

DENTINO
JURNAL KEDOKTERAN GIGI
Vol I. No 1. April 2017

**PERBEDAAN TOTAL FLAVONOID ANTARA TAHAPAN PENGERINGAN ALAMI
DAN BUATAN PADA EKSTRAK DAUN BINJAI (*Mangifera caesia*)**

(Studi pendahuluan terhadap proses pembuatan sediaan obat penyembuhan luka)

Maulida Syafarina¹, Irham Taufiqurrahman¹, Edyson²

¹Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

²Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

ABSTRACT

Background: Binjai leaf has contain flavonoids. Flavonoids are one of the compounds that has antioxidant functions as to inhibit autooxidation through the catch of free radical mechanism. Antioxidants also have effect to stop, neutralize and repair the damage that occurs in the body. Binjai leaf can provide the natural antioxidant effect by extracting the plant. One of the methods of extraction some drying to obtain total flavonoids optimally. **Purpose:** To analyze drying method of flavonoids an extract from binjai leaf optimally. **Methods:** This study was a true experimental method with posttest-only control group design, used simple random sampling technique, consist of three treatment groups such as treatment group air drying and oven drying used ethanol 95% as well as a control group had given fresh leaves in the process of maceration. Levels of total flavonoids calculated using UV-Vis Spectrophotometer. **Results:** Average levels of total flavonoids contained in the group air drying, oven drying and fresh leaves are respectively 32,63 mg/QE, 24,58 mg/QE dan 20,35 mg/QE. One way ANOVA test the results were significant differences to every group. Post Hoc LSD test the results were significant differences between each group. **Conclusion:** Drying method could for the extraction process a binjai leaf to obtained optimal total flavonoids are air drying.

Keywords : dry method, flavonoid, binjai leaf

ABSTRAK

Latar belakang: Daun binjai diketahui memiliki kandungan flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu senyawa yang memiliki fungsi antioksidan sehingga mampu menghambat autooksidasi melalui mekanisme penangkapan radikal bebas. Antioksidan juga berperan dalam menghentikan dan menetralkan serta memperbaiki kerusakan-kerusakan yang terjadi dalam tubuh. Daun binjai dapat memberikan efek antioksidan secara alami dengan cara mengekstrak tanaman tersebut. Salah satu tahapan ekstraksi yaitu melakukan pengeringan sehingga didapatkan total flavonoid optimal. **Tujuan:** menganalisis tahapan pengeringan yang tepat sehingga didapatkan total flavonoid optimal. **Metode:** Penelitian eksperimental murni dengan posttest-only with control group design, menggunakan teknik simple random sampling, terdiri dari 3 kelompok perlakuan, yaitu kelompok perlakuan pengeringan alami dan buatan dengan menggunakan etanol 95% serta kelompok kontrol (tidak dilakukan pengeringan) dengan metode ekstraksi maserasi. Kadar total flavonoid dihitung menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. **Hasil:** Rata-rata kadar total flavonoid yang terdapat pada kelompok pengeringan alami, buatan dan tanpa pengeringan berturut-turut adalah 32,63 mg/QE, 24,58 mg/QE dan 20,35 mg/QE. Uji One way ANOVA menunjukkan perbedaan bermakna pada setiap kelompok. Uji Post Hoc LSD menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna dari masing-masing kelompok. **Kesimpulan:** Pengeringan yang dapat digunakan pada proses ekstraksi flavonoid dalam daun binjai secara optimal adalah pengeringan alami.

Kata-kata Kunci: pengeringan, flavonoid, daun binjai

Korespondensi : Maulida Syafarina, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Lambung Mangkurat, Jalan Veteran No 128B, Banjarmasin, Kalsel, email: ririnsyafarina@yahoo.com

PENDAHULUAN

Binjai (*Mangifera caesia*) merupakan salah satu tumbuhan genus *Mangifera* dan famili *Anacardiaceae*. *Anacardiaceae* memiliki sekitar 35-40 jenis mangga yang menyebar di wilayah Asia. Binjai banyak ditemukan dan dikonsumsi oleh masyarakat di daerah Kalimantan Selatan kemudian dibudidayakan di Thailand, Bali, Jawa dan Filipina.^{1,2} Tanaman ini memiliki kekerabatan yang dekat dengan mangga sehingga memiliki kandungan senyawa yang hampir sama dengan mangga. Buah binjai yang biasanya dikonsumsi masyarakat memiliki rasa manis dan menyegarkan, selain itu daunnya memiliki kandungan zat-zat yang dibutuhkan oleh tubuh seperti flavonoid.^{2,3,4}

Flavonoid merupakan senyawa yang berfungsi sebagai antiinflamasi, anti kanker, anti leukemia, anti malaria dan HIV (*Human Immunodeficiency Virus*).^{5,6} Senyawa flavonoid memiliki peranan sebagai antioksidan yang mampu menghambat autooksidasi melalui mekanisme penangkapan radikal bebas.^{7,8} Antioksidan juga berperan dalam menghentikan dan menetralkan serta memperbaiki kerusakan-kerusakan yang terjadi dalam tubuh serta berperan dalam mempercepat proses penyembuhan luka.^{7,8}

Luka merupakan perubahan kontinuitas jaringan secara seluler maupun anatomi yang dapat terjadi pada kulit dan mukosa sehingga memberikan respon pada proses penyembuhan luka.⁹ Proses penyembuhan luka bertujuan untuk mengembalikan fungsi struktur dan jaringan yang rusak melalui tiga fase yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase *remodeling*.⁹ Penyembuhan luka dapat dipengaruhi oleh adanya suplai material dan nutrisi yang dapat diperoleh secara alami untuk mempercepat proses penyembuhan luka.⁹ Tanaman herbal yang dapat mempercepat penyembuhan luka adalah daun Binjai. Senyawa flavonoid dari daun binjai dapat diperoleh dengan cara melakukan ekstraksi daun.¹⁰ Jumlah dan fungsi ekstrak dapat dipengaruhi oleh kandungan kimia pada tumbuhan yang digunakan.^{9,10} Salah satu faktor yang mempengaruhi kandungan kimia adalah faktor pengeringan terhadap tumbuhan tersebut sehingga diperoleh kandungan optimal.^{9,10}

Tahapan pengeringan dapat dilakukan secara alami maupun pengeringan secara buatan.¹¹ Pengeringan secara alami dapat dilakukan dengan sinar matahari secara langsung dan pengeringan kering angin sedangkan pengeringan buatan dapat menggunakan lemari pengering atau *oven*.¹¹ Penggunaan tahapan pengeringan dengan matahari langsung akan terjadi kontaminasi dari lingkungan serta sinar *ultraviolet* yang dapat merusak kandungan kimia bahan yang dikeringkan.¹¹ Proses pengeringan bertujuan untuk mengurangi kandungan air dalam daun sehingga dapat mengawetkan simplisia pada tahap penyimpanan serta menghindari proses enzimatis.¹¹ Proses

ekstraksi dengan cara perendaman etanol juga bertujuan untuk stabilisasi simplisia agar dapat menghentikan proses enzimatis karena metabolisme daun akan segera hilang setelah sel tumbuhan mati. Proses enzimatis akan terhenti apabila kadar air dalam daun sebanyak 10%.^{12,13}

Pengeringan alami kering angin dengan suhu ruangan ($\pm 27^{\circ}\text{C}$) selama ± 72 jam menghasilkan simplisia dengan kadar air 10%.^{14,15} Pengeringan terbaik pada suhu 50°C selama 4 jam dengan lemari pengering atau *oven* didapatkan total yang optimal.¹⁴ Proses pengeringan dengan menggunakan suhu dibawah 45°C dapat mengakibatkan pertumbuhan mikroba sedangkan pengeringan dengan menggunakan suhu diatas 70°C dapat mengurangi kandungan metabolit sekunder dari daun.¹⁵

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang akan dilakukan merupakan penelitian eksperimen murni atau *true experimental* dengan rancangan *post-test only with control group design*, yaitu penelitian untuk mengetahui perbedaan total flavonoid antara tahapan pengeringan alami (kering angin), pengeringan buatan (*oven*) pada ekstrak daun binjai (*Mangifera caesia*) dan daun segar. Teknik penelitian ini menggunakan *simple random sampling* yang terdiri dari 3 kelompok perlakuan. Jumlah sampel untuk tiap kelompok perlakuan ini 9 sampel ditiap kelompok. Jumlah sampel yang digunakan adalah 27 sampel yang didapat dari rumus Federer.¹⁶ Daun ramania yang digunakan diperoleh dari Desa Alalak Utara, Kecamatan Banjarmasin Utara, Kabupaten Kota Banjarmasin, Kalimantan Selatan.

Preparasi dan Ekstraksi Sampel

Sampel yang akan dilakukan pengujian dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir hingga bersih, kemudian sampel dipotong-potong dengan menggunakan pisau. Sampel dibagi menjadi tiga bagian. Sampel yang pertama dikeringkan dengan menggunakan pengeringan kering angin dengan suhu $\pm 27^{\circ}\text{C}$ selama ± 72 jam. Sampel yang kedua dikeringkan dengan menggunakan pengeringan lemari kering (*oven*) dengan suhu 50°C selama 4 jam. Sampel yang ketiga tidak dilakukan pengeringan. Sampel pertama dan kedua yang sudah dilakukan pengeringan kemudian dihaluskan dengan menggunakan *blender* sedangkan sampel ketiga langsung dilakukan penghalusan dengan *blender*.

Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi yaitu merendam simplisia dalam pelarut etanol 95%. Daun yang tidak dilakukan pengeringan juga di ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan cara merendam daun dalam pelarut etanol 95%. Simplisia dan daun tanpa

pengeringan diambil sebanyak 50 g masing-masing kemudian dilarutkan dengan menggunakan pelarut etanol 95% di dalam tabung *erlenmeyer* dengan perbandingan 1:10 berat/volume (b/v). Campuran ini diaduk hingga rata kemudian ditutup rapat dan didiamkan selama ± 72 jam. Setiap 24 jam sekali dilakukan pengadukan dengan menggunakan *magnetic stirrer* pada kecepatan 50 *rotations per minute* (rpm) selama 15 menit serta dilakukan penyaringan dan mengganti pelarut etanol yang baru pada rendaman simplisia. Setelah 72 jam, campuran tersebut kemudian dilakukan penyaringan dan dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* menggunakan suhu 50°C serta diuapkan kembali menggunakan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang didapatkan dengan cara menimbang 10 mg kuersetin kemudian dilarutkan dengan etanol p.a (pro-analisis) ke dalam labu ukur 10 ml. Sebanyak 0,4 ml larutan dilarutkan dengan etanol p.a sampai batas labu ukur kemudian diambil 0,5 ml larutan tersebut kemudian direaksikan dengan 0,5 ml AlCl_3 . Setelah itu ditambahkan 4 ml asam asetat 5% ke dalam larutan dan didiamkan selama 20 menit (*operating time*). Setelah itu larutan diabsorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 418 nm.

Pembuatan Kurva Baku

Kuersetin dilarutkan ke dalam labu ukur masing-masing konsentrasi 0,2 ml, 0,4 ml, 0,6 ml, 0,8 ml dan 1,0 ml menggunakan etanol p.a hingga diperoleh volume masing-masing labu ukur mencapai 10 ml. Diambil 0,5 ml larutan masing-masing konsentrasi dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian direaksikan dengan 0,5 ml AlCl_3 10%. Tambahkan 4 ml asam asetat 5% kedalam larutan diamkan selama *operating time* (20 menit). Larutan pada labu ukur diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Kemudian dibuat kurva antara absorbansi (A) dengan konsentrasi kuersetin (Q).

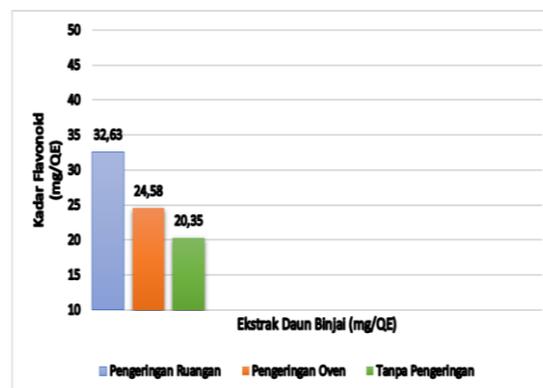
Pengujian Kandungan Total Flavonoid

Sampel ditimbang sebanyak 20 mg kemudian dilarutkan dengan pelarut etanol p.a sampai 10 ml labu ukur sehingga diperoleh konsentrasi 2000 ppm. Sebanyak 0,5 ml dari tiap larutan ekstrak direaksikan dengan 0,5 ml AlCl_3 10% dan ditambahkan 4 ml asam asetat 5% kemudian didiamkan selama 20 menit. Absorbansi dari larutan ekstrak diukur dengan panjang gelombang maksimum larutan kuersetin menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kandungan flavonoid total ditentukan berdasarkan hasil perhitungan dari persamaan regresi kurva kalibrasi kuersetin. Total

flavonoid dinyatakan sebagai total kuersetin ekuivalen per mg ekstrak (mg/QE).

HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian didapatkan rata-rata total flavonoid ekstrak daun binjai sebagai berikut.



Gambar 1. Rata-rata Total Flavonoid

Gambar 1. menunjukkan perbedaan total flavonoid yang terkandung pada kelompok perlakuan. Masing-masing kadar flavonoid dari setiap kelompok penelitian ini adalah 32,63 mg/QE, 24,58 mg/QE dan 20,35 mg/QE

Penelitian ini dilakukan analisis data menggunakan uji normalitas *shapiro-wilk* dan uji homogenitas varian *levene's test*. Hasil uji normalitas didapatkan nilai berturut-turut yaitu 0,358; 0,213; 0,80 dan data yang dihasilkan terdistribusi normal karena nilai $p > 0,05$. Hasil uji homogenitas didapatkan nilai $p = 0,90$ ($p > 0,05$) yang berarti bahwa data memiliki sebaran data yang homogen. Hasil penelitian kemudian dilanjutkan dengan uji *One-way Anova* dan uji lanjutan *Post Hoc Least Significant Difference*. Hasil uji *One-way Anova* menunjukkan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) yang berarti bahwa terdapat perbedaan bermakna pada tiap kelompok perlakuan.

PEMBAHASAN

Pengeringan merupakan proses perusakan struktur sel pada daun sehingga memudahkan proses ekstraksi dan larutan yang benetrasi ke dalam sel.^{13,14} Proses pengeringan bertujuan menghindari terjadinya kerusakan metabolit sekunder dari enzim bakteri yaitu hidrolase, oksidase dan polimerase yang bekerja sesaat setelah daun dipetik.^{13,14} Penelitian ini menunjukkan bahwa daun binjai bersifat *thermolabile* sehingga dilakukan pengeringan dengan tahapan pengeringan alami.¹⁴ Selektivitas larutan menjadi salah satu penentu total ekstraksi dan flavonoid yang didapatkan.¹⁴ Pelarut etanol memiliki struktur kimia $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ yaitu gugus OH yang dapat menarik senyawa polar dan gugus CH_3CH_2- yang dapat

menarik senyawa nonpolar.^{17,18} Etanol digunakan sebagai larutan yang dapat menarik senyawa pada daun karena suatu daun memiliki senyawa yang bersifat polar, semipolar dan nonpolar.^{17,18}

Proses ekstraksi dengan metode maserasi merupakan proses perendaman yang bersifat *macerate* yang berarti pelunakkan.²⁰ Selama proses perendaman simplisia dengan pelarut akan terjadi proses pelunakkan daun binjai.²⁰ Pelarut yang berpenetrasi akan menuju membran sel dan terjadi proses tarik menarik antar molekul (*Gaya Van Der Waals*).¹⁸ Sel akan mengalami mekanisme turgor dan terjadi plasmolisis karena adanya proses hipertonik dari pelarut pada membran sel.^{19,20} Pelarut menembus dinding sel kemudian mengalir sel dan terjadi pertukaran antara metabolit di dalam sitoplasma pada daun.^{19,20} Proses ekstraksi akan mencapai kesetimbangan antara metabolit dan pelarut sehingga terjadi endapan berupa ekstrak cair dari daun binjai.^{19,20} Ekstrak cair masih mengandung larutan etanol sehingga harus dilakukan proses penguapan untuk membentuk ekstrak kental yang akan terbaca dengan nilai absorbansi gelombang ultraviolet sebagai total flavonoid.^{18,19,20}

Penelitian ini menunjukkan hasil perbedaan kadar ekstrak daun binjai dari setiap perlakuan yaitu pengeringan alami, buatan dan tanpa pengeringan. Hasil menunjukkan jumlah kadar ekstrak yang berbeda berturut-turut yaitu 6,65 g; 6,73 g; 8,75 g. Sampel dengan berat ekstrak paling sedikit didapatkan pada perlakuan pengeringan alami dan berat ekstrak terbanyak didapatkan pada perlakuan tanpa dilakukan pengeringan. Hal ini berhubungan dengan adanya berat kering dan kadar air yang tersisa di dalam daun sehingga mempengaruhi hasil ekstraksi.^{13,21} Perbedaan rendemen disebabkan kadar air pada perlakuan bahan tanpa pengeringan relatif masih tinggi dibanding bahan sampel kering yang mengalami proses pengeringan.²² Hasil rendemen dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor lain seperti metode ekstraksi dan pelarut yang digunakan.^{22,23}

Hasil perhitungan rerata memiliki perbedaan total flavonoid antar kelompok pada ekstrak daun binjai. Masing-masing kadar flavonoid dari setiap kelompok penelitian ini adalah 32,63 mg/QE, 24,58 mg/QE dan 20,35 mg/QE. Kadar rerata flavonoid yang berbeda-beda membuktikan bahwa metabolit sekunder dalam suatu tanaman dapat dipengaruhi oleh tahapan pengeringan.¹¹ Tahapan pengeringan untuk tanaman seperti biji, daun, kulit akar dan kulit batang dengan tahapan pengeringan maupun tidak dikeringkan dapat menyebabkan perubahan kuantitatif fitokimia tanaman.^{11,24} Hasil dari penelitian ini didapatkan kadar flavonoid optimum pada kelompok perlakuan daun dengan pengeringan alami kemudian pengeringan buatan dan kadar minimum terdapat pada kelompok kontrol yaitu daun tanpa pengeringan. Flavonoid yang dihasilkan

lebih banyak karena pengeringan alami memiliki suhu yang derajatnya lebih rendah dibandingkan dengan pengeringan buatan. Perbedaan kandungan antara ekstrak yang berasal dari sampel kering dan segar disebabkan akibat proses pengeringan.^{25,26}

Flavonoid merupakan golongan dari polifenol dengan struktur dasar fenol yang senyawanya memiliki sifat mudah teroksidasi dan sensitif terhadap perlakuan panas sehingga dengan adanya tahapan pengeringan akan mempengaruhi kadar total flavonoid yang terkandung di dalam daun binjai.^{25,26} Kandungan senyawa akan menurun seiring dengan peningkatan dan tinggi suhu yang digunakan karena akan terjadi dekomposisi fenol yang berpengaruh pada kandungan flavonoid.^{25,26}

Flavonoid memiliki sifat senyawa yang tahan panas maupun tidak tahan terhadap panas (*thermolabile*).^{25,26} Penelitian ini menunjukkan penurunan total flavonoid karena adanya proses pemanasan yang terjadi selama dilakukan proses pengeringan buatan sehingga flavonoid mengalami proses oksidasi.^{26,27} Sifat metabolit sekunder berbeda-beda terutama pada bagian tanaman yang digunakan, apabila senyawa yang terkandung tidak tahan terhadap proses pemanasan maka mekanisme oksidasi yang terjadi akan mengakibatkan degradasi pada senyawa yang terkandung di dalam tanaman.²⁸

Pengeringan menggunakan *oven* dapat mendegradasi fitokimia tanaman.²⁴ Pengeringan dengan menggunakan pengering buatan dapat menurunkan kadar suatu tanaman karena tidak memiliki sirkulasi udara yang baik dan sirkulasi ini mempengaruhi proses pengeringan serta metabolit sekunder dari ekstrak yang didapatkan.^{11,24} Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara tahapan pengeringan alami dan buatan pada ekstrak daun binjai. Pengeringan yang dapat digunakan pada proses ekstraksi flavonoid dalam daun binjai secara optimal adalah pengeringan alami.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kim. LT. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants India*. New York: Springer Science Business Media. 2012. p.79
2. Paulinus YVG, Jayuska A, Ardiningsih P, Nofiani R. Aktivitas Antioksidan Dan Kandungan Total Fenol Fraksi Etil Asetat Buah Palasu (*Mangifera caesia Jack*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 2015; 4(1): 47-50.
3. Putra FD, Sidharta BBR, Aida Y. Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Daun Wani (*Mangifera caesia*) Pada Mencit Yang Diinduksi Streptozotocin. *Jurnal Teknobiologi*. 2014; 4(4): 2
4. Rahmiyani L, Nurdianti I. Aktivitas Antioksidan Ekstrak daun Mangga *Mangifera*

- Indica* L. Var. Gedong Menggunakan Metode DPPH. Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada. 2016; 16(1): 17-18
5. Rosyidah K, Latifah N, Astuti MD. Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa a-Amirin Dari Kulit Batang Binjai (*Mangifera caesia*). Jurnal Kimia Valensi. 2011; 2(2): 389
 6. Rohman A, Riyanto S, Hidayati NK. Aktivitas Antioksidan, Kandungan Fenolik Total, Dan Flavonoid Total Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). Jurnal Agritech. 2007; 27(4): 148
 7. Ardianti A, Guntarti AZ. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Eter Hasil Hidrolisis Infusa Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Dengan Metode DPPH (1,1-Diphenil-2-Picrylhydrazyl). Jurnal Pharmacia. 2014; 4(1): 2
 8. Lukmandaru G, Vembrianto K, Gazidy AA. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kayu *Mangifera indica* L., *Mangifera foetida* dan *Mangifera odorata* Griff. Jurnal Ilmu Kehutanan. 2012; 6(1): 19
 9. Sugiama VK. Peningkatan Penyembuhan Luka di Mukosa Oral Melalui Pemberian *Aloe Vera* (Linn.) Secara Topikal. Jurnal Kedokteran Maranatha. 2011; 11(1): 70-73
 10. Rahayu WS, Hartanti D, Hidayat N. Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kadar Antosianin Pada Kelopak Bunga Rosela (*Hubiscus sabdariffa* L.). Jurnal Pharmacy. 2009; 6(2): 1-2
 11. Utomo AD, Rahayu WS, Dhiani BA. Pengaruh Beberapa Metode Pengeringan Terhadap Kadar Flavonoid Total Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata*). Jurnal Pharmacy. 2009; 6(1): 59
 12. Ansari AA, Taufiqurrahman I, Dewi N. Uji Konsentrasi Pelarut Bertingkat pada Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Tumbuhan Binjai (*Mangifera caesia*). Skripsi. Banjarmasin: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Lambung Mangkurat. 2015. Hal: 9
 13. Nurdjanah R. Aspek Pengeringan Dalam Mempertahankan Metabolit Sekunder Pada Tanaman Obat. Jurnal Perkembangan Teknologi. 2009; 21(2): 35-36
 14. Husni A, Putra RD, Lelana IYB. Aktivitas Antioksidan *Padina* sp. pada Berbagai Suhu dan Lama Pengeringan. Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi. 2014; 9(2): 165
 15. Rivai H, Febrikesari G, Fadhilah H. Pembuatan dan Karakterisasi Ekstrak Kering Herbal Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.). Jurnal Farmasi Higea. 2014; 6(1): 19
 16. Hurlbert SH. Affirmation of the Classical Terminology for Experimental Design via a Critique of Casella's Statistical Design. Agronomy Journal. 2013; 105(2): 414
 17. Suryani NC, Permana DGM, Jambe, AAGN. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Kandungan Total Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Matoa (*Pometia pinnata*). Skripsi. Bali: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana. 2015. Hal: 4-8
 18. Azil T, Ratih CKN, Fresca. Pengaruh Pelarut Heksana Dan Etanol Volume Pelarut Dan Waktu Ekstraksi Terhadap Hasil Ekstraksi Minyak Kopi. Jurnal Teknik Kimia. 2009; 16(1): 2-4
 19. Mukhriani. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. Jurnal Kesehatan. 2014; 7(2): 362
 20. Daud MF, Sadiyah ER, Rismawati E. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). Seminar Nasional Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat. Bandung: Lembaga Penelitian Pengabdian Masyarakat Universitas Islam Bandung. 2011. Hal: 56
 21. Mediani A, Abas F, Tan CP, Khatib A. Effects of Different Drying Methods and Storage Time on Free Radical Scavenging Activity and Total Phenolic Content of *Cosmos caudatus*. Antioxidant Journal. 2014; 3(2): 368
 22. Damar AC, Runtuwene MRJ, Wewengkang DS. Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Kayu Kapur (*Melanolepsis multiglandulosa* Reinch f.). Jurnal Pharmacon. 2014; 3(4): 14-16
 23. Irvan, Manday BP, Sasmitra J. Ekstraksi 1,8-Cineole dari Minyak Daun *Eucalyptus urophylla* dengan Metode Soxhletasi. Jurnal Teknik Kimia. 2015; 4(3): 53-54
 24. Bernard D, Kwabena IA, Osei OD, Daniel AG, Elom AS, Sandra A. The Effect of Different Drying Methods on the Phytochemicals and Radical Scavenging Activity of Ceylon Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) Plant Parts. European Journal of Medicinal Plants. 2014; 4(11): 1328
 25. Masduqi AF, Izzati M, Prihastanti E. Efek Metode Pengeringan Terhadap Kandungan Bahan Kimia dalam Rumput Laut *Sargassumpolycystum*. 2014; 22(1): 6
 26. Moraes MN, Zabot GL, Prado JM, Meireles MA. Obtaining Antioxidants from Botanic Matrices Applying Novel Extraction Technique. Food and Public Health Journal. 2013; 3(4): 195-199
 27. Escobar LCA, Capote FP, Castro MDL. Comparative Study of the Effect of Sample Pretreatment and Extraction on the Determination of Flavonoids from Lemon (*Citrus limon*). Plos One Journal. 2016; 11(1): 9
 28. Lenny S dan Zuhra FC. Isolasi dan Uji Bioaktivitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metoda Uji *Brine shrimp*. Jurnal Komunikasi Penelitian. 2009; 17(5): 56-59