

PENELUSURAN ISOLAT AKTIF ANTIOKSIDAN DARI DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* kunth) DAN ELUSIDASI STRUKTURNYA

Ana Husnayanti^{1*}, Sugiyanto², Kintoko¹

¹ Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Jogjakarta.

² Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta.

E-mail : mahardhera@gmail.com

ABSTRAK

Oksidasi sel dapat menyebabkan timbulnya dan berkembangnya berbagai penyakit termasuk Alzheimer, Parkinson, Diabetes. Tanaman sayuran dan rempah-rempah yang digunakan di masyarakat merupakan salah satu sumber utama penemuan obat. Kenikir secara tradisional dipercaya untuk memperlancar sirkulasi darah, sebagai agen anti-penuaan, menurunkan, memperkuat sumsum tulang, untuk mempromosikan nafas segar dan untuk mengobati infeksi yang terkait dengan mikroorganisme dan dikonsumsi sebagai sayuran lalapan (sebagai antioksidan alami) pada masyarakat Sunda. Daun *Cosmos caudatus* mengandung saponin, flavonoida polifenol dan minyak atsiri. Flavonoid dipercaya berfungsi sebagai antioksidan dengan menghambat *Reactive Oxygen Species* (ROS). Meskipun secara tradisional daun kenikir digunakan untuk mengobati penyakit – penyakit yang berkaitan dengan stres oksidatif, namun secara eksperimental hal tersebut perlu diuji untuk mengetahui sejauh mana pengaruh dan efektivitasnya sebagai antioksidan. Desain penelitian merupakan penelitian non eksperimental, dengan teknik *bioassay guided isolation* untuk menemukan fraksi aktif dari ekstrak metanol daun kenikir kemudian dilanjutkan dengan isolasi dari fraksi aktif ekstrak tersebut. Kenikir dimaserasi dengan larutan penyari metanol dan diuapkan. Ekstrak kental Metanol daun kenikir diuji dengan metode DPPH untuk melihat aktivitas sebagai antioksidan, jika ekstrak terbukti efektif sebagai antioksidan, ekstrak kental kemudian difraksinasi dengan metode padat cair dengan dengan n-hexan, etil asetat dan metanol. Ketiga fraksi tersebut dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Fraksi yang memiliki harga *Medium Effective Scavenging* (ES50) terkecil kemudian dilakukan isolasi senyawa aktifnya menggunakan KLT preparatif dan elusidasi struktur. Hasil dari penelitian ini menunjukkan ES50 untuk ekstrak metanol ($38,9800 \pm 2,922 \mu\text{g/ml}$), fraksi hexan ($137,255 \pm 4,5748 \mu\text{g/ml}$), fraksi etil asetat ($53,9532 \pm 1,4503 \mu\text{g/ml}$) dan fraksi metanol ($9,96933 \pm 4,4134 \mu\text{g/ml}$). Aktivitas antioksidan terbaik ditunjukkan oleh fraksi metanol yang kemudian diisolasi lebih lanjut dengan KLT preparatif dengan fase diam silika F 254 dan fase gerak butanol : asam asetat: air (3:8:3). Tahap selanjutnya adalah uji kemurnian dengan menggunakan metode KLT 2 arah dengan fase gerak pertama butanol : asam asetat: air (3:8:3) dan fase gerak kedua asam asetat 15% hingga diperoleh senyawa aktif murni. Senyawa aktif yang murni diidentifikasi lebih lanjut dengan UV dan H-NMR. Hasil data UV H NMR dan kajian pustaka, senyawa aktif diduga merupakan Quercetin 3-o- α -Rhamnosa.

Kata kunci: *Cosmos caudatus*, antioksidan, fraksi n –hexan, fraksi Etil Asetat, Fraksi Metanol

PENDAHULUAN

Tanaman sayuran dan rempah-rempah yang digunakan dalam masyarakat sebagai obat tradisional telah mendapatkan penerimaan luas sebagai salah satu sumber utama penemuan obat (Bangsal et al 2014). Kenikir atau nama latinnya *C. caudatus* Kunth merupakan tanaman dari keluarga *Asteraceae*. Kegunaan tanaman ini untuk memperlancar sirkulasi darah, sebagai agen anti-penuaan, untuk menurunkan demam tubuh, memperkuat sumsum tulang (karena kandungan kalsium yang tinggi), mempromosikan nafas segar dan mengobati infeksi yang terkait dengan mikroorganisme patogen (Hassan 2006; Bodeker, 2009 dalam Rasdi et al 2010). Meskipun dalam pengobatan tradisional secara tradisional daun Kenikir digunakan untuk mengobati penyakit yang berkaitan dengan stres oksidatif, namun secara eksperimental hal tersebut

perlu diuji untuk mengetahui sejauh mana pengaruh dan efektivitasnya sebagai antioksidan.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi, mengidentifikasi dan menganalisis salah satu senyawa pada daun kenikir yang bertanggungjawab sebagai antioksidan dengan metode DPPH.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca elektrik (SHIMADZU, Type LS-6DT), *stirrer*, *rotary evaporator*, *water bath*, mikropipet, *yellow tip*, *blue tip*, alat-alat gelas, *stirrer* elektrik, *shacker orbital*, plat KLT silika gel 60 F₂₅₄ kualitas E.Meck, bejana pengembang, pipa kapiler, oven, alat gelas, lampu ultraviolet, spektrofotometer UV-Vis (Spectronic^R 20 GenesysTM), Spektrofotometer ¹H-NMR Jeol 500 MHz.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun Kenikir yang diperoleh dari distributor sayuran di Pasar Imogiri pada bulan September 2015. Kemudian dilakukan determinasi di Laboratorium Farmakognosi, Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UAD. Tanaman Kenikir dideterminasi dengan pedoman buku Flora of Java (Backer and Van Den Brink, 1965). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Senyawa 2,2-Difenil-2-Pikrihidrazil (DPPH) dari sigma Co, kertas saring, metanol p.a, n-heksan, etil asetat, serbuk silika GF₂₅₄ E. Merck.

IDENTIFIKASI DAN DETERMINASI

Tanaman Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) yang digunakan dalam penelitian dilakukan identifikasi dan dideterminasi di Laboratorium Farmakognosi, Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UAD. Tanaman Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) dideterminasi dengan pedoman buku Flora of Java (Becker 1968) untuk mengetahui kebenaran dari tanaman tersebut.

PEMBUATAN EKSTRAK DAN FRAKSINASI

Tanaman Kenikir yang digunakan berasal dari daerah Imogiri, Bantul, Yogyakarta. Bagian yang diambil adalah daun kenikir, dilakukan sortasi basah dan kering dan diayak dengan ayakan 30 mesh (Taha et al, 2015). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan metanol. Filtrat diperoleh diuapkan dengan menggunakan *vacum rotary evaporator* dengan suhu pemanasan 50-60°C. Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian ditimbang bobotnya, dan rendemennya. Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian dilakukan proses fraksinasi. Proses fraksinasi dilakukan dengan cara menimbang sebanyak 20 gram ekstrak metanol kemudian difraksinasi ke dalam 200 ml pelarut n – hexan, etil asetat dan metanol.

Ekstrak metanol dan fraksi-fraksi tersebut kemudian dilakukan uji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH. Fraksi atau ekstrak yang paling aktif diisolasi untuk mendapatkan senyawa aktif murni.

PENENTUAN OPERATING TIME

Masing-masing 1,0 ml larutan sampel dan pembanding quercetin dikocok dengan 1,0 ml larutan DPPH 0,15 mM kemudian diamati absorbansinya selama 60 menit pada panjang gelombang 517 nm (Vera, 2015).

PENENTUAN PANJANG GELOMBANG MAKSIMUM

Serapan maksimum Penentuan panjang gelombang (λ) serapan maksimum larutan DPPH dilakukan sebagai berikut: 1,0 ml larutan DPPH 0,15 mM ditambah 1,0 ml metanol p.a, dikocok homogen, diukur serapannya pada rentang panjang gelombang 400-600 nm (Vera, 2015).

PERSIAPAN UJI ANTIOKSIDAN

Penyiapan Larutan DPPH

Larutan DPPH 0,15 mM dibuat dengan cara menimbang 5,91 miligram DPPH dilarutkan dalam 100 mL etanol (p.a), sehingga didapatkan konsentrasi 0,15 mM yang dihitung terhadap BM DPPH sebesar 394,32 g/mol untuk segera digunakan dan dijaga dalam temperatur rendah dan terlindung dari cahaya (Vera, 2015).

Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak metanol dan fraksi n- hexan, etil asetat dan metanol dari ekstrak daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) ditimbang 50 mg, dimasukan labu takar 50 ml dan ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas sehingga didapat konsentrasi 1000 ppm, selanjutnya disebut larutan induk. Dilakukan pembuatan seri kadar dengan dilakukan pengenceran. Seri kadar untuk ekstrak metanol (10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45) $\mu\text{g/ml}$, seri kadar fraksi n –hexan (80, 100, 120, 140, 160, 180, 200) $\mu\text{g/ml}$, fraksi etil setat (30, 35, 40, 45, 50, 55, 60) $\mu\text{g/ml}$ dan fraksi metanol (25, 30, 35, 40, 45, 50, 55) $\mu\text{g/ml}$. Pembuatan larutan Induk Quercetin

UJI PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

Pengukuran absorbansi penangkap radikal bebas dengan metode DPPH

Masing-masing 1,0 ml ekstrak, fraksi n- hexan, etil asetat dan metanol dan larutan pembanding quercetin dengan berbagai konsentrasi dikocok kuat dengan 1,0 ml larutan DPPH 0,15 mM. Campuran larutan tersebut disimpan ditempat gelap selama *operating time*. Kemudian absorbansinya diukur pada panjang gelombang serapan maksimal DPPH dengan spektrofotometer UV-Vis (Vera, 2015)

Analisis Data

Data yang diperoleh adalah Absorbansi dari senyawa uji. Data ini kemudian diolah menggunakan analisis regresi linear antara konsentrasi versus absorbansi untuk mendapatkan konsentrasi ES₅₀ (*Medium effective scavenging*).

ISOLASI DENGAN METODE KLT PREPARATIF

Plat KLT dibuat secara manual dengan membuat bubur silika yaitu dengan mencampurkan serbuk silika F₂₅₄ dengan aquadest (35:60). Kemudian dituangkan pada plat kaca ukuran 20X20 yang sudah dibersihkan terlebih dahulu menggunakan meanol hingga bebas lemak dan diletakan di atas cetakan. Setelah dilakukan proses pencetakan, plat KLT preparatif didiamkan hingga kering dan diaktifkan pada suhu 100°C sebelum digunakan (Wahdaningsih et al, 2011).

Fraksi aktif yang mengandung antioksidan tertinggi kemudian dilakukan isolasi senyawa aktifnya dengan menggunakan fase diam silika F 245, dan fase gerak Toluen : Butanol : Asam Asetat (3:8:3). Spot yang memberikan warna kuning paling terang, kemudian dikerok dan dilakukan pemurnian dengan cara melarutkan ke dalam metanol dan dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan senyawa aktif dari silikanya.

Senyawa aktif yang diduga kemudian dilakukan uji pemurnian dengan KLT 2 dimensi dengan fase gerak pertama Toluen : Butanol : Asam Asetat (3:8:3) dan fase gerak kedua Asam asetat 15%. Senyawa dikatakan murni jika memberikan 1 bercak (spot) ketika dilakukan elusi 2 dimensi.

ANALISIS STRUKTUR

Senyawa aktif yang telah murni kemudian diidentifikasi dengan menggunakan UV dan ¹H-NMR.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Kenikir

Fraksinasi dalam penelitian ini dilakukan berdasarkan tingkat kepolaran. Fraksinasi yang

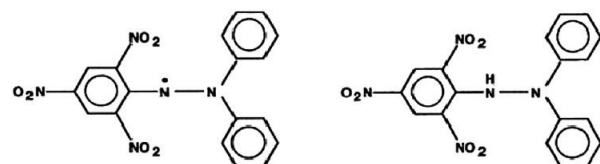
digunakan adalah fraksinasi bertingkat dimana pada umumnya diawali dengan pelarut yang kurang polar dan dilanjutkan dengan pelarut yang lebih polar. Hasil Fraksinasi dapat dilihat di Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Kenikir

Fraksi	n- hexan	Etil Asetat	Metanol
Bobot (gram)	2,3230	1,3285	11,1045
Rendemen (%)	13,65	7,76	74,12
Warna Larutan	Hijau	Hijau kekuningan	Kuning

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

Reaksi kimia yang terjadi antara DPPH dan senyawa antioksidan dapat dilihat pada Gambar 1. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak metanol, fraksi n- hexan, fraksi etil asetat dan fraksi metanol dilakukan secara *in vitro* dengan metode peredaman radikal bebas DPPH. Fraksi heksan, fraksi etil asetat, fraksi metanol, dan ekstrak metanol daun kenikir diuji efektivitasnya dalam meredam aktivitas DPPH. Sebelumnya diukur *operating time* yang dilakukan pada panjang gelombang maksimum 516 nm.



1: Diphenylpicrylhydrazyl (free radical)

2: Diphenylpicrylhydrazine (nonradical)

Gambar 1. Reaksi antara DPPH dengan ion H⁺ yang berasal dari senyawa peredam radikal bebas.

Tabel 2. Data Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Daun Kenikir dengan Metode DPPH

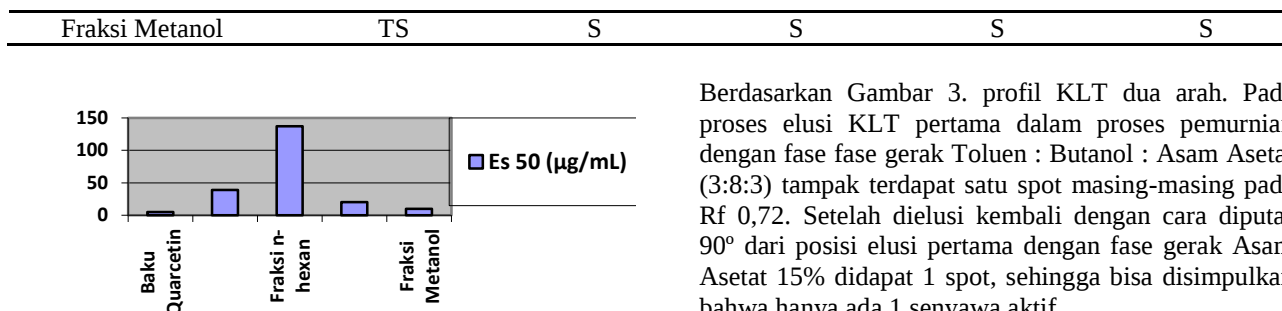
Sampel	ES 50 (µg/mL)	Rerata	SD
Quarcetin (baku pembanding)	4,9040	4,7347	0,18356
	4,7605		
	4,5396		
Ekstrak metanol	38,2894	38,98	2,92251
	42,1860		
	36,4647		
Fraksi n-Hexan	132,831	137,255	4,57484
	141,967		
	136,966		
Fraksi etil Asetat	52,9127	53,9532	1,45034
	53,337		
	55,6099		
Fraksi Metanol	9,0862	9,96933	4,41347
	14,7576		
	6,0642		

Data yang diperoleh dari pengukuran adalah % *Effective Scavenging* dan konsentrasi senyawa uji kemudian diolah menggunakan analisis regresi linear untuk mendapatkan konsentrasi penangkapan radikal 50 % (*ES50*). Data yang diperoleh berupa *ES50* kemudian dianalisis secara statistik dengan kepercayaan 95% menggunakan metode parametric (Nurviana, 2015). Nilai yang diperoleh bisa dilihat pada Tabel 2. Nilai *ES50* dari masing – masing kelompok dilakukan uji Post Hoc untuk melihat ada

tidaknya perbedaan dari masing – masing kelompok. Sebelum dilakukan uji Post Hoc terlebih dahulu dilakukan uji homogenitas. Uji homogenitas menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov dan uji Levene. Hasil uji menyatakan bahwa data terdistribusi normal dan homogen. Uji Post Hoc dilakukan setelah uji one way ANOVA. Hasil Uji Post Hoc menunjukkan bahwa hanya Fraksi metanol yang tidak berbeda signifikan dengan Pembanding (Quarcetin).

Tabel 3. Hasil Uji Post Hoc antara Quarcetin, Ekstrak metanol, Fraksi n –Hexan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi metanol dari ekstrak Metanol Daun Kenikir

	Quarcetin	Ekstrak Metanol	Fraksi n-Hexan	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Metanol
Quarcetin		S	S	S	TS
Ekstrak Metanol	S		S	S	S
Fraksi n-Hexan	S	S		S	S
Fraksi Etil Asetat	S	S	S		S



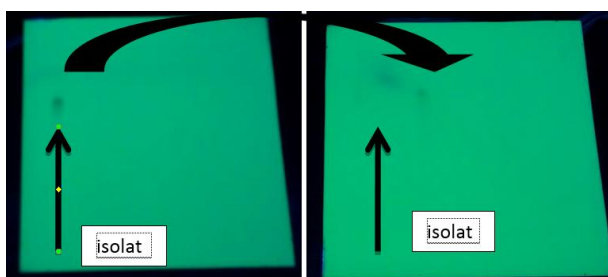
Gambar 2. Perbandingan Harga ES50 baku Quarcetin, Ekstrak metanol, fraksi n-hexan, fraksi etil asetat, fraksi metanol.

Isolasi Senyawa Aktif

Berdasarkan hasil uji antioksidan, fraksi metanol menunjukkan nilai *ES* paling rendah. Sehingga fraksi metanol diisolasi lebih lanjut dengan metode KLT preparatif menggunakan fase diam silika dengan indikator flourosensi 254, dan fase gerak Toluene : Butanol : Asam Asetat (3:8:3) diperoleh 9 pita.

Uji Kemurnian Senyawa Aktif

Senyawa aktif dengan *Rf* 12,30 kemudian diuji kemurniannya dengan menggunakan pengujian KLT dua arah. KLT dua arah.



Gambar 3. Profil pemurnian hasil isolat dari fraksi metanol ekstrak metanol daun Kenikir dengan KLT dua arah.

Berdasarkan Gambar 3. profil KLT dua arah. Pada proses elusi KLT pertama dalam proses pemurnian dengan fase gerak Toluene : Butanol : Asam Asetat (3:8:3) tampak terdapat satu spot masing-masing pada *Rf* 0,72. Setelah dielusi kembali dengan cara diputar 90° dari posisi elusi pertama dengan fase gerak Asam Asetat 15% didapat 1 spot, sehingga bisa disimpulkan bahwa hanya ada 1 senyawa aktif.

Senyawa aktif murni dikerok dan dilarutkan dengan metanol, kemudian disentrifugasi hingga menghasilkan larutan jernih. Proses pelarutan dan sentrifugasi bertujuan untuk memisahkan isolat dari silika. Larutan isolat dikeringkan hingga didapat serbuk isolat dengan pemerian serbuk sedikit *gummy* berwarna kuning kecoklatan, tidak

Analisis senyawa aktif selanjutnya menggunakan metode H-NMR dan metode pendekatan pustaka berdasarkan perbandingan hasil-hasil yang diperoleh dengan pustaka yang ada, dengan tujuan mengetahui nama dan struktur senyawa tersebut.

PENENTUAN STRUKTUR

ANALISIS DATA SPEKTRUM UV

Analisis data dengan spektrum UV menunjukkan adanya 4 peak yaitu pada panjang gelombang 367,5; 262; 317 dan 242,5. Hal ini sesuai dengan Penelitian Yuldashev et al (2000) yang menunjukkan adanya 4 λ maksimum Quercetin 3- *o*- α -Rhamnosa yaitu pada peak 256, 265, 301, 350 nm.

[Measurement Properties]
Wavelength Range (nm.): 200.00 to 600.00
Scan Speed: Medium
Sampling Interval: 0.5
Auto Sampling Interval: Enabled
Scan Mode: Auto

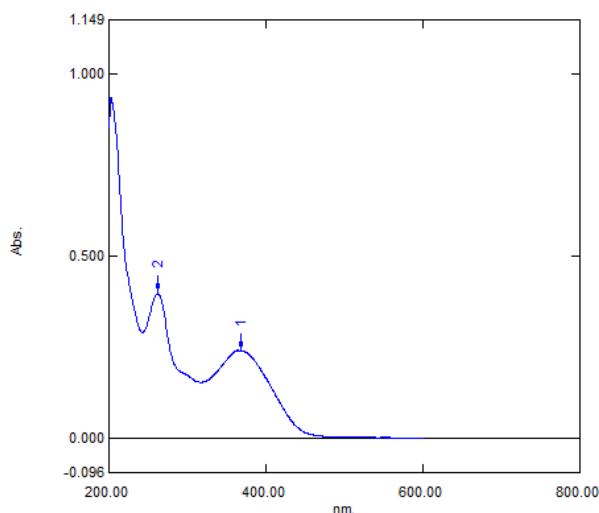
[Instrument Properties]
Instrument Type: UV-1800 Series
Measuring Mode: Absorbance
Slit Width: 1.0 nm
Light Source Change Wavelength: 340.0 nm
S/R Exchange: Normal

[Attachment Properties]
Attachment: None

.....

RawData - lamda Maks DPPH (25_5)_142210

No.	P/V	Wavelength	Abs.	Description
1		367.50	0.239	
2		262.00	0.396	
3		317.00	0.152	
4		242.50	0.290	



Gambar 4. Spektrum UV Senyawa Aktif

Penelitian yang dilakukan oleh Pramono *et al* (2011) menunjukkan dengan pelarut Metanol peak 367,5 dan peak 262 adalah golongan flavonol 3-OH tersubstitusi. Berdasarkan data spektrum, maka dapat diketahui struktur kimia parsial senyawa aktif yaitu satu flavonol dengan gugus OH pada posisi 3' dan 4' dari cincin B dan gugus OH bebas pada posisi 5 dan 7 dari cincin A serta 3-OH tersubstitusi. Hal ini menunjukkan bahwa pada posisi 3 terdapat gugus gula. Analisa data spektrum H NMR. NMR yang digunakan

untuk pengujian isolat adalah Jeol ECZ 500 (500 MHZ) dengan sistem konsol DD2, yang beroperasi pada frekuensi 500 MHZ (1H). Berdasarkan hasil pengujian Isolat diperoleh data spektra (Tabel VII) beberapa data diantaranya memiliki geseran kimia, *splitting* dan tetapan koupling yang sama dengan senyawa Quercetin 3- o- α -Rhamnosa. Senyawa Quercetin 3- o- α -Rhamnosa merupakan senyawa dari golongan Flavonol.

Tabel 4. Perbandingan data H NMR dari isolat dengan Pustaka 3- o- α -Rhamnosa

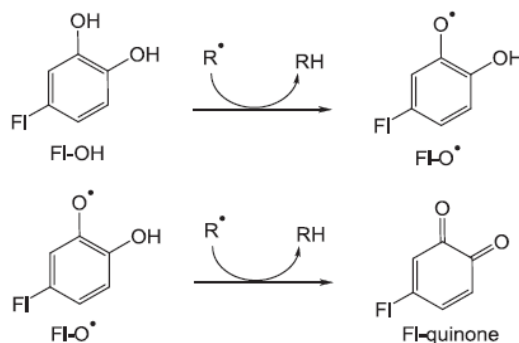
Posisi	Hasil penelitian (500 MHz) (CD ₃ OD)		Literatur (Mediani, 2012) (500 MHz) (CD ₃ OD)	
	δ (ppm)	Multisplisitas	δ (ppm)	multisplisitas
2'	7,5160	(d, J=2.0 Hz)	7,73	(d, J=2.0 Hz)
5'	6,884	(d, J=8.5 Hz),	6,88	(d, J=8.5 Hz),
6'	7,7478	(dd, J=8.5 Hz, 2.0 Hz),	7,30	(dd, J=8.5 Hz, 2.0 Hz),
6	6,157	(d, J=2.0 Hz)	6,18	(d, J=2.0 Hz)
8	6,326	(d, J=2.0 Hz)	6,35	(d, J=2.0 Hz)
1"	5,443	(d, J=1.5 Hz)	5,49	(d, J=1.5 Hz)
Methyl	0,91	(d, J=6.0 Hz)	0,91	(d, J=6.0 Hz)

ANALISIS DATA SECARA UMUM

Hasil interpretasi dari UV, 1H NMR dan kajian pustaka, Senyawa aktif hasil penelitian termasuk golongan Flavonoid (derivat Quercetin 3- o- α -Rhamnosa). Quercetin 3- o- α -Rhamnosa merupakan golongan flavonoid. Flavonoid merupakan kelas besar polifenol yang ditemukan dalam tanaman. Kelompok ini mencakup beberapa sub kelas, seperti flavonol, flavon, flavanon, flavanols, anthocyanidins, isoflavon, dihydroflavonols dan chalcones. Di antara flavonoid, flavonol (bersama-sama dengan flavanol) adalah yang paling banyak dan didistribusikan luas di alam. Flavonol yang hadir, biasanya yang berikatan dengan glikosida.

ANALISIS HUBUNGAN ANTARA ISOLAT DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

Flavonoid dapat mengikat radikal bebas langsung oleh sumbangan atom hidrogen. Radikal yang dibuat tidak aktif sesuai dengan persamaan berikut, dimana R • adalah radikal dan Fl-O bebas • adalah phenoxyl flavonoid radikal (Heim *et al*, 2002).



Gambar 5. Reaksi Pemulungan radikal bebas oleh flavonoid

Secara *In vitro* aktivitas antioksidan dari flavonoid tergantung pada susunan kelompok fungsional pada struktur inti. Kedua konfigurasi dan jumlah gugus hidroksil secara substansial mempengaruhi mekanisme aktivitas antioksidan. Konfigurasi hidroksil cincin B adalah penentu paling signifikan dari pemulungan ROS (Burda dan Oleszek, 2001). Sedangkan substitusi dari cincin A dan C memiliki dampak kecil pada konstanta laju penangkapan radikal anion superoksida (Taubert et al, 2003).

Flavonol dan turunannya dilaporkan memiliki aktivitas farmakologis terhadap penyakit-penyakit degeneratif, memiliki aktivitas sitotoksik (Sak, 2014; Mohammed *et al.*, 2014; Ahmed *et al.*, 2014; Idizi et al, 2012). Selain itu dilaporkan sebagai antimalarial (Nti-Kang, 2014; Ferraire, 2010; Monbrison, 2006), antifungal dan antibakteri (Alka *et al.*, 2012; Eldizi et al, 2012; Serpa et al, 2012), *antidiabetic* (Vinayagam dan Xu, 2015; Salib et al, 2013; Bansal et al, 2012), antilipidemia (Limei, 2014).

Turunan Flavonol yang telah dipublikasi dan dilaporkan memiliki aktivitas farmakologis sebagai obat kanker antara lain Quercetin (Follo-Martinez et al, 2013), Rutin (Dixit et al, 2014), Quercitrin (cincin, 2014). Sebagai obat antidiabetic antara lain quercetin, rutin, myricitrin, cyanidin 3,5-O-diglucoside, quercitrin. Sebagai obat hiperlipidemia quercetin (Junior et al, 2015), Rutin dan Quercetin (Hu et al, 2012). Sebagai antibakteri yaitu Quercetin dan quercitrin (Tanagawa, 2014). Hasil yang diperoleh dari rangkaian proses fraksinasi, isolasi dan identifikasi struktur senyawa antioksidan Daun Kenikir ini dapat berperan dalam usaha pengembangan obat, sebagai dasar pijakan dalam mencari struktur senyawa yang poten dengan menganalisa lebih lanjut struktur tersebut. Meninjau hubungan kuantitatif struktur kimia dan aktivitas biologis obat (HKSA) untuk mendapatkan suatu obat baru dengan aktivitas yang lebih besar, selektivitas yang lebih tinggi, toksisitas atau efek samping sekecil mungkin dan kenyamanan yang lebih besar.

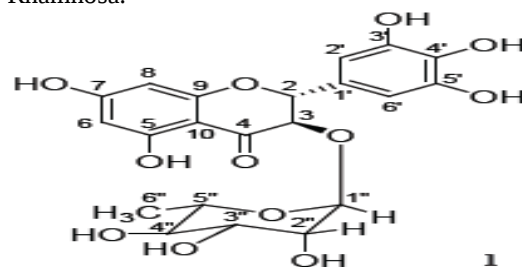
KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Ekstrak metanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol dari ekstrak metanol Daun kenikir (*Cosmos caudatus*) memiliki

aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dari kemampuannya meredam atau menangkap radikal bebas DPPH yang dinyatakan dalam nilai *ES*₅₀, dimana ekstrak metanol 38,9800±2,9225 µg/mL; fraksi metanol 9,96933±4,4134 µg/mL; fraksi etil asetat 53,9532±1,4503 µg/mL; dan fraksi heksan 137,255±4,5748 µg/mL.

2. Berdasarkan analisis spektra UV dan spektra H NMR dari fraksi metanol ekstrak metanol daun kenikir merupakan golongan flavonoid sub kelas flavonol dengan nama senyawa Quercetin 3- o- α- Rhamnosa.



Gambar 6. Quercetin 3- o- α- Rhamnosa

REFERENSI

- Agati, Giovanni; Azzarello, Elisa; Pollastri, Susanna; Tattini, Massimiliano, 2012, *Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance*, Elsevier, Plant Science Volume 196, November 2012, Pages 67–76.
- Ahmed, Sayed A. Dan Emadeldin, M. Kamel, 2014, *Cytotoxic Activities Of Flavonoids From Centaurea Scopia*, The Scientific World Journal Volume 2014.
- Amelia, P., 2011. *Isolasi, Elusidasi Struktur Dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Kimia Dari Daun Garcinia benthami Pierre*. Tesis. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Andarwulan, N., R. Batari, D.A. Sandrasari, B. Bolling and H. Wijaya, 2010. *Flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia*. Food Chemistry, 121(4): 1231-1235.
- Andarwulan, Nuri; Kurniasih, Dewi; Apriady, Riza Aris; Rahmat, Hardianzah; Roto, Anna V; Bolling, Radley W., 2012, *Polyphenols, Carotenoids, And Ascorbic Acid In Underutilized Medicinal Vegetables*, Elsevier, Journal Of Functional Foods Volume 4, Issue 1, January 2012, Pages 339–347.
- Andarwulan, Nuri., Kurniasih, Apriady, Riza., Rahmat, Hardianzah., Roto, Anna V., Bolling, Bradley W., 2012, *Polyphenols, Carotenoids, And Ascorbic Acid In Underutilized Medicinal*

- Vegetables. *Journal Of Functional Foods* Volume 4, Issue 1, January 2012, Pages 339–347
- Bansal, Punit., Paul, Piya., Jayesh, Mudgal, Pawan, Nayak., Pannakal, Steve Thomas, Priyadarsini, Unnikrishnan, 2015, Antidiabetic, Antihyperlipidemic And Antioxidant Effects Of The Flavonoid Rich Fraction Of *Pilea Microphylla* (L.) In High Fat Diet/Streptozotocin-Induced Diabetes In Mice, *Journal Of Food And Nutrition Research*, 2015
- Bansal, V.R., Malviya, Deeksha, T. Malaviya and P.K. Sharma, 2014. Phytochemical, pharmacological profile and commercial utility of tropically distributed plant *Bauhinia variegata*. *Global Journal of Pharmacology*, 8(2): 196-205.
- Barreira JCM, Ferreira ICFR, Oliveira MBPP, Pereira JA., 2008. Antioxidant activities of the extracts from chestnut flower, leaf, skins and fruit. *Food Chem*, 107:1106–1113.
- Becker, C. A., & Van den Brink, R. C. B., 1968, Flora of Java (Spermatophytes only) vol II, Groningen-The Netherlands, Wolters-Noordhoff. N. V
- Blois, Marsden S., 1958, Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical, 1199-1200.
- Burda S, Oleszek W. Antioxidant And Antiradical Activities Of Flavonoids. *J Agric Food Chem* 2001;49:2774–9.
- Cheng, S.-H., Khoo, H. E., Ismail, Abdul-Hamid, Barakatun-Nisak, 2016, Influence Of Extraction Solvents On *Cosmos Caudatus* Leaf Antioxidant Properties, *Iranian Journal Of Science And Technology, Transactions A: Science* March 2016, Volume 40
- Cincin, Zeynep Birsu., Unlu, Miray., Bayram, Kiran., Bireller, Elif Sinem., Baran, Yusuf., Cakmakoglu, Bedia., 2014, Molecular Mechanisms Of Quercitrin-Induced Apoptosis In Non-Small Cell Lung Cancer, *Archives Of Medical Research* Volume 45
- Croft Kd. The Chemistry And Biological Effects Of Flavonoids And Phenolic Acids. *Ann Ny Acad Sci* 2006;854:435–42.
- Delgado-Olivares, L., Betanzos-Cabrera, G., Sumaya-Martínez, M.T., 2010, Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Investigación y Ciencia*. Vol. 50: pp. 10-1.
- De Monbrison F, Maitrejean M, Latour C, Bugnazet F, Peyron E, Barron D, Picot S., 2006, In Vitro Antimalarial Activity Of Flavonoid Derivatives Dehydrosilybin And 8-(1;1)-Dma Kaempferide, www.Ncbi.Nlm.Nih.Gov, Diakses Tanggal 6 Juni 2016
- Dixit, Savita., 2014, Anticancer Effect Of Rutin Isolated From The Methanolic Extract Of *Triticum Aestivum* Straw In Mice, *Med. Sci*. 2014.
- Dwiyantri, W.; Ibrahim, M; Trimulyono, G., 2014, Pengaruh Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos Caudatus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Secara In Vitro, *Lenterabio*, 2014 - Ejournal.Unesa.ac.id.
- Edziri, Hayet., Maha, Mastouri., Mahjoub, Mohamed Ali., Zine, Mighri., Aouni Mahjoub Dan Luc, Verschaeve., 2012, Antibacterial, Antifungal And Cytotoxic Activities Of Two Flavonoids From *Retama Raetam* Flowers, www.Mdpi.Com/Journal/Molecules
- Fransen, Marc; Nordgren, Marcus; Wang, Bo; Apanasets, Oksana, 2012, Role of peroxisomes in ROS/RNS-metabolism: Implications for human disease, Elsevier, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* Volume 1822, Issue 9, September 2012, Pages 1363–1373.
- Ferreira 1, Jorge, F.S., Luthria, Devanand L., Sasaki, Tomikazu Dan Heyerick, Arne., 2010, Flavonoids From *Artemisia Annua* L. As Antioxidants And Their Potential Synergism With Artemisinin Against Malaria And Cancer, www.Mdpi.Com/Journal/Molecules Diakses Tanggal 2 Juni 2016.
- Follo-Martinez, Armando Del., Banerjee, Nivedita., Li, Xiangrong., Stephen Safe Dan Susanne, Mertens, 2013, Resveratrol And Quercetin In Combination Have Anticancer Activity In Colon Cancer Cells And Repress Oncogenic MicroRNA-27a, *Journal Nutrition And Cancer*
- Gandjar, Ibnu gholib dan Rahman, abdul, 2008, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta
- Gritter, R.J., Bobbit, J.M. dan Schwarting, A.E., 1991. *Pengantar Kromatografi*. Terbitan Kedua. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung : Penerbit ITB. Halaman 115, 160-169.
- Goodman, Michael; Bostick, Roberd M.; Kucuk, Omer; Jones, Dean P., 2011, Clinical Trials Of Antioxidants As Cancer Prevention Agents: Past, Present, and Future, Elsevier *Volume 51, Issue 5*, 1 September 2011, Pages 1068–1084.
- Harmita, 2006. *Analisis Fisika Kimia*, Departemen Farmasi FMIPA-UI, Jakarta
- Hayati, E., et al., 2010, Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), *Jurnal Kimia* 4(2): 193-200.
- Hamidun; Baharum, Syarul Nataqain; Bunawan, Siti Noraini; 2014, *Cosmos caudatus* Kunth: A Traditional Medicinal Herb, *Global Journal of Pharmacology* 8 (3): 420-426, 2014 ISSN 1992-0075.
- Heim, Ke, Tagliaferro Ar, Bobilya Dj. Flavonoid Antioxidants: Chemistry, Metabolism And Structure–Activity Relationships. *J Nutr Biochem* 2002.
- Hema dan Sukumar, 2013, Isolation And Phytochemical Studies Of Quercetin And Quercetin 3-O-Rhamnoside, *Research Article Natural Chemistry International Journal Of Pharma And Bio Sciences*.
- Hostettmann K, Hostettmann M, Marston A. 1995. *Cara Kromatografi Preparatif*. Bandung: ITB.
- Hu, Qing-Hua., Zhang, Xian., Ying, Pan., Li, Yu-Cheng, Kong, 2012, Allopurinol, Quercetin And Rutin Ameliorate Renal Nlrp3 Inflammasome Activation And Lipid Accumulation In Fructose-Fed Rats, *Biochemical Pharmacology* Volume 84
- Irawan, T., 2010, Peningkatan Mutu Minyak Nilam dengan Ekstraksi dan Destilasi pada Berbagai Komposisi Pelarut, Tesis Diponegoro University.

- Jayakumar, Sundarraj; Pal, Debojyoti; Sandur, Santosh K, 2015, Nrf2 Facilitates Repair Of Radiation Induced DNA Damage Through Homologous Recombination Repair Pathway In A ROS Independent Manner In Cancer Cells, Elsevier, Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis Volume 779, September 2015, Pages 33–45.
- Junior, Walter A. Roman Angelo L., Piato, Conterato, Greicy M. M., Wildner, Matheus Marcon, Mocelin, Ricieri., Emanuelli, Mauren P. , Emanuelli, Tatiana., Angelita, Nepel., Andersson, Barison., Dan Santos, Cid A. M., Hypolipidemic Effects Of Solidago Chilensis Hydroalcoholic Extract And Its Major Isolated Constituent Quercetrin In Cholesterol-Fed Rats, *Biochemical Pharmacology* Volume 84, Issue 1
- Khanam, Umma Khair Salma; Oba, Shinya; Yanase, Emiko; Murakami, Yoshiya, 2012, Phenolic Acids, Flavonoids And Total Antioxidant Capacity Of Selected Leafy Vegetables, Elsevier, Journal of Functional Foods Volume 4, Issue 4, October 2012, Pages 979–987.
- Khatib, Alfi and Perumal, Vikneswari and Abdul Hamid, Azizah and Abas, Faridah and Khozirah Saari, Intan and Ismail, Safinar and Ismail, Amin, 2014, *Evaluation Of Anti-Diabetic Properties Of Cosmos Caudatus Kunth Leaves In Obese-Diabetic Induced Rat Using Metabolomics Approach*. In: International Health Conference IIUM 2014, 3rd-4th December 2014, Kuantan. (Unpublished)
- La Vecchia, C., Altieri, A., Tavani, A., 2001, Vegetables, Fruit, Antioxidants And Cancer: Review Of Italian Studies. *Eur J Nutr.* Vol. 40, pp. 261-267.
- Liliwirianis, N; Musa, Nor Lailatul Wahidah; Zain, Wan Zuraida Wan Mohd; Kassim, Jamaluddin And Karim, Syaikh Abdul, 2011, Preliminary Studies On Phytochemical Screening Of Ulam And Fruit From Malaysia, *E-Journal Of Chemistry*, Issn: 0973-4945.
- Limei, Ma., Ke, Li., Dandan, Wei., Hengyi, Xiao., Hai, Niu., Wen, Huang., 2015, High Anti-Oxidative And Lipid-Lowering Activities Of Flavonoid Glycosides-Rich Extract From The Leaves Of *Zanthoxylum Bungeanum* In Multi-System, *Pubs.SciPub.Com Diakses Tanggal 2 Juni 2016*
- Lobo, V., A. Patil, A. Phatak, and N. Chandra., 2010, Free Radicals, Antioxidants and Functional Foods: Impact on Human Health. *Pharmacognosy Reviews* 4(8): 118.
- Markham KR. 1988. *Techniques of Flavonoid Identification*. London: Academic Pr.
- Masoko, P. and Eloff, J.N., 2005, The diversity of antifungal compounds of six South African Terminalia species (Combretaceae) determined by bioautography. *Afr. J. Biotechnol.* 4: 1425-1431.
- Mediani, A., F. Abas, A. Khatib, H. Maulidiani, K. Shaari, Y.H. Choi and N.H. Lajis, 2012. 1H-NMR Malaysia based metabolomics approach to understanding the drying effects on the phytochemicals in *Cosmos caudatus*. *Food Research International*, 49(2): 763-770.
- Mediani, A., F. Abas, A. Khatib and C.P. Tan, 2013. *Cosmos caudatus* as a potential source of polyphenolic compounds: Optimisation of oven drying conditions and characterisation of its functional properties. *Molecules*, 18(9): 10452-10464.
- Mediani, Ahmed; Abas, Faridah; Tan, Chin Ping; Khatib, Alfi, 2014, Effects of Different Drying Methods and Storage Time on Free Radical Scavenging Activity and Total Phenolic Content of *Cosmos caudatus*, *Jurnal Teknologi Industri Pertanian* 17(1), www.mdpi.com/journal/antioxidants ISSN 2076-3921, diakses 10 agustus 2015
- Mitchell, T.N., dan Costisella, B., 2007, NMR From Spectra to Structures, an Experimental Approach. 2nd edition, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany.
- Mohamed, Norazlina; Sahhugi, Zulaikha; Ramli, Elvy Suhana Mohd and Norliza, 2013, The Effects Of *Cosmos caudatus* (Ulam Raja) On Dynamic And Cellular Bone Histomorphometry In Ovariectomized Rats, *BMC Res Notes*, 2013 Jun 24;6:239. doi: 10.1186/1756-0500-6-239.
- Molyneux, P., 2004, The use of the stable free radical diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 2004, 26(2) : 211-219.
- Morales-González, José A., 2012, Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases -a Role for Antioxidants, Área Académica de Farmacia, Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.
- Munira, Mohd Amin Sharifuldin, 2014, Profiling And Quantification Of *Cosmos caudatus* Kunth And *Centella asiatica* Linn. And In Vitro Anti Cancer Activity Of *Cosmos caudatus*, Thesis Universitas Malaysia.
- Musialik, [Malgorzata](http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ol051962j) and Litwinienko, 2005, Grzegorz , Scavenging of dpph[•] Radicals by Vitamin E Is Accelerated by Its Partial Ionization: the Role of Sequential Proton Loss Electron Transfer, <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ol051962j>, diakses 10 agustus 2015.
- Mustafa, R.A., A.A. Hamid, S. Mohamed and F.A. Bakar, 2010. Total phenolic compounds, flavonoids and radical scavenging activity of 21 selected tropical plants. *Journal of Food Science*, 75(1): C28-C35.
- Nicola Fuzzati, Sutarjadi, Wahjo Dyatmiko, Abdul Rahman, Kurt Hostettmann, 1995, Phenylpropane derivatives from roots of *Cosmos caudatus*, *Elsiver*.
- Ntie-Kang, Fidele., Onguéné, Pascal Amoa., Lifongo, Lydia L., Ndom, Jean Claude., Wolfgang, Sippl Dan Mbaze, Luc Meva'a., 2014, The Potential Of Anti-Malarial Compounds Derived From African Medicinal Plants, Part II: A Pharmacological Evaluation Of Non-Alkaloids And Non-Terpenoids, *Malaria Journal* 2014

- Pavia, D.L., Lampman, G.M., Kriz, G.S., dan Vyvyan, J.R., 2009, Introduction to Spectroscopy. Saunders College. Philadelphia.
- Prawati, Utamy, 2011, Evaluasi Beberapa Karakter Agronomi, Nilai Gizi Dan Persepsi Masyarakat Terhadap Tanaman Indigenous Di Jawa Barat, <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/51721>, diakses tanggal 10 Agustus 2015.
- Pramono, Suwijiyo., Rachmani., Nur, Prasasti, Eka., 2011, Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) Berdasarkan Klt Densitometri Dan Spektrofotometri Uv-Vis Dari Tiga Daerah Tempat Tumbuh, Jurnal Bahan Alam Indonesia 2011
- Perez-Vizcaino, Francisco., Duarte, Juan., 2010, Flavonols And Cardiovascular Disease, Molecular Aspect Of Medicine, Elsevier
- Perumal, Vikneswari; Hamid, Azizah A; Ismail, Amin; Saari, Khozirah; Abas, Faridah; Ismail, Intan S; Maulidiani; Lajis, Nordi; Khatib, Alfi, 2014, Effect Of *Cosmos caudatus* Kunth Leaves On Lipid Profile Of A Hyperlipidemia – Induced animal Model, Journal Of Food Chemistry And Nutrition ISSN: 2307-4124 (Online), 2308-7943 (Print)
- Putra, Aa Bawa., Bogorani, Nw., Diantariani, 2014, Ekstraksi Zat Warna Alam Dari Bonggol Tanaman Pisang (*Musa Paradisiaca* L.) Dengan Metode Maserasi, Refluks, Dan Sokletasi, Ojs.Unud.Ac.Id. Dikases Tanggal 2 Juni 2016.
- Rafat, A., K. Philip and S. Muniandy, 2010. Antioxidant potential and phenolic content of ethanolic extract of selected Malaysian plants. Research Journal of Biotechnology, 5(1): 16-19.
- Ragasa, C.Y., Nacpil, Z.D., Penalosa, B.A., Coll, J.C., Rideout, J.A. 1997, Antimutagen And Antifungal Compounds From *Cosmos caudatus*, Agris Journal volume 126.
- Rasdi, Nor Hafipah Md; Samah, Othman Abd.; Sule, Abubakar and Ahmed, Qamar U., 2010, Antimicrobial studies of *Cosmos caudatus* Kunth. (Compositae), Journal of Medicinal Plants Research Vol. 4(8), pp. 669-673, 18 April 2010.
- Reczek, Colleen R; Chandel, Navdeep S, 2015, ROS-dependent signal transduction, Elsevier, Current Opinion in Cell Biology Volume 33, April 2015, Pages 8–13.
- Rg Ajeng, A Asngad, M Si, 2016 - Uji Organoleptik Dan Antioksidan Teh Daun Kelor Dan Kulit Jeruk Purut Dengan Variasi Suhu Pengeringan. Eprints.Ums.Ac.Id. Diakses Tanggal 1 Juni 2016
- Rice-Evans Ca, Miller Nj, Paganga G. Structure–Antioxidant Activity Relationships Of Flavonoids And Phenolic Acids. Free Radic Biol Med 1996;20:933–56
- Rosiana , Ani; 2013, Kajian Etnobotani Masyarakat Sekitar Kawasan Cagar Alam Imogiri, Bantul Yogyakarta , Skripsi Thesis, Uin Sunan Kalijaga.
- Sajuthi, D., 2001, Ekstraksi, Fraksinasi, Karakterisasi, dan Uji Hayati In Vitro Senyawa Bioaktif Daun Dewa (*Gynura pseudochina* Linn.) sebagai Antikanker Tahap II, <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/9784>, Diakses tanggal 10 Agustus 2015.
- Sak, Katrin., Cytotoxicity Of Dietary Flavonoids On Different Human Cancer Types, Pharmacogn Rev. 2014 Jul-Dec.
- Salehan, N.M., S. Meon And I.S. Ismail, 2013. Antifungal Activity Of *Cosmos Caudatus* Extracts Against Seven Economically Important Plant Pathogens. International Journal Of Agriculture & Biology Issn Print: 1560 – 8530; ISSN Online: 1814 – 9596 12–1300/2013/15–5–864–870 <http://www.fspublishers.org>.
- Salib, Josline Y., Michael, Helana N. Dan Eskande , Emad Fawzy., 2013, Anti-Diabetic Properties Of Flavonoid Compounds Isolated From *Hyphaene Thebaica* Epicarp On Alloxan Induced Diabetic Rats, Pharmacognosy Res. 2013 Jan-Mar; 5(1): 22–29
- Sankhadip, Bose., Maji, Sushomasri., Chakraborty, Pranabesh., 2013, Quercitrin From *Ixora Coccinea* Leaves And Its Anti-Oxidant Activity, www.pharmascitech.in, Diakses 2 Juni 2016
- Santoni, A., 2009, Elusidasi Struktur Senyawa Metabolit Sekunder Kulit Batang Surian (*Toona sinensis*) Meliaceae dan Uji Aktivitas Insektisida, Disertasi Program Pascasarjana Universitas Andalas Padang.
- Sari, Putu Puspita ; Wiwik, Susanah Rita ; Dan Puspawati, Ni Made. 2015. Identifikasi Dan Uji Aktivitas Senyawa Tanin Dari Ekstrak Daun Trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) Sebagai Antibakteri *Escherichia coli* (*E. coli*). Portal Garuda.
- Serpa, Rosana., Franca., Emanuele., Furlaneto., Andreade, Celia., 2012, In Vitro Antifungal Activity Of The Flavonoid Baicalein Againsts *Candida* Species, Journal Of Medical Microbiology
- Sitorus, M., 2009, Spektroskopi Elusidasi Struktur Molekul Organik, Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Sulaiman, S.F., A.A.B. Sajak, K.L. Ooi, Supriatno and E.M. Seow, 2011. Effect of solvents in extracting polyphenols and antioxidants of selected raw vegetables. Journal of Food Composition and Analysis, 24(4-5): 506-515.
- Sultan, Sameena, 2014, Reviewing the Protective Role of Antioxidants in Oxidative Stress Caused by Free Radicals., Asian Pacific Journal Of Health Sciences, 2014; 1(4): 401-406.
- Supratman, U., 2010, Elusidasi Struktur Senyawa Organik. Widya Padjadjaran. Bandung
- Sutarjadi, N.F., W. Dyatmiko, A. Rahman and K. Hostettmann, 1995. Phenylpropane derivatives from roots of *Cosmos caudatus*. Pergamon Journal of Phytochemistry, 39(2): 409-412.
- Tahir, I., 1992, Pengambilan Asap Cair Secara Destilasi Kering pada Proses Pembuatan Karbon Aktif dari Tempurung Kelapa, Skripsi. FMIPA UGM. Yogyakarta.
- Tanigawa, Yuki., Arimoto, Takafumi., Takamatsu, Satoshi., Kuwata, Hirotaka., Soejima, Kazuhiko., 2014, Antibacterial Activity Of *Hypericum Erectum*, The Showa University Journal Of Medical Sciences Vol. 26 (2014)
- Taubert D, Breitenbach T, Lazar A, Censarek P, Harlfinger S, Berkels R, Et Al. Reaction Rate

- Constants Of Superoxide Scavenging By Plant Antioxidants. *Free Radic Biol Med* 2003;35:1599–607.
- Trinh, L Le, 2014, An Investigation Of Antidiabetic Activities Of Bioactive Compounds In Euphorbia Hirta Linn Using Molecular Docking And Pharmacophore, Medicinal Chemistry Research, 2014 - Springer
- Touchstone, J.C. ,Dobbins, M.F., 1983. *Practice of thin layer chromatography*. Canada: John Wiley & Sons, 2-12.
- USDA
<http://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=COCA21>, Diakses 10 Agustus 2015.
- Wiwik, W., 2012, Kajian Awal Biji Buah Kepayang Sebagai Bahan Baku Minyak Nabati Kakajian Awal Biji Buah Kepayang Sebagai Bahan Baku Minyak Nabati Kasarasar, <http://publication.gunadarma.ac.id/handle/123456789/980>, diakses 10 Agustus 2015.
- Vinayagam, Ramachandran Dan Xu , Baojun., 2015, Antidiabetic Properties Of Dietary Flavonoids: A Cellular Mechanism Review, *Nutrition & Metabolism* 2015
- Yuldashev, M.P., Batirov, E.Kh. , *Bioorganic Chemistry* 26, 877 (2000)
- Yuldashev, M.P., Butayarov, A.V. ., Batirov, E.Kh. , Tadzhibaev, M.M. , *Chem. Nat. Comp.* 35, 628 (1999)
- Zhou, Rongbin; Yazdi, Amir S; Menu, Philippe; and Tschopp, Jürg, 2011, A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation, *Nature* 469,221–225 (13 January 2011).
- Zullaikah., 2015, Subcritical Water Extraction Of Essential Oils From Indonesia Basil (Kemangi) Leaf: Effects Of Temperature And Extraction Time On Yield And Product Composition. Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan, 2015 - Jurnal.Upnyk.Ac.Id.