



ISOLASI KONSTITUEN ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK DAUN RHODOMYRTUS TOMENTOSA (Ait.) Hassk

Vivi Susanti¹, Rizal Fahmi²

¹Fakultas Pascasarjana, Universitas Indraprasta PGRI

²Universitas Andalas Padang Sumatera Barat

vivisusantiunindra@gmail.com

Abstrak

Dalam penelitian ini, telah berhasil diisolasi tiga senyawa baru, X, Y, dan Z, dari fraksi n-heksana daun *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk. Ketiga senyawa ini telah diuji untuk toksisitasnya menggunakan metode BSLA (Brine Shrimps Lethality Assay), yang menunjukkan aktivitas yang signifikan dengan LC50 berturut-turut sebesar 11.60, 4.64, dan 14.34 $\mu\text{g/mL}$. Namun, hanya senyawa Z yang menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai inhibisi sebesar 88.5% menggunakan metode penangkapan radikal DPPH. Karakterisasi fisikokimia menunjukkan bahwa senyawa X berbentuk kristal jarum berwarna hijau kekuningan dengan titik leleh 180-182 $^{\circ}\text{C}$, sedangkan senyawa Y dan Z berbentuk minyak berwarna kekuningan. Penemuan ini memberikan wawasan baru tentang potensi senyawa dari daun *Rhodomyrtus tomentosa* sebagai sumber bahan aktif potensial untuk aplikasi farmasi dan kesehatan.

Kata kunci: *Rhodomyrtus tomentosa*; Metode BSLA; Antioksidan; Toksisitas

Abstract

*In this study, three new compounds, X, Y, and Z, have been successfully isolated from the n-hexane fraction of *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk. leaves. These compounds were tested for their toxicity using the Brine Shrimps Lethality Assay (BSLA), which revealed significant activities with respective LC50 values of 11.60, 4.64, and 14.34 $\mu\text{g/mL}$. However, only compound Z exhibited antioxidant activity with an inhibition value of 88.5% using the DPPH radical scavenging method. Physicochemical characterization indicated that compound X was in the form of yellowish-green needle-shaped crystals with a melting point of 180-182 $^{\circ}\text{C}$, while compounds Y and Z were yellowish oils. These findings provide new insights into the potential compounds from *Rhodomyrtus tomentosa* leaves as a source of potential active ingredients for pharmaceutical and health applications.*

Kata kunci: *rhodomyrtus tomentosa*; BSLA method; antioxidant; toxicity

1. Pendahuluan

Keanekaragaman sumber daya alam hayati yang tersebar di Nusantara, merupakan salah satu potensi yang tidak ternilai harganya bagi penemuan bahan obat baru, guna menyembuhkan berbagai macam penyakit. Mengingat pentingnya bahan baku obat yang baru, dan kecenderungan masyarakat untuk tetap menggunakan obat tradisional, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang kandungan kimia



aktif, sekaligus mengkaji aktifitas biologis dan farmakologisnya. Dengan demikian, diharapkan penelitian ini dapat memberikan data dan fakta ilmiah, agar penggunaan tumbuh-tumbuhan sebagai obat secara tradisional dapat dipertanggungjawabkan. Salah satu tumbuhan yang banyak digunakan untuk pengobatan adalah *Rhodomyrtus tomentosa* (Myrtaceae). Tumbuhan ini tersebar di Hongkong, Cina, India, Malaysia dan Indonesia. Secara tradisional, buah tumbuhan ini digunakan untuk mengobati diare serta mencegah pendarahan, daunnya untuk mengobati luka, kudis dan mengurangi rasa sakit setelah melahirkan serta akarnya untuk mencegah infeksi pada bekas luka kornea mata. Berdasarkan penggunaannya tersebut, telah dilakukan uji aktifitas antimikroba terhadap senyawa hasil isolasi ekstrak daun tumbuhan ini, dan didapatkan dua senyawa yaitu rhodomyrton yang aktif antimikroba dan combretol yang kurang menunjukkan aktifitas terhadap mikroba uji.

Dari penelusuran literatur, telah diisolasi metabolit sekunder seperti flavon glikosida, tanin, triterpenoid dan steroid. Dari literatur diketahui bahwa flavonoid, fenolik dan derivatnya mempunyai aktifitas biologis yang menarik, seperti antimikroba, antioksidan, antikarsinogenik, antiinflamasi, antialergi dan antiviral. Saat ini investigasi senyawa antioksidan alami sedang berkembang pesat seiring dengan semakin banyaknya penelitian mengenai penyakit degeneratif yang dipicu oleh radikal bebas. Maka dicoba untuk melakukan uji aktifitas antioksidan terhadap ekstrak dan senyawa hasil isolasi tumbuhan ini, dengan metoda penangkapan radikal DPPH. Di samping itu, juga dilakukan pengujian toksisitas sebagai skrining awal terhadap adanya aktifitas sitotoksik dengan metoda "Brine Shrimps" menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach. Isolasi senyawa dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol. Ekstrak metanol yang diperoleh difraksinasi dengan berbagai pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya dari n-heksana, etil asetat dan butanol. Pemisahan senyawa dilakukan dengan cara kromatografi kolom dan kromatografi radial yang dimonitor dengan kromatografi lapis tipis, serta dilanjutkan dengan pemurnian dengan cara rekristalisasi.

2. Tinjauan Pustaka

Dari penelusuran "Napralet" diketahui bahwa tumbuhan ini mengandung steroid, terpenoid, flavonoid, fenolik dan derivatnya. Daunnya mengandung steroid lupeol, B-amirin, B-amirenonol, betulin. Batangnya mengandung steroid friedelin, lupeol, a-amirin, betulin 3 asetat, betulin taraxerol. Ekstrak etanol daun mengandung terpenoid, asam betulinat, asam ursulat dan asam alipitolat. Batang mengandung asam betulonat, asam betulinat dan asam oleanolat. Dari daun telah di isolasi tiga jenis flavonoid glikosida dan satu elagitannin. Ketiga jenis flavonoid itu adalah myricetin-3-O-a-L-furanoarabinosida, myricetin-3-O-a-L-rhamnosida, myricetin-3-O-B-D-glukosa dan 2,3-hexahidroksidi fenil-D-glukosa. Empat jenis tannin telah di isolasi



dari daun dan akar karamunting, tannin tersebut adalah pedunculagin, kasuarin, kastalagin, tannin terhidrolisis C-glikosida baru yang dinamakan tomentosin.

Dari uji pendahuluan sebelumnya juga ditemukan bahwa ekstrak metanol daun tumbuhan ini mengandung steroid, terpenoid, flavonid dan fenolik, sedangkan saponin negatif. Telah dilaporkan oleh peneliti sebelumnya 1 senyawa yang termasuk turunan poliketida yaitu rhodomyrton dan combretol yang termasuk golongan flavonoid yang menunjukkan aktifitas antimikroba terhadap mikroba uji.

2.1 Uji toksistas dengan metoda "Brine Shrimps"

Salah satu cara untuk menapis kandungan senyawa aktif biologis dari tanaman adalah dengan metoda "Brine Shrimps". Metoda ini pertama kali dilakukan oleh Meyer dkk (1982). Pengujian toksistas dengan menggunakan metoda ini telah banyak digunakan sebagai skrining awal adanya aktifitas sitotoksik. Selain itu metoda ini dapat digunakan sebagai petunjuk untuk senyawa antiparasit, insektisida dan juga dapat digunakan untuk pemeriksaan pendahuluan mitotoksik, anestetik dan toksin dinoflagellata.

Metoda ini memiliki keuntungan diantaranya pengerjaan yang cepat, mudah, tidak mahal dan tidak memerlukan kondisi aseptis. Dalam pengujian toksistas hanya digunakan satu parameter yaitu mati atau tidaknya hewan percobaan yang digunakan sehingga mempermudah pengamatan. Hewan percobaan yang dipakai pada metoda ini adalah larva udang *Artemia salina* Leach yang dikenal dengan nama "Brine Shrimps" yang merupakan fitoplanton filum Arthropoda kelas Crustaceae. Kista *Artemia salina* Leach merupakan telur yang terbungkus cangkang yang disebut korion. Dalam keadaan kering, kista ini dapat hidup walaupun disimpan bertahun-tahun sehingga dapat diperoleh dengan mudah di pasaran dan pengembangannya relatif mudah di bawah kondisi laboratorium. Hewan ini telah banyak digunakan sebagai pakan pada pembenihan ikan laut dan udang. Dari beberapa penelitian yang dilakukan oleh National Cancer Institute (NCI) untuk pengujian awal dalam mencari senyawa aktif antikanker dari berbagai jenis ekstrak dan fraksi, diperoleh korelasi yang positif antara metoda "Brine Shrimps Lethality Bioassay" dengan uji sitotoksik.

2.2 Metoda Perhitungan LC50

Secara Umum penentuan LC50 ada dua macam yaitu metoda kurva dan metoda Farmakope Indonesia. Kedua metoda ini berdasarkan pengukuran persentase individu yang responsif pada kisaran dosis atau konsentrasi tertentu. Untuk metoda Kurva dikembangkan oleh Miller dan Tainter menggunakan kertas log probit yang didisain untuk penghirungan dari respon. Garis vertikal menyatakan nilai probit dan persentase respon. Nilai probit pada sisi kiri, garis horizontal menyatakan dosis atau



konsentrasi terhadap nilai probit yang akan menghasilkan kurva berupa garis lurus. Dari kurva baku dapat diturunkan harga LC50 atau dengan menggunakan persamaan regresi linear.

3. Metode Penelitian

Penelitian bertempat di Laboratorium Penelitian Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas Padang. Alat-alat yang digunakan untuk pengerjaan isolasi berupa peralatan distilasi, peralatan rotari evaporator, erlenmeyer dengan berbagai ukuran, gelas ukur, plat tetes, corong, corong pisah, penangas air, lemari pengering, lampu UV 2254 nm (Betrachter Lamag[®]), kolom kromatografi dengan berbagai ukuran, peralatan kromatografi radial (Chromatotron[®] model 7924 Harrison Research USA), bejana kromatografi (chamber), spatel, pipet kapiler, botol, vial, kapas, aluminium foil, spektroskopi UV vis -1601 SHIMADZU, spektrometer IR Perkin Elmer FTIR System, spektrometer ¹³C NMR Varian Unity Inova pada 125 MHz dan ¹H NMR pada 500 MHz, spektrometer Massa dengan metoda Electron Impact EI (70 eV) dan "Fisher-Jhon Melting Point Apparatus".

Alat-alat yang digunakan untuk pengerjaan uji aktifitas antioksidan antara lain: erlenmeyer berbagai ukuran, labu ukur, gelas ukur, pipet takar, bola hisap, spatel, pinset, vial yang telah dilapisi aluminium foil, timbangan analitik, kuvet, kertas tissue dan alat spektroskopik 20D. Sementara alat yang digunakan untuk uji toksisitas dengan metoda "Brine Shrimps" antara lain: wadah pembiakan larva, aerasi (pembentuk gelembung udara), pipet mikro, pipet tetes dan vial yang telah dikalibrasi dengan volume tepat 5 mL. Bahan-bahan yang digunakan untuk pengerjaan isolasi adalah daun tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa*, aquadest, metanol, n-heksana, etil asetat, natrium sulfat anhidrat, silika gel 60 GF254 (Merck[®]), silika gel PF254 (Merck[®]), silika gel BDH 60 (40-63 μ m). Bahan-bahan yang digunakan untuk pengerjaan uji aktifitas antioksidan antara lain: metanol, ekstrak kental metanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, larutan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), asam askorbat dan α -tokoferol. Sedangkan bahan-bahan yang digunakan untuk uji toksisitas dengan metoda "Brine Shrimps" adalah larva udang *Artemia salina*, air laut, metanol dan dimetilsulfoksida (DMSO).

3.1 Persiapan Sampel

Sampel diambil di sekitar kampus UNAND Limau manis dalam bentuk daun segar tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait) Hassk sebanyak 10 kg. Identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Universitas Andalas dengan kode koleksi DR-174. Daun tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait) Hassk sebanyak 10 kg dikering anginkan di tempat teduh. Kemudian dijadikan serbuk menggunakan mesin grinder untuk memperluas permukaannya, sehingga diperoleh serbuk kering sebanyak 5,5 kg.



Serbuk kering tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait) Hassk tersebut dimasukkan ke dalam wadah dan dimaserasi dengan metanol (10 L) di tempat yang terlindung dari cahaya matahari langsung selama 3-5 hari. Maserasi diulangi beberapa kali sehingga pelarut hasil penyaringan berwarna hampir sama dengan pelarut yang akan dimasukkan. Setelah 5 hari, hasil maserasi disaring dan diperoleh ekstrak metanol.

Ekstrak metanol yang didapatkan diuapkan pelarutnya *in vacuo* sehingga diperoleh ekstrak kental metanol. Pada ekstrak kental metanol ditambahkan aquadest sebanyak 250 ml. kemudian dihomogenkan. Ekstrak difraksinasi dengan pelarut n-heksana yang bersifat nonpolar terlebih dahulu, sehingga nantinya diperoleh 2 fraksi yaitu fraksi n-heksana dan fraksi metanol-air. Fraksinasi menggunakan n-heksana dilakukan beberapa kali sampai pelarut hasil pengocokan memperlihatkan warna yang hampir sama dengan pelarut yang akan dimasukkan. Fraksi n-heksana dipisahkan dengan rotari evaporator sehingga didapatkan fraksi kental n-heksana.

Fraksi metanol-air sisa fraksinasi dengan n-heksana kemudian difraksinasi lagi menggunakan pelarut etil asetat yang bersifat semipolar. Fraksinasi menggunakan etil asetat dilakukan beberapa kali sampai pelarut hasil pengocokan memperlihatkan warna yang hampir sama pula dengan pelarut yang akan dimasukkan. Fraksi etil asetat yang diperoleh dipisahkan dengan rotari evaporator, sehingga didapat dua fraksi lagi yaitu fraksi etil asetat dan fraksi metanol-air.

3.2 Pengukuran Aktifitas Antioksidan

Sebanyak 0,2 mL larutan sampel uji dipipet ke dalam kuvet, kemudian ditambahkan larutan DPPH 0,05 mM. Setelah dibiarkan 30 menit pada suhu kamar, serapan diukur dengan spektrofotometer jenis Spektronik 20D pada panjang gelombang maksimum serapan DPPH yaitu 517 nm. Aktifitas antioksidan sampel uji ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persen inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorban kontrol} - \text{Absorban sampel}}{\text{Absorban Kontrol}} \times 100\%$$

Absorban kontrol merupakan serapan radikal DPPH pada panjang gelombang maksimum dan absorban sampel merupakan serapan sampel dalam radikal DPPH pada panjang gelombang maksimum.

3.3 Uji Toksisitas dengan Metoda "Brine Shrimps"

Hewan percobaan yang digunakan adalah larva udang *Artemia salina* Leach. Larva ini diperoleh dengan cara menetas telur udang *Artemia salina* selama 48 jam



pada wadah pembiakan sebelum dilakukan uji. Penetasan dilakukan dalam wadah yang terbagi jadi dua bagian bagian terang dan gelap, pertama-tama telur- telur tersebut direndam di dalam air laut yang ditempatkan pada bagian gelap dari wadah pembiakan. Setelah menetas, larva akan berenang ke tempat yang terang. Vial yang disiapkan terdiri dari 9 vial uji dan 3 vial kontrol yang telah dikalibrasi atau ditandai sehingga volumenya tepat 5 mL. Vial uji ditandai dengan 3 variasi konsentrasi yaitu 10 µg/mL, 100 µg/mL dan 1000 µg/mL masing-masing sebanyak 3 vial.

3.4 Uji Aktifitas Antioksidan dan "Brine Shrimps" Senyawa Hasil Isolasi

Senyawa hasil isolasi diuji aktifitas antioksidannya dengan menggunakan metoda penangkapan radikal DPPH dan uji toksisitas dilakukan dengan metoda "Brine Shrimps". Prosedur kerja dan tahap-tahapnya persis sama dengan cara pengujian aktifitas yang dilakukan terhadap ekstrak dan fraksi yang telah dijelaskan sebelumnya.

4. Hasil dan Pembahasan

Dari 5,5 kg serbuk kering daun tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa* didapatkan ekstrak kental metanol sebanyak 233,33 gram, fraksi n-heksana sebanyak 57,182 gram dan fraksi etil asetat 60 gram. Pemeriksaan pendahuluan aktifitas antioksidan terhadap ekstrak kental metanol, fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat dilakukan dengan metoda DPPH dan diperoleh persen inhibisi berturut-turut adalah 91,48%; 62% dan 88,9%.

Tabel 1. Pemeriksaan aktivitas antioksidan terhadap ekstrak methanol, fraksi n-heksana, etil asetat dan senyawa hasil isolasi

No.	Sampel	Absorban	% inhibisi
1.	Ekstrak kental metanol	0,0789	91,48%
2.	Fraksi n-heksana	0,3520	62%
3.	Fraksi etil asetat	0.1027	88,9%
4.	Senyawa X	0.8801	4,99 %
5.	Senyawa Y	0,7214	22,1 %
6.	Senyawa Z	0,8801	88,5%
7.	Asam askorbat (standar)	0,0415	95,5%
8.	L- tokoferol	0,0962	89,6%
9.	Kontrol	0,9264	0

Pengujian pendahuluan aktifitas antioksidan dilakukan terhadap ekstrak kental metanol, fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat menggunakan metoda penangkapan radikal DPPH. Ternyata ketiga fraksi tersebut memperlihatkan aktifitas antioksidan yang cukup tinggi. Dan dari literatur, diketahui bahwa beberapa senyawa



golongan flavonoid dan fenolik serta derivatnya memiliki aktifitas antioksidan, sehingga dalam penelitian ini, dicoba untuk mengisolasi konstituen aktif tersebut dari fraksi n-heksana. Tinggi atau rendahnya aktifitas antioksidan suatu sampel dengan metoda penangkapan radikal DPPH, dapat dilihat dari persen inhibisinya. Semakin besar nilai persen inhibisi maka semakin tinggi aktifitas antioksidannya. DPPH adalah suatu radikal berupa padatan berwarna lembayung, yang tidak stabil terhadap cahaya, udara dan panas, sehingga pengerjaannya dilakukan di dalam ruangan yang tidak disinari cahaya matahari langsung dan vial yang digunakan dilapisi dengan alumunium foil. Diperkirakan proses inhibisi terjadi ketika radikal DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui pengambilan ion hidrogennya 14, 15 Pengujian aktifitas antioksidan terhadap senyawa X, Y dan Z berturut-turut memberikan nilai persen inhibisi 4,99 %; 22,1 % dan 88,5%.

Dari nilai persen inhibisi di atas, dapat diketahui bahwa senyawa yang aktif antioksidan hanya senyawa Z, dimana persen inhibisinya mendekati nilai persen inhibisi senyawa antioksidan alami yang digunakan sebagai standar positif yaitu asam askorbat dan a-tokoferol dengan persen inhibisi berturut-turut 95,5 % dan 89,6 %, sedangkan senyawa X dan Y kurang menunjukkan aktifitas yang potensial sebagai senyawa antioksidan baru. Senyawa Z memiliki aktifitas antioksidan yang lebih tinggi dibanding kedua senyawa yang lain yaitu X dan Y.

Tabel 2. Pengujian pendahuluan uji toksisitas terhadap ekstrak kental methanol, fraksi n-heksana dan etil asetat dilakukan dengan metode "Brine Shrimps" diperoleh harga LC50

No.	Sampel	LC50 ug/mL
1.	Ekstrak metanol	181,33
2.	Fraksi etil asetat	104,33
3.	Fraksi n-heksana	154,33
4.	Senyawa X	11,6
5.	Senyawa Y	4,635
6.	Senyawa Z	14,34

Contoh Perhitungan: Untuk senyawa X, yang dihitung jumlah yang mati tiap konsentrasi:

Tabel 3. Perhitungan Untuk senyawa X, yang dihitung jumlah yang mati tiap konsentrasi

No.vial	10 ug/mL	100 ug/mL	1000 ug/mL
1 (jumlah yang mati)	5	6	8
2 (jumlah yang mati)	4	7	7
3 (jumlah yang mati)	6	6	9
Jumlah kematian	15	19	24
Jumlah larva	30	30	30
% kematian	50%	63,33%	80%



Log konsentrasi (X)	1	2	3
Nilai Probit (Y)	5,000	5,3398	5,842

No	X	Y
1	1	5,000
2	2	5,3398
3	3	5,8420

Persamaan regresi : $Y = A + BX$

Dengan menggunakan persamaan regresi didapat nilai $A = 4,5519$ $B = 0,421$

Maka $Y = 4,5519 + 0,421X$

Untuk LC50 (kematian pada 50%) hewan uji dari 10 ekor larva $Y = 5$

$$Y = A + BX$$

$$5 = 4,5519 + 0,421X$$

$$X = 1,0643$$

LC50 = anti log X

$$= \text{anti log } 1,0643$$

$$= 11,6 \text{ ug/mL}$$

5. Simpulan dan Saran

Simpulan

Dari 5,5 kg serbuk kering daun tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa* didapatkan ekstrak kental metanol sebanyak 233,33 gram, fraksi n-heksana sebanyak 57,182 gram dan fraksi etil asetat 60 gram. Dari fraksi n-heksana diperoleh 3 senyawa yaitu X, Y dan Z, dimana hanya senyawa Z memiliki aktifitas antioksidan yang besar dengan % inhibisi 88,5%, sedangkan untuk uji toksisitas tampak bahwa ketiga senyawa memiliki aktifitas yang besar dengan LC berturut-turut yaitu 11,6 $\mu\text{g/mL}$; 4,635 $\mu\text{g/mL}$. dan 14,34 $\mu\text{g/mL}$. Senyawa hasil isolasi yang didapatkan yaitu senyawa X berupa kristal jarum berwarna kuning kehijauan dengan jarak leleh 180-182 °C, sedangkan senyawa Y dan Z berupa minyak berwarna kuning muda.

Saran

Dari hasil penelitian yang telah didapatkan, disarankan bagi peneliti selanjutnya untuk melakukan isolasi senyawa lain yang terkandung dalam ekstrak daun *Rhodomyrtus tomentosa* ini, sekaligus penentuan struktur senyawa dan melakukan uji bioaktifitas terhadap senyawa hasil isolasi tersebut, serta melanjutkan pengujian sitotoksik terhadap senyawa hasil isolasi ini, karena menunjukkan hasil yang positif dengan uji toksisitas sebagai skrining awal adanya aktifitas sitotoksik



6. DAFTAR PUSTAKA

- M. Hamburger, Kurt Hastettmann, *"Bioactivity in Plants: The Link Between Phytochemistry and Medicin"*, J. Phytochemistry 30 (12) 3864-3874. 1991.
- Donatus I.A, Didik Gunawan, Djoko Wahyono, Taroeno dan Mulyono (Ed), *Risalah Simposium Penelitian Tumbuhan Obat*, UGM, Yogyakarta, 1983, Hal 1-10.
- Perry., L. M and Arnold, *Medicinal Plants of East and Southeast Asia*, Harvard University, Cambridge, pp. 285.
- Dachriyanus., Salni., Melvyn Sargent, Brian W. Skelton, Iwang Soediro, Mumu Sutisna, Alan H. White and Elin Yulinah, *"Rhodomyrtone, an Antibiotic from Rhodomyrtus tomentosa"*, Aust. J. Chem. 55:229 (2002)
- Liu, Yanze., Hou., Aijun., Ji., Ru., Chun, Wu., Jie, Yang, *"a New C-Glycosidic Hydrolyzable Tannin from Rhodomyrtus tomentosa"*, Chin, Chem, Lett 8(1): 39-40 (1997).
- Dachriyanus, Rizal Fahmi, Melvyn Sargent, Brian W. Skelton and Allan H. White, *"5-Hydroxy-3,3,4,5,7-pentamethoxyflavone (combretol)"*, Acta Cryst. 2004. E60, 086-088.
- Castelluccio, C., Bolwell, G. P., Gerrish, C., Rice Evans, C., *"Differential Distribution of Ferulic Acid to The Major Plasma Constituent in Relation to its Potential as an Antioxidant"*, Biochem, 1996, 316, 691-694.
- Naoki Abe and Akira Hiroto, *"Chemical Studies of Radical Scavenging Mechanism of Bisorbicillinol Using The DPPH"*, Chem, Commun, 2002., 662-663.
- McLaughlin., J.L. Crown Gall, *"Tumor on Potato Disc and Brine Shrimps Lethality. Two Simple Bioassay for Higher Plants Screening and Fractionation"*, Method in Plants Biochem, 6.1991, 8-120.
- Harefa, F., *Pembudidayaan Artemia salina Untuk Pakan Udang dan Ikan*, Swadaya, Jakarta, 1997.
- Salim, S., *"Radikal Bebas dan Antioksidan Alami Tumbuh-tumbuhan"*, Jurnal Penelitian Andalas, 28 Januari Th XI, 1999, 52-60.
- Pietta, P., P. Simonetti and P. Mauri, *"Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plants"*, Jurnal Agriculture Food, Chem, 46, 1998, 4480-4490.
- Meiyanto, E. dan Sugiyanto, *"Uji Toksisitas Beberapa Fraksi Ekstrak Etanol Daun Gynura procumbens (Lour) Merr Terhadap Larva Udang Artemia salina Leach"*, Majalah Farmasi Indonesia, 8: 42-49
- Salni, *Karakterisasi dan Uji Aktifitas Topikal Senyawa Antibakteri dari Daun Karamunting*, Disertasi, ITB 2003.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Farmakope Indonesia, Edisi IV, 1995, 863-868.
- Das, A K, and A.K. Bhattacharjee, *"a Sistematic Approach to Chemical Sreening"*. Tropical Science, 12(1), 1969, 54-58.



Oliver Dangles, Claire Dufour and Guilloume Fargeix, "*Inhibition of Lipid Peroxidation by Quarcetin and Quarcetin Derivatives: Antioxidant and Prooxidant Effect*", Chem, Soc 2000, 1215-1222

Nikolas Nenadis, Hong YU Zhong, and maria 2 Tsimidou, "*Structure Antioxidant Activity Relationship of Ferulic Acid Derivatives: Effect of carbon Sode Chain Characteristic Groups*". J.Agric, Chem, 2003,51, 1874-1879.