**LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING**

**ANALISIS KADAR SAPONIN EKSTRAK BUAH MANGROVE *(Sonneratia alba)***

**DAN DAYA HAMBAT TERHADAP RADIKAL BEBAS DPPH**

**ARTIKEL ILMIAH**

**REPLI**

**NIM. 632 413 049**

Telah Memenuhi Syarat Untuk Diterima Oleh Komisi Pembimbing

|  |  |
| --- | --- |
| **Pembimbing I****Asri Silvana Naiu,S.Pi, M.Si****NIP. 19700817 200501 2 001** | **Pembimbing II****Nikmawatisusanti Yusuf S.IK, M.Si** **NIP. 19770208 200501 2 004** |

**Mengetahui :**

**Ketua Jurusan Teknologi Hasil Perikanan**

**Dr. Rahim Husain, S.Pi, M.Si**

**NIP. 197105162005011003**

**ANALISIS KADAR SAPONIN EKSTRAK BUAH MANGROVE *(Sonneratia alba)***

**DAN DAYA HAMBAT TERHADAP RADIKAL BEBAS DPPH**

Repli, Asri Silvana Naiu, Nikmawatisusanti Yusuf

 Jurusan Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Ilmu Perikanan dan Kelautan, Universitas Negeri Gorontalo, Jl.Jenderal Sudirman No.06, Kota Gorontalo 96128, Gorontalo, Indonesia

\*Korespondensi: reflinlabagu95@gmail.com

**Abstrak**

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kadar saponin yang diproses dari ekstraksi buah mangrove *Sonneratia alba* dengan pelarut berbeda, serta mengetahui daya hambat senyawa saponin terhadap radikal bebas DPPH. Perlakuan pada penelitian ini yaitu variasi pelarut metanol, etanol dan air pada ekstraksi buah mangrove *S. alba*. Parameter yang di uji adalah kadar saponin, yang di uji menggunakan KLT, serta daya hambatnya terhadap radikal bebas yang diuji menggunakan metode DPPH. Pengaruh variasi perbedaan pelarut terhadap kadar saponin dan daya hambat dianalisis menggunakan *Anova* dan di uji lanjut *Duncan*. Hasil yang diperoleh berpengaruh nyata maka dilanjutkan dengan uji *Duncan* untuk melihat perbedaan dari perlakuan dalam penelitian. Hasil uji lanjut *Duncan* menunjukkan bahwa perlakuan jenis pelarut menghasilkan kadar saponin dan daya hambat senyawa saponin terhadap radikal bebas DPPH yang berbeda nyata. Buah mangrove *S. alba* yang diekstraksi dengan menggunakan variasi pelarut berbeda menghasilkan kadar saponin sebesar 20,25 mg/g pada pelarut metanol (A1), 18,80 mg/g pada pelarut etanol (A2), dan 10,65 mg/g pada pelarut air (A3). Hasil uji kromatografi KLT menunjukkan bahwa kadar *S. alba* menunjukkan bercak noda ikatan rangkap dua dengan nilai Rf 0,80-0,85 yang menegaskan bahwa *S. alba* mengandung kadar saponin. Daya hambat senyawa saponin dari ekstrak buah mangrove *S. alba* terhadap radikal bebas DPPH sebesar 60,94 % pada pelarut metanol (A1), 63,31 % pada pelarut etanol (A2), dan 23,88 % pada pelarut air (A3).

***Kata Kunci: Sonnetaria alba, Daya Hambat Radikal Bebas***

**Pendahuluan**

 Keseimbangan antara kandungan radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kesehatan manusia. Secara alami tubuh menghasilkan senyawa antioksidan, namun tidak cukup kuat untuk berkompetisi dengan radikal bebas yang dihasilkan oleh tubuh sendiri setiap harinya (Hernani & Raharjo, 2005), sehingga menyebabkan radikal bebas menjadi sangat dominan di dalam tubuh. Radikal bebas merupakan molekul yang tidak stabil karena memiliki elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya sehingga molekul ini dapat menyerang makromolekul sel. Makromolekul yang terserang oleh radikal bebas dapat mengalami oksidasi yang menyebabkan terjadinya kerusakan protein, DNA, penuaan dini, kanker, serangan jantung, dan penyakit degeneratif lainnya (Middleton et al. 2000). Radikal bebas dapat dihambat dengan antioksidan.

Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat menyumbangkan elektron yang dikandungnya kepada radikal bebas untuk menghambat atau mencegah terjadinya oksidasi pada substrat yang mudah teroksidasi (Middleton *et al.*2000). Kekurangan antioksidan dalam tubuh dapat diatasi melalui asupan makanan dari luar yang cukup mengandung antioksidan. Salah satu sumber antioksidan yang berasal dari luar tubuh dapat diperoleh dari tanaman yang banyak mengandung senyawa metabolit sekunder. Antioksidan alami dapat diperoleh dari buah-buahan atau tumbuh-tumbuhan. Tumbuh-tumbuhan mengandung senyawa metabolit sekunder berupa fenolik yang memiliki kemampuan menghambat kerja radikal bebas (Duenas *e t al.* 2009). Salah satu tumbuhan yang potensial untuk dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami berasal dari ekosistem mangrove yaitu *Sonneratia alba*.

 Dalam setiap bagian tanaman pasti terdapat metabolit sekunder. Salah satu senyawa kimia yang termasuk dalam golongan metabolit sekunder yang terkandung didalam *sonneratia Alba* adalah saponin. Menurut golongannya, saponin dapat dibedakan menjadi dua macam tipe yaitu tipe steroid dan triterpenoid (Evans, 2002). Penentuan tipe dari saponin ini berguna untuk pemanfaatan selanjutnya dari tanaman yang mengandung tipe saponin tersebut. Saponin steroid berguna untuk mendapatkan prekursor obat jenis kortison serta pengembangan hormon kelamin dan kontrasepsi oral (Evans, 2002).

Pengambilan senyawa aktif dalam tumbuhan dapat dilakukan dengan ekstraksi yang sesuai. Pembuatan sediaan ekstrak dimaksudkan agar zat berkhasiat yang terdapat pada simplisia terdapat dalam bentuk yang mempunyai kadar tinggi dan hal ini memudahkan zat berkhasiat dapat diatur dosisnya (Arief, 1987). Menurut T. Purnama (2004) ekstraksi adalah suatu cara untuk mengambil pigmen/pewarna alami dari bagian tumbuhan dengan menggunakan pelarut yang sesuai kepolarannya dengan zat yang akan diekstrak. Ekstraksi dapat dilakukan dengan pelarut air maupun pelarut organik (Sintha, 2008). Pemilihan pelarut merupakan faktor yang menentukan dalam ekstraksi. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dapat menarik komponen aktif dari campuran. Hal-hal penting yang harus diperhatikan dalam memilih pelarut adalah selektivitas, sifat pelarut, kemampuan untuk mengekstraksi, tidak bersifat racun, mudah diuapkan dan harganya relatif murah (Gamse, 2002).

Pelarut yang digunakan adalah pelarut yang dapat menyaring sebagian besar metabolit sekunder yang diinginkan dalam simplisia (Depkes RI, 2008). Pemilihan pelarut yang sesuai merupakan faktor penting dalam proses ekstraksi. Metanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat melarutkan analit yang bersifat polar dan nonpolar.Metanol dapat menarik alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid dari tanaman (Thompson, 1985). Etanol merupakan pelarut yang banyak digunakan untuk mengestrak komponen polar suatu bahan alam dan dikenal sebagai pelarut universal. Komponen polar dari suatu bahan alam dalam ekstrak etanol dapat diambil dengan teknik ekstraksi melalui proses pemisahan (Santana, *et al* 2009). Etanol mempunyai titik didih yang rendah yaitu 79oC sehingga memerlukan panas yang lebih sedikit untuk proses pemekatan. Sedangkan menurut Hardiningtyas (2009), meskipun air mempunyai konstanta dielektrikum paling besar (paling polar) namun penggunaannya sebagai pelarut pengestrak jarang digunakan karena mempunyai beberapa kelemahan seperti menyebabkan reaksi fermentatif (mengakibatkan perusakan bahan aktif lebih cepat), pembekakan sel dan larutannya mudah terkontaminasi.

Berdasarkan uraian tersebut, penulis termotivasi untuk melakukan penelitian tentang analisis kadar saponin ekstrak buah mangrove *Sonneratia alba* dan daya hambat terhadap radikal bebas DPPH dengan menggunakan variasi yang bersifat polar yaitu, metanol, etanol dan air.

**Metode Penelitian**

**Waktu dan Tempat**

 Penelitian ini dilaksanakn sejak bulan April sampai selesai di Kota Gorontalo, Provinsi Gorontalo. Pengujian dilaksanakan di Laboratorium bahan alam Jurusan Farmasi, Fakultas Olahraga dan Kesehatan Universitas Negeri Gorontalo, Laboratorium Balai Pembinaan dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan (BPPMHP) dan di laboratorium Teknologi Hasil Pertanian, Politeknik Gorontalo.

**Alat dan Bahan**

 Alat yang digunakan adalah neraca analitik (Metler Toledo),kompor, alat hidrolisis/pendingin balik, *magnetic stirrer*, oven, penangas air, atomizer, mikropipet, *sintered glass*, lampu UV 254 nm, alat untuk fotografi, spektrofotometer UV-Vis Lambda 20 (Perkin Elmer) dan kuvet (Quartz), serta peralatan gelas (pipet, tabung reaksi, *Erlenmeyer*, corong pisah, gelas Baker, dan lain-lain).

Bahan yang digunakan untuk mengekstraksi buah mangrove (*S.alba*), yaitu:, metanol, etanol, air. Bahan untuk menguji fitokimia yaitu: silika gel GF254, aquadest, HCl 1 N, metanol, etanol dan air.

 Prosedur penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap mulai dari pengumpulan buah *S.alba* , preparasi, ekstraksi, uji fitokimia, uji kadar saponin dan uji proses penghambatan radikal bebas DPPH. Buah mangrove yang digunakan dalam penelitian ini adalah Sonneratia alba. Preparasi sampel diawali dengan mengeluarkan kelopak buah, mencuci buah dengan air yang mengalir, mengiris tipis lalu mengering anginkan diruang terbuka selama 7-10 hari sampai kering.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Rendemen Mangrove *S. alba***

 Hasil penelitian menunjukan bahwa rendemen simplisia mangrove *S. alba* sebesar 15,09%. Buah *Sonneratia alba* yang telah dihaluskan diekstraksi. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan 100 gram sampel simplisia buah mangrove *S.alba,* yang sudah dimasukan kedalam toples lalu ditambahkan pelarut, pada masing- masing sampel. Pelarut yang digunakan pada penelitian ini yaitu methanol, etanol dan air, masing-masing pelarut yang digunakan sebanyak 1000 mL. kemudian sesekali diaduk (setiap 6 jam) menggunakan batang pengaduk. Kemudian wadah ditutup rapat menggunakan kertas alminium foil tujuannya adalah agar pelarut tidak menguap selama proses maserasi berlangsung. masing-masing sampel buah mangrove *s.alba* menghasilkan filtrat pada suhu ruang, proses maserasi dilakukan sebanyak 2 x 24 jam.

 Tahap filtrasi, proses ini dengan cara menyaring sampel hasil ekstraksi yaitu untuk memisahkan antara filtrate dan residu. kemudian hasil filtral dari masing-masing sampel mangrove *S.alba* dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50-60 0C. Rendemen dari masing-masing ekstrak dapat dihitung dengan rumus berikut ini Utari (2016):

% Rendemen $= \frac{berat ekstrak}{berat sampel } x 100 \%$

Rendemen merupakan presentase perbandingan antara berat ekstrak yang dihasilkan dengan berat awal buah mangrove *Sonneratia alba* yang digunakan (Utari, 2016). Berdasarkan proses pretreatmen, diperoleh rendemen buah mangrove *S. alba* berat awal 1988g berat kering 300g denganan rendemen 15,09%.

Adapun ulangan rendemen hasil ekstraksi dapat dilihat pada tabel 1.

 Hasil rendemen dari masing-masing pelarut.

 Tabel 1 menunjukan bahwa varisi pelarut methanol pada buah mangrove *S.alba* yang dihasilkan dari 100g sampel, diperoleh berat ekstrak 24,51g dengan rendemen 24,51%. Pelarut etanol dengan berat ekstrak 20,72g diperoleh rendemen 20,72% serta pelarut air dengan berat ekstrak 14,65g diperoleh rendemen 14,65%.

**Saponin Dalam Ekstrak Buah *Mangrove S. alba***

**Hasil Uji Kualitatif Saponin**

 Kadar saponin yang diperoleh dari *S. alba* berdasarkan hasil pengujian fitokimia dapat dilihat pada Gambar 1

Gambar 1. Kadar saponin dengan variasi pelarut berbeda. Huruf yang berbeda pada histogram menunjukkan perlakuan yang berbeda nyata.

Keterangan:

A1 = Pelarut metanol

A2 = Pelarut etanol

A3 = Pelarut air

 Berdasarkan hasil pengujian, penggunaan pelarut metanol A1 menghasilkan kadar saponin tertinggi dibandingkan pelarut lain yaitu sebesar 20,25 mg/g, sedangkan kadar saponin terendah pada penggunaan pelarut air (A3) yaitu sebesar 10,65 mg/g. Perbedaan kadar ini disebabkan karena sifat kelarutan kelarutan ketiga pelarut yang berbeda dimana methanol lebih bersifat universal sehingga dapat meraih saponin yang memiliki gugus polar dan gugus nonpolar. Saponin memiliki berat molekul tinggi, maka diperlukan pelarut yang dapat melarutkan dengan sifat dan kemampuan yang lebih besar.

 Keunggulan dari pelarut metanol sendiri yaitu memiliki kecenderungan menarik analit-analit yang bersifat polar maupun nonpolar, sementara saponin sendiri memiliki sifat polar maupun nonpolar, sehingga keduanya memiliki keterikatan yang kuat. Berbeda dengan penggunaan pelarut lain seperti etanol dan air, keduanya juga merupakan pelarut yang baik digunakan dalam proses eksttraksi. Namun dari hasil penelitian penggunaan pelarut etanol dan air tidak dapat menghasilkan kadar saponin dalam jumlah yang lebih besar, karena kemampuan dalam menarik analit dalam ekstrak lebih kecil serta dapat dibuktikan pada hasil uji kadar saponin hanya terdeteksi dalam jumlah yang lebih kecil dibandingkan penggunaan pelarut metanol.

 Etanol merupakan molekul yang sangat polar karena adanya gugus hidroksi (OH) dengan keelektonegatifan oksigen yang sangat tinggi yang menyebabkan terjadinya ikatan hydrogen dengan molekul lain, sehingga etanol dapat berikatan dengan molekul polar dan molekul ion. Gugus etil (C2H5) pada etanol bersifat non-polar, sehingga etanol dapat berikatan juga dengan molekul non-polar (Schiller M., 2010).

 Menurut Azizah U. (2011) bahwa senyawa polar dapat larut dalam air dan membentuk ikatan hydrogen dengan air. Ikatan hidrogen dapat terjadi karena electron bebas pada atom yang memiliki elektronegatifan tinggi seperti N, O, F menarik proton yang dimiliki oleh atom H. air memiliki berat molekul 18 gr/mol, titik didih 100°C, viskositas 1,005 cP, dan konstanta dielktrik sebesar 80,37 pada 20 °C.

**Uji Kuantitatif**

 Berdasarkan penelitian pemisahan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan beberapa kali menggunakan beberapa eluen dengan tingkat kepolaran yang berbeda yaitu metanol : N-heksan (2:3) untuk mendapatkan pelarut yang mampu memberikan pemisahan yang baik serta noda zat warna yang bagus. Penetuan golongan senyawa pada uji KLT dilakukan dengan penyemprotan plat KLT dengan pereaksi. Komponen kimia yang dievaluasi dari ekstrak meliput uji saponin dengan menggunakan pereaksi HCl 1 N. Noda atau bercak pada permukaan plat diamati dengan lampu UV pada panjang gelombang 366 nm. Kemudian disemprot dengan penampak noda dari masing-masing golongan senyawa dan dipanaskan di oven pada suhu 60 °C selama 10 menit. Adapun hasil uji kromatografi KLT dengan bercak noda pada permukaan plat dapat dilihat pada Gambar 2.



 Hasil profil KLT senyawa saponin yang dilihat pada dengan lampu UV pada panjang gelombang 366 nm, menghasilkan bercak noda yang berbeda-beda, serta menghasilkan perhitungan nilai Rf yang berbeda. Adapun hasil nilai Rf dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil nilai Rf profil KLT senyawa saponin mangrove *S. Alba*



 Nilai Rf menunjukkan bahwa harga Rf yang teridentifikasi menunjukkan adanya senyawa saponin dengan bercak noda seperti ikatan rangkap, sehingga dapat disimpulkan bahwa penggunaan ketiga pelarut dalam hasil kromatografi KLT menghasilkan harga Rf yang berbeda tergantung tingkat kepolaran pelarut yang digunakan. Penggunaan pelarut metanol menghasilkan nilai Rf paling besar dimana lompatan berdasarkan penotolan menunjukkan nilai 0,85, dan pada pelarut etanol nilai Rf 0,80, berbeda dengan pelarut lainnya, penggunaan pelarut air menghasilkan nilai Rf yang cukup kecil dengan hasil lompatan sebesar 0,60. Keadaan tersebut dapat disebabkan oleh sifat kepolaran ketiga pelarut yang digunakan, serta kemampuan daya serap adsorben terhadap komponen-komponen kimia tidak sama sehingga komponen kimia dapat bergerak dengan jarak yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya. Jika dikaitkan dengan hasil uji kadar saponin dengan tiga pelarut ini, tentu memiliki kaitan dengan besaran nilai Rf yang dihasilkan dari uji KLT, dimana pada hasil spektofotometri UV-Vis lompatan hasil penotolan berbanding lurus dengan nilai Rf yang dihasilkan.

 Menurut Stahl, E. (2013) bahwa analisis dengan menggunakan KLT merupakan pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorbsi dan partisi yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen). Komponen kimia bergerak naik mengikuti fase gerak karena daya serap adsorben terhadap komponen-komponen kimia tidak sama sehingga komponen kimia dapat bergerak dengan jarak yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya.

 Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah memisahkan beberapa sampel secara bersamaan (Depkes RI, 2009). Beberapa kelebihan dengan menggunakan KLT yaitu cepat, mudah digunakan pada penapisan awal dengan penelitian semi kuantitatif dari pada kromatografi lainnya, sederhana, murah, persiapan sampel yang mudah serta dapat mendeteksi dalam jumlah yang besar (Liang, *et al.,* 2004).

**Daya Hambat Senyawa Saponin dari ekstrak Buah Mangrove *S.alba* Terhadap Radikal bebas DPPH**

 Berdasarkan hasil pengujian daya hambat senyawa saponin *S. alba* terhadap radikal bebas dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Daya hambat senyawa saponin *S. alba* terhadap radikal bebas dengan variasi pelarut berbeda. Huruf yang berbeda pada histogram menunjukkan perlakuan yang berbeda nyata ( P < 0,05)

Keterangan:

A1 = Pelarut metanol

A2 = Pelarut etanol

A3 = Pelarut air

 Hasil penelitian menujukan bahwa ekstraksi pelarut etanol menghasilkan daya hambat terhadap radikal bebas yang paling tinggi dan tidak berbeda nyata dengan ekstrak methanol, disusul dengan pelarut air. Namun karena metanol dan etanol memiliki sifat yang tidak jauh berbeda, maka persentasi daya hambat senyawa saponin terhadap radikal bebas DPPH yang dihasilkan juga tidak berbeda nyata. Dari beberapa penelitian bahwa tumbuhan mangrove memiliki daya hambat terhadap radikal bebas dengan menggunakan pelarut yang sama. saponin mampu meredam superoksida melalui pembentukan intermediet hidroperoksida sehingga mencegah kerusakan biomolekular oleh radikal bebas (Ali, et. al., 2012).

 Etanol merupakan molekul yang sangat polar karena adanya gugus hidroksi (OH) dengan keelektonegatifan oksigen yang sangat tinggi yang menyebabkan terjadinya ikatan hydrogen dengan molekul lain, sehingga etanol dapat berikatan dengan molekul polar dan molekul ion. Gugus etil (C2H5) pada etanol bersifat non-polar, sehingga etanol dapat berikatan juga dengan molekul non-polar.

 Oleszek (2000) mengungkapkan bahwa saponin merupakan senyawa glikosida yang tersusun atas dua jenis molekul sebagai kerangka utama yaitu steroid atau triterpenoid yang bersifat nonpolar serta memiliki gugus hidroksil yang mampu berikatan dengan gula sederhana yang bersifat polar. Sehingga saponin mampu terlarut lebih baik dalam pelarut metanol.

 Metanol merupakan senyawa bersifat polar, selain polar metanol bersifat non polar dan semi polar sebagaimana dinyatakan oleh Lazuardi (2006), saponin dapat diekstrak secara baik dengan menggunakan pelarut metanol dengan konsentrasi lebih dari 40% (Oleszek, 2000).

 Tumbuh-tumbuhan mengandung senyawa metabolit sekunder berupa fenolik yang memiliki kemampuan menghambat kerja radikal bebas (Duenas *e t al.* 2009). Radikal bebas bersifat tidak stabil dan selalu berusaha mengambil elektron dari molekul lain. Suatu inisiator radikal bebas ialah zat apa saja yang dapat mengawali suatu reaksi radikal bebas. Senyawa apa saja yang mudah terurai menjadi radikal bebas dapat bertindak sebagai inisiator. Inhibitor radikal bebas menghambat suatu reaksi radikal bebas.

 Sebuah inhibitor kadang-kadang dirunjuk sebagai suatu “perangkap” radikal bebas. Kerja yang lazim suatu inhibitor radikal bebas ialah bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif dan relatif stabil. Fenol-fenol, senyawa dengan suatu gugus –OH yang terikat pada karbon cincin aromatik, merupakan antioksidan yang efektif, produk radikal bebas senyawa-senyawa ini terstabilkan secara resonansi dan karena itu tak reaktif dibandingkan dengan kebanyakan radikal bebas lain.

**Simpulan**

 Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa *S. alba* yang diekstraksi dengan menggunakan variasi pelarut berbeda menghasilkan kadar saponin sebesar 20,25 mg/g pada pelarut metanol (A1), 18,80 mg/g pada pelarut etanol (A2), dan 10,65 mg/g pada pelarut air (A3). Hasil uji kromatografi KLT menunjukkan bahwa kadar *S. alba* menunjukkan bercak noda ikatan rangkap dua dengan nilai Rf 0,80-0,85 yang menegaskan bahwa *S. alba* mengandung kadar saponin. Daya hambat terhadap radikal bebas tertinggi diperoleh pada ekstrak etanol dan metanol.

**Daftar Pustaka**

Arief, M. 1987. Ilmu Meracik Obat. Teori dan Praktek. Cetakan ke-9, 168-171, Gadjah Mada *University*Press, Yogyakarta.

Depkes RI. 2008. Farmakope Herbal Indonesia.Edisi 1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal. 8-9, 11-12.

Duenas M, Manzano SO, Paramas AG, Buelga SC. 2009. Antioxidant evaluation of O-methylated metabolites of catechins, epicatechin, and quersetin.Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.

Hernani dan M. Raharjo. 2005. Tanaman Berkhasiat Antioksidan. Jakarta: Penebar Swadya

Liang, *dkk.,* 2004. *Quality Control of Herbal Medicines.*Journal of Chromatography.

Middleton EC, Kandaswami, TC Theoharides. 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. Pharmacological Reviews 52:673-751

Oleszek, W.A. 2000. *Saponins*. CRC Press LLC.

Sintha, E. dan A. P. (2008). Pengaruh Konsentrasi Alkohol Dan Waktu Ekstraksi  Terhadap Ekstraksi Tanin Dan Natrium Bisulfit Dari Kulit Buah Manggis. Makalah Seminar Nasional Soebardjo brotoharfdjono “Pengolahan Sumber Day

Stahl, E. (2013). *Thin-Layer Chromatography*: A Laboratory Handbook. Springer

T. Purnama. (2004). Ekstraksi Dan Karakteristik Pati Temu Ireng. Balai Besar   Penelitian Dan Pengembangan Pasca Panen Ppertanian

Thompson, E. B. 1985. Drug Bioscreening. America: Graceway