
	1	2	3			
2	0,767	0,750	0,765	0,761	0,009	31,099
4	0,679	0,661	0,680	0,673	0,011	39,010
6	0,592	0,578	0,591	0,587	0,008	46,830
8	0,452	0,447	0,453	0,451	0,003	59,179
10	0,343	0,348	0,345	0,345	0,002	68,720

Tabel 5 Tabel % Inhibisi Sampel Terhadap DPPH Pada Absorban 0,842

Konsentrasi (ppm)	Absorban			Rata-Rata	SD	% Inhibisi
	1	2	3			
40	0,628	0,646	0,631	0,635	0,009	24,576
80	0,529	0,527	0,527	0,528	0,001	37,292
120	0,429	0,427	0,428	0,428	0,001	49,117
160	0,343	0,355	0,343	0,347	0,007	58,820
200	0,265	0,266	0,265	0,265	0,004	68,508

4. Kesimpulan

Dari hasil analisis profil fitokimia dan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol batang kayu wampee (*Clausena lansium* (Lour.)) menggunakan metode DPPH dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol batang kayu wampee (*Clausena lansium* (Lour.)) memiliki aktivitas antioksidan sedang dengan nilai IC_{50} 131,49 ppm, dan kandungan metabolit sekunder ekstrak etanol batang kayu wampee (*Clausena lansium* (Lour.)) menunjukkan adanya ciri dan karakteristik dari golongan senyawa kumarin dan alkaloid berdasarkan spektrum inframerah dan kromatogram KLT.

5. Daftar Pustaka

1. Andi, E. F., dkk., (2013). **Kapasitas antioksidan dan inhibitor alfa glukosidase ekstrak umbi bawang dayak**. Jurnal teknologi dan industri pangan. Vol 24 (2)
2. Arbab, I. A. *et al.* (2012) **'A review of traditional uses , phytochemical and pharmacological aspects of selected members of Clausena genus (Rutaceae)'**, 6(38), pp. 5107–5118. doi: 10.5897/JMPR12.317.
3. Adebajo, A. C. *et al.* (2009) **'Pharmacological properties of the extract and some isolated compounds of Clausena lansium stem bark: Anti-trichomonal , antidiabetic , anti-inflammatory , hepatoprotective and antioxidant effects'**, 122, pp. 10–19. doi: 10.1016/j.jep.2008.11.015.
4. Du, Y. *et al.* (2015) **'Fitoterapia Bioactive carbazole alkaloids from the stems of Clausena lansium'**, 103, pp. 122–128. doi: 10.1016/j.fitote.2015.03.018.
5. Liu, H. *et al.* (2014) **'Phytochemistry Bioactive furanocoumarins from stems of Clausena lansium'**, 107, pp. 141–147. doi: 10.1016/j.phytochem.2014.08.00
6. Syaifuddin, S. (2015). **Uji aktivitas antioksidan bayam merah (*Alternanthera amoena* Voss) segar dan rebus dengan metode DPPH**. Universitas Islam Negri Walisongo, Semarang. hal 14-15.
7. Sayuti kesuma, Yenrina Rina. (2015). **'Antioksidan, alami dan sintetik'**. Andalas University press, Padang. hal 10-14
8. Parwata Adi, (2016). **Bahan Ajar Antioksidan**. Universitas Udayana, Bali hal 8-12.
9. Rahmawati, F. (2015). **Optimasi kromatografi lapis tipis (KLT) pada pemisahan senyawa alkaloid daun pulai**. Universitas Islam Negri Maulana Malik Ibrahim. Malang. hal 25-26.
10. BPOM, 1995, **"Materia Medika Indonesia"**, Jilid VI, BPOM, Jakarta, p. 278-282, 321, 324-325.
11. BPOM, 2000, **"Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat"**, BPOM, Jakarta, Hlm. 1,3,5,10-11,13-14,16,17,21-24,28-29,31-37,42.
12. Redha, A. (2013). **Efek Lama Maserasi Bubuk Kopra Terhadap Rendemen, Densitas, dan Bilangan Asam Biodiesel yang Dihasilkan dengan Metode Transesterifikasi In Situ**.
13. Yohanes. A, F. L. Aggresa dan Y. Yuliandra., 2017. **Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Rebung Schizotachyum branchycladum Kurz (Kurz) pada Mencit Putih Jantan**. Journal Sains Farmasi dan Klinis. Vol 3(2), 146-152
14. Dian R. N, Zufahair dan D. Kartika, 2016. **Identifikasi senyawa metabolit sekunder serta uji aktivitas ekstrak daun sirsak sebagai antibakteri**. Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto.

15. Praptiwi, Dewi, P, & Harapani, M, 2006, **Nilai peroksida dan aktivitas anti radikal bebas diphenyl picril hydrazil hydrate (DPPH) ekstrak metanol** Knema laurina. *Majalah Farmasi Indonesia*. 17 (1): 32-36
16. Isnidar, Wahyuono, S., & Setyowati, E. P. (2011). **Isolasi dan identifikasi senyawa antioksidan daun kesemek (Diospyros kaki Thunb) dengan metode DPPH**. *Majalah Obat Tradisional*. 16(3), 157-164
17. Arista, Mega., 2013, “**Aktivitas Antioksidan Ekstrak 80% dan 96% Daun Katuk (Sauropus androgynus L.)**”, *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, Vol 2, No 2.

