

Efektivitas penghambatan enzim *xanthin oksidase* fraksi etanol, etil asetat dan n-heksane dari ekstrak etanol daun bakau kurap (*Rhizophora Stylosa* Griff.)

Effectiveness of inhibiting the enzyme xanthin oxidase fraction of ethanol, ethyl acetate and n-hexane ethanol extract of ringworm mangrove leaves (Rhizophora stylosa Griff.)

Danang Raharjo¹, Tiara Ajeng Lisyani¹, Nia Isa Wulandari¹

¹Universitas Duta Bangsa Surakarta,

Jl. Pinang No. 47, Cemani, Kec Grogol Kab Sukoharjo, Jawa Tengah, 57552

Article Info:

Received: 11-08-2023

Revised: 22-06-2024

Accepted: 10-08-2024

✉ * E-mail Author: 190209019@fikes.udb.ac.id

ABSTRACT

Xanthin oxidase has an important role in the process of uric acid formation by catalyzing successively hypoxanthine into xanthine then uric acid. One plant that to be used as an antihyperuricemia is ringworm mangrove leaves because have of flavonoids, flavonols, flavones, isoplavones, flavonons, polyphenols, alkaloids, tannins, glycosia and tripenoids. This study aims to investigate the inhibitory activity (IC₅₀) of enzyme xanthin oxidase from extract, fractions and isolate of ringworm mangrove leaves. The extract was made by maceration method using 96% ethanol solvent. Enzyme activity was obtained at 0.0013 U/mL from residual fraction and 0.002 U/mL from supernatant fraction. The results of this study the compounds contained in the ethanol extract of ringworm mangrove leaves are secondary metabolite compounds of alkaloid compounds, flavonoids, saponins, terpenoids, and tannins, and the active compounds responsible for the inhibitory activity of the xanthin oxidase enzyme are quercetin results from C isolate, in the test of inhibitory activity of ethanol extract, fractions and isolates of ringworm mangrove leaves seen from IC₅₀ of 30,905 in ethanol extract, polar fraction of ethanol of 39,722, semi-polar fraction of ethyl acetate of 16,361, non-polar fraction of n-Hexan of 61,734 and isolate c of 15,023. Based on this study, it can be concluded that the active compound contained in ringworm mangrove leaves is quercetin as evidenced by an IC₅₀ value of 15.023.

Keywords: Hyperuricemia, Isolation of Enzymes, *Rhizophora stylosa*, Xanthin Oxidase

ABSTRAK

Xanthin oksidase memiliki peranan penting dalam proses pembentukan asam urat dengan mengkatalisis berturut-turut hypoxanthine menjadi xanthine kemudian asam urat. Salah satu tumbuhan yang bisa dimanfaatkan sebagai antihiperurisemia adalah daun bakau kurap karena memiliki senyawa flavonoid, flavonol, flavon, isoplavon, flavonon, polifenol, alkaloid, tanin, glikosia dan tripenoid. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim xanthin oksidase dari ekstrak, fraksi dan isolat daun bakau kurap. Ekstrak dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Pada isolasi enzim dilakukan menggunakan susu sapi segar dengan hasil aktivitas enzim didapatkan sebesar 0,0013 U/mL dari fraksi residu dan 0,002 U/mL dari hasil fraksi supernatan. Hasil dari penelitian ini senyawa yang terkandung didalam ekstrak etanol daun bakau kurap yaitu senyawa metabolit sekunder senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, dan tanin, dan senyawa aktif yang bertanggung jawab terhadap aktivitas penghambatan enzim xanthin oksidase adalah kuersetin hasil dari isolat C, pada uji aktivitas penghambatan ekstrak etanol, fraksi dan isolat daun bakau kurap yang dilihat dari IC₅₀ sebesar 30,905 pada ekstrak etanol, fraksi polar etanol sebesar 39,722, fraksi semi polar etil asetat sebesar 16,361, fraksi non polar n-Heksan sebesar 61,734 dan isolat c sebesar 15,023. Berdasarkan dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa senyawa aktif yang terkandung di dalam daun bakau kurap yaitu kuersetin yang dibuktikan dengan nilai IC₅₀ sebesar 15,023.

Kata kunci: Hiperurisemia, Isolasi Enzim, *Rhizophora Stylosa*, Xanthin Oksidase

1. PENDAHULUAN

Hiperurisemia adalah keadaan dimana terjadi peningkatan kadar asam urat serum di atas normal. Pada sebagian besar penelitian epidemiologi, disebut sebagai hiperurisemia jika kadar asam urat serum orang dewasa lebih dari 7,0 mg/dl dan lebih dari 6,0 mg/dl pada perempuan. Hiperurisemia yang lama dapat merusak sendi, jaringan lunak dan ginjal. Hiperurisemia terjadi akibat peningkatan produksi asam urat karena diet tinggi purin atau penurunan ekskresi karena pemecahan asam nukleat yang berlebihan atau sering merupakan kombinasi keduanya^[1]. Secara klinis obat hiperurisemia golongan urikostatik yang biasa digunakan saat ini adalah allopurinol, allopurinol menghambat pembentukan asam urat dengan menghambat kerja enzim xanthine oksidase^[2].

Enzim xanthin oksidase juga dapat ditemukan dalam susu sapi, susu kambing maupun susu kerbau, karena kandungan proteinnya^[3]. Aktivitas xanthin oksidase dapat dihambat sampai ke titik jenuh untuk mengurangi produksi asam urat dalam jaringan dan sendi agar terhindar dari penyakit asam urat dengan menggunakan Allopurinol^[4]. Karena informasi ilmiah mengenai efek tumbuhan obat terhadap penghambatan kerja enzim xanthin oksidase masih terbatas. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian secara ilmiah mengenai senyawa bioaktif tanaman sebagai inhibitor alami xanthin oksidase dan pemanfaatan bahan alam tumbuhan sebagai obat anti hiperurisemia.

Salah satu tumbuhan yang diduga bisa dimanfaatkan sebagai antihiperurisemia adalah daun bakau kurap. Bakau Kurap merupakan tanaman yang sangat jarang sekali dimanfaatkan, namun bakau kurap mengandung kandungan senyawa yang sangat banyak, salah satunya senyawa flavonoid, flavonol, flavon, isoplavon, flavonon, polifenol, alkaloid, tanin, glikosida dan tripenoid. Menurut penelitian sebelumnya, polifenol mampu dihambat oleh xanthine oxidase (XOD), menghambat reabsorpsi urat ginjal dan meningkatkan sekresi UA, sehingga mengurangi sintesis UA, dan memerangi gangguan HUA^[5]. Salah satu bahan alam yang diduga dapat menurunkan kadar asam urat adalah tumbuhan yang mengandung flavanoid. Kemampuan senyawa tersebut dalam menurunkan asam urat yaitu dengan cara menghambat aktivitas xanthin oksidase pada basa purin sehingga akan menurunkan produksi asam urat^[6].

2. METODOLOGI

Alat dan Bahan

Spektrofotometer UV-VIS (Genesys 10 UV), NMR, FTIR, *rotary evaporator* (IKA HB 10 *basic*), ultra centrifuge (Hettich), *moisture balance* (*ohaus* MB 45), oven (Binder), lemari pengering, timbangan analitik (*Ohaus* EP 214 sensitivitas 0,1 mg), Blender (*Philips*), kromatografi kolom, corong pisah, alumunium foil, cawan porselen, timbangan analitik, plat KLT, chamber KLT, kain saring, penangas air, mikropipet, sarung tangan, pipet tetes, masker dan alat-alat gelas. Serbuk daun bakau kurap (*Rhizophora Stylosa* Griff.), etanol

96%, asam asetat, *n*-Heksan, butanol, aquadestillata, metanol P.A (*Pro Analisis*), susu sapi segar, allopurinol serbuk, silica gel (keiselgel 60), DMSO, HCl 1N, dapar Fosfat, NaCl.

Ekstraksi

Simplisia Daun Bakau Kurap ditimbang sebanyak 1 Kg dan direndam ke dalam 7 L pelarut etanol 96%. Simplisia direndam di dalam wadah kaca selama 3x24 jam dengan sesekali diaduk. Maserat dipisahkan dengan cara disaring. Maserat diremaserasi dengan jenis pelarut yang sama sebanyak 3 L dengan etanol 96% selama 1x24 jam replikasi. Selanjutnya filtrat yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40-50°C hingga diperoleh ekstrak yang kental (Depkes RI, 2008).

Fraksinasi

Sebanyak 20 g ekstrak kental daun bakau kurap (*Rhizophora stylosa* Griff.) dilarutkan dalam 50 mL etanol dan ditambahkan 100 mL aquades dan diaduk sampai larut dalam beaker glass. Setelah dingin dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan *n*-Heksan 150 mL, dikocok dan didiamkan hingga terpisah sempurna 2 fase. Fase *n*-Heksan akan pada bagian atas dan fase etanol-air berada di bagian bawah, kemudian dipisahkan lakukan 3x replikasi. Fase etanol-air kemudian ditambahkan dengan etil asetat 150 ml, pada residu sisa fraksinasi *n*-Heksan, kemudian digojog dan didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan (lapisan aquadest di bawah dan lapisan etil asetat di atas). Filtrat etil asetat dikumpulkan dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Filtrat yang tidak larut disebut dengan filtrat etanol air. Filtrat dari hasil setiap fraksinasi dipekatkan di atas *water bath* pada suhu 40°C, sehingga diperoleh fraksi *n*-Heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol air.

Skrining Fitokimia

a. Uji Alkaloid

Ekstrak sebanyak 0,5 gram ditambah 1 mL HCl 2 N dan 9 mL air suling, dipanaskan diatas penangas air selama 2-3 menit, sambil diaduk. Setelah dingin kemudian disaring, filtrat yang diperoleh dibagi menjadi 2 bagian, masing-masing filtrat diambil sebanyak 0,5 mL. Larutan pertama ditambah 2 tetes pereaksi Mayer akan terbentuk endapan berwarna putih atau kuning, larutan kedua ditambah dengan 2 tetes pereaksi Dragendorff akan terbentuk endapan merah coklat ^[7].

b. Uji Flavonoid

Sebanyak 2 mg ekstrak kental dilarutkan dalam 1 mL etanol (96%). Kemudian ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium dan 10 tetes asam klorida pekat. Jika terjadi warna merah jingga sampai merah ungu menunjukkan adanya flavonoid. Jika warna kuning jingga menunjukkan adanya flavon, kalkon dan auron ^[7]

c. Uji Saponin

Sebanyak 0,3 gram ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL air suling dikocok kuat-kuat selama 30 detik. Tes buih positif mengandung saponin bila terjadi buih yang stabil selama lebih dari 30 menit dengan tinggi 3 cm di atas permukaan cairan [7]

d. Uji Tanin

Sebanyak 2 g sampel tumbuhan yang telah dihaluskan, ditambahkan etanol sampai sampel terendam sepenuhnya. Kemudian 1 mL larutan dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1 %. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau [7]

e. Uji Steroid/Tripenoid

Sebanyak 1 mg sampel dilarutkan dalam 0,5 ml kloroform, kemudian ditambahkan 0,5 ml asam asetat anhidridat dan ditetesi dengan 2 ml asam sulfat pekat. Hasil uji positif untuk triterpenoid bila terbentuk cincin kecoklatan atau violet. Hasil uji positif untuk steroid bila terbentuk warna hijau kebiruan [7]

Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xanthin Oksidase Secara In Vitro

Sebanyak 1 mL larutan uji tambahkan 2,9 mL dapar fosfat 0,05 M (pH 7,5), kemudian ditambahkan 2 mL larutan substrat xantin 0,15 mM, pra inkubasi pada suhu 25°C selama 15 menit, lalu ditambahkan 0,1 mL larutan ksantin oksidase dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 30 menit lalu segera ditambahkan 1 mL HCl 1 N untuk menghentikan reaksi. Ukur absorbansi pada panjang gelombang maksimal. Hitung persen penghambatan aktivitas ksantin oksidase dengan menggunakan persamaan:

$$\% \text{ inhibisi} = \left\{ \frac{(A-B)-(C-D)}{(A-B)} \right\} \times 100\%$$

Keterangan :

A : Absorbansi tanpa sampel

B : Absorbansi kontrol tanpa sampel dan enzim

C : Absorbansi sampel

D : Absorbansi kontrol tanpa enzim [3]

Perhitungan nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration* 50%) menunjukkan besarnya konsentrasi senyawa larutan uji yang mampu menghambat aktivitas enzim xanthin oksidase 50%, melalui persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi larutan uji (x) dengan % inhibisi (y) sehingga didapatkan persamaan regresi linier $y = bx + a$.

Bahan	Volume (mL)			
	Sampel	Kontrol Sampel	Blanko	Kontrol blanko
Sampel (salah satu dari) :				
• Larutan allopurinol (0,625, 1,25, 2,5, 5, dan 10 ppm)	1	1	-	-
• Larutan ekstrak (300, 200, 100, 50, dan 5 ppm)				
• Larutan fraksi (50, 25, 10, 5, dan 1 ppm)				
• Larutan isolat (50, 25, 10, 5, dan 1 ppm)				
Dapar fosfat pH 7,5 0,05 M	2,9	2,9	3,9	3,9
Substrat <i>xanthin</i> 0,15 mM	2	2	2	2
Prainkubasi selama 15 menit suhu 25°C				
Larutan <i>xanthin oksidase</i>	0,1	-	0,1	-
Dapar fosfat pH 7,5 0,05M	-	0,1	-	0,1
Inkubasi 25°C selama 30 menit				
HCl 1N	1	1	1	1

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Hasil Skrining Fitokimia

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia

Senyawa	Preaksi	Tanda positif	Hasil	Keterangan
Alkaloid	Dragendorff	Terbentuk endapan jingga ^[8]	Terbentuk endapan jingga	+
	Mayer	Terbentuk endapan putih jingga sampai merah ^[8]	Terbentuk kabut putih	+
Flavonoid	Serbuk Mg dan HCl pekat	Terbentuk warna kuning jingga sampai merah ^[8]	Terbentuk warna merah bata	+
Saponin	Aquadest dan HCl 2N	Terbentuk busa yang stabil ^[8]	Terbentuk busa yang stabil setinggi 1,3 cm selama 15 menit	+
Steroid/ terpenoid	Asam asetat glasial dan asam sulfat pekat	Steroid terbentuk warna hijau kebiruan ^[8]	Tidak terbentuk	-
		Terpenoid memberikan warna merah atau ungu ^[9]	Terbentuk warna merah kecoklatan	+
Tanin/fenolik	FeCl ₃ 1%	Terbentuk warna biru atau biru hitam ^[9]	Terbentuk warna biru kehitaman	+

Tabel 2. Hasil Uji Spektrofotometri

Sampel	IC ₅₀ (ppm)
Allopurinol	4,706
Ekstrak etanol daun bakau kurap	30,905
Fraksi polar daun bakau kurap (etanol)	39,722
Fraksi semi polar daun bakau kurap (etil asetat)	16,361
Fraksi non polar daun bakau kurap (<i>n</i> -Heksan)	61,734

Sampel bakau kurap (*Rhizophora stylosa* Griff.) yang diperoleh dari pesisir pantai Sigandu, Kabupaten Batang Jawa Tengah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antihiperurisemia dari ekstrak etanol daun bakau kurap (*Rhizophora stylosa* Griff.). Determinasi Daun Bakau Kurap (*Rhizophora Stylosa* Griff.) dilakukan di Laboratorium Herba Materia Media, Kota Batu Malang. Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 7 L selama 3 hari. Residu yang tersisa dilakukan remaserasi kembali dengan menambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 3 L selama 1 hari. Maserat yang diperoleh selanjutnya di pekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 60°C dan dikentalkan di atas *waterbath* pada suhu 70° C sehingga didapatkan ekstrak kental. Hasil perhitungan % rendemen yang diperoleh dari bobot ekstrak kental sebesar 101,2 gram dengan rendemen 10,12 %. Skrining fitokimia dilakukan menggunakan 2 metode yaitu metode tabung (kompleks warna) dan KLT. Metabolit sekunder yang diuji secara kualitatif ini antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, steroid/ triterpenoid. Dalam penelitian ini, skrining fitokimia dilakukan dengan metode uji tabung dan kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil dari skrining fitokimia ekstrak daun bakau kurap (*Rhizophora stylosa* Griff.) dengan metode uji tabung yang dilakukan dapat diketahui bahwa senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun bakau kurap (*Rhizophora stylosa* Griff.) adalah senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, dan tanin. Proses fraksinasi dilakukan dengan metode partisi cair-cair dengan menggunakan pelarut etanol, etil asetat dan heksane.

Uji penghambatan aktivitas enzim *xanthin oksidase* dilakukan oleh blangko, kontrol blangko, sampel, kontrol sampel. Sampel yang digunakan terdiri dari ekstrak etanol, fraksi (fraksi polar, fraksi semi polar dan fraksi non polar) daun bakau kurap (*Rhizophora Sylosa* Griff.). Penggunaan allopurinol sebagai pembanding karena allopurinol merupakan inhibitor kompetitif terhadap enzim *xanthin* oksidase dalam mengubah *xanthin* menjadi asam urat. suhu inkubasi 40°C, pH dapar fosfat 0,05 dan konsentrasi substrat 0,15 mM. Pengujian dilakukan pada blanko, kontrol blanko, standar, kontrol standar, sampel dan kontrol sampel. Sampel yang diuji yaitu ekstrak etanol daun bakau kurap (*Rhizophora Sylosa* Griff.). Pengujian larutan blanko dan kontrol blanko dilakukan untuk mengetahui aktivitas enzim tanpa penambahan ekstrak, Pengujian larutan sampel dan pembanding

alopurinol dilakukan untuk mengetahui kemampuan aktivitas enzim yang diberikan oleh ekstrak dan pembanding allopurinol.

Miripnya struktur kimia allopurinol dengan *xanthin* menyebabkan adanya kompetisi dengan *xanthin* dalam mengikat sisi aktif enzim. Pengujian blanko dan kontrol blanko dilakukan untuk mengetahui aktivitas enzim dalam merubah substrat *xanthin* menjadi asam urat tanpa penambahan apapun. Pengujian terhadap allopurinol (standar pembanding) dan sampel dilakukan untuk mengetahui seberapa besar kemampuan daya hambat terhadap aktivitas enzim yang diberikan. Pengujian juga dilakukan pada kontrol sampel dan kontrol blanko (tanpa penambahan enzim) yang bertujuan sebagai faktor koreksi apabila sampel yang memberikan serapan (absorbansi).

Hasil pengujian penghambatan aktivitas enzim *xanthin* oksidase terhadap allopurinol sebagai standar pembanding menunjukkan bahwa alopurinol memiliki efek penghambatan aktivitas *xanthin* oksidase dengan nilai IC_{50} 4,706 $\mu\text{g/mL}$. Allopurinol berperan sebagai inhibitor kompetitif yang memiliki struktur menyerupai substrat. Allopurinol juga diketahui memiliki afinitas puluhan kali lebih kuat terhadap enzim *xanthin* oksidase dibandingkan *xanthin*, sehingga apabila dalam lingkungan terdapat allopurinol bersama-sama dengan *xanthin* (substrat), maka allopurinol yang akan lebih bereaksi dengan enzim *xanthin* oksidase membentuk produk (oksidipurinol) dibandingkan dengan substratnya sendiri sehingga aktivitas enzim *xanthin oksidase* akan menurun dan asam urat yang terbentuk juga sedikit (Stryer, 2000).

Uji penghambatan aktivitas enzim *xanthin oksidase* terhadap sampel dilakukan pada ekstrak etanol, fraksi polar, fraksi, semi polar, dan fraksi non polar daun bakau kurap (*Rhizophora Stylosa* Griff.). Konsentrasi ekstrak etanol daun bakau kurap (*Rhizophora Stylosa* Griff.) yang digunakan adalah 5, 50, 100, 200 dan 300 ppm, sedangkan konsentrasi fraksi yang digunakan 1, 5, 10, 25 dan 50 ppm. Pengujian sampel dilakukan dengan berbagai varian konsentrasi bertujuan untuk melihat pengaruh penambahan konsentrasi ekstrak terhadap peningkatan daya hambat.

Hasil pengukuran uji penghambatan enzim *Xanthin Oksidase* ekstrak etanol daun bakau kurap (*Rhizophora Stylosa* Griff.) diperoleh rata-rata nilai IC_{50} sebesar 26,506 $\mu\text{g/mL}$. Pada pengukuran IC_{50} terhadap fraksi polar sebesar 39,722 $\mu\text{g/mL}$, fraksi semi polar 16,361 $\mu\text{g/mL}$ dan fraksi non polar 61,734 $\mu\text{g/mL}$.

4. KESIMPULAN

Senyawa yang terkandung didalam ekstrak etanol daun bakau kurap (*rhizophora Stylosa* Griff.) yaitu senyawa metabolit sekunder senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, dan tanin. Nilai aktivitas penghambatan ekstrak etanol, dan fraksi daun bakau kurap (*Rhizophora Stylosa* Griff.) yang dilihat dari IC_{50} sebesar 30,905 pada ekstrak etanol, fraksi polar etanol sebesar 39,722, fraksi semi polar etil asetat sebesar 16,361, dan fraksi non polar *n*-Heksan sebesar 61,734.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Chilappa, C. S.; Aronow, W. S.; Shapiro, D.; Sperber, K.; Patel, U.; Ash, J. Y. Gout and Hyperuricemia. *Compr. Ther.*, 2010, 36, 3–13. <https://doi.org/10.1201/9781420006452-31>.
- [2] Salsabila, A.; Fitriainingsih, S. P.; Lestari, F. Uji Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Kulit Buah Salak (*Salacca Zalacca* (Gaertner) Voss) Terhadap Mencit Swiss Webster Jantan Yang Diinduksi Kalium Oksonat. *Pros. Penelit. Spes. Unisba*, 2015, 72–78.
- [3] No, V.; Raharjo, D.; Permata, B. R.; Haifah, R. Jurnal Ilmiah Kesehatan Efektivitas Penghambatan Enzim Xantin Oksidase Ekstrak Etanol Dan Fraksi Etanol , Fraks Etil Asetat Serta Fraksi N- Heksane Kulit Batang Mangrove Merah (*Rhizophora Mucronata*) Jurnal Ilmiah Kesehatan. 2022, 15 (1), 63–70.
- [4] Retno Juwita, Chairul Saleh, S. S. Uji Aktivitas Antihiperurisemia Dari Daun Hijau Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium Myrtifolium* Walp.) Terhadap Mencit Jantan (*Mus Musculus*). *J. At.* 2017, 02 hal 162-168, 2017, 86–92.
- [5] Zhu, H.; Song, D.; Zhao, X. Potential Applications and Preliminary Mechanism of Action of Dietary Polyphenols against Hyperuricemia: A Review. *Food Biosci.*, 2021, 43, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101297>.
- [6] Y, M. I.; Daud, N. S.; Aqmarina, M. Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Daun Galing (*Cayratia Trifolia* L. Domin) Pada Mencit BALB/C. *War. Farm.*, 2019, 8 (2), 20–30. <https://doi.org/10.46356/wfarmasi.v8i2.88>.
- [7] Rini, YC , Susilowati, F , Amal, ASS. (2020), Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Biji Habbatussauda'(Nigella sativa). *Pharmasipha*, 4(1), 27-34.
- [8] Nugrahani, R.; Andayani, Y.; Hakim, A. Skrining Fitokimia Dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus Vulgaris* L) Dalam Sediaan Serbuk. *J. Penelit. Pendidik. Ipa*, 2016, 2 (1). <https://doi.org/10.29303/Jppipa.V2i1.38>.
- [9] Marlina, S. D.; Suryanti, V.; Suyono. Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium Edule* Jacq . Swartz .) Dalam Ekstrak Etanol The Phytochemical Screenings and Thin Layer Chromatography Analysis Of. *Biofarmasi*, 2005, 3 (1), 26–31.