PENGARUH PERBEDAAN PELARUT TERHADAP KADAR TOTAL FENOLIK DAN KADAR TOTAL FLAVONOID EKSTRAK DAUN KITOLOD (*Isotoma longiflora (L.)*)

(THE EFFECT OF A SOLVENT EXTRACTION ON THE TOTAL PHENOLIC AND THE TOTAL FLAVONOID KITOLOD LEAF EXTRACT (Isotoma longiflora (L.))

Septiana Laksmi RAMAYANI, Risza Widi OCTAVIANA, Sekar Seto ASOKAWATI
Politeknik Katolik Mangunwijaya Semarang
septianaLR@gmail.com

Intisari

Ekstrak etanolik daun kitolod (*Isotoma longiflora* (L).) diketahui mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* penyebab karies gigi, namun termasuk dalam kategori sedang. Aktivitas antibakteri ekstrak daun kitolod karena mengandung senyawa fenolik dan flavonoid. Aktivitas antibakteri berkaitan dengan kadar senyawa yang terkandung. Salah satu cara untuk meningkatkan kadar senyawa dapat dilakukan penggantian pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh perbedaan pelarut terhadap kadar total fenolik dan kadar total flavonoid ekstrak daun kitolod. Jenis pelarut yang digunakan adalah etanol 96% dan methanol. Analisa data dilakukan dengan uji non parametrik Mann-Whitney. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbedaan jenis pelarut berpengaruh signifikan terhadap kadar total fenolik dan flavonoid ekstrak daun kitolod. Pelarut metanol menghasilkan kadar total fenolik dan flavonoid yang lebih tinggi daripada pelarut etanol.

Abstract

Kitolod leaf extract (Isotoma longiflora (L).) has been known to inhibit bacterial growth Streptococcus mutans cause dental caries, which in a middle category. Antibacterial activity relating to the compounds contained .One way to increase levels of a compound can be done for a solvent used in the process of extracting .The antibacterial activity of kitolod leaf extract is influenced by phenolic and flavonoid compounds. The aim of this study is to determine the effect of the extraction solvent on the total phenolic level and total flavonoid level of the kitolod leaf extract. The extraction solvents are ethanol 96% and methanol. The results showed that the different extraction solvents affected the total phenol level and total flavonoid level of the kitolod leaf extract. Methanol as an extraction solvent provides the highest total phenolic level and total flavonoid level than another extraction solvent.

Keywords: kitolod leaf extract, solvent extraction, total phenolic level, total flavonoid level

PENDAHULUAN

Karies gigi merupakan penyakit gigi dan mulut yang paling banyak diderita oleh masyarakat Indonesia pada semua tingkat umur. Menurut data dari Kemenkes RI (2018), menyebutkan bahwa prevalensi karies gigi yang terjadi di Indonesia sebesar 46,33%. Salah satu penyebab dari karies gigi

adalah bakteri *Streptococcus mutans* (Bontjura *et al.,* 2015).

Penelitian Rosidah *et al*., (2014), menunjukkan bahwa ekstrak etanolik daun kitolod *(Isotoma longiflora* L.*)* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Ekstrak daun kitolod mengandung senyawa fenolik dan flavonoid (Fazil *et al*., 2017), yang dapat berkhasiat sebagai antibakteri. Mekanisme senyawa fenol sebagai antibakteri adalah dengan merusak dinding sel dan merusak enzim-enzim pada bakteri (Mhaske, 2012). Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri yaitu dapat menghambat sintesis asam nukleat, fungsi membran sel, dan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri sehingga dapat mengganggu pertumbuhan bakteri (Rijayanti, 2014).

Aktivitas antibakteri ekstrak daun kitolod pada konsentrasi 0,001% memiliki daya hambat sebesar 6,2016 mm. Aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun kitolod termasuk dalam kategori sedang. Kadar senyawa yang terkandung dalam ekstrak secara signifikan mempengaruhi aktivitas antibakteri yang dihasilkan (Mahboubi, et al., 2015). Semakin tinggi kadar senyawa yang terkandung maka akan semakin tinggi aktivitas antibakterinya. Dalam upaya peningkatan aktivitas antibakteri ekstrak daun kitolod maka perlu ditingkatkan senyawa dalam ekstrak daun kitolod, salah satunya dengan mengganti jenis pelarut yang digunakan. Senyawa fenol dan flavonoid merupakan senyawa polar, maka perlu dilakukan penggantian pelarut yang lebih polar yaitu methanol untuk meningkatkan kadar senyawa yang dihasilkan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh jenis pelarut terhadap kadar total fenolik dan kadar total flavonoid ekstrak daun kitolod.

METODE PENELITIAN

BAHAN DAN ALAT

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kitolod berwarna hijau tua, etanol 96%, methanol, $FeCl_3$, serbuk Mg, HCl pekat pereaksi Folin-Ciocalteau, Na_2CO_3, AlCl3, NaNO2.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, labu takar, *matglass*, *beakerglass*, neraca analitik (Ohaus), oven, waterbath, *mechanical shaker*, *moisture analyzer*

(Ohaus), Spektrofotometer UV-VIS (Merck).

JALANNYA PENELITIAN

a. Ekstraksi daun kitolod

Metode ekstraksi daun kitolod yang digunakan adalah metode remaserasi selama 2x24 jam dengan penggantian pelarut setiap 24 jam. Perbandingan simplisia:pelarut yang digunakan adalah 1: 10. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% dan methanol. Filtrat yang dihasilkan diuapkan hingga kental dan dilakukan kontrol kualitas meliputi organoleptis, rendemen dan susut pengeringan. Masing-masing proses ektraksi dilakukan replikasi tiga kali (Ramayani *et al, 2021)*. Rumus perhitungan rendemen dapat dilihat pada persamaan berikut :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat produk (g)}}{\text{Berat bahan yang digunakan (g)}} \times 100\% \quad (1)$$

b. Uji Kualitatif

Sampel yang digunakan dalam pengujian yaitu ekstrak etanol daun kitolod dan ekstrak metanol daun kitolod. Masing-masing sampel ditimbang sebanyak 50,0 mg dilarutkan dalam 1,0 mL methanol.

i. Senyawa Fenolik

Sebanyak 5 mL larutan sampel ditambahkan dengan 3 tetes larutan $FeCl_3$ 1% . Positif polifenol ditunjukkan dengan timbulnya warna biru sampai hitam (Hanani, 2015).

ii. Senyawa Flavonoid

Sebanyak 5 mL larutan sampel ditambahkan 0,1 g serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat dikocok perlahan, jika terjadi perubahan warna jingga hingga merah ungu menunjukkan adanya flavonoid, sedangkan warna kuning, jingga menunjukkan adanya senyawa flavon, kalkon dan auron (Vaghasiya et al., 2011).

c. Penetapan Kadar Total Fenolik (TPC)

Masing-masing sebanyak 1,0 mL larutan baku asam galat (20, 30, 40, 50 dan 60 ppm) dan sampel (1000 ppm) ditambahkan reagen Folin Ciocalteau 5,0 mL, kemudian ditambahkan Na_2CO_3 1M 4,0 mL, kocok homogen. Larutan diinkubasi selama 55 menit dan diukur pada panjang gelombang 772 nm. Kurva kalibrasi di buat dengan

menghubungan antara konsentrasi asam galat dengan absorbansi yang dihasilkan. Kurva baku diperoleh dengan kadar asam galat dinyatakan sebagai x dan absorbansinya sebagai y, dalam persamaan regresi linier y = bx + a . Kadar fenol yang diperoleh hasilnya didapat sebagai mg GAE/g ekstrak (Ramayani *et al*, 2021). Kadar total fenolik dapat dihitung dengan persamaan berikut :

$$\text{TPC} = \frac{\text{konsentrasi}}{\text{g sampel}} \text{ x } volume\ pengambilan\ sampel\ x\ fp$$

d. Penetapan Kadar Total Flavonoid (TFC)

Sebanyak 100 mL larutan baku kuersetin (konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm) dan larutan sampel (1000 ppm), ditambahkan 1 mL AlCl3 10% dan 8 mL CH3COOH 5%, dihomogenkan, kemudian diinkubasi selama 21 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 414 nm. Kurva kalibrasi deret baku kuersetin dibuat dengan menghubungkan antara konsentrasi kuersetin dengan absorbansi yang dihasilkan, sehingga diperoleh persamaan regresi linier y = bx + a. Kadar fenol yang diperoleh hasilnya didapat sebagai mg QE/g ekstrak (Ramayani *et al*, 2021). Kadar total flavonoid dapat dihitung dengan persamaan berikut :

$$\text{TFC} = \frac{\text{konsentrasi}}{\text{g sampel}} \text{ x } volume\ pengambilan\ sampel\ x\ fp$$

e. Analisa Data

Kadar total fenolik dan Kadar total flavonoid ekstrak daun kitolod dianalisa menggunakan uji non parametik dengan menggunakan uji *Mann-Whitney*.

HASIL PENELITIAN

Daun kitolod yang digunakan dalam penelitian ini merupakan daun yang berwarna hijau tua. Menurut Mamay et al.,(2020), semakin meningkat tingkat kematangan daun maka semakin tinggi kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan. Daun kitolod selanjutnya diproses menjadi simplisia menggunakan oven pada suhu 40°C dan dilakukan penyerbukan. Serbuk simplisa daun kitolod yang dihasilkan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Kontrol Kualitas Serbuk Daun Kitolod

Parameter	Serbuk Simplisia Daun Kitolod
Organoleptis	
a. Bentuk	Serbuk halus
b. Warna	Hijau tua
c. Bau	Khas Kitolod
d. Rasa	Pahit
Rendemen (%)	25,26
Susut Pengeringan (%)	8

Serbuk daun kitolod selanjutnya dilakukan ekstraksi dengan metode remaserasi. Remaserasi merupakan metode ekstraksi yang terjadi pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya. Penggantian pelarut dilakukan untuk menyari zat aktif yang masih tersisa dalam ampas karena pelarut pertama kemungkinan sudah jenuh sehingga dapat menghasilkan zat aktif yang lebih banyak (Ningsih et al, 2015).

Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan dua pelarut yaitu etanol dan metanol 96%. Etanol dan metanol merupakan pelarut yang bersifat polar (Sudarmadji, 1997). Senyawa fenolik dan flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar, sehingga senyawa tersebut dapat larut dalam pelarut etanol dan metanol sesuai dengan prinsip *like dissolve like* (Arifianti *et al.*, 2014). Kontrol kualitas ekstrak daun kitolod dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Kontrol Kualitas Ekstrak Daun Kitolod

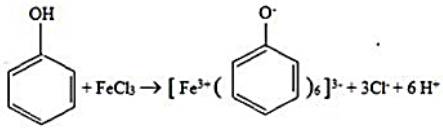
Parameter	Hasil	
	Etanol (A)	**Metanol (B)**
Organoleptis		
Bentuk	Ekstrak kental	Ekstrak kental
Warna	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman
Bau	Khas Kitolod	Khas Kitolod
Rasa	Pahit	Pahit
Rendemen (%b/b) ± SD	$18,19 \pm 0,08^{a}$	$19,35 \pm 0,33^{b}$
Susut pengeringan (%) ± SD	$5,33 \pm 0,57^{a}$	$5,67 \pm 0,57^{a}$

Superscript yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p<0,05$)

Tabel 2. menunjukkan perbedaan jenis pelarut menghasilkan organolpetis ekstrak yang sama namun berpengaruh signifikan terhadap rendemen dan susut pengeringan. Rendemen dan susut pengeringan ekstrak metanolik daun kitolod (ekstrak B) lebih besar daripada ekstrak etanolik daun kitolod (ekstrak

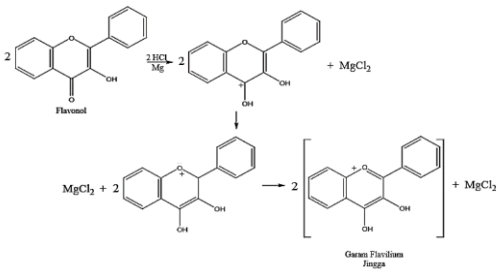
A). Pelarut metanol memiliki konstanta dielektrik yang lebih tinggi dibandingkan etanol. Metanol memiliki nilai konstanta dielektrik sebesar 33,640, sedangkan etanol memiliki nilai konstanta dielektrik sebesar 25,16 (Mohsen-Nia *et al,* 2010). Semakin tinggi konstanta dielektrik semakin polar pelarut maka pelarut methanol lebih polar dibandingkan pelarut etanol dan dapat menarik senyawa fenolik dan flavonoid lebih banyak sesuai dengan prinsip *like dissolve like.*

Ekstrak A dan Ekstrak B selanjutnya dilakukan uji kualitatif untuk memastikan adanya senyawa fenolik dan flavonoid dalam ekstrak daun kitolod. Hasil uji kualitatif senyawa fenolik ekstrak daun kitolod menunjukkan hasil positif baik pada ekstrak A maupun B yang ditandai dengan adanya perubahan warna dari hijau tua menjadi hijau kehitaman setelah penambahan larutan $FeCl_3$. Senyawa fenol bereaksi dengan $FeCl_3$ membentuk senyawa kompleks menyebabkan terjadinya perubahan warna pada larutan ekstrak dan baku pembanding. Senyawa kompleks dapat berwarna karena adanya transisi elektron dan ion pusat akibat adanya ligan Fe^{3-} yang merupakan ion logam transisi trivalen dengan ornital molekul paramagnetik. Hasil reaksi senyawa fenolik dengan larutan $FeCl_3$ dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Reaksi Senyawa Fenolik dengan $FeCl_3$ (Mukhriani *et al, 2019)*

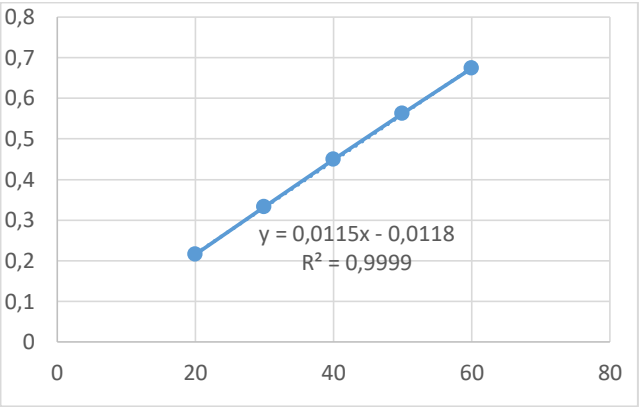
Hasil uji kualitatif senyawa flavonoid ekstrak daun kitolod menunjukkan hasil positif baik pada ekstrak A maupun B yang ditandai dengan adanya perubahan warna dari larutan hijau menjadi merah. Penambahan serbuk Mg bertujuan agar gugus karbonil flavonoid berikatan dengan Mg dan fungsi penambahan HCl untuk membentuk garam flavilium yang berwarna merah-jingga (Afriani *et al.*, 2016). Hasil reaksi pembentukan garam flavilium dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Reaksi pembentukan garam flavilium (Mukhriani *et al, 2019)*

Kadar total fenolik ekstrak daun kitolod dilakukan dengan metode kolorimetri dengan reagen *Folin-cioacalteau.* Prinsip metode *Folin Ciocalteu* yaitu terbentuknya senyawa kompleks. Gugus hidroksil pada senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin Ciocalteau membentuk kompleks molibdenum-tungsten berwarna biru yang dapat diukur absorbansinya dengan spektrofotometer *Uv-Vis.* Senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin Ciocalteau hanya dalam suasana basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat. Na_2CO_3 digunakan untuk membuat kondisi basa (Alfian and Susanti, 2012).

Asam galat digunakan sebagai baku standar. Asam galat merupakan turunan asam hidroksibenzoat yang termasuk dalam golongan asam fenol sederhana, bersifat murni, stabil dan relatif lebih murah dibanding dengan standar lain (Lee *et al.*, 2003). Hasil kurva baku asam galat dapat dilihat pada Gambar 3.

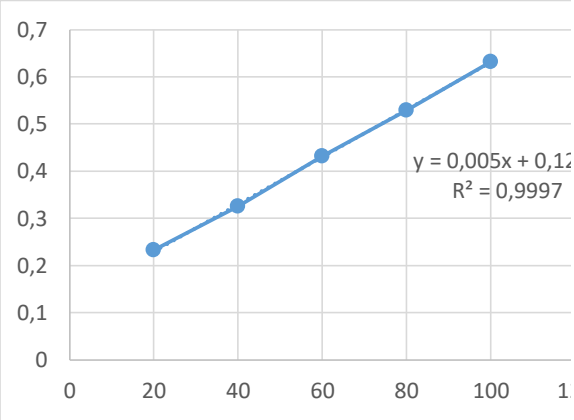


Gambar 3. Kurva Baku Asam Galat

Gambar 3 menunjukkan bahwa persamaan regresi linier kurva baku asam galat menghasilkan koefisien relasi adalah 0,9999 (R^2 = 0.9999). Nilai koefisien relasi mendekati 1 menunjukan adanya koefisien relasi kekuatan hubungan linier dan arah hubungan antara kedua variabel. Nilai koefisien relasi yang positif menunjukan kedua variabel memiliki hubungan yang searah (Sarwono, 2006).

Kadar total flavonoid ekstrak daun kitolod dilakukan dengan menggunakan metode kolorimetri dengan pereaksi $AlCl_3$. Prinsip pengukuran berdasarkan reaksi pembentukan warna senyawa kompleks hasil reaksi antara flavonoid dengan senyawa pengompleks $AlCl_3$. $AlCl_3$ digunakan sebagai senyawa pengompleks karena dapat membentuk senyawa kompleks dengan gugus

hidroksi pada atom C-3 dan C-5 dan gugus keto pada atom C-4 flavonoid golongan flavon dan flavonol ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning (Chang *et al.*, 2002). Baku standar yang digunakan dalam penetapan kadar total senyawa flavonoid ekstrak daun kitolod adalah kuersetin. Kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus keto pada atom C-4 flavonoid dan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 (Chang *et al.*, 2002). Kurva baku kuersetin dapat dilhat pada Gambar 4.



Gambar 4. Kurva Baku Kuersetin

Gambar 4 menunjukkan bahwa konsentrasi berbanding lurus dengan nilai absorbansi, semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin tinggi nilai absorbansi yang diperoleh. Nilai korelasi (R^2) yang dihasilkan adalah 0,9997. Nilai kolerasi yang diperoleh mendekati angka 1 menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier, sehingga dapat dikatakan bahwa absorbansi dan konsentrasi memiliki korelasi yang sangat kuat (Asmorowati & Lindawati, 2019).

Kadar total fenolik dan flavonoid selanjutnya ditentukan berdasarkan persamaan regresi linier kurva baku yang dihasilkan. Kadar total fenolik dan flavonoid ekstrak daun kitolod dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kadar Total Fenolik dan Flavonoid Ekstrak Daun Kitolod

Kadar Total Senyawa	Ekstrak Daun Kitolod	
	Etanol (A)	Metanol (B)
Fenolik (mgGAE/g esktrak)	$2,48 \pm 0,08^a$	$3,83 \pm 0,02^b$
Flavonoid (mgQE/g esktrak)	$2,62 \pm 0,02^a$	$4,42 \pm 0,01^b$

Superscript yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p<0,05$)

Tabel 3 menunjukkan bahwa perbedaan jenis pelarut memberikan pengaruh signifikan terhadap kadar total fenolik dan flavonoid yang dihasilkan. Pelarut methanol secara signifikan dapat menghasilkan kadar total fenolik dan flavonoid yang lebih tinggi dari pelarut etanol. Hasil ini berbanding lurus dengan rendemen ekstrak yang dihasilkan. Pelarut methanol secara signifikan juga menunjukkan hasil yang lebih tinggi dari pelarut etanol. Hal ini menunjukkan semakin tinggi rendemen yang dihasilkan semakin tinggi kadar senyawa yang terkandung dalam ekstrak.

Hasil penelitian serupa ditunjukkan dalam penelitian Hermalinda *et al.,* (2019), ekstrak daun ramania yang diekstraksi dengan pelarut metanol menghasilkan kadar total senyawa flavonoid yang lebih tinggi dari etanol yaitu pada metanol sebesar 0,0526 mgQE/g sedangkan pada etanol sebesar 0,0392 mgQE/g. Pada penelitian Yohed (2013) pelarut metanol dapat menghasilkan kadar total senyawa fenolik yang lebih tinggi dibandingkan etanol pada ekstrak daun nyamplung. Pelarut metanol menghasilkan kadar total senyawa fenolik yaitu 292,044 mg GAE/g ekstrak, sedangkan pelarut etanol menghasilkan kadar total senyawa fenolik yaitu 267,956 mg GAE/g ekstrak.

KESIMPULAN

Perbedaan jenis pelarut berpengaruh signifikan terhadap kadar total fenolik dan flavonoid ekstrak daun kitolod.

DAFTAR PUSTAKA

Afriani, N., Idiawati, N. and Alimuddin, A. H. 2016. Skrining Fitokimia dan UjiToksisitas Ekstrak Akar Mentawa (*Artocarpus anisophyllus*) terhadapLarva Artemia salina. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. Vol. 5(1), pp. 58–64.

Asmorowati, H. and Lindawati, N. Y. 2019. Penetapan Kadar Flavonoid Total Alpukat (*Persea Americana Mill*.) Dengan Metode Spektrofotometri. *Ilmiah Farmas.* Vol. 15(2), pp. 51–63.

Bontjura, S., Waworuntu, O. A. and Siagian, K. V. 2015. Uji Efek Antibakteri Ekstrak Daun Leilem (*Clerodendrum Minahassae* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Journal Pharmacon*. Vol. 4 (4).

Chang, C.C., Yang., M.H., Wem, H.M., Chern, J.C. 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Comlpementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. Vol. 10, No.3, 2002. Pages 178-182.

Fazil, M., Suci, R.N., Allfiah, F., Alam, D.N., Angeli, G., Situmeang, B.

2017. Analisis Senyawa Alkaloid dan Flavonoid dari Ekstrak Kitolod (*Isotoma longiflora)* dan Uji Aktivitasnya Terhadap Bakteri Penyebab Karies Gigi. *Jurnal Itekimia.* VOL. 2 (1), pp. 73-83.

Hanani, E. 2015. *Analisis Fitokimia*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta

Harborne, J.B., 1987. *Metode fitokimia*. 2nd edn. Bandung: Institut Teknologi Bandung Press.

Hermalinda, R., Taufiqurrahman, I. and Helmi, Z. N. 2019. Total Flavonoid Content Analysis Of Ramania Leaves Extract Using Ethanol, Methanol And N-Hexane As Solvents. *Jurnal Kedokteran Gigi.* Vol. 4 (1), Pp. 60–63.

Kemenkes RI. 2018. *Laporan Nasional Riskesdas 2018*. Jakarta.

Mahboubi, A., Asgarpaanah, J., Sadaghiuani, P. S., Farizi, M., 2015, Total phenolic and flavonoid content and antibacterial activity of *Punica granatum* L. var. *pleniflora* flowers (Golnar) againts bacterial strains causing foodborne diseases. *BMC Complementary and Medicine Therapies*, 15:366

Mamay, M., Sulhan, M. H. and Nurjanah, S. S. 2020. Analisis Kadar Polifenol Total Pada Daun Muda, Tua Dan Sangat Tua Bambu Surat (*Gigantochloa Pseudoarundinaceae*). *Prosiding Senakes 1.0*. Vol. 1(1), pp. 61–66.

Mhaske, M., 2012, *Chemical Agents in Current, Control of Dental Plaque in Dentistry: An Overview of Knowledge and Future Challenges*, Pelagia Research Library.

Mukhriani, Sugiarna, R., Farhan, N., Rusdi, M., Arsul, M.I., 2019, Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Anggur (*Vitis vinifer* L), *J.Pharm.Sci,*Vol 12 No 2: 95-102.

Mohsen-Nia, M., Amiri, H., Jazi, B., Dielectric Constants of Water, Methanol, Ethanol, Butanol and Acetone : Measuremen and Computational Study, *J Solution Chem, 39 : 701-708*

Ningsih, G., Utami, S. and Nugrahani, R., 2015, Pengaruh Lamanya Waktu Ekstraksi Remaserasi Kulit Buah Durian Terhadap Rendemen Saponin Dan Aplikasinya Sebagai Zat Aktif Anti Jamur, *Jurnal Konversi Universitas Muhammadiyah Jakarta*

Ramayani, S. L., Nugraheni, D. H., Wicaksono, A.R.E., Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Total Flavonoid dan Kadar Total Flavonoid Daun Talas (*Colocasia esculenta* L.), *Journal of Pharmacy*, Vol 10 No 1: 11-16

Ramayani, S. L., Permatasari, E, A., Novitasari, I., Maryana, Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Total Fenolik, Kadar Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda citrifloia* L.,), *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik (JIFFK)*, Vol 18 No 1:40-46

Rijayanti, R. P. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang. *Naskah publikasi*. pp. 13–14.

Rosidah, A. N., Lestari, P. E. and Astuti, P. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Kendali (*Hippobroma longiflora* (L)G . Don) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans. Jurnal Pustaka Kesehatan*, pp. 1–9.

Sarwono, J, 2006, *Metode Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif*. Yogyakarta: Graha Ilmu

Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Komatografi dan Mikroskopi*, edited by Kosasih Padmawinata and Iwang Soediro. Bandung: Institut Teknologi Bandung Press.

Sudarmadji, 1997, Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty. Yogyakarta.

Yohed, I, 2013, Pengaruh Jenis Pelarut Dan Temperatur Terhadap Total Phenolic Content, Total Flavonoid Content, Dan Aktivitas Antioksidan Di Ekstrak Daun Nyamplung (Calophyllum inohyllum), *Journal of Chemical Information and Modeling*