

Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Dari Buah Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.)

*Sutomo¹, Hadi Azhari¹, Arnida¹, Fadlilaturrahmah¹, Rahmat Yunus²

¹Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru

²Program Studi Kimia Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru

*Email: sutomo01@unlam.ac.id

ABSTRAK

Antioksidan berfungsi untuk menetralkan radikal bebas, sehingga dapat mencegah dan melindungi terjadinya kerusakan tubuh yang dapat menyebabkan timbulnya penyakit degeneratif. Salah satu tanaman endemik Kalimantan Selatan yang teridentifikasi mengandung antioksidan alami yaitu kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa antioksidan dari buah *M. casturi*. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Pemisahan dan pemurnian dilakukan dengan KLT, KCV, dan kromatografi kolom gravitasi. Identifikasi senyawa dengan spektrofotometri UV-Vis dan FTIR serta uji kualitatif antioksidan dan aktifitas kuantitatif antioksidan isolat. Ekstraksi 2500 gram serbuk buah *M. casturi* dengan metanol diperoleh 840,69 gram ekstrak kental berwarna coklat. Fraksinasi 60 gram ekstrak metanol dengan fraksi etil asetat menghasilkan 8,3 gram ekstrak kering. Fraksi etil asetat difraksinasi kembali menggunakan KCV dengan eluen n-heksana : etil asetat (9:1; 8:2; 7:3; 6:4; 5:5; 4:6; 3:7) v/v, etil asetat : metanol (5:5 v/v), 100% metanol diperoleh fraksi A, B, C, D, E, F, G, dan H. Fraksi H dipilih untuk diisolasi menggunakan kromatografi kolom gravitasi dengan eluen n-heksana : etil asetat : metanol (5:3:0,5; 5:4:1; 5:4:2; 5:6:2; 5:6:2,5) v/v dan 100% metanol. Uji kualitatif KLT menunjukkan isolat H-7 mengandung senyawa antioksidan dengan pereaksi DPPH. Aktivitas antioksidan isolat H-7 memiliki nilai IC₅₀ sebesar 4,61±0,57 ppm. Analisis isolat H-7 dengan UV-Vis menghasilkan puncak pada λ 274,8 nm (pita I) dan λ 218 nm (Pita II). Analisis FTIR menunjukkan gugus fungsi dari isolat H-7 yaitu -OH, C-H aromatik, C-H alifatik, C=O, C=C aromatik, dan C-O.

Kata Kunci : Antioksidan, buah *M. casturi*, DPPH, fraksi etil asetat, Isolasi

ABSTRACT

The core function of antioxidants is to neutralize free radicals, by administering these antioxidants ones can prevent damage and protect their body from degenerative diseases. One of the endemic plants in South Kalimantan which is identified to contain natural antioxidants is Kasturi (Mangifera casturi Kosterm.). This research aims at isolating and identifying antioxidant compounds in M. casturi fruit. Extraction is conducted by using maceration method. Separation and purification is conducted by using

TLC, VLC, and gravity chromatography column. The identification of compound uses UV-Vis and FTIR spectrophotometry. So do the qualitative assay of antioxidant and quantitative activity of isolates antioxidant. The extraction of 2.500 grams *M. casturi* fruit powder with methanol extracts produces 840.69 grams of brown viscous extracts. The fractionation of 60 grams methanol extracts with ethyl acetate fraction produces 8.3 grams of dry extracts. Ethyl acetate fraction by using VLC with the *n*-hexane: ethyl acetate eluent (9:1; 8:2; 7:3; 6:4; 5:5; 4:6; 3:7) v/v, ethyl acetate : methanol (5: 5 v / v), 100% methanol produces fractions A, B, C, D, E, F, G, and H. Fraction H then is chosen to be isolated by using gravity chromatography column with the *n*-hexane: ethyl acetate : methanol eluent (5:3:0.5; 5:4:1; 5:4:2; 5:6:2; 5:6:2.5) v/v and 100% methanol. TLC qualitative test shows that H-7 isolates contains antioxidant compounds with DPPH reagent. The antioxidant activity of H-7 isolates have IC₅₀ value of 4.61±0.57 ppm. H-7 Isolates analysis by using UV-Vis reach the peak at λ 274.8 nm (Band I) and λ 218 nm (Band II). FTIR analysis shows that the functional groups of H-7 isolates are -OH, aromatic C-H, aliphatic C-H, C=O, C=C aromatic, and C-O.

Key words: Antioxidants, DPPH, ethyl acetate fraction, *M. casturi* fruit, Isolation

I. PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan molekul yang kehilangan satu buah elektron yang diproduksi pada proses metabolisme dalam keadaan normal, dapat juga berasal dari polusi, debu, makanan, dan sebagainya (Hariyatmi, 2004). Aktivitas radikal bebas yang berlebihan dapat merusak protein, lipid, karbohidrat, dan asam nukleat sehingga dapat menyebabkan berbagai penyakit degeneratif (Suirta *et al.*, 2007). Risiko penyebab terjadinya penyakit tersebut dapat dikurangi dengan penggunaan senyawa antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas (Amrun *et al.*, 2007). Antioksidan berfungsi menetralkan radikal bebas sehingga diharapkan dengan pemberian antioksidan tersebut dapat mencegah dan melindungi terjadinya kerusakan tubuh terhadap penyakit degeneratif (Kosasih *et al.*,

2006). Salah satu tanaman endemik Kalimantan Selatan yang diidentifikasi mengandung antioksidan alami yaitu kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.)

Ekstrak metanol buah *M. casturi* mengandung terpenoid dan kelompok polifenol, serta menunjukkan aktivitas antioksidan (Sutomo *et al.*, 2014). Aktivitas antioksidan dari buah *M. casturi* dibuktikan dengan menggunakan metode penangkap radikal bebas 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Ekstrak metanol buah *M. casturi* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 112,4 µg/mL, sedangkan fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan metanol memiliki nilai IC₅₀ sebesar 193,0 µg/mL, 6,0 µg/mL, dan 538,9 µg/mL (Sutomo *et al.*, 2014). Berdasarkan nilai IC₅₀ pada penelitian sebelumnya maka ekstrak buah *M. casturi* berpotensi sebagai antioksidan secara

alami. Kandungan tersebut diperkuat dengan hasil isolasi yang dilakukan pada buah *M. casturi* yaitu lupeol, β -sitosterol, dan metil galat (Sutomo, 2014). Penelitian Suhartono *et al* (2012) buah *M. casturi* mengandung total flavonoid dengan nilai $30,0 \pm 1,2$ (*equivalen quersetin $\mu\text{g/mL}$*).

Berdasarkan informasi tersebut, sangat perlu untuk melakukan isolasi dan identifikasi senyawa dengan tujuan untuk mengeksplorasi berbagai kandungan senyawa antioksidan dalam buah *M. casturi*. Rumusan masalah penelitian ini yaitu senyawa apakah yang terkandung di dalam buah *M. casturi* yang berpotensi sebagai antioksidan.

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu alat-alat gelas (Pyrex® Iwaki Glass), cawan porselin, corong pisah, erlenmeyer, *Infrared spectrometry* (FTIR, Perkin Elmer 100), kertas saring, kromatografi cair vakum (KCV), lampu ultraviolet 254 nm dan 366 nm, mesin blender, neraca analitik (Ohaus®), oven, pipa kapiler, *rotary vacuum evaporator*, seperangkat alat KLT, seperangkat alat kromatografi kolom, seperangkat alat maserasi, UV-Vis (spectronic® 20 genesys™), *waterbath* (SMIC®).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu akuades, buah *M. casturi*, etil asetat

(p.a), kalium bromida, kloroform (p.a), metanol (p.a), metanol (teknis), *n*-heksana (p.a), plat kromatografi lapis tipis (KLT) dengan silika gel 60 F₂₅₄ *for thin layer chromatography* (Merck), silika gel 60 *for column chromatography* (Merck), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

B. Jalannya Penelitian

1. Ekstraksi Buah *M. casturi*

Sampel buah *M. casturi* diambil dari Kabupaten Banjar, Kalimantan Selatan. Buah *M. casturi* yang dipilih pada penelitian ini adalah buah yang sudah masak (tekstur daging buah tidak lembek, warna kulit buah ungu agak kehitaman, daging buah berwarna jingga, dan memiliki bau khas). Serbuk simplisia daging bersama kulit buah *M. casturi* ditimbang seberat 2,5 kg untuk diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol (teknis) dengan perbandingan 1:2,5. Ekstraksi dilakukan selama 3 x 24 jam sambil diaduk, Hasil ekstrak dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50° hingga didapatkan ekstrak kental (Sutomo, 2014).

2. Fraksinasi

Ekstrak dilakukan fraksinasi dengan metode cair-cair. Ekstrak kental metanol difraksinasi menggunakan etil asetat. Ekstrak metanol 15 g disuspensikan dengan *aquades* terlebih dahulu dengan perbandingan ekstrak dan akuades

sebanyak 1:2 dan dimasukkan ke dalam corong pisah. Fraksinasi dilakukan dengan menambahkan 50 mL etil asetat diulang sebanyak 3 kali, Seluruh fraksi etil asetat disimpan untuk diisolasi senyawa aktifnya. Ekstrak dan fraksi yang diperoleh dianalisis dengan kromatografi lapis tipis dan disemprot dengan DPPH untuk mengetahui aktivitas antioksidannya. Fraksi Etil asetat 7 gram difraksinasi kembali menggunakan kromatografi cair vakum. Sampel dielus dengan campuran gradien fase gerak *n*-heksana - etil asetat (9:1; 8:2; 7:3; 6:4; 5:5; 4:6; 3:7; dan 2:8) v/v, etil asetat : metanol (5:5 v/v), dan 100% metanol. Masing-masing eluen ditampung dalam wadah berdasarkan profil kromatogramnya. Fraksi yang menunjukkan profil kromatogram yang baik dipisahkan lebih lanjut menggunakan kromatografi kolom gravitasi dengan gradien fase gerak hasil orientasi campuran *n*-heksana - etil asetat - metanol (5:3:0,5; 5:4:1; 5:4:2; 5:6:2; 5:6:2,5) v/v dan 100% metanol. Tiap eluen diperiksa profil kromatogramnya dan isolat dengan karakteristik yang sama dikumpulkan sebagai fraksi-fraksi. Proses isolasi dihentikan setelah senyawa target terisolasi.

3. Pemeriksaan Kemurnian dengan KLT 2 Dimensi

Ekstrak metanol hasil kromatografi kolom diuji kemurniannya dengan

kromatografi lapis tipis dua dimensi dengan menggunakan beberapa eluen dengan kepolaran yang berbeda. Jika isolat tetap menunjukkan pola bercak tunggal, maka dapat dikatakan bahwa isolat telah murni.

4. Uji Aktivitas Kuantitatif Antioksidan Fraksi Etil Asetat Buah *M. Casturi*

Isolat murni buah *M. casturi* dibuat dengan menimbang 1,0 mg isolat kemudian dilarutkan dalam metanol hingga volume 10 mL. Dibuat konsentrasi 0,5, 1, 2, 4, dan 8 ppm. Satu milliliter larutan DPPH 0,4 mM ditambahkan dengan tiap-tiap larutan sampel sebanyak 4 mL, larutan didiamkan ditempat gelap selama *operating time* yaitu 20 menit. Absorbansinya dibaca pada panjang gelombang maksimum 516 nm (Nihlati *et al*, 2008).

$$\% \text{inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi sampel yang dapat menghambat radikal bebas sebesar 50% diperoleh dengan memakai persamaan regresi linear $y = bx + a$ dan SPSS regresi probit analisis.

5. Spektrofotometri UV-Vis

Sampel yang akan diukur dilarutkan dengan 5 mL metanol p.a selanjutnya dimasukkan ke dalam kuvet. Blanko dan sampel dimasukkan ke dalam kuvet pada sisi yang tepat dan diukur pada

panjang gelombang 200-800 nm (Sastrohamidjojo, 2001; Sutomo, 2014).

6. Spektrofotometri FTIR

Senyawa hasil isolasi (isolat) yang akan diukur digerus dengan KBr (0,2-0,5 mg isolat + 100 mg KBr). Campuran dikempa (dibuat pelet) dan pelet yang telah dibuat ditempatkan pada kisi NaCl. Selanjutnya diukur dengan alat FTIR di daerah bilangan gelombang tengah infra merah ($4000-400\text{ cm}^{-1}$) pada resolusi 16 cm^{-1} payar 32 (Sastrohamidjojo, 2001; Sutomo, 2014).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Preparasi Sampel Buah *M. casturi*

Buah *M. casturi* yang dipilih pada penelitian ini adalah buah masak dengan tekstur daging buah tidak lembek, warna kulit buah ungu dengan bintik-bintik kehitaman pada kulitnya, daging buahnya berwarna jingga, serta memiliki bau khas. Buah *M. casturi* yang telah dipotong dikeringkan dengan oven, dan didapatkan serbuk simplisia kering sebanyak 4,9 kg (8,92%) dengan susut pengeringannya yaitu 91,07%.

B. Ekstraksi

Ekstrak dibuat dari 2,5 kg serbuk buah *M. casturi* dimaserasi menggunakan pelarut metanol selama 3 kali 24 jam dengan pergantian pelarut setiap 24 jam (remaserasi), disertai dengan pengadukan. Ekstrak selanjutnya diuapkan di atas

waterbath hingga bobotnya tetap, dengan hasil yang diperoleh berupa ekstrak kental sebanyak 840,69 gram berwarna coklat). Rendemen yang diperoleh sebesar 33,62 %.

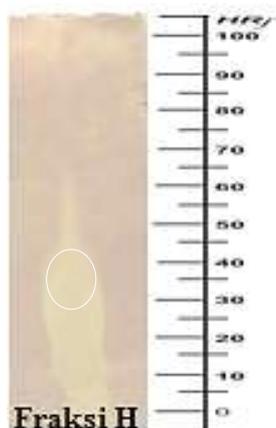
C. Fraksinasi

Fraksinasi ekstrak metanol sebanyak 60 g dengan pelarut etil asetat menghasilkan dua lapisan yaitu lapisan bawah (metanol sisa) yang berwarna coklat dan lapisan atas (etil asetat) berwarna kuning pucat. Semua filtrat etil asetat diuapkan dengan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak sebesar 8,3 gram. Rendemen fraksi etil asetat buah *M. casturi* yang diperoleh sebesar 14 %. Uji pendahuluan dengan KLT memberikan informasi bahwa beberapa senyawa dalam ekstrak dan fraksinya bersifat antioksidan. Fraksi yang didapatkan dipisahkan kembali menggunakan kromatografi cair vakum.

D. Kromatografi Cair Vakum

Fraksi etil asetat sebanyak 7 gram difraksinasi menggunakan KCV menghasilkan 7 fraksi. Setiap fraksi yang terkumpul dilakukan uji menggunakan KLT. Hasil KLT dikelompokkan menjadi beberapa fraksi yaitu *n*-heksana – etil asetat (9:1 v/v) sebagai fraksi A, (8:2 v/v) sebagai fraksi B, (7:3 v/v) sebagai fraksi C, (6:4 v/v) sebagai fraksi D, (5:5 v/v) sebagai fraksi E, (4:6 v/v) sebagai fraksi F, (3:7 v/v) sebagai fraksi G, etil asetat-

metanol (5:5 v/v) dan 100% metanol sebagai fraksi H. Identifikasi hasil KLT dipilih senyawa target berada pada fraksi H tetapi belum terindikasi sebagai senyawa tunggal (Gambar 1). Fraksi H dipilih untuk dilanjutkan isolasi menggunakan kromatografi kolom gravitasi, karena hasil kromatogram KLT nya menunjukkan pemisahan bercak yang baik namun belum tunggal serta fraksinya lebih banyak di bandingkan dengan fraksi yang lain, sehingga memungkinkan untuk dilanjutkan ke tahap isolasi menggunakan KK gravitasi.



Gambar 1. Profil kromatogram Fraksi H hasil KCV buah *M. casturi* eluen *n*-heksana - etil asetat - metanol (5:3:2 v/v) penampak bercak DPPH dengan nilai HR_f 38

E. Kromatografi Kolom Gravitasi

Sampel hasil KCV fraksi H yang digunakan sebanyak 2 g. Eluen yang keluar ditampung dalam vial kapasitas 25 mL dan disebut sebagai isolat. Semua isolat dilihat profil KLT nya. Eluen yang digunakan sebagai pengelusi pada hasil

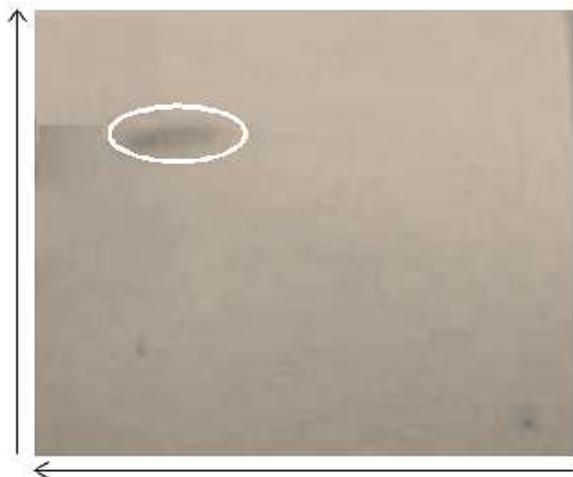
isolat KK gravitasi ini yaitu eluen *n*-heksana - etil asetat - metanol (5:3:2) v/v. Isolat yang didapatkan yaitu H-1 ; H-2 ; H-3 ; H-4 ; H-5 ; H-6 ; H-7 ; H-8 dan H-9. Profil kromatogram KLT hasil isolasi pada isolat H-7 menunjukkan isolat tunggal dengan pemisahan yang baik (Gambar 2). Isolat H-7 berupa kristal kuning pucat didapatkan sebanyak 6 mg.



Gambar 2. Profil kromatogram isolat murni dari fraksi etil asetat buah *M. casturi* eluen *n*-heksana - etil asetat (5:5 v/v) Penampak bercak DPPH dengan HR_f 40.

F. Uji Kemurnian

Uji kemurnian senyawa isolat hasil isolasi dilakukan dengan menggunakan metode KLT dua dimensi. Campuran eluennya adalah (1) *n*-heksana - etil asetat - metanol (5:3:2) dan (2) *n*-heksana - etil asetat - metanol (5:4:2). Berdasarkan analisis menggunakan KLT di bawah lampu UV λ 254 nm diketahui isolat mengandung satu senyawa ditunjukkan dengan adanya satu bercak pada plat KLT 2 dimensi (Gambar 3).



Gambar 3. Profil kromatogram KLT 2 dimensi isolat H-7 buah *M. casturi* pada sinar UV 254 nm

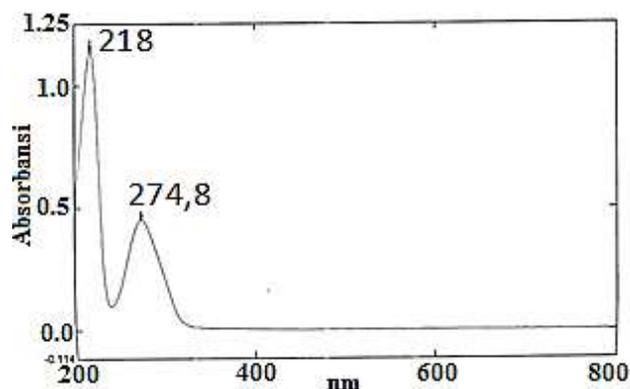
G. Aktivitas Kuantitatif Antioksidan Isolat

Penentuan aktivitas antioksidan isolat murni buah *M. casturi* dilakukan menggunakan UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 516 nm dengan waktu inkubasi selama 20 menit. Nilai IC_{50} dapat ditentukan dengan menggunakan *Statistical Product and Service Solutions (SPSS) for windows* versi 21 regresi linear analisis. Berdasarkan hasil perhitungan aktivitas inhibisi radikal bebas DPPH sebanyak 50% terjadi pada konsentrasi $4,61 \pm 0,57$ ppm (sangat kuat).

H. Analisis Spektrum UV-Vis

Pengukuran absorbansi isolat H-7 dalam pelarut metanol menunjukkan 2 puncak pada panjang gelombang 218 nm dan 274,8 nm dengan absorbansi masing-masing sebesar 1,136 dan 0,452 (Gambar 4). Pita 1 dari spektrum isolat H-7 pada

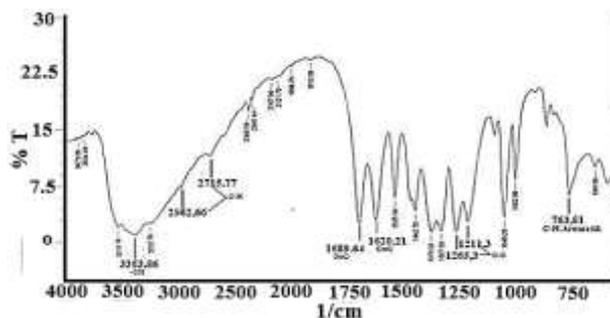
panjang gelombang 274,8 nm, menunjukkan adanya sistem kromofor dengan ikatan $\pi - \pi^*$ seperti C=C terkonjugasi serta ikatan $n - \pi^*$ berupa kromofor tunggal seperti ikatan C=O. Spektrum UV-Vis pada panjang gelombang 218 nm diperkirakan adanya sistem ausokrom (gugus -OH) dengan satu ikatan rangkap tidak terkonjugasi dalam senyawa menunjukkan adanya ikatan $n - \sigma^*$ (Pavia *et al*, 2001).



Gambar 4. Hasil spektrum UV-Vis Isolat H-7 dengan pelarut methanol

I. Analisis Spektrum FT-IR (*Fourier Transform – Infra Red*)

Berdasarkan spektrum FT-IR isolat H-7, terdapat pita-pita serapan pada bilangan gelombang yang bisa dilihat pada gambar 5. Pita-pita serapan khususnya yang spesifik tersebut kemudian dibandingkan dengan pustaka.



Gambar 6. Spektrum FT-IR Isolat H-7 dengan pelet KBr.

Pita serapan lebar antara 3600-3300 cm^{-1} yaitu 3363,86 dan 3518,16 cm^{-1} merupakan vibrasi regangan hidroksil (-OH). Pita serapan dengan panjang gelombang 2962,66 cm^{-1} dapat diperkirakan adanya C-H alifatik. Pita serapan sedang pada bilangan gelombang 1620,21 cm^{-1} menunjukkan regangan C=C (aromatik) dan 1689,64 menunjukkan adanya karbonil (C=O) pada keton. Pita 1265,3 dan 1211,3 cm^{-1} yang berarti bahwa isolat H-7 memiliki gugus C-O-C eter.

IV. KESIMPULAN

Isolat dari fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar $4,61 \pm 0,57$ ppm (sangat kuat). Hasil identifikasi spektrofotometri UV-Vis menghasilkan puncak pada pita 1 dengan λ 274,8 nm diperkirakan adanya sistem kromofor menunjukkan (C=C ; C=O) dan Pita 2 dengan λ 218 nm diperkirakan adanya sistem ausokrom menunjukkan (-

OH) serta hasil identifikasi dengan spektrofotometri FTIR menunjukkan gugus fungsi dari isolat yaitu -OH (3518,2 cm^{-1}), CH aromatik (2715,8 cm^{-1}), CH alifatik pada (2962,77 cm^{-1}), C = O (1689,6 cm^{-1}), C=C aromatik (1620,2 cm^{-1}) dan C-O (1265; 1211,3) cm^{-1}

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Direktur Jenderal Ristek Dikti melalui pendanaan riset (PTUPT), Universitas Lambung Mangkurat dan Universitas Gajah Mada dalam memfasilitasi kegiatan riset, dan semua yang terlibat dalam penyelesaian riset ini

DAFTAR PUSTAKA

- Amrun., M.H., Umiyah, & U.U. Evi. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Metanol beberapa Varian Buah Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember, *Berk. Penel. Hayati*, **13**: 45.
- Creswel, C., O. Ruquist & M. Campbell. 2005. *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. Bandung, ITB.
- Field, L.D., S. Sternhell & J.R. Kalman. 2008. *Organic Structures From Spectra Fourth Edition*. John Wiley & Sons, England.
- Fitrya, L. Anwar, & F. Sari. 2009. Identifikasi Flavonoid dari Buah Tumbuhan Mempelas. *Jurnal Penelitian Sains*, **12** : 1-5.
- Hariyatmi. 2004. Kemampuan Vitamin E sebagai Antioksidan terhadap Radikal Bebas pada Lanjut Usia, *MIPA*, **14** : 1.
- Jun, M. H. Y., J.Y. Yu, C.X. Fong, S. Wan, & C. T. Yang. 2003. Comparison of Antioxidant

- Activities of Isoflavones from Kudzu Root (*Pueraria labata* Ohwl.). *Journal of Food Sciences*, **68** : 2117-2122.
- Kosasih, E.N., S. Tony & H. Hendro. 2006. *Peran Antioksidan pada Lanjut Usia*. Pusat Kajian Nasional Masalah Lanjut Usia, Jakarta.
- Nihlati, A.P., A. Rohman, & T. Hertiani. 2008. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata* (Roxb. Schlecth) dengan Metode Penangkapam Radikal DPPH, *J. Nat. Med.* **62** : 207-21.
- Pavia, D.L., G.M. Lampman, G.S. Kriz & J.R. Vyvyan. 2001. *Introduction to Spectroscopy*. Sauders College, Philadelphia.
- Sastrohamidjojo, H. 2001. *Dasar-dasar Spektroskopi*. Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Suhartono, E., E. Viani, M.A. Rahmadhan, I.S. Gultom, M.F. Rakhman & D. Indrawardhana. 2012. Total flavonoid and Antioxidant Activity of Some Selected Medicinal Plants in South Kalimantan of Indonesian. *APCBEE Procedia*, **4** : 235–239.
- Suirta, I.W., N.M. Puspawati, & N.K. Gumiaty. 2007. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Larvasida dari Biji Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) Terhadap Larva Nyamuk Demam Berdarah (*Aedes Aegypti*). *Jurnal Kimia*, **1** : 47-54.
- Sutomo. 2014. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Penangkap Radikal DPPH dan Imunomodulator dari Buah Kasturi (Mangifera casturi Kosterm.) Suku Anacardiaceae*. Desertasi Program Pascasarjana Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Sutomo, S. Wahyuono, E.P., Setyowati, S. Rianto & A. Yuswanto. 2014. Antioxidant activity assay of extracts and active fractions of kasturi fruit (*Mangifera casturi* Kosterm.) using 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl method. *Journal of Natural Products*, **7**: 124-130.