

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Jati Putih (*Gmelina Arborea* Roxb) dan Daun Jati Belanda (*Guazuma Ulmifolia* Lamk) dengan Metode DPPH

Risna¹, Hastaeti Husni²

¹Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Jayapura

²Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar
risnapharmacy16@gmail.com

ABSTRAK

Daun jati putih (Gmelina Arborea Roxb) dan daun jati belanda (Guazuma Ulmifolia Lamk) merupakan tanaman yang banyak digunakan dalam pengobatan tradisional seperti cacingan, diuretik, antibakteri, antidiabetes dan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai IC50 dari ekstrak methanol daun G. Arborea dan daun G. Ulmifolia diekstraksi dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut methanol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak methanol daun G. Arborea dan daun G. Ulmifolia memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC50 masing-masing adalah 34,575 dan 69,099 ppm yang dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dan antioksidan kuat.

Kata kunci : Metode DPPH Daun, Jati Putih, Daun Jati Belanda, antidiabetes, antioksidan, Metode Maserasi

ABSTRACT

The Gmelina Arborea Roxb and the Guazuma Ulmifolia Lamk is a plant that is widely used in traditional medicine such as anthelmintic, diuretic, antibacterial, and antidiabetic. This study aimed determine the IC50 value of methanol extract leaves G. Arborea and G. Guazuma as antioxidant DPPH. Leaves G. Arborea and G. Guazuma extracted by maceration method using methanol. The result showed that the methanol extract of leaves G. Arborea and G. Guazuma have antioxidant activity with IC50 values are respectively 34,575 and 69,099 ppm are considered to have very strong and strong antioxidant activity.

Keywords: Metode DPPH, Gmelina Arborea Roxb, Gauma Ulmifolia Lamk, Antibacterial, Antidiabetic, Maceration Method.

1. PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang sifatnya tidak stabil. Radikal bebas mempunyai satu elektron atau lebih yang tanpa pasangan sehingga untuk menjadi stabil cenderung mengambil elektron dari molekul lain yang kemudian menimbulkan senyawa yang tidak normal dan memiliki aksi berantai yang dapat

merusak jaringan [1]. Radikal bebas yang berlebih dapat menyerang senyawa apa saja terutama lipid dan protein yang berimplikasi pada timbulnya berbagai penyakit degenerative [2] karena kurangnya antioksidan dalam tubuh yang tidak mampu mengimbangi terjadinya oksidasi [3] seperti penyakit jantung, arteriosklerosis, kanker serta gejala penuaan [4].

Senyawa radikal yang ada dalam tubuh dapat mengoksidasi protein membrane sel dan asam lemak tidak jenuh, sehingga dapat menyebabkan beberapa penyakit seperti degenerative, aterosklerosis, katarak autoimun dan penuaan dini [5]. Untuk melindungi diri dari radikal bebas tubuh menghasilkan senyawa antiradikal bebas atau disebut juga antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi lipid. Antioksidan mudah memberikan elektron (elektron donor) atau reduktan. Senyawa antioksidan yang memiliki berat molekul kecil mempunyai kemampuan melepas atom hydrogen dan menurunkan reaktivitas radikal [6].

Antioksidan secara alami sudah dihasilkan dalam tubuh namun jumlahnya terbatas untuk berkompetisi dengan radikal bebas yang dihasilkan setiap harinya oleh tubuh sendiri. Oleh karena itu diperlukan adanya asupan antioksidan yang berasal dari luar tubuh [1]. Senyawa antioksidan alami merupakan alternatif untuk digunakan sebagai pengganti antioksidan sintesis. Antioksidan alami dapat diperoleh dari tumbuh-tumbuhan atau buah-buahan yang mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid dan fenolik yang berguna sebagai penangkap radikal bebas [7].

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa tumbuhan dan buah-buahan terbukti bermanfaat melindungi tubuh manusia terhadap bahaya radikal bebas. Hal ini disebabkan karena adanya aktivitas antioksidan yang terdapat dalam tanaman tersebut. Secara alami, tumbuhan yang mengandung antioksidan tersebar pada berbagai bagian tumbuhan seperti akar, batang, kulit, ranting, daun, buah, bunga, dan biji [8].

Salah satu tanaman yang berkhasiat obat yang digunakan oleh masyarakat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit yaitu Tanaman Jati [9]. Tanaman jati di Indonesia cukup beragam seperti jati putih dan jati belanda. Jati putih (*Gmelina arborea* Roxb) yang dikenal sebagai Gamhar adalah pohon yang banyak tumbuh dan menyebar alamiah sebagian besar berasal dari india dimana akar, kulit kayu, daun, bunga, dan buah merupakan bagian tanaman yang bias digunakan sebagai obat. Sedangkan daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) telah dikenal masyarakat kita sebagai tanaman obat yang berhasiat untuk menurunkan berat badan. Adapun kandungan kimia yang terdapat dalam daun *G. arborea* dan daun *G. ulmifolia* yang dicurigai berefek sebagai antioksidan adalah

flavonoid, saponin, tanin, dan golongan steroid atau tripenoid [10]. Tanaman jati juga merupakan salah satu sumber penghasil antioksidan karena dalam beberapa penelitian menyatakan bahwa daun jati muda memiliki beberapa kandungan senyawa pigmen terutama antosianin [11].

Berdasarkan kandungan kimia yang terkandung dalam daun jati putih dan daun jati belanda yang diduga memiliki aktivitas antioksidan, maka telah dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antioksidan ekstrak methanol daun jati putih dan daun jati belanda dengan metode uji DPPH.

2. METODE PENELITIAN.

2.1. Jenis Penelitian

Jenis Penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental

2.2. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan antara lain Timbangan analitik, Rotary evaporator, vial, timbangan analitik, tabung reaksi, batang pengaduk, toples, cawan uap, labu takar, gelas ukur, pipet volum, pipet mikro, pipet tetes, spektrofotometer UV-VIS, spatel, dan sendok tanduk. Bahan yang digunakan antara lain daun jati putih, daun jati belanda, methanol teknis, DPPH (2,2-difenil 1-picrylhidrazil), aquadest, methanol absolut, vitamin.

2.3. Penyiapan Bahan Penelitian

Sampel daun *G. arborea* dan *G. ulmifolia* yang diperoleh diambil dari Kantor Balai Kesehatan Tradisional Masyarakat Makassar. Sampel daun *G. arborea* dan daun *G. ulmifolia* yang diperoleh kemudian dikumpulkan, lalu disortasi basah dengan tujuan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya dengan cara dibersihkan menggunakan air bersih yang mengalir, kemudian dipotong-potong kecil-kecil dan dikeringkan pada lemari pengering. Selanjutnya simplisia siap diekstraksi.

2.4 Ekstraksi Sampel Secara Maserasi

Sebanyak 300 g simplisia daun jati putih dan daun jati belanda selanjutnya dimaserasi menggunakan pelarut (1:7,5) methanol selama 3 x 24 jam kemudian disaring lalu dilakukan remaserasi. Ekstrak cair telah diperoleh dikumpulkan dan diuapkan pelarutnya dengan alat rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental daun jati putih 24,22 g dan daun jati belanda 20,12 g.

2.5 Penyiapan Larutan DPPH

Disiapkan larutan DPPH. 0,4 Mm dengan cara menimbang DPPH sebanyak 0,0157 g dilarutkan dalam 100 ml methanol absolut dalam labu tentukur

2.6 Pembuatan Larutan Sampel

Dibuat larutan stok 500 ppm dengan cara menimbang ekstrak kental methanol daun jati sebanyak 5 mg dan dilarutkan dengan methanol absolut sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 10 ml. selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm.

2.7 Pembuatan Larutan Pembanding

Dibuat larutan stok 500 ppm dengan cara menimbang sebanyak 5 mg vitamin c, kemudian dilarutkan dengan methanol absolut sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 10 ml. selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, dan 20 ppm

2.8 Pengukuran Daya Antioksidan

- a) Pengukuran daya antioksidan blanko
Pengujian dilakukan dengan memipet 1 ml DPPH dan dicukupkan volumenya dengan methanol absolut hingga 5 ml kemudian divortex dan diinkubasi pada suhu 37⁰ C pada ruangan gelap. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm.
- b) Pengukuran daya antioksidan ekstrak methanol daun jati.
Pengujian dilakukan dengan memipet 1 ml larutan sampel dengan berbagai konsentrasi (20 ppm, 40 ppm, 60 ppm dan 80 ppm). Kemudian masing-masing ditambahkan 1 ml DPPH , dicukupkan volumenya dengan metanol absolut hingga 5 ml kemudian divortex dan diinkubasi pada suhu 37⁰ C pada ruang gelap. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm.
- c) Pengukuran daya antioksidan sampel pembanding vitamin C
Pengujian dilakuan dengan memipet 1 ml larutan vitamin C dari berbagai konsentrasi (5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, dan 20 ppm) kemudian masing-masing ditambahkan 1 ml DPPH, dicukupkan volumenya dengan methanol absolut hingga 5 ml kemudian divortex dan diinkubasi pada suhu 37⁰ C

pada ruang gelap. diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm.

2.9 Pengumpulan dan Pengolahan Data

Presentase inhibisi (%) terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel dan dapat dihitung. Setelah didapatkan presentasi inhibisi dari masing-masing konsentrasi dilanjutkan dengan perhitungan IC50 menggunakan SPSS

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah G. Arborea dan G.Ulmifolia yang diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Pada metode maserasi, sampel yang telah dikeringkan terlebih dahulu diserbukkan dengan tujuan untuk memperbesar luas permukaan sampel. Masing-masing sampel daun jati putih dan daun jati belanda yang telah diserbukkan ditimbang kemudian direndam dalam bejana maserasi dengan cairan penyari methanol selama 3 hari.

Methanol digunakan sebagai cairan penyari karena memiliki kemampuan menyari senyawa pada rentang polaritas yang lebar mulai dari senyawa polar hingga non polar, sehingga diharapkan senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan dapat tersari secara maksimal. Cairan penyari akan menembus dinding sel sampel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dalam cairan penyari sehingga terjadi perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam sel dan cairan penyari diluar sel, sehingga larutan pekat akan terdifusi keluar sel, dan proses ini terjadi berulang kali sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif didalam sel dan diluar sel. Untuk mengoptimalkan proses ini maka ekstraksi dilakukan remaserasi dimana ampas/ residu dari ekstraksi pertama dimaserasi kembali. Ekstrak cair diperoleh kemudian diuapkan dengan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental.

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan memipet 1 ml larutan sampel dengan berbagai konsentrasi (20 ppm, 40 ppm, 60 ppm dan 80 ppm) kemudian masing-masing ditambahkan 1 ml DPPH , dicukupkan volumenya dengan metanol absolut hingga 5 ml dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm. Sebagai pembanding digunakan Vitamin C dengan konsentrasi (5 ppm, 10 ppm, 15 ppm,

dan 20 ppm). Hasil preprasi sampel dan larutan pembanding dapat dilihat pada gambar.



Gambar 1. Hasil Preparasi sampel daun Jati Putih konsentrasi (20 ppm, 40 ppm, 60 ppm dan 80 ppm) setelah penambahan DPPH.



Gambar 2. Hasil Preparasi sampel daun Jati Belanda konsentrasi (20 ppm, 40 ppm, 60 ppm dan 80 ppm) setelah penambahan DPPH.



Gambar 3. Hasil Preparasi Pembanding Vitamin C konsentrasi (5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, dan 20 ppm) setelah penambahan DPPH.

Pengukuran daya antioksidan terhadap ekstrak methanol daun *G. Arborea* dan daun *G. Ulmifolia* dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Metode DPPH dipilih karena memerlukan sedikit sampel, sederhana, mudah, cepat, dan peka untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam [12]. DPPH merupakan radikal sintetik yang larut dalam pelarut polar seperti methanol. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu kekuning yang diukur pada panjang gelombang 517 nm [13]. Penentuan optimasi panjang gelombang maksimum dari larutan DPPH dilakukan opada kisaran panjang gelombang 400-600 nm, karena pada panjang gelombang tersebut merupakan panjang gelombang yang dapat dibaca oleh penangkal DPPH [14], gelombang maksimum ditunjukkan pada 513 nm. Parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah inhibiton concentration (IC50) [15]. Nilai IC50 merupakan nilai konsentrasi antioksidan untuk meredam 50% aktivitas radikal bebas. Hasil pengukuran daya antioksidan ekstrak methanol daun *G. Arborea* dan daun *G. Ulmifolia* menggunakan metode DPPH ditunjukkan pada table 1.

Tabel 1. Hasil pengukuran daya antioksidan ekstrak methanol daun *G. Arborea* dan daun *G. Ulmifolia* menggunakan metode DPPH

No.	Sampel dan Konsentrasinya (ppm)	Persen inhibisi (%)			
1	G. ulmifolia	20	15,47%	±	0,91 %
		40	30,94%	±	1,01%
		60	45,81%	±	4,32%
		80	56,18%	±	2,62%
2	G. arborea	20	32,69%	±	1,37%
		40	50,95%	±	2,92%
		60	68,45%	±	1,98%
		80	81,98%	±	1,30%
3	Vitamin C	5	16,97%	±	3,49%
		10	27,09%	±	2,01%
		15	43,71%	±	1,45%

		20	50,07%	±	2,13%
		25	65,96%	±	1,20%

Suatu senyawa memiliki antioksidan sangat kuat apabila nilai IC50 kurang dari 50 ppm, kuat apabila nilai IC50 antara 50-100 ppm, sedang apabila nilai IC50 berkisar antara 100-150 ppm, dan lemah apabila nilai IC50 berkisar antara 150-200 ppm. Semakin kecil nilai IC50 semakin besar aktivitas antioksidannya.

Pada pengujian aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun *G. Arborea* dan *G. Ulmifolia* menggunakan metode DPPH dilakukan perhitungan IC50 menggunakan perangkat lunak SPSS menunjukkan bahwa ekstrak methanol daun *G. Arborea* mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC50 34,575 ppm sehingga dikategorikan memiliki antioksidan sangat kuat, hal ini disebabkan karena kandungan kimia yang terdapat dalam daun *G. Arborea* seperti flavonoid, saponin, dan steroid yang mempunyai aktivitas antioksidan sedangkan ekstrak metanol daun *G. Ulmifolia* mempunyai aktivitas antioksidan dengan Nilai IC50 69.099 ppm dan dikategorikan memiliki antioksidan kuat, hal ini karena adanya kandungan kimia seperti komponen fenolik dan flavonoid yang terkandung dalam daun *G. Ulmifolia* [16], serta vitamin C sebagai pembanding positif yang merupakan senyawa murni yang telah diketahui aktivitas antioksidannya sangat kuat dengan nilai IC50 20, 098 ppm.

Berdasarkan hal tersebut maka diketahui bahwa ekstrak methanol daun *G. Arborea* memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak methanol daun *G. Ulmifolia* hal ini karena adanya perbedaan kadar kandungan senyawa kimia seperti flavonoid, saponin, tanin, dan golongan steroid atau triterpenoid yang berpotensi menjadi antioksidan. Fenol adalah senyawa yang memiliki setidaknya satu gugus hidroksil dan keberadaan gugus hidroksil ini menyebabkan semua senyawa fenolik menjadi reduktan. Reduksi berarti transfer elektron, di mana elektron ini disediakan oleh fenol sebagai atom hidrogen dengan elektron tunggal (H•). Atom ini dihasilkan dari pemecahan ikatan O – H dengan proses di mana masing-masing fragmen mempertahankan salah satu elektron. Melalui mekanisme ini atom H• ini akan mengurangi jumlah oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas [17,18].

Flavonoid dapat berkontribusi pada aktivitas antioksidan dari ekstrak tanaman, bahkan pada konsentrasi rendah. Hal ini terutama disebabkan oleh adanya ikatan rangkap terkonjugasi, gugus hidroksil pada C4' dan C3', dan katekol dalam cincin B dalam struktur flavonoid. Struktur semacam itu menjadikan flavonoid sebagai sasaran untuk diserang oleh radikal bebas dengan cara menggerakkan awan elektron di sekitar cincin aromatik dan donor elektron, sehingga menghambat reaksi berantai dan menstabilkan bentuk radikal [19,20]. Adapun Saponin dan golongan steroid memiliki aktivitas antioksidan dengan meredam superoksida melalui pembentukan intermediet hidropersida sehingga mencegah kerusakan biomolekular oleh radikal bebas [21]

Berdasarkan hasil yang diperoleh ekstrak methanol daun *G. Arborea* masih lebih kecil aktivitas antioksidannya dibandingkan dengan vitamin C yang merupakan senyawa murni. Pada penelitian ini yang diuji masih berupa ekstrak kasarnya bukan senyawa murni, sehingga masih terdapat kemungkinan senyawa murni yang terkandung memiliki aktivitas antioksidan lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak kasarnya

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa IC50 ekstrak methanol daun *G. Arborea* dan *G. Ulmifolia* secara berturut-turut adalah 34,575 dan 69,099 ppm, dimana berdasarkan nilai IC50 daun *G. Arborea* dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat dan daun *G. Ulmifolia* termasuk kategori antioksidan kuat.

5. DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Mega Arista. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 80% Dan 96 % Daun Katuk *Sauropus Androgynus* L Merr. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya Vol. 2 No.2.
- [2]. Middleton, E., Jr., Kandaswami, C. & Theoharides, T. C. 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications

- for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev*, 52, 673-751
- [3]. Kusumowati, I. T. D. 2012. Korelasi Kandungan Fenolik Dan Aktivitas Antiradikal Ekstrak Etanol Daun Empat Tanaman Obat Indonesia (Piper bettle, Sauropus androgynus, Averrhoa bilimbi, dan Guazuma ulmifolia). *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 13, 5
- [4]. Tahir, I., Wijaya, K., Kimi, P., Jogjakarta, U. G. M. & Bambang, P. 2003. Terapan Analisis Hansch untuk Aktivitas Antioksidan Senyawa Turunan Flavon / Flavonol. In: UGM (ed.) *Makalah Seminar Khemometri*. Jurusan Kimia FMIPA UGM Yogyakarta.
- [5]. Karyadi, D., 1996, Peranan Makanan Kesehatan dalam Mencegah Penyakit Degeneratif, Makalah seminar nuansa pangan dan gizi IPB: Bogor.
- [6]. Winarsy, H., 2011, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Kanisus : Yogyakarta
- [7]. Syamsu,dkk. 2019. Korelasi Antara Kadar Total Flavonoid dan Fenolik dari Ekstrak dan Fraksi Daun Jati Putih (Gmelina arborea Roxb.) Terhadap Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)*; 5 (1): 33 – 42
- [8]. Hutapea, R., 2005, *Sehat dan Ceria Diusia Senja*, Rineka Cipta : Jakarta
- [9]. Nuri,dkk. 2020, Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Kadar Fenol dan Flavonoid Total, Aktivitas Antioksidan serta Antilipase Daun Jati Belanda (Guazuma ulmifolia). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis* Vol 7 No 2 pp. 143-15
- [10]. Zuhra, C.F., Taringan, J. dan Sihotang, H., 2008, Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (Sauropus androgynous (L) Merr), *Jurnal Biologi Sumatera*, 3 (1) : 7- 10
- [11]. Fatinatullahbibah, dkk. 2014, Stabilitas Antosianin Ekstrak Daun Jati Tectona Grandis Terhadap perlakuan PH dan suhu. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 3 (2)
- [12]. Hanani, E., Mun'im, A. dan Sekarini, R., 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons Callyspongia Sp. dari Kepulauan Seribu, *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol. II. No. 3 : 127.
- [13]. Blois, M.S., 1958, Antioxidant Determination By The Use of a Stable Free Radical, *Journal Nature* 181 (4617) : 1199-1200
- [14]. Prakash, A., 2001, Antioxidant Activity, *Medallion Laboratories Analytical Progress*, Summer Vol. 19, (2): 1
- [15]. Molyneux, P., 2004, The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl Hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarinn J. Sci. Technol*, 26(2) : 211-219.
- [16]. Feltrin, dkk : 2012, Antioxidant potential, total phenolic and flavonoid contents from the steam bark of Guazuma Ulmifolia Lamk. *Asian Journal of biological science* (5) : 268-272
- [17]. Rezki,dkk. 2013, Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan Dengan Menggunakan Metode Peredaman Radikal Dpph Ekstrak Etanol Daun Cordia myxa L. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, Vol 2 No. 1
- [18]. de Oliveira GRB, Simao AA, Pereira LLS, Rocha FD, Raposo NRB, de Oliveira VR, et al., 2017 Stem bark extracts of Endopleura uchi (Huber) Cuatrec: Inhibition of pancreatic lipase and antioxidant activity. *J Med Plants Res*. 11(30):472-79.
- [19]. Laguerre M, Lecomte J, Villeneuve P. 2014, The physico-chemical basis of phenolic antioxidant activity. *Lipid Technol*;26(3):59-62.
- [20]. Rusmana D, Wahyudianingsih R, Elisabeth M, Balqis, Maesaroh, Widowati W. 2017. Antioxidant activity of Phyllanthus niruri extract, rutin and quercetin. *Indones Biomed J.* ;9(2):84-90.
- [21]. Katz DL, Doughty K, Ali A. 2011. Cocoa and chocolate in human health and disease. *Antioxidants Redox Signal*.15(10):2779-811.