

ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF BELUNTAS LEAVES (*Pluchea indica* Less.) USING THE DPPH (1,1-DIPHENYL-2-PICRYLHYDRAZYL) METHOD

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN BELUNTAS (*Pluchea indica* Less.) DENGAN METODE DPPH (1,1-DIPHENYL-2-PICRYLHYDRAZYL)

Ezrani Tasiam*

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam ratulangi

*Korespondensi Penulis Email: ezrani.tasiam@unsrat.ac.id

ABSTRACT

Beluntas (Pluchea Indica Less.) are traditionally used to eliminate body odor, fever reducer, and diarrhea medicine by the people of North Sulawesi. This plant has antioxidant potency tested from the ethanol extract and the fractionation using a UV-Vis spectrophotometer. Extraction was done using the maceration method, and antioxidant activity was tested using the DPPH method (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). The antioxidant test result from thick ethanol extract of Beluntas leaf and the fractions shows that ethyl acetate fraction has the highest antioxidant activity ($IC_{50} = 2,89$ ppm), then ethanol ($IC_{50} = 3,63$ ppm), butanol ($IC_{50} = 7,68$ ppm) and n-Heksan ($IC_{50} = 88,24$ ppm) Vitamin C as a comparison in this research C ($IC_{50} = 17,66$ ppm) and vitamin E ($IC_{50} = 37,54$ ppm). Based on the value of AAI (Antioxidant Activity Index) from the test results ethanol extract, ethyl acetate, butanol, and Vitamin C are classified in the category of powerful antioxidant, while the n-hexane extract is classified in the category of medium antioxidants and Vitamin E classified in the category of strong antioxidant.

Keywords: Antioxidant, Beluntas (PlucheaIndica Less), DPPH

ABSTRAK

Beluntas (*Pluchea indica Less.*) secara tradisional digunakan untuk menghilangkan bau badan, penurunan demam, dan obat diare oleh masyarakat Sulawesi Utara. Tanaman ini memiliki potensi antioksidan yang telah diuji dari ekstrak etanol dan fraksinasinya dan dianalisis uji antioksidan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi dan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Hasil uji antioksidan ekstrak kental etanol daun beluntas dan fraksi-fraksinya menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan tertinggi ($IC_{50} = 2,89$ ppm), kemudian etanol ($IC_{50} = 3,63$ ppm), butanol ($IC_{50} = 7,68$ ppm) dan n-Heksan ($IC_{50} = 88,24$ ppm) sebagai pembanding dalam penelitian ini vitamin C ($IC_{50} = 17,66$ ppm) dan vitamin E ($IC_{50} = 37,54$ ppm). Berdasarkan nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*) dari hasil pengujian menunjukan ekstrak etanol, etil asetat, butanol dan vitamin C termasuk dalam kategori antioksidan sangat kuat, sedangkan ekstrak n-Heksan termasuk dalam kategori antioksidan sedang dan vitamin E termasuk dalam kategori antioksidan kuat.

Kata kunci: Antioksidan, Beluntas (*Pluchea Indica Less*), DPPH

PENDAHULUAN

Beluntas (*Pluchea indica* Less.) secara tradisional digunakan untuk menghilangkan bau badan, penurunan demam, dan obat diare oleh masyarakat Sulawesi Utara. Kenyataan yang ada di Manado hanya sebagian kecil masyarakat yang mengetahui beluntas sebagai tanaman obat, ada yang mengetahui sebagai tanaman pagar dan ada yang mengetahui sebagai tanaman liar. Kurangnya pengetahuan masyarakat tentang khasiat farmakologis dari tanaman beluntas menyebabkan tanaman ini tidak dilestarikan dan hampir punah. Akibat dari hampir punahnya tanaman beluntas sehingga tanaman ini perlu dilakukan penelitian terutama tentang kandungan senyawa yang dimilikinya berpotensi sebagai antioksidan (Hudha *et al.*, 2015).

Penelitian sebelumnya menginformasikan bahwa daun beluntas mempunyai aktivitas antioksidan karena mengandung sejumlah senyawa fitokimia seperti lignan, terpen, fenilpropanoid, benzoid, alkane (Luger *et al.*, 2000), sterol, 2-(prop-1-unil)-5-(5,6-dihidroksi heksa-1,3-diunil)-thiofena, (-)-katekin (Biswas *et al.*, 2005), fenol hidrokuinon, saponin, tanin, dan alkaloid (Ardiansyah *et*

al., 2003), flavonol (kuersetin, kaemferol, mirisetin, luteolin, apigenin) (Andarwulan *et al.*, 2010).

Sebuah molekul yang mendonorkan elektronnya ke molekul radikal bebas dan juga mencegah proses oksidasi dalam sel adalah peran dari antioksidan (Zheng dan Wang, 2001). Antioksidan merupakan senyawa dapat menunda, memperlambat atau menghambat reaksi oksidasi pada produk yang dapat mengakibatkan ketengikan (*rancidity*) pada makanan maupun kerusakan (*degradasi*) pada obat (Ozcelik *et al.*, 2003).

Tujuan dari penelitian ini adalah Untuk mengetahui potensi antioksidan dari ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica* Less.) dan hasil fraksinasinya menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia FMIPA Universitas Negeri Manado. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun beluntas yang diambil dari kecamatan Paal Dua, Sulawesi Utara, etanol 70%, n-heksan, etil asetat, n-butanol, metanol p.a, DPPH, vitamin C, vitamin E dan akuades. Alat-alat

Ezrani Tasiam*

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam ratulangi

*Korespondensi Penulis Email: ezrani.tasiam@unsrat.ac.id

yang digunakan dalam penelitian ini adalah rotary evaporator dan spektrofotometer UV-Vis.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi dan Fraksinasi

Sebanyak 6 kg daun beluntas segar dikumpulkan. Daun beluntas dipetik kemudian ditimbang, dipotong-potong, kemudian dikeringkan tanpa sinar matahari langsung dengan cara dianginkan menggunakan kipas angin dan tidak terkena sinar matahari selama 14 hari.

Setelah kering, ditimbang dan diukur kadar air. Kemudian daun beluntas tersebut dihaluskan menggunakan blender lalu diayak dengan ayakan 144 mesh. Perhitungan kadar air simplisia menggunakan rumus berikut:

$$\text{Kadar Air} = \frac{\text{berat awal} - \text{berat akhir}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

Serbuk kering daun beluntas ditimbang lalu diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%, didiamkan selama 24 jam, lalu disaring. Pekerjaan tersebut diulang sampai filtrat jernih. Filtratnya ditampung kemudian dievaporasi sehingga diperoleh ekstrak kental etanol lalu ditimbang.

Ekstrak kental etanol daun beluntas dilarutkan dengan air (aquades) hingga encer dan homogen kemudian dipartisi

menggunakan pelarut-pelarut: n-heksan, etil asetat, dan n-butanol secara berurutan. Filtrat yang diperoleh dievaporasi sehingga didapatkan fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol.

Penentuan antioksidan dengan metode DPPH

Pembuatan larutan DPPH

Sejumlah 5 mg DPPH ditimbang dan dilarutkan dalam 50 mL metanol p.a sehingga diperoleh konsentrasi 100 µg/mL.

Pembuatan larutan blanko

Sebanyak 3 ml metanol p.a dipipet kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 mL larutan DPPH lalu dikocok sampai homogen, diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Selanjutnya larutan uji diukur serapannya menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

Pembuatan larutan vitamin C & vitamin E sebagai pembanding

Vitamin C & vitamin E masing-masing ditimbang sebanyak 10 mg, dilarutkan dalam metanol p.a hingga 10 mL, dikocok sampai homogen sehingga diperoleh larutan induk sebesar 1000 µg/mL. Pipet masing-masing 0.02, 0.04, 0.1, dan 0.16 mL larutan induk kedalam labu ukur tambahkan metanol p.a sehingga diperoleh konsentrasi 2, 4, 10, dan 16 µg/mL. Pipet 1 ml masing-masing ke dalam tabung reaksi dan

Ezrani Tasiam*

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam ratulangi

*Korespondensi Penulis Email: ezrani.tasiam@unsrat.ac.id

tambahkan dengan 1 mL DPPH kemudian tambahkan 2 mL metanol p.a lalu dikocok hingga homogen dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Selanjutnya larutan uji diukur serapannya menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

Pembuatan larutan ekstrak

Sejumlah 10 mg dari masing-masing sampel : ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi n-butanol dari daun beluntas ditimbang kemudian dilarutkan dalam metanol p.a hingga 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1000 µg/mL. Pipet masing-masing 0.02, 0.04, 0.1, dan 0.16 mL larutan induk kedalam labu ukur tambahkan metanol p.a sehingga diperoleh konsentrasi 2, 4, 10, dan 16 µg/mL. Pipet 1 mL masing-masing kedalam tabung reaksi dan tambahkan 1 mL DPPH kemudian tambahkan 2 mL metanol p.a dan dikocok hingga homogen, diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Selanjutnya larutan uji diukur serapannya menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

Penentuan persen inhibisi, nilai IC₅₀ (Inhibition Concentration) dan nilai AAI (Antioxidant Activity Index)

Persentase inhibisi adalah persentase yang menunjukkan aktivitas radikal tersebut.

Persentase inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan masing-masing sampel dapat dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_{\text{blanko}} - A_{\text{ekstrak}}}{A_{\text{blanko}}} \times 100 \%$$

A_{blanko} adalah nilai absorbansi larutan DPPH tanpa ekstrak, A_{ekstrak} adalah nilai absorbansi ekstrak yang diuji. Setelah didapatkan persentase inhibisi dari masing-masing konsenrasi, konsentrasi sampel dan persen inhibisi yang didapat diplotkan masing-masing pada sumbu x dan y dalam persamaan regresi linear $y = a \pm bx$. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC₅₀ dari sampel dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC₅₀. Nilai IC₅₀ adalah konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50% konsentrasi awal.

Perhitungan nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*) digunakan untuk mengetahui indeks aktivitas antioksidan dengan rumus:

$$\text{Nilai AAI} = \frac{\text{Konsentrasi DPPH (ppm)}}{\text{IC}_{50} \text{ Sampel (ppm)}}$$

Konsentrasi DPPH yang digunakan dalam uji (ppm) dibagi dengan nilai IC₅₀ yang diperoleh (ppm). Nilai AAI < 0,5 merupakan indikator antioksidan lemah, AAI > 0,5–1 antioksidan sedang, AAI > 1-

2 antioksidan kuat, dan AAI > 2 antioksidan sangat kuat Trisanto et al. (2014).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Sampel sebanyak 6 kg dikeringkan pada ruangan yang tidak terkena sinar matahari. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air dalam sampel, dan sebagai pencegahan tumbuhnya jamur sehingga tidak mudah rusak untuk jika disimpan dalam waktu lama dan tidak akan mengalami perubahan kandungan kimia yang terkandung di dalamnya (Halimah, 2010).

Pengeringan dilakukan selama 14 hari dan diperoleh sampel kering 2,1 kg. Sampel kering di haluskan dengan blender. Sampel yang dihaluskan dapat memperluas permukaan bidang sentuh antara sampel dengan pelarut sehingga dapat optimal pada proses ekstraksi (Tiwari, et al., 2011).

Serbuk sampel daun beluntas yang berwarna hijau tua diayak dengan ayakan 144 mesh. Pengayakan untuk menghasilkan serbuk yang homogen yang dapat memberikan keseragaman dalam tahap ekstraksi bahan aktif (Sogara et al., 2014).

Penentuan Kadar Air

Penentuan kadar air pada penelitian ini berguna untuk mengetahui banyaknya kadar air yang terdapat pada sampel kering daun beluntas. Kadar air tinggi akan menyebabkan mudahnya bakteri dan jamur berkembang biak. Hasil dari penentuan kadar air daun beluntas dengan pemanasan oven yaitu 7 %, dimana menurut Herawati et al. (2012) simplisia yang baik memiliki kadar air < 10%.

Ekstraksi dan Fraksionasi

Ekstraksi daun beluntas dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 8,4 Liter, pemilihan pelarut dalam penelitian berdasarkan parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat bagian teknologi ekstraksi ditinjau dari beberapa faktor antara lain ekonomis dan mudah didapat. Ditimbang sebanyak 1 kg simplisia daun beluntas, kemudian ditambahkan pelarut hingga terendam seluruhnya. Ekstraksi dilakukan selama 7 X 24 jam terlindung dari cahaya matahari dan dilakukan penyaringan setiap 24 jam.

Filtrat yang didapat dari hasil maserasi dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 45°C sehingga menjadi ekstrak kental

Ezrani Tasiam*

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam ratulangi

*Korespondensi Penulis Email: ezrani.tasiam@unsrat.ac.id

sebanyak 101,98 gram. Ekstrak kental etanol daun beluntas 47 g dilarutkan dalam aquades 376 mL (1:8) dan kemudian dipartisi bergradien menggunakan n-heksan (3 x 376 mL), etil asetat (8 x 376 mL), dan n-butanol (6 x 376 mL) secara berurutan. Kemudian masing-masing filtrat dievaporasi dan ditimbang sehingga didapatkan fraksi n-heksan (C_6H_{14}) 0,76 g, Etil asetat ($C_4H_8O_2$) 6,79 g dan fraksi n-butanol ($C_4H_{10}O$) 27,39 g.

Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Ekstrak daun beluntas (ekstrak n-heksan, ekstrak etil asetat, ekstrak butanol dan ekstrak etanol) diuji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Metode uji aktivitas antioksidan dengan DPPH merupakan metode yang paling umum digunakan secara *in vitro*, karena merupakan metode yang sensitif, sederhana, cepat dan hanya membutuhkan sedikit reagen (Ozelik *et al.*, 2003).

Konsentrasi ekstrak sampel daun beluntas (ekstrak n-heksan, etil asetat, butanol dan etanol) adalah 2, 4, 8 dan 16 ppm. Pengujian ini menggunakan pembanding vitamin C dan Vitamin E

dengan konsentrasi 2, 4, 8 dan 16 ppm. Vitamin C dan vitamin E sudah diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan memiliki daya meredam radikal bebas sehingga digunakan untuk membandingkan daya antioksidan dengan ekstrak etanol daun beluntas dan hasil fraksinasinya.

Parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah IC_{50} yang menunjukkan konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat menghilangkan 50% DPPH karakter radikal atau suatu zat antioksidan yang dapat memberikan persentase penghambatan sebesar 50% (Molyneux, 2004). Dibuat persamaan regresi linear antara konsentrasi (ppm) sebagai absis (sumbu x) dan nilai aktivitas antioksidan (%) sebagai ordinatnya (sumbu y) dari persamaan regresi tersebut dapat ditentukan IC_{50} masing-masing ekstrak. Berikut dapat dilihat pada tabel berikut hasil dari persamaan regresi dan nilai IC_{50} dari ekstrak etanol dan hasil fraksinasi dari daun beluntas serta pembanding vitamin C dan vitamin E.

Tabel 1. Persamaan regresi dan Aktivitas terhadap radikal bebas DPPH

Ekstrak	Persamaan Grafik	Nilai IC_{50} (ppm)
Etanol	$y = 2,5755x + 40,654$ $R^2 = 0,9533$	3,63

Ezrani Tasiam*

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam ratulangi

*Korespondensi Penulis Email: ezrani.tasiam@unsrat.ac.id

n-Heksan	$y = 0,5547x + 1,0526$ $R^2 = 0,9854$	88,24
Etil Asetat	$y = 3,2393x + 40,637$ $R^2 = 0,9703$	2,89
Butanol	$y = 2,5587x + 30,355$ $R^2 = 0,9804$	7,68
Vitamin C	$y = 2,7007x + 2,3148$ $R^2 = 0,984$	17,66
Vitamin E	$y = 1,0713x + 9,7852$ $R^2 = 0,9822$	37,54

Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar aktivitas antioksidannya, secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50, kuat untuk IC_{50} bernilai 50 – 100, sedang jika IC_{50} bernilai 100 – 150, lemah jika bernilai IC_{50} 151 – 200. Pada tabel 1. dapat dilihat ekstrak etanol, etil asetat, butanol, vitamin C dan Vitamin E memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat, namun berdasarkan nilai IC_{50} ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC_{50} 2,89 ppm dibandingkan dengan ekstrak etanol, butanol bahkan lebih tinggi vitamin C dan Vitamin E sebagai pembanding. Sedangkan ekstrak n-Heksan memiliki aktivitas antioksidan kuat dan paling rendah dibandingkan dengan ekstrak lainnya dimana nilai IC_{50} n-Heksan 88,24 ppm. Sehingga dapat

diketahui bahwa ekstrak etil asetat dibutuhkan konsentrasi 2,89 ppm untuk menangkal radikal bebas 50%, ekstrak etanol dibutuhkan konsentrasi 3,63 ppm untuk menangkal radikal bebas 50%, ekstrak butanol dibutuhkan konsentrasi 7,68 ppm untuk menangkal radikal bebas 50%, Vitamin C dibutuhkan konsentrasi 17,66 ppm untuk menangkal radikal bebas 50%, Vitamin E dibutuhkan konsentrasi 37,54 ppm untuk menangkal radikal bebas 50% dan ekstrak n-Heksan dibutuhkan konsentrasi 88,24 ppm untuk menangkal radikal bebas 50%.

Nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*) digunakan untuk mengetahui indeks aktivitas antioksidan. Nilai AAI diperoleh dengan membandingkan konsentrasi DPPH yang digunakan dalam uji dengan nilai IC_{50} yang diperoleh. Hasil perhitungan nilai AAI ekstrak etanol

Ezrani Tasiam*

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam ratulangi

*Korespondensi Penulis Email: ezrani.tasiam@unsrat.ac.id

dan hasil fraksinasi dari daun beluntas serta pembandingan vitamin

C dan vitamin E dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai AAI daun beluntas

Sampel	AAI (<i>Antioxidant Activity Index</i>)
Etanol	13,77
n-Heksan	0,57
Etil Asetat	17,3
Butanol	6,51
Vitamin C	2,83
Vitamin E	1,33

Nilai AAI < 0,5 adalah antioksidan lemah, AAI antara 0,5 – 1 adalah antioksidan sedang, AAI antara 1- 2 adalah antioksidan kuat dan AAI > 2 adalah antioksidan sangat kuat Tristanto *et al.* (2014). Berdasarkan penggolongan tersebut, hasil pada Tabel 2. menunjukkan ekstrak etanol, etil asetat, butanol dan vitamin C termasuk dalam kategori antioksidan sangat kuat, sedangkan ekstrak n-Heksan termasuk dalam kategori antioksidan sedang dan vitamin E termasuk dalam kategori antioksidan kuat.

Ekstrak Etil asetat memberikan pengaruh paling efektif dalam menangkal radikal bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil). Hal ini diduga berkaitan dengan sifat etil asetat yang semi polar yang dapat menarik senyawa non polar seperti alkaloid dan senyawa polar seperti flavonoid dan polifenol yang diketahui merupakan sumber

antioksidan, sehingga banyak senyawa bioaktif yang larut didalamnya. Menurut Tristanto *et al.* (2014), jenis pelarut yang digunakan pada pengujian aktivitas antioksidan memiliki pengaruh yang kuat karena senyawa dengan polaritas yang berbeda dapat memberikan hasil aktivitas antioksidan yang berbeda pula.

KESIMPULAN

Hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Hasil Uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa etil asetat memiliki aktivitas tertinggi dengan nilai IC₅₀ sebesar 2,89 ppm (sangat kuat), kemudian ekstrak etanol dengan nilai IC₅₀ sebesar 3,63 ppm (sangat kuat), ekstrak butanol dengan nilai IC₅₀ sebesar 7,68 ppm (sangat kuat), Vitamin C dengan nilai IC₅₀ sebesar 17,66 ppm (sangat kuat),

- Vitamin E dengan nilai IC_{50} sebesar 37,54 (sangat kuat) dan ekstrak n-Heksan dengan nilai IC_{50} sebesar 88,24 ppm (kuat)
2. Nilai AAI (Antioxidant Activity Index) dari hasil pengujian menunjukkan ekstrak etil asetat daun beluntas sebesar 17,3 (sangat kuat), ekstrak etanol 13,77 (sangat kuat), ekstrak butanol 6,51 (sangat kuat), vitamin C 2,83 (sangat kuat), vitamin E 1,33 (kuat) dan ekstrak n-Heksan 0.57 (sedang).
 3. Ekstrak etil asetat daun beluntas memiliki aktivitas antioksidan paling kuat dibandingkan dengan ekstrak etanol, n-Heksan, butanol.

DAFTAR PUSTAKA

- Andarwulan, N., Batari, R., Sandrasari, D.A., Bollin, B. & Wijaya, C.H. (2010). Short communication flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia. *Food Chemistry*, 121:1231-1235.
- Ardiansyah, Nuraida, L. & Andarwulan, N. (2003). Aktivitas antimikroba daun beluntas (*Pluchea indica* Less.) dan stabilitas aktivitasnya pada berbagai konsentrasi garam dan tingkat pH. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, XIV(2):90-97.
- Biswas, R., Dasgupta, A., Mitra, A., Roy, S.K., Dutta, P.K., Achari, B., Dastidar, S.G. & Chatterjee, T.K. (2005). Isolation, purification and characterization of four pure compounds from the root extract of *Pluchea indica* Less. and the potentiality of the root extract and the pure compounds for antimicrobial activity. *European Bulletin of Drug Research*, 13: 63-70.
- Herawati, D., Nuraida, L., Sumarto. (2012). Cara Produksi Simplisia yang Baik. *Seafast Center IPB, Bogor*, 10-11.
- Hudha, M & Tri Dewanti Widyaningsih. (2015). Serbuk Effervescent Ekstrak Daun. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang. Vol. 3 No 4 p.1412-1422,
- Molyneux, P. (2004). The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanarin. J. Sci. Technol.* 26(2): 212
- Ozcelik, B., Lee, J.H. and Min, D.B. (2003) Effects of Light, Oxygen, and pH on the Absorbance of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. *Journal of Food Science*, 68, 487-490.
- Tiwari, Kumar, Kaurm, M., Kaur, G., and Kaur, H. (2011). Extraction methods and techniques for medicinal and aromatic plants. *Food Research International*, 44(3), 689-698.
- Sogara, P.P.U., Fatimawali., Bodhi, W. (2014). Pengaruh Ekstrak Etanol Buah Ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih Yang Diinduksi Aloksan. *Pharmacon*. 3: 196-203

Ezrani Tasiam*

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam ratulangi

*Korespondensi Penulis Email: ezrani.tasiam@unsrat.ac.id

Tristanto, R., Putri, A.M.,
Situmorang, P.A., Suryanti.
(2014). Optimalisasi
Pemanfaatan Daun Lamun
Thalassia hemprichii Sebagai
sumber Antioksidan Alami.
Jurnal Saintek Perikanan.
10:26-29.

Zheng W. dan Wang S. Y. (2001).
Antioxidant activity and
phenolic compounds in selected
herbs. *J. Agric., FoodChem.*
49: 5165-5170.

Ezrani Tasiam*

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam ratulangi

*Korespondensi Penulis Email: ezrani.tasiam@unsrat.ac.id