

PENGUJIAN AKTIVITAS PEREDAMAN RADIKAL BEBAS ABTS (2,2-Azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) FRAKSI ETIL ASETAT DAUN MERAH KASTUBA (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) SERTA IDENTIFIKASI METABOLIT SEKUNDERNYA

TESTING ABTS FREE RADICAL REDUCTION ACTIVITIES (2,2-Azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ETHYL ACETATE FRACTION OF RED CASTUBA (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) LEAVES AND IDENTIFICATION OF ITS SECONDARY METABOLITES

Aulia Putri, Lina Permatasari, Nisa Isneni Hanifa

ABSTRACT

Red poinsettia leaves (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) is a plant that is used as a medicine for dysentery, wounds and broken bones. The ethanol extract of red poinsettia leaves contains compounds that have antioxidant activity such as flavonoids, terpenoids and tannins. Previous research reported that the ethyl acetate fraction of red poinsettia leaves has DPPH radical scavenging activity with an IC_{50} amounted to 13.67 ppm and ascorbic acid amounted to 11.78 ppm. However, testing antioxidant activity using the DPPH method cannot analyze hydrophilic compounds, so a method is needed that can analyze hydrophilic and lipophilic antioxidant compounds such as ABTS. This study aims to determine the free radical scavenging activity of ABTS by the ethyl acetate fraction of red poinsettia leaves and determine the secondary metabolite content using GC-MS. Red poinsettia leaves were macerated with 96% ethanol and fractionated using ethyl acetate and water (1:1), then compound identification was carried out using GC-MS. The ethyl acetate fraction of red poinsettia leaves using the ABTS method has an IC_{50} amounting to 47.54 ppm and ascorbic acid amounting to 15.04 ppm. The results of compound identification using GC-MS show that the ethyl acetate fraction of red poinsettia leaves contains compounds namely cetyl ethylene, 2-cyclohexen-1-one, methyl palmitate, palmitic acid, 1-nonadecene, methyl oleate, phytol isomer, linoleic acid, stearic acid, muscalure, and 1,2-benzenedicarboxylic acid. These compounds are terpenoids, fatty acids and phenolics. Independent sample t-test analysis shows that there is a significant difference in the IC_{50} ascorbic acid with IC_{50} ethyl acetate fraction of red poinsettia leaves. The ethyl acetate fraction of red poinsettia leaves has very strong ABTS free radical scavenging activity so it has the potential to be developed as a treatment for diseases caused by free radicals.

Keywords: Antioxidants, *Euphorbia pulcherrima* Willd., ABTS method.

ABSTRAK

Daun merah kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) merupakan tanaman yang dimanfaatkan sebagai obat disentri, luka, dan patah tulang. Ekstrak etanol daun merah kastuba mengandung senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan

seperti flavonoid, terpenoid, dan tanin. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa fraksi etil asetat daun merah kastuba memiliki aktivitas penangkapan radikal DPPH dengan nilai IC_{50} sebesar 13,67 ppm dan asam askorbat sebesar 11,78 ppm. Akan tetapi, pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH tidak bisa menganalisis senyawa yang bersifat hidrofilik, sehingga diperlukan metode yang bisa menganalisis senyawa antioksidan yang bersifat hidrofilik maupun lipofilik seperti ABTS. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas peredaman radikal bebas ABTS oleh fraksi etil asetat daun merah kastuba serta mengetahui kandungan metabolit sekundernya dengan GC-MS. Daun merah kastuba dimaserasi dengan etanol 96% dan difraksinasi menggunakan etil asetat dan air (1:1), kemudian dilakukan identifikasi senyawa dengan GC-MS. Fraksi etil asetat daun merah kastuba menggunakan metode ABTS memiliki nilai IC_{50} sebesar 47,54 ppm dan asam askorbat sebesar 15,04 ppm. Hasil identifikasi senyawa dengan GC-MS menunjukkan fraksi etil asetat daun merah kastuba mengandung senyawa yaitu setil etilen, 2-cyclohexen-1-one, metil palmitat, asam palmitat, 1-nonadekena, metil oleat, phytol isomer, asam linoleat, asam stearat, muscalure, dan asam 1,2-benzenedikarboksilat. Senyawa-senyawa tersebut merupakan golongan terpenoid, asam lemak, dan fenolik. Analisa independent sample t-test menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada nilai IC_{50} asam askorbat dengan nilai IC_{50} fraksi etil asetat daun merah kastuba. Fraksi etil asetat daun merah kastuba memiliki aktivitas peredaman radikal bebas ABTS yang sangat kuat sehingga potensial dikembangkan menjadi pengobatan penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas.

Kata kunci: Antioksidan, *Euphorbia pulcherrima* Willd., metode ABTS.

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah sebuah atom, gugus, molekul atau senyawa yang berdiri sendiri dan mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluar. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa atau molekul tersebut bersifat reaktif dan tidak stabil sehingga menyerang elektron dari molekul lain yang berada disekelilingnya untuk menstabilkan diri (Halliwell & Gutteridge., 1989). Radikal bebas

dapat berupa *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Spesies* (RNS). ROS menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif adalah keadaan jumlah radikal bebas di dalam tubuh melebihi kemampuan tubuh untuk menetralkannya. Keadaan stres oksidatif ini dapat menyebabkan kerusakan sel, jaringan atau organ yang dapat memicu terjadinya penyakit-penyakit degenerative (susantiningasih, 2015). Oleh karena itu, diperlukan antioksidan yang dapat mencegah

kerusakan yang diakibatkan ROS ini (Mashithah & Andrini, 2021).

Antioksidan terdiri dari antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Tubuh memiliki antioksidan alami seperti glutathione peroxidase, katalase, dan superoksida dismutase yang mampu menetralkan radikal bebas, tetapi dengan bertambahnya usia dan akumulasi ROS menyebabkan antioksidan alami tubuh tidak dapat melindungi kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas dari luar tubuh (Chen et al., 2012). Selain antioksidan alami, antioksidan sintetis yang umum digunakan yaitu *tert-butyl hydroquinone* (TBHQ), *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), dan propil galat (PG). Namun, penggunaan antioksidan sintetis secara berlebihan dapat memicu penyakit yang bersifat karsinogenik (Sayuti & Yenrina, 2015).

Penelitian Sharif *et al.*, (2015) menyatakan senyawa terpenoid, flavonoid, saponin, dan steroid terdeteksi dalam fraksi etil asetat ekstrak metanol kastuba yang diidentifikasi dengan GC-MS. Pada

penelitian Sopiah *et al.*, (2019), aktivitas antioksidan dengan metode DPPH pada ekstrak etanol 96% daun merah kastuba tergolong kuat dengan nilai IC_{50} 79,77 ppm serta ekstrak etanol 96% daun kastuba hijau dengan IC_{50} 118,350 ppm. Fraksi etil asetat ekstrak etanol daun merah kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) memiliki aktivitas antioksidan tergolong sangat kuat yakni dengan nilai IC_{50} sebesar 13,57 ppm menggunakan metode DPPH (Emilga, 2022). Akan tetapi, pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH terbatas karena hanya dapat dilarutkan dalam pelarut organik sehingga sulit untuk menganalisis senyawa yang bersifat hidrofilik (Wulansari, 2018), sehingga diperlukan metode yang dapat menganalisis senyawa antioksidan yang bersifat hidrofilik maupun lipofilik seperti ABTS (Amin *et al.*, 2021). Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penentuan aktivitas peredaman radikal bebas ABTS oleh fraksi etil asetat daun merah kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) serta

identifikasi kandungan metabolit sekunder fraksi etil asetat daun merah kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.).

METODE PENELITIAN

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain alat-alat gelas (IWAKI CTE33, Indonesia), blender (Miyako, Indonesia), *moisture content analyzer* (Labnet, USA), GC-MS (Shimadzu QP2010 ULTRA, Eropa), peralatan maserasi, *rotary evaporator* (Heidolph, UK), *waterbath* (Labnet, USA), Spektrofotometri UV-Vis (Analytik Jena Specord 200 Plus, Germany), cawan porselen, corong pisah (IWAKI CTE33, Indonesia), statif dan klem, kuvet, timbangan analitik (Kern, German), *stopwatch*, *vortex* (Labnet, UK), kertas saring, aluminium foil, pipet tetes, mikropipet (Rainin, USA), *blue tip*, *yellow tip*, *rubber bulb*, gunting, dan vial.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun merah kastuba diperoleh dari desa Sembalun, kabupaten Lombok Timur, Nusa Tenggara Barat. Bahan-

yang digunakan pada penelitian ini antara lain aquades, 2,2-Azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) (Sigma Aldrich, UK), kalium persulfat ($K_2S_2O_8$) (Merck, UK), etanol 96% teknis (Brataco Chemika, Indonesia), etil asetat (Shagufta Laboratory, Indonesia), asam askorbat, etanol p.a (Merck, German).

PROSEDUR PENELITIAN

1. Pengambilan Sampel dan Determinasi

Daun merah kastuba diperoleh dari Desa Sembalun, Kabupaten Lombok Timur, Nusa Tenggara Barat \pm 2,5 kg dengan kriteria daun yang akan dipetik yaitu daun yang berwarna merah. Determinasi sampel dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mataram.

2. Pembuatan Simplisia

Tanaman daun merah kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) dikumpulkan, sebanyak 2,5 kg, disortir terlebih dahulu (sortasi basah), selanjutnya dicuci dan dirajang, kemudian dikeringkan

dengan cara kering angin. Simplisia kering yang diperoleh kemudian dilakukan sortasi kering, lalu dihaluskan dengan menggunakan blender. Daun yang sudah halus di ayak menggunakan ayakan nomor mesh 40 lalu di timbang berat serbuknya (Sopiah *et al.*, 2019).

3. Penetapan Kadar Air

Simplisia ditimbang sebanyak 1-2 gram, kemudian diletakkan ke dalam cawan aluminium pada alat *Moisture Content Analyzer*. Suhu alat diatur menjadi 105°C. Nilai kadar air akan tertera pada alat setelah pengujian selesai dilakukan. Kadar air serbuk simplisia yaitu tidak kurang dari 10% (Depkes RI, 1995).

4. Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 200 gram serbuk simplisia daun merah kastuba dimaserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 2000 mL (1:10) kemudian ditutup dan didiamkan selama 1x24 jam ditempat yang terlindungi dari cahaya matahari dengan pengadukan 6 jam pertama setiap 1 jam, kemudian didiamkan selama 18 jam.

Remaserasi dilakukan sebanyak 2 kali. Filtrat digabungkan, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan *waterbath* pada suhu 45°C sampai seluruh pelarut teruapkan dan didapatkan ekstrak kental (Sopiah *et al.*, 2019).

5. Pembuatan Fraksi

Ekstrak kental etanol daun merah kastuba sebanyak 5,0 gram dilarutkan dalam 50 mL pelarut air, kemudian larutan dipartisi dengan menambahkan 50 mL pelarut etil asetat ke dalam corong pisah, didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan dan dipisahkan lapisan yang terbentuk. Partisi dilakukan sebanyak 3 kali. Fraksi etil asetat dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan *waterbath* pada suhu 40°C sampai diperoleh fraksi kental (Fauzi *et al.*, 2015).

6. Identifikasi Metabolit Sekunder

Fraksi etil asetat daun merah kastuba yang diperoleh dianalisis menggunakan GC-MS Shimidzu QP2010 ULTRA. Gas pembawa yang digunakan yaitu gas helium

dengan kecepatan alir 3 mL/menit, dan suhu tempat injeksi 260°C. Kondisi alat MS meliputi suhu transfer 260°C dan *ion source* 200°C, kolom yang digunakan Rtx-5MS, panjang kolom 30 meter, diameter kolom 0,25 mm, dan ketebalan 0,25 mm.

7. Pengujian Peredaman Radikal Bebas ABTS

a. Pembuatan Larutan Radikal ABTS

1 Pembuatan Larutan ABTS 5,52 mM

ABTS ditimbang sebanyak 14,2 mg kemudian ditambahkan aquadest sampai tanda batas labu ukur 5 mL.

2 Pembuatan Larutan Kalium Persulfat 2,59 mM

$K_2S_2O_8$ ditimbang sebanyak 3,5 mg kemudian ditambahkan aquadest sampai tanda batas labu ukur 5 mL.

3 Pembuatan Larutan Radikal ABTS

Larutan ABTS 5,52 mM 5 mL ditambahkan larutan

kalium persulfat 2,59 mM 5 mL, diinkubasi dalam ruang gelap dengan suhu 22-24°C selama 16 jam hingga dihasilkan warna biru gelap (Rosyantari, 2022).

4 Pengenceran Larutan Radikal ABTS

Larutan radikal ABTS sebanyak 1 mL diencerkan dengan \pm 20 mL etanol p.a, kemudian diukur pada panjang gelombang 734 nm sampai absorbansi sebesar $0,700 \pm 0,02$.

5 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum ABTS

Larutan radikal ABTS yang sudah diencerkan dipipet sebanyak 2,7 mL kemudian ditambahkan dengan 0,3 mL etanol p.a dan diukur pada panjang gelombang 600-800 nm.

b. Pembuatan Larutan Standar Asam Askorbat

1. Pembuatan Larutan Induk 1000 ppm

Sebanyak 10 mg standar asam askorbat dilarutkan dalam etanol p.a dalam labu ukur 10 mL (Rosyantari, 2022).

2. Pembuatan Larutan Intermediet 100 ppm

Larutan induk sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas.

3. Pembuatan Larutan Seri dengan Konsentrasi 2, 6, 10, 14, dan 18 ppm

Larutan dipipet masing-masing sebanyak 100 µl, 300 µl, 500 µl, 700 µl, dan 900 µl dimasukkan kedalam labu ukur 5 mL dan ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas.

4. Penentuan *Operating Time*

Larutan asam askorbat 2 ppm dipipet 0,3 mL, ditambahkan 2,7 mL larutan radikal ABTS dan diukur pada panjang gelombang teoritis 734 nm dengan interval waktu

1 menit dilakukan selama 30 menit (Sukmawati *et al.*, 2018).

5. Pengukuran Absorbansi dengan Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Larutan seri asam askorbat dengan konsentrasi 2 ppm, 6 ppm, 10 ppm, 14 ppm, dan 18 ppm masing-masing dipipet sebanyak 0,3 mL ditambahkan 2,7 mL larutan radikal ABTS. Campuran diinkubasi selama 18 menit, dan dilakukan pengukuran pada panjang gelombang 752 nm.

c. Pembuatan Blanko

Blanko yang digunakan adalah etanol p.a.

d. Pembuatan Larutan Kontrol

Larutan radikal ABTS dipipet 2,7 mL ditambahkan etanol p.a 0,3 mL.

e. Pembuatan Larutan Uji Sampel

1. Pembuatan Larutan Induk Konsentrasi 1000 ppm

Sampel fraksi etil asetat daun merah kastuba ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan menggunakan etanol p.a dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas, sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk sebesar 1000 ppm.

2. Pembuatan Larutan Intermediet 100 ppm

Larutan induk sebanyak 1 mL diencerkan dengan etanol p.a sampai 10 mL dalam labu ukur, sehingga diperoleh larutan intermediet 100 ppm (Wicaksono *et al.*, 2021).

3. Pembuatan Larutan Seri Konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 ppm

Larutan seri konsentrasi dibuat dengan menggunakan larutan intermediet 100 ppm,

dipipet sebanyak 500 μ l, 1000 μ l, 1500 μ l, 2000 μ l, 2500 μ l, dan 3000 μ l kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 5 mL, ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas sehingga didapatkan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, dan 60 ppm.

4. Pengukuran Absorbansi dengan Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Larutan seri konsentrasi masing-masing dipipet sebanyak 0,3 mL pada konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 ppm dimasukkan ke dalam vial kemudian ditambahkan dengan larutan radikal ABTS sebanyak 2,7 mL, dihomogenkan. Larutan di inkubasi selama 18 menit dan dilakukan pengukuran serapan pada panjang gelombang maksimum 752 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengumpulan Sampel dan Hasil Determinasi Tanaman

Daun merah kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) diperoleh dari Desa Sembalun Lawang, Kecamatan Sembalun, Kabupaten Lombok Timur, Provinsi Nusa Tenggara Barat pada bulan Mei 2023. Bagian yang diidentifikasi pada proses determinasi yaitu berupa pohon (Batang, daun, dan bunga) dari tanaman kastuba. Determinasi tanaman kastuba dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mataram. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan merupakan *Euphorbia pulcherrima* Willd. Ex Klotzsch (Kastuba) Dari family *Euphorbiaceae* dengan nomor surat: 04/ UN18.7/LBL/2023.

Hasil Pembuatan Simplisia dan Penetapan Kadar Air

Pembuatan simplisia dimulai dari pengumpulan sampel, kemudian dilakukan sortasi basah. Hasil dari tahap sortasi basah adalah daun merah kastuba basah diperoleh sebanyak 2,5 kg. Setelah sortasi

basah, dilakukan tahap pencucian bertujuan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang masih melekat (Febriansah, 2017). Daun yang telah dicuci selanjutnya dilakukan tahap perajangan.

Tahap selanjutnya yaitu pengeringan simplisia. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air sehingga dapat mempertahankan mutu dari sampel (Latief *et al.*, 2021). Pada penelitian ini, metode pengeringan yang digunakan yaitu metode kering angin. Proses pengeringan ini berlangsung selama 21 hari.

Tahap selanjutnya simplisia dihaluskan dan diayak dengan ayakan mesh 40. Hasil yang diperoleh pada pembuatan simplisia berupa serbuk kering simplisia daun merah kastuba dengan berat sebesar 0,340 kg (340 g). Berat sampel basah sebelum dikeringkan sebesar 2,5 kg menjadi 0,340 kg setelah dikeringkan dengan persen rendemen simplisia sebesar 13,6 %.

Kadar air simplisia daun merah kastuba memiliki nilai $7,71 \pm 0,25$ %, jika dibandingkan dengan literatur menunjukkan hasil yang sesuai yaitu

dibawah 10%. Syarat mutu mengenai kadar air simplisia tidak lebih dari 10% (Depkes RI, 1995). Hal ini menunjukkan kadar air simplisia daun merah kastuba dengan metode kering angin berada pada rentang persyaratan mutu simplisia dan dapat diolah lebih lanjut ke tahap ekstraksi.

Hasil Ekstraksi Simplisia

Maserasi dilakukan 1x24 jam dengan cara simplisia direndam dalam pelarut etanol 96% dan dilakukan pengadukan pada 6 jam pertama setiap 1 jam secara manual pada suhu ruang dan tanpa terkena cahaya, selanjutnya didiamkan selama 18 jam. Penggunaan pelarut etanol 96% pada penelitian ini dikarenakan etanol merupakan pelarut universal yang dapat menarik senyawa polar, nonpolar, maupun semipolar (Harborne, 1987). Pelarut etanol 96% merupakan pelarut yang paling maksimal dalam menarik senyawa fenolik dan flavonoid dibandingkan pelarut air atau campuran etanol air lainnya (Ningsih & Oktadiana, 2019).

Pada proses maserasi, dilakukan remaserasi sebanyak 2 kali. Adanya tahap remaserasi dapat

memaksimalkan proses penarikan senyawa aktif pada tumbuhan karena pelarut yang digunakan pada proses maserasi pertama dapat jenuh sehingga tidak dapat menarik kembali senyawa aktif yang masih terkandung dalam simplisia. Langkah terakhir dalam proses ekstraksi yaitu pengentalan ekstrak menggunakan *rotary evaporator* 50 rpm pada suhu 45°C.

Hasil akhir dari proses ekstraksi ini adalah diperoleh ekstrak kental daun merah kastuba dengan bobot 8,6951 gram. Ekstrak kental yang diperoleh berwarna hitam keunguan dengan bau khas. Persen rendemen ekstrak yang diperoleh sebesar 8,695 %.

Hasil Fraksinasi Ekstrak

Pada penelitian ini digunakan dua macam pelarut yang memiliki sifat kepolaran yang berbeda yaitu air (polar) dan etil asetat (semi polar). Perbandingan ekstrak dan pelarut yang digunakan yaitu 1:10 yaitu 5 gram ekstrak daun merah kastuba dalam 50 mL pelarut air dan etil asetat. Pada proses fraksinasi, terbentuk 2 lapisan, lapisan atas pelarut etil asetat dan lapisan bawah

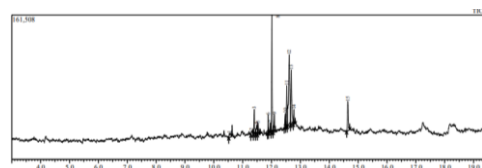
adalah air karena massa jenis etil asetat (0,66 g/mL) lebih rendah dibandingkan dengan massa jenis air (1 g/mL) (Suhaenah *et al.*, 2021). Pemisahan terjadi karena massa jenis dari masing-masing pelarut berbeda, pelarut dengan massa jenis lebih besar akan berada dibagian bawah, sementara pelarut yang memiliki massa jenis lebih kecil akan berada di sisi atas corong pisah. Digunakan pelarut etil asetat pada proses fraksinasi ini karena merupakan pelarut yang bersifat semipolar sehingga dapat menarik senyawa-senyawa antioksidan yang bersifat polar, semipolar, maupun nonpolar. Etil asetat memiliki toksisitas rendah, dan mudah diuapkan sehingga dapat digunakan untuk fraksinasi (Putri *et al.*, 2013).

Fraksi kental etil asetat di peroleh sebesar 1,3726 gram dengan rendemen yang didapatkan sebesar 27,408% dan fraksi kental air sebesar 3,5935 gram dengan rendemen fraksi air sebesar 71,755%. Perbedaan rendemen antara fraksi etil asetat dan air disebabkan karena perbedaan kepolaran pada kedua pelarut. Pelarut yang berbeda akan melarutkan

senyawa-senyawa yang berbeda tergantung tingkat kepolarannya (Wendersteyt *et al.*, 2021).

Hasil Identifikasi Metabolit Sekunder

Hasil identifikasi kandungan kimia fraksi etil asetat daun merah kastuba menggunakan GC-MS (*Gas Chromatography-Spectrometry Mass*) menghasilkan 15 peak yang ditunjukkan pada **Gambar 1**. Hasil perbandingan antara 15 senyawa target dengan library WILEY7.LIB hanya 11 senyawa target yang sesuai dengan senyawa pada library yaitu senyawa puncak 3, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, dan 15. Data 4 senyawa target lainnya tidak tersedia dalam library yaitu senyawa puncak 1, 2, 4, dan 7.



Gambar 1. Kromatogram Fraksi Etil Asetat Daun Merah Kastuba

Senyawa-senyawa yang telah dipisahkan oleh GC akan dianalisis lebih lanjut menggunakan MS, pada MS dihasilkan data berupa rasio massa muatan (m/z) atau spektrum massa. Spektrum massa yang

diperoleh dianalisis dengan membandingkan spektra MS senyawa target dengan standar yang ada pada referensi alat yaitu WILEY7.LIB. Data senyawa hasil analisis GC-MS dapat dilihat pada **Tabel 1.**

Ada 3 peak utama sebagai komponen yang dominan yaitu asam linoleat, asam palmitat, dan asam stearat. Peak 8 yaitu senyawa asam heksadekanoat (asam palmitat) dengan waktu retensi (Rt) sebesar 12,009 menit, rumus molekul $C_{16}H_{32}O_2$, massa molekul (m/z) 256, persentase area 17,28, serta *similarity index* (SI) sebesar 96%. *Similarity index* (SI) berpengaruh terhadap identifikasi komponen senyawa berdasarkan kemiripan pola fragmentasi yang ada di library (Fitriani *et al.*, 2020). Asam palmitat merupakan asam lemak jenuh yang tersusun dari 16 atom karbon $CH_3(CH_2)_{14}COOH$ termasuk dalam golongan senyawa lipid. Asam palmitat merupakan asam lemak rantai panjang yang mempunyai titik didih yang tinggi, tidak mudah teroksidasi, dan bersifat hidrofobik (Pangesti *et al.*, 2014). Asam palmitat

($C_{16}H_{32}O_2$) dilaporkan memiliki aktivitas biologis sebagai antioksidan, penurun kolesterol, dan inhibitor hemolisis (Suryowati *et al.*, 2015).

Hasil analisis komponen kimia fraksi etil asetat daun merah kastuba menunjukkan adanya senyawa-senyawa yang berperan sebagai antioksidan seperti asam stearat, asam palmitat (Asbanu *et al.*, 2019). Senyawa metil palmitat, asam linoleat, asam 1,2-benzenedikarboksilat, phytol isomer, 1-nonadekena, 2-cyclohexen-1-one, serta setil etilen juga berperan dalam aktivitas antioksidan. Senyawa-senyawa ini termasuk golongan terpenoid, asam lemak, dan fenolik.

Senyawa yang berhasil diidentifikasi pada penelitian ini berbeda dengan penelitian oleh Sharif *et al* (2015) yang menggunakan fraksi etil asetat dari ekstrak metanol daun kastuba. Penelitian Sharif *et al* (2015) berhasil mengidentifikasi adanya senyawa golongan terpenoid, flavonoid, saponin, dan steroid. Hal ini disebabkan oleh perbedaan pelarut saat ekstraksi, sehingga senyawa

yang tersari dari tanaman juga lebih bervariasi (Niah & Febrianti, 2018).

Peak 12 adalah senyawa 9,12-asam oktadekadienoat (asam linoleat) dengan rumus molekul $C_{18}H_{32}O_2$, berat molekul (BM) 280, dan waktu retensi (Rt) 12,612 menit, persentase area 26,24%, dan nilai kemiripan (SI) sebesar 93%. Senyawa utama tersebut memiliki nilai kemiripan

dengan database WILEY7.LIB. di atas 90%. Nilai *similarity index* suatu komponen senyawa semakin mendekati 100% menunjukkan bahwa senyawa yang teridentifikasi semakin mendekati senyawa standar yang ada di database WILEY7.LIB. (Wati *et al.*, 2017). (Wati *et al.*, 2017). Asam linoleat termasuk golongan asam lemak.

Tabel 4. 1 Hasil Identifikasi GC-MS Fraksi Etil Asetat Daun Merah Kastuba

Peak	RT (menit)	Nama Senyawa	Golongan Senyawa	RM	BM (m/z)	Kelimpahan (%)	SI (%)
1	10,540	Tidak teridentifikasi	-	-	-	1,76	-
2	11,305	Tidak teridentifikasi	-	-	-	2,11	-
3	11,401	Setil Etilen	Terpenoid	$C_{20}H_{40}$	280	5,11	91
4	11,492	Tidak teridentifikasi	-	-	-	2,80	-
5	11,532	2-Cyclohexen-1-one	Terpenoid	$C_{13}H_{18}O_3$	222	2,63	81
6	11,881	Metil Palmitat	Asam lemak	$C_{17}H_{34}O_2$	270	2,05	96
7	11,959	Tidak teridentifikasi	-	-	-	2,21	-
8	12,009	Asam palmitat	Asam lemak	$C_{16}H_{32}O_2$	256	17,28	96
9	12,099	1-Nonadekena	Terpenoid	$C_{19}H_{38}$	266	3,73	95
10	12,476	Metil Oleat	Asam lemak	$C_{19}H_{36}O_2$	296	2,76	90
11	12,527	Phytol isomer	Terpenoid	$C_{20}H_{40}$	296	8,20	96
12	12,612	Asam linoleat	Asam lemak	$C_{18}H_{32}O_2$	280	26,24	93
13	12,684	Asam Stearat	Asam lemak	$C_{18}H_{36}O_2$	284	13,27	94
14	12,775	Muscalure	Hidrokarbon	$C_{23}H_{46}$	322	2,54	89
15	14,642	Asam 1,2-benzenedikarb oksilat	Fenolik	$C_{24}H_{38}O_4$	390	7,31	95

Keterangan :

Tidak teridentifikasi = Senyawa target yang tidak tersedia dalam library

Hasil Uji Aktivitas Peredaman Radikal Bebas ABTS

Uji antioksidan dilakukan untuk mengetahui aktivitas peredaman radikal bebas dari fraksi etil asetat daun merah kastuba dengan metode ABTS. Prinsip pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS yaitu peredaman radikal kation ABTS oleh senyawa antioksidan sehingga terjadi perubahan warna dari biru kehijauan menjadi tidak berwarna (Raharjo *et al.*, 2022). Sebelum dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode ABTS perlu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum dan *operating time* yang akan digunakan dalam pengujian. Blanko yang digunakan pada penelitian ini yaitu metanol p.a. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengukur absorbansi senyawa pada daerah visibel, sehingga diperoleh serapan yang maksimum (Vifta *et al.*, 2019). Panjang gelombang maksimum ABTS diperoleh pada penelitian ini sebesar 752 nm dengan nilai absorbansi sebesar 0,6652. Pada penelitian (Raharjo *et al.*, 2022)

didapatkan panjang gelombang maksimum ABTS sebesar 750 nm sehingga tidak berbeda jauh dari hasil panjang gelombang yang telah ditetapkan.

Penentuan *operating time* dilakukan untuk menentukan waktu dimana reaksi antara sampel dengan pereaksi berada pada kondisi optimum. Kondisi optimum ditunjukkan dengan nilai absorbansi yang stabil (Sopiah, 2019). Hasil pembacaan absorbansi yang stabil didapatkan pada menit ke-18. Hasil yang diperoleh mendekati hasil yang didapat pada penelitian (Vifta *et al.*, 2019) dengan *operating time* 14 menit. Pemilihan *operating time* pada menit ke-18 karena pada waktu tersebut menunjukkan waktu pertama mulai stabilnya absorbansi.

Aktivitas peredaman radikal bebas ABTS dinyatakan sebagai nilai IC_{50} . Panjang gelombang 752 nm dan *operating time* selama 18 menit digunakan untuk melakukan penentuan nilai IC_{50} sehingga diperoleh persamaan regresi yang digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} dengan cara memplotkan konsentrasi sebagai sumbu x dan

persen inhibisi sebagai sumbu y. Diperoleh 3 persamaan regresi dari 3 kali replikasi seperti **Tabel 2**.

Berdasarkan hasil perhitungan nilai IC_{50} asam askorbat diperoleh berdasarkan persamaan regresi masing-masing dengan 3 kali replikasi yaitu sebesar $15,04 \pm 0,61$ ppm. Berdasarkan tingkat kekuatan antioksidan, maka nilai IC_{50} asam askorbat yang didapatkan pada penelitian ini tergolong sangat kuat (Nilai $IC_{50} < 50$ ppm). Hasil yang didapatkan lebih kuat dibandingkan dengan nilai IC_{50} asam askorbat pada penelitian Faisal (2019) yang mendapatkan nilai IC_{50} asam askorbat sebesar 28,35 ppm. Nilai IC_{50} fraksi etil asetat juga diperoleh berdasarkan persamaan regresi masing-masing dengan 3 kali replikasi yaitu sebesar $47,54 \pm 0,23$ ppm tergolong sangat kuat (Nilai $IC_{50} < 50$ ppm). Aktivitas antioksidan fraksi etil asetat daun merah kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun merah kastuba pada penelitian Sopiah (2019) menggunakan metode DPPH yang

mendapatkan nilai IC_{50} sebesar 79,77 ppm yang tergolong kuat (50-100 ppm). Aktivitas antioksidan pada fraksi etil asetat lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanolnya karena senyawa antioksidan yang terkandung dalam fraksi lebih murni dan lebih terkonsentrat dibandingkan ekstrak etanolnya (Imrawati *et al.*, 2017).

Nilai IC_{50} fraksi etil asetat daun merah kastuba pada penelitian ini berbeda dengan nilai IC_{50} yang diperoleh pada penelitian sebelumnya yang menggunakan metode DPPH yaitu 13,67 ppm (Emilga, 2022). Hal ini bisa disebabkan karena perbedaan metode serta pada saat ekstraksi penarikan senyawa yang bersifat antioksidan tidak terekstrak sempurna. Perbedaan ini juga terjadi disebabkan oleh perbedaan mekanisme antioksidan dari masing-masing metode sebagai senyawa radikal bebas yang mempengaruhi kemampuan sampel fraksi etil asetat daun merah kastuba dalam meredam radikal bebas (Kurniasari *et al.*, 2022).

Aktivitas antioksidan fraksi etil asetat daun merah kastuba tergolong sangat kuat didukung dengan kandungan metabolit sekunder yang terkandung didalamnya. Berdasarkan hasil identifikasi metabolit sekunder menggunakan GC-MS fraksi etil asetat daun merah kastuba mengandung senyawa-senyawa yang berperan dalam aktivitas antioksidan

yaitu asam oktadekanoat, asam 9,12-oktadekadienoat, asam heksadekanoat (asam palmitat), asam heksadekanoat (metil palmitat), 1,2-Benzenedicarboxylic acid, phytol isomer, 1-Nonadecene, 2-Cyclohexen-1-one, dan 1-Eicosene. Hasil perhitungan nilai IC₅₀ disajikan pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil Uji Antioksidan ABTS

Sampel	Persamaan Regresi Linear	R	IC ₅₀ (ppm)	Rerata	
				IC ₅₀ ± SD (ppm)	%RSD
Asam	$y = 3,1448x + 0,777$	0,993	15,65 ^a	15,04 ^a ± 0,74	0,74
Askorbat	$y = 3,5639x - 0,6629$	0,995	14,21 ^a		
	$y = 3,383x - 1,6524$	0,998	15,27 ^a		
Fraksi Etil	$y = 0,8752x + 8,5571$	0,992	47,35 ^b	47,54 ^b ± 0,23	0,49
Asetat	$y = 1,0244x + 1,3654$	0,975	47,48 ^b		
	$y = 1,2109x - 7,8828$	0,992	47,80 ^b		

Keterangan :

Notasi huruf dalam 1 baris berbeda menunjukkan adanya perbedaan signifikan (nyata) dari hasil uji *independent sample t-test* pada tingkat kepercayaan 95%.

Berdasarkan hasil perhitungan pada **Tabel 2** menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun merah kastuba memiliki nilai antioksidan yang tinggi. Data rata-rata nilai IC₅₀ yang diperoleh pada asam askorbat dan

sampel fraksi etil asetat daun merah kastuba dianalisis lebih lanjut menggunakan perangkat lunak SPSS versi 25 dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil uji *independent sample t-test* diperoleh nilai sig. *Levene's test*

for equality of variances sebesar $0,108 > 0,05$ yang menunjukkan data nilai IC_{50} antara asam askorbat dengan fraksi etil asetat daun merah kastuba adalah homogen atau sama (Sujarweni & Utami, 2014). Berdasarkan tabel *significance one-sided p* dan *two-sided p* diketahui nilai *sig.* sebesar $0,001 < 0,05$ menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna pada nilai rata-rata IC_{50} asam askorbat dengan nilai rata-rata IC_{50} fraksi etil asetat daun merah kastuba yang artinya larutan standar asam askorbat dan sampel uji fraksi etil asetat daun merah kastuba memiliki aktivitas peredaman radikal bebas ABTS yang berbeda. Meski berbeda, nilai IC_{50} asam askorbat dan fraksi etil asetat daun merah kastuba masih berada pada kategori kekuatan antioksidan yang sama yaitu berada pada kategori yang sangat kuat (<50 ppm).

Senyawa yang diduga berperan besar dalam aktivitas antioksidan fraksi etil asetat daun merah kastuba adalah senyawa golongan terpenoid dan beberapa senyawa golongan asam lemak. Asam askorbat digunakan pada penelitian ini karena

merupakan sumber antioksidan yang sangat kuat dan merupakan senyawa murni, dapat mendonorkan atom hidrogen dalam jumlah besar (Fitriani *et al.*, 2020).

Berdasarkan hasil identifikasi metabolit sekunder menggunakan metode GC-MS menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun merah kastuba mengandung senyawa-senyawa yang berperan dalam aktivitas antioksidan yaitu asam stearat, asam linoleat, asam palmitat, metil palmitat, asam 1,2-benzenedikarboksilat, phytol isomer, 1-nonadekena, 2-cyclohexen-1-one, dan setil etilen. Pada penelitian Emilga (2022), melaporkan bahwa fraksi etil asetat daun merah kastuba mengandung senyawa metabolit sekunder fenolik, flavonoid, tanin, dan terpenoid. Ekstrak etanol daun merah kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd) memiliki kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, dan terpenoid serta memiliki potensi sebagai antioksidan (Sopiah *et al.*, 2019).

Berdasarkan penelitian ini, fraksi etil asetat daun merah kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.)

memiliki aktivitas peredaman radikal bebas ABTS sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar $47,54 \pm 0,23$ ppm sehingga potensial digunakan sebagai alternatif bahan baku untuk pengembangan obat-obatan penyakit degeneratif seperti kanker dan penuaan dini. Senyawa terpenoid,

asam lemak, dan fenolik yang terkandung di dalam fraksi etil asetat daun merah kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) dapat dikembangkan sebagai pengobatan untuk mencegah beberapa penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa :

- a. Fraksi etil asetat daun merah kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) memiliki aktivitas peredaman radikal bebas ABTS dengan nilai IC_{50} sebesar $47,54 \pm 0,23$ ppm yang tergolong aktivitas antioksidan sangat kuat (<50 ppm).
- b. Fraksi etil asetat daun merah kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu setil etilen, 2-cyclohexen-1-one, metil palmitat, asam palmitat, metil oleat, 1-nonadekena, phytol isomer, asam linoleat, asam stearat, muscalure, dan asam 1,2-benzenedikarboksilat.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, A., Riski, R., & Sutamanggala, N. R. (2021). Antioxidant activity of mesocarp extract of watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb) Matsun & Nakai) using ABTS method. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 6(1), 1–5.
- Arista, M. (2013). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 80% Dan 96% Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.). *Calyptra: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya Vol.2*, 2(2), 1–16.
- Chen, L., Hu, J. Y., & Wang, S. Q. (2012). The role of antioxidants in photoprotection: A critical review. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 67(5), 1013–1024.
- Emilga, E. V. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Merah Kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) Dengan Metode DPPH. Universitas Mataram.
- Faisal, H. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) Dengan Metode DPPH (1, 1-difenil-2-pikrilhidrazil) dan Metode ABTS (2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid). *Regional Development Industry & Health Science, Technology and Art of Life*, 2(1), 1–5.
- Febriansah, R. (2017). Pemberdayaan Kelompok Tanaman Obat Keluarga Menuju Keluarga Sehat Di Desa Sumberadi, Mlati, Sleman. *Jurnal Berdikari*, 5(2), 80–90.
- Fitriana, W. D., Fatmawati, S., & Ersam, T. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-fraksi Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *SNIP Bandung*, 658.
- Fitriani, R., Rosyidah, K., & Rohman, T. (2020). Uji Aktivitas antioksidan dan Analisis Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Fraksi Etil Asetat Daun Purun Tikus (*Eleocharis dulcis*). *Chimica et Natura Acta*, 8(3), 104–108.
<https://doi.org/10.24198/cna.v8.n3.32204>
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1989). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Clarendon Press.
- Harborne, J. (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Edisi I (Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Penerjemah)*. ITB Press.
- Latief, M., Tarigan, I. L., Sari, P. M., & Aurora, F. E. (2021). Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Pada Mencit Putih Jantan. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(1), 23–37.
<https://doi.org/10.23917/pharmacon.v18i01.12880>
- Mashithah, & Andrini, N. (2021). Pengaruh beta-glukan dari ekstrak ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) Terhadap Penyembuhan Luka Sayat Pada Mencit Wibstar

- Jantan. *Jurnal Ilmiah Simantek*, 3(2), 58–66.
- Ningsih, V. D., & Oktadiana, I. (2019). Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Nilai Sun Protection Factor Maserat Daun Kelor. *Jurnal Farmasi Tinctura*, 1(1), 9–13.
- Pangesti, D. A., Rahim, A., & Hutomo, G. S. (2014). Karakteristik Fisik, Mekanik Dan Sensoris Edible Film Dari Pati Talas Pada Berbagai Konsentrasi Asam Palmitat. *E-J. Agrotekbis*, 2(6), 604–610.
- Putri, W. S., Warditiani, N. K., & Larasanty, L. P. F. (2013). Skrining fitokimia ekstrak etil asetat kulit buah manggis (*Garcinia Mangostana* L.). *Journal Pharmacon*, 09(4), 56–59.
- Raharjo, D., Listyani, T. A., & Pambudi, D. B. (2022). Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Akar *Rhizopora stylosa* Metode ABTS dan FRAP. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 15(2), 123–137.
<https://doi.org/10.48144/jiks.v15i2.1148>
- RI, D. K. (1995). *Farmakope Indonesia Jilid IV*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- Rosyantari, A. (2022). *Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Spons Laut Stylissa flabelliformis Menggunakan Metode DPPH dan ABTS Serta Penetapan Metabolit Sekundernya*. Universitas Mataram.
- Sayuti, K., & Yenrina, R. (2015). *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Andalas University Press.
- Sharif, H. B., Mukhtar, M. D., Mustapha, Y., & Lawal, A. O. (2015). Preliminary Investigation of Bioactive Compounds and Bioautographic Studies of Whole Plant Extract of *Euphorbia pulcherrima* on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, and *Pseudomonas aeruginosa*. *Advances in Pharmaceutics*, 2015, 1–14.
- Sopiah, B. (2019). *Uji Aktivitas Penghambatan Radikal Bebas Dan Penentuan Kandungan Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Kastuba (Euphorbia pulcherrima Willd.)*. Universitas Mataram.
- Sopiah, B., Muliastari, H., & Yuanita, E. (2019a). Skrining Fitokimia dan Potensi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Hijau dan Daun Merah Kastuba. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 17(1), 27.
- Sopiah, B., Muliastari, H., & Yuanita, E. (2019b). Skrining Fitokimia Dan Potensi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 17(1).
- Suhaenah, A., Pratama, M., & Amir, H. W. (2021). *Penetapan Kadar Flavonoid Fraksi Etil Asetat Daun Karet Kebo (Ficus elastica) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis*. 13(1), 48–54.
- Sukmawati, Sudewi, S., & Pontoh, J. (2018). Optimasi dan Validasi Metode Analisis Dalam Penentuan Kandungan Total Flavonoid Pada Ekstrak Daun

- Gedi Hijau (*Abelmoscus manihot* L.) yang Diukur Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi*, 7(3), 32–41.
- Suryowati, T., Rimbawan, Damanik, R., Bintang, M., & Handharyani, E. (2015). Identifikasi Komponen Kimia Dan Aktivitas Antioksidan Dalam Tanaman Torbangun (*Coleus Amboinicus* Lour). *Jurnal Gizi Pangan*, 10(3), 217–224.
- susantiningih, tiwuk. (2015). Obesitas Dan Stress Oksidatif. *Jurnal Kesehatan Universitas Lampung*, 5(9), 219–225.
- Vifta, R. L., Rahayu, R. T., & Luhurningtyas, F. P. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) dan Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roscoe var *Rubrum*) dengan Metode ABTS (2,2-Azinobis (3-Etilbenzotiazolin)-6-Asam Sulfonat). 8(3), 198–201.
- Wendersteyt, N. V., Wewenggang, D. S., & Abdullah, S. S. (2021). Uji Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak Dan Fraksi Ascidian *Herdmania momus* Dari Perairan Pulau Bangka Likupang Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* Dan *Candida albicans*. *Pharmacoon*, 10(1), 706–712.
- Wicaksono, B., Pratimasari, D., & Lindawati, N. Y. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Fraksi Polar, Semi Polar dan Non Polar Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.) Dengan Metode ABTS. *Jurnal Kesehatan Kartika*, 16(3), 88–94.
- Wulansari, A. N. (2018). Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium varingiaefolium*) Sebagai Antioksidan Alami : Review. *Farmaka*, 16(2), 419–429.