

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK AIR HELAI DAUN DAN AKAR *Plantago major* L

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE WATER EXTRACTS OF *Plantago major* L. LEAVES AND ROOTS

Sherly Tandi Arrang¹, Melda Kurniawan²

¹Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya Jakarta, Jalan Pluit Raya No. 2, Jakarta Utara, 14440, Indonesia, 0852-4174-6788, sherta_222@yahoo.com.

² Jalan Cendrawasih No. 172 B, Penambungan, Mariso, Kota Makassar, Sulawesi Selatan, 90124, Indonesia.

ABSTRAK

Dilakukan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak air helai daun dan akar *Plantago major* L. Helai daun dan akar *Plantago major* L. diekstraksi dengan menggunakan *microwave* pada suhu 70°C selama 20 menit. Uji Aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode peredaman radikal bebas *DPPH* dengan bantuan spektrofotometri sinar tampak. Aktivitas antioksidan dihitung sebagai *EC*₅₀ yaitu konsentrasi yang meredam 50% dari jumlah radikal bebas. Hasilnya diperoleh *EC*₅₀ ekstrak air helai daun setara dengan 548,29 ± 18,50 bpj serbuk helai daun, sedangkan *EC*₅₀ ekstrak air akar yaitu setara dengan 1676,45 ± 30,19 bpj serbuk akar. Disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan total helai daun *Plantago major* L. relatif lebih besar dibandingkan akarnya.

Kata kunci: Akar, Antioksidan, Daun, *Plantago major* L.

ABSTRACT

Antioxidant activity test was carried out from water extracts of *Plantago major* L leaves and roots. *Plantago major* L leaves and roots were extracted using microwave at 70°C for 20 minutes. Antioxidant activity test was determined by DPPH free radical reduction method with ultraviolet visible spectrophotometry. Antioxidant activity is known as *EC*₅₀, which is reduces 50% concentration of free radicals. The *EC*₅₀ of leaf extract is equivalent to 548,29 ± 18,50 ppm of leaf powders, and *EC*₅₀ of root extract is equivalent to 1676,45 ± 30,19 ppm of root powders. It was concluded that the antioxidant activity of *Plantago major* L leaves was greater than the roots.

Keywords: Leaf, root, *Plantago major* L., antioxidant

PENDAHULUAN

Indonesia adalah salah satu negara yang memiliki keanekaragaman hayati berupa sumber daya hutan tropika dengan luas kawasannya menempati urutan ketiga sesudah Brazil dan Zaire (Supriadi, 2001). Berbagai jenis tanaman sudah sejak dahulu

diramu menjadi aneka jenis obat yang bermanfaat untuk kesehatan manusia (Muhlisah dan Hening, 2000). Di beberapa negara, seperti Amerika Serikat, China, Canada, Belanda, Jerman dan sebagainya, termasuk Indonesia penggunaan obat herbal semakin meningkat, ini disebabkan karena

efek samping dari obat herbal lebih rendah dibandingkan obat sintetik (obat modern) (Supriadi, 2001).

Untuk saat ini, pemanfaatan bahan tanaman di Indonesia mayoritas berupa jamu, dimana masih memiliki beberapa kekurangan, antara lain baik bahan baku belum terstandarisasi maupun klaim khasiat dibuktikan berdasarkan data empiris (BPOM, 2004). Keseragaman keamanan, khasiat dan kualitas suatu produk ditentukan oleh kualitas bahan baku (simplisia atau ekstraknya). Bagian tanaman yang diekstraksi akan mempengaruhi kualitas ekstrak yang dihasilkan (Depkes RI, 2000). Sebagai contoh misalnya dalam penelitian uji peredaman radikal bebas terhadap DPPH dari ekstrak kulit buah dan biji anggur (*Vitis vinifera* L.) Probolinggo biru dan Bali, diperoleh hasil yang menyatakan bahwa ekstrak biji mempunyai daya meredam radikal bebas DPPH yang lebih kuat dibanding ekstrak kulit buah (Windono *et al.*, 2001). Dalam penelitian tersebut jelas terlihat bahwa bagian tanaman mempengaruhi aktivitas dari tanaman tersebut, karena kadar senyawa kimia tiap bagian tanaman berbeda-beda. Faktor lain yang mempengaruhi kualitas ekstrak adalah metode ekstraksi. Contohnya pada penelitian mengenai pengaruh metode ekstraksi (UAE

(*Ultrasound Assisted Extraction*), MAE (*Maseration Assisted Extraction*), maserasi dan soxhletasi) terhadap % rendemen antrakuinon dan aktivitas antioksidan dari akar *Morinda citrifolia*, dimana hasilnya menunjukkan aktivitas antioksidan dari akar *Morinda citrifolia* dengan MAE dan soxhletasi lebih tinggi dibandingkan UAE dan maserasi (Hemwimon *et al.*, 2006). Hasil penelitian tersebut membuktikan bahwa bagian tanaman dan metode ekstraksi mempengaruhi kadar senyawa kimia yang terekstraksi, sehingga mempengaruhi aktivitas farmakologi dari tanaman tersebut.

Salah satu tanaman yang layak dipertimbangkan untuk dikembangkan menjadi OHT dan/atau Fitofarmaka adalah *Plantago major* L. (suku *Plantaginaceae*). *Plantago major* L. mengandung banyak komponen aktif biologi seperti polisakarida, lipid, derivat asam kafeat, flavonoid, glikosida iridoid, terpenoid, alkaloid dan asam organik. Aktivitas biologi yang sudah diteliti dari ekstrak tanaman ini adalah untuk pengobatan pada beberapa organ seperti: kulit, respirasi, pencernaan, reproduksi, sistem sirkulasi; melawan kanker; untuk nyeri, menurunkan demam dan infeksi; anti-inflamasi; analgesik; antioksidan; antibiotik lemah; antifungi; antivirus; aktivitas hipoglikemia; efek hipotensi; antimalaria;

merangsang imunitas; efek diuretik dan mengobati tukak lambung (Samuelsen, 2000).

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui kadar fenol dan flavonoid dari helai daun dan akar *Plantago major* L. dan mengevaluasi apakah keduanya memiliki aktivitas antioksidan yang berbeda.

METODOLOGI

Kegiatan dalam penelitian ini meliputi pengumpulan tumbuhan, determinasi tumbuhan, preparasi sampel, pembuatan ekstrak, dan pengujian aktivitas peredam radikal bebas terhadap DPPH secara spektrofotometri sinar tampak.

Bahan

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah helai daun dan akar *Plantago major* L. tanpa memandang umur, yang diperoleh dari daerah Kebun Raya Purwodadi, Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur. *Plantago major* L. dideterminasi pada Pusat Informasi dan Pengembangan Obat Tradisional (PIPOT), Fakultas Farmasi, Universitas Surabaya. Bahan kimia yang digunakan, yaitu etanol 96% (p.a), DPPH (Sigma), dan aqua dm.

Alat-alat

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah: Spektrofotometer UV-Sinar Tampak (Cintra), Neraca analitik (Sartorius), *Microwave Oven* (2450 MHz, 700 Watt) (Sharp), *Blender* (National), Pengayak *mesh* 30 (ASTM), pipet ukur (Pyrex), pipet tetes, dan alat-alat gelas laboratorium.

Penyiapan Bahan Penelitian

Helai daun dan akar *Plantago major* L. dibersihkan, dicuci, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Helai daun dan akar *Plantago major* L. yang telah kering dihaluskan dengan *blender* hingga menjadi serbuk, kemudian diayak dengan menggunakan pengayak *mesh* 30.

Pembuatan Ekstrak Air Helai daun dan Akar *Plantago major* L.

Serbuk helai daun dan akar *Plantago major* L. masing-masing ditimbang 1 gram (dilakukan 5 replikasi), kemudian masing-masing ditambahkan pelarut aquadem sebanyak 80 ml dan diekstraksi dengan *microwave oven* (2450 MHz, 700 Watt) suhu 70°C selama 20 menit. Masing-masing ekstrak air helai daun dan akar *Plantago major* L. dalam labu ukur 100 mL ditambahkan aquadem sampai volume 100,0 ml. Untuk selanjutnya hasil ekstrak ini disebut ekstrak induk.

Pengujian Aktivitas Peredam Radikal Bebas terhadap DPPH secara Spektrofotometri Sinar Tampak (Joyeux et al, 1995)

Pembuatan Larutan Uji

Masing-masing ekstrak induk helai daun dan akar *Plantago major* L. yang telah disiapkan, dibuat pengenceran sampai didapat larutan sebagai larutan uji dengan berbagai konsentrasi (bpj). Untuk ekstrak induk helai daun dibuat konsentrasi 40-600 bpj sebanyak 6 konsentrasi, sedangkan ekstrak induk akar dibuat 200-2400 bpj sebanyak 7 konsentrasi.

Pembuatan Larutan DPPH 0,004%

Ditimbang DPPH 4,0 mg dilarutkan dalam etanol 80% sampai 100,0 ml sehingga diperoleh konsentrasi 0,004% (40 bpj) untuk segera digunakan dan dijaga pada suhu rendah dan terlindung dari cahaya.

Penetapan Panjang Gelombang Maksimum Larutan DPPH

Dipipet larutan DPPH 0,004% sebanyak 3,0 ml, ditambah aqua dm sebanyak 1,5 ml, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang bersih dan kering, dikocok sampai homogen. Diamati absorbansi dari larutan dengan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 400-800 nm dengan blanko 3 ml etanol + 1,5 ml aqua dm. Dibuat kurva

absorbansi *terhadap* panjang gelombang. Panjang gelombang dengan absorbansi tertinggi yang diperoleh adalah panjang gelombang maksimum.

Penetapan Waktu Reaksi Larutan DPPH

Dipipet masing-masing larutan uji sebanyak 1,5 ml, dimasukkan dalam tabung reaksi yang bersih dan kering, ditambahkan larutan DPPH 0,004% sebanyak 3,0 ml dan dikocok sampai homogen. Pengamatan waktu reaksi dilakukan pada menit ke-5, 10, 15, 20, 25 dan 30 pada panjang gelombang maksimum.

Pengukuran Absorbansi Peredam Radikal Bebas terhadap DPPH

Untuk pengukuran absorbansi peredam radikal bebas, masing-masing larutan uji dipipet 1,5 ml. Larutan uji tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang bersih dan kering, ditambahkan larutan DPPH 0,004% 3,0 ml, dikocok rata. Pembacaan absorbansi dilakukan pada waktu reaksi terpilih pada panjang gelombang maksimumnya. Untuk blanko larutan uji digunakan 1,5 ml aqua dm dimasukkan ke dalam tabung reaksi bersih dan kering, ditambahkan larutan DPPH 0,004% 3,0 ml, dikocok rata.

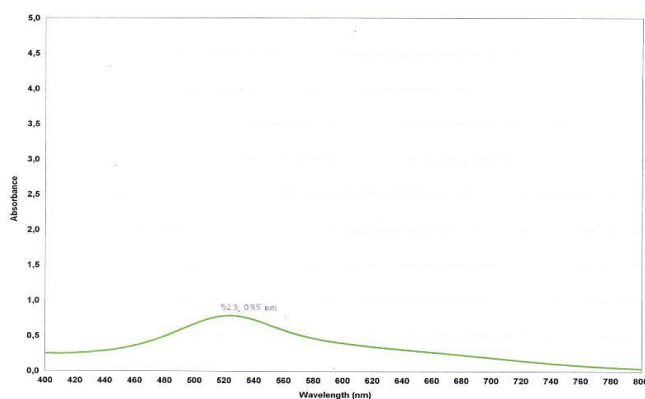
HASIL DAN PEMBAHASAN

HASIL

Hasil Pengujian Aktivitas Peredam Radikal Bebas Terhadap DPPH Secara Spektrofotometri Sinar Tampak

Hasil Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum yang diperoleh dari pengamatan absorbansi larutan DPPH pada panjang gelombang 400-700 nm adalah 523 nm, dapat dilihat pada gambar 1.



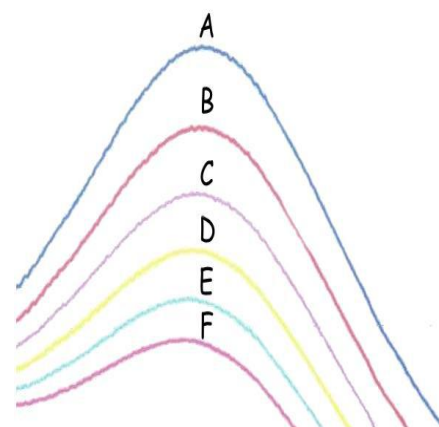
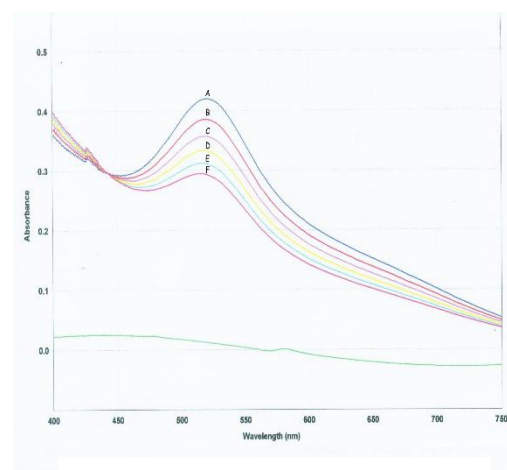
Gambar 1. Spektum Sinar Tampak Larutan DPPH dalam Etanol 80%

Hasil Penetapan Waktu Reaksi Pengujian Aktivitas Peredam Radikal Bebas pada λ 523 nm

Hasil penetapan waktu reaksi pengujian aktivitas peredam radikal bebas terhadap DPPH untuk ekstrak air helai daun dan akar *Plantago major* L. pada λ : 523 nm dapat dilihat pada tabel 1 dan gambar 2.

Tabel 1. Waktu Reaksi larutan sampel dengan larutan DPPH 0,004%

Spektrogram	Waktu reaksi (menit)	Absorbansi
A	5	0,420
B	10	0,386
C	15	0,357
D	20	0,333
E	25	0,312
F	30	0,295



Gambar 2. Spektum Sinar Tampak Larutan Uji + Larutan DPPH 0.004% pada Berbagai Waktu

Dari data pada tabel 1 dan gambar 2 ditarik kesimpulan waktu reaksi untuk pengujian aktivitas peredaman radikal bebas pada λ : 523 nm adalah pada menit ke-10. Waktu reaksi dipilih menit ke-10 karena perbedaan/penurunan absorbansi yang diperoleh pada berbagai waktu reaksi antara menit ke-10 dengan menit ke-15 dan seterusnya relatif lebih kecil, sehingga dipilih pada menit ke-10.

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Helai Daun dan Akar *Plantago major* L.

Untuk pengukuran absorbansi peredam radikal bebas, ekstrak air helai daun dibuat 6 konsentrasi dan akar 8 konsentrasi dengan tujuan untuk memperoleh data % peredaman dibawah dan diatas 50 %. Berikut ini, rekapitulasi kadar dan % peredaman radikal bebas DPPH antara ekstrak air helai daun dan akar *Plantago major* L. dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rekapitulasi Kadar dan % Peredaman Radikal Bebas DPPH Ekstrak Air Helai Daun dan Akar *Plantago major* L.

Helai Daun		Akar	
Kadar ekstrak (~...bpj serbuk helai daun)	% Peredaman	Kadar ekstrak (~...bpj serbuk akar)	% Peredaman
40,03	2,00	200,38	5,67
200,15	14,60	300,46	9,36
360,27	32,07	500,73	16,36
500,46	45,77	1001,50	30,76
540,40	48,51	1201,75	35,63
600,44	55,20	1602,34	47,65
		2002,92	59,27
		2403,24	70,35
$y = 0,096x - 2,913$ $r = 0,999$		$y = 0,029x + 0,849$ $r = 0,999$	

Pengukuran aktivitas antioksidan dari masing-masing ekstrak dilakukan 5 kali replikasi. Untuk rekapitulasi nilai EC_{50}

ekstrak air helai daun dan akar *Plantago major* L. dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Rekapitulasi Nilai EC_{50} Ekstrak Air Helai Daun dan Akar *Plantago major* L.

Replikasi	EC_{50} (~ bpj Bahan)	
	Ekstrak Air Helai Daun	Ekstrak Air Akar
1	553,33	1638,83
2	571,41	1662,27
3	521,12	1685,40
4	541,88	1675,13
5	553,74	1720,60
Rata-rata $\pm$ SD	548,29 $\pm$ 18,50	1676,45 $\pm$ 30,19

Ekstrak air helai daun *Plantago major* L. memiliki harga EC_{50} rata-rata yang lebih kecil daripada ekstrak air akarnya. Hal ini menunjukkan bahwa helai daun *Plantago major* L. memiliki aktivitas meredam radikal bebas (sebagai antioksidan) yang lebih besar dibandingkan akar, karena helai daun untuk meredam radikal bebas hanya butuh

konsentrasi yang lebih sedikit dibandingkan akar.

Hasil Perbandingan Koefisien Korelasi (r)

Perbandingan koefisien korelasi (r) yaitu antara r-hitung dengan r-tabel dari ekstrak air helai daun dan akar *Plantago major* L. dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Perbandingan r-hitung dengan r-tabel Ekstrak Air Helai Daun dan Akar *Plantago major* L.

Ekstrak Bagian Tanaman	r-hitung	r-tabel
Helai Daun	0,999	0,878
Akar	0,999	

Dari tabel terlihat nilai r-hitung dari ekstrak air helai daun dan akar *Plantago major* L. lebih besar dari r tabel pada signifikansi ($\alpha = 0,05$) maka ada korelasi linear antara konsentrasi larutan uji dengan % peredaman.

Analisis Statistik Secara *T-Test*

Hasil perhitungan *T-Test* (pustaka) untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan bermakna antara harga EC_{50} ekstrak air helai daun dan akar *Plantago major* L. Hasilnya adalah signifikansi lebih kecil dari $\alpha = 0,05$, jadi terdapat perbedaan bermakna harga

EC_{50} /aktivitas antioksidan antara helai daun dan akar *Plantago major* L.

PEMBAHASAN

Sekitar 25% dari obat-obatan yang diresepkan di negara-negara industri maju mengandung bahan aktif hasil ekstraksi dari tumbuhan obat (Supriadi, 2001). Salah satu tanaman yang layak dipertimbangkan untuk dikembangkan menjadi OHT dan Fitofarmaka adalah *Plantago major* L. (suku *Plantaginaceae*). Seperti telah diuraikan di atas, bahwa bagian tanaman sangat mempengaruhi kualitas. Oleh karena itu, dalam penelitian ini ingin diketahui, apakah bagian tanaman helai daun dan akar *Plantago major* L. memiliki kualitas yang berbeda. Dalam hal ini, kualitasnya ditentukan melalui pengukuran aktivitas antioksidan.

Mekanisme kerja *microwave*, sebagai alat bantu ekstraksi, yaitu dengan frekuensi yang besar (panjang gelombang yang pendek) akan menimbulkan panas sehingga membantu transfer senyawa dari matriks sampel. Dengan kata lain, ekstraksi dengan *microwave* menggunakan energi untuk memanaskan pelarut dengan cepat dan efisien sehingga proses ekstraksi lebih singkat (Jain *et al.*, 2009).

Pada penelitian ini, serbuk helai daun dan akar diekstraksi dengan bantuan *microwave* karena dari hasil penelitian aktivitas antioksidan akar *Morinda citrifolia* dengan metode *MAE*, soxhletasi, maserasi dan *UAE*, diperoleh hasil bahwa aktivitas antioksidan yang paling tinggi adalah dari ekstrak hasil ekstraksi dengan *MAE*. Selain itu, pada penelitian tersebut juga dilakukan optimasi kondisi *MAE* untuk mengekstraksi senyawa antrakuinon. Diperoleh kondisi optimal (yang rendemen kandungan antrakuinon paling tinggi), sebagai berikut: suhu 60°C, waktu ekstraksi 30 menit, dengan pelarut etanol 80% (Hemwimon *et al.*, 2006).

Pada penelitian ini digunakan suhu 70°C karena keterbatasan *microwave oven* yang digunakan (suhunya hanya dapat diatur pada suhu 40, 70, 100, 130, 160, 180, 200, 220, 230, dan 250°C). Jadi yang mendekati suhu optimal penelitian sebelumnya (60°C) adalah 70°C.

Waktu ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah 20 menit, dengan pertimbangan untuk meminimalkan resiko kerusakan senyawa, karena dengan suhu yang semakin tinggi maka tingkat kerusakan senyawa semakin besar. Oleh karena itu, dengan suhu ekstraksi 70°C, maka waktu ekstraksi dikurangi dari penelitian yang

diacu (30 menit) yaitu diturunkan menjadi 20 menit.

Pada penelitian jenis pelarutnya juga diubah dari etanol 80% menjadi air, karena air dapat melarutkan senyawa bersifat polar. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang bersifat polar sehingga memiliki kelarutan yang cukup dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, air dan lain-lain. Jadi air dapat digunakan untuk mengekstraksi fenol dan flavonoid dari *Plantago major* L.

Aktivitas antioksidan ekstrak air helai daun dan akar *Plantago major* L. ditetapkan dengan metode DPPH. Metode ini dipilih karena merupakan metode yang paling sederhana dan mudah dilaksanakan dalam menetapkan aktivitas antioksidan suatu tanaman, dan tidak memerlukan peralatan yang rumit jika dibandingkan dengan metode-metode yang lainnya. Selain itu, DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazyl*) merupakan senyawa radikal bebas yang relatif stabil, yang apabila disimpan dalam kondisi penyimpanan yang baik akan tetap stabil selama bertahun-tahun (Larson, 1997). Disamping metode DPPH ada metode lain yaitu: metode ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*), *Nitric Oxide*, Angka Peroksida dan *Ferric Thiocyanate*.

Sebelum penetapan aktivitas peredaman radikal bebas, maka dilakukan penetapan panjang gelombang maksimum DPPH, dan diperoleh panjang gelombang 523 nm. Pembacaan absorbansi dilakukan pada panjang gelombang maksimum tersebut agar dengan pergeseran panjang gelombang di sekitar panjang gelombang maksimum (pergeseran sedikit) maka perubahan absorbansi juga tidak signifikan.

Selain itu, dilakukan penetapan waktu reaksi larutan uji dengan DPPH, diperoleh waktu reaksi 10 menit. Waktu reaksi dipilih 10 menit karena perbedaan/penurunan absorbansi yang diperoleh pada berbagai waktu reaksi antara menit ke-10 dengan menit ke-15 dan seterusnya relatif lebih kecil. Meskipun pembacaan absorbansi juga tidak dilakukan pada waktu optimal reaksi yang sesungguhnya (DPPH sudah bereaksi semua dengan larutan uji), tidak masalah karena tujuan dari penelitian ini hanya membandingkan bagian tanaman mana yang memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar, bukan meneliti besar aktivitas sesungguhnya.

Dari hasil pengukuran absorbansi larutan uji tersebut (<Tabel atau gambar berapa>), kemudian dihitung % peredamannya,

sehingga diperoleh nilai EC_{50} ekstrak air helai daun dan akar *Plantago major* L. adalah setara dengan $548,29 \pm 18,50$ dan $1676,45 \pm 30,19$ bpj bahan. EC_{50} adalah konsentrasi efektif untuk meredam radikal bebas sebanyak 50%. Ekstrak air helai daun *Plantago major* L. memiliki harga EC_{50} rata-rata yang lebih kecil daripada ekstrak air akarnya. Hal ini menunjukkan bahwa helai daun *Plantago major* L. memiliki aktivitas meredam radikal bebas yang lebih besar dibandingkan akar.

Untuk melihat ada tidaknya korelasi linier antara konsentrasi larutan uji dengan % peredaman radikal bebas DPPH dihitung nilai r (koefisien regresi konsentrasi larutan uji vs % peredaman) (Tabel 2). Nilai r hitung ekstrak air helai daun (0,999) dan akar (0,999) *Plantago major* L. lebih besar dari r tabel (0,878) pada signifikansi ($\alpha = 0,05$). Oleh karena itu, disimpulkan ada korelasi linier antara konsentrasi sampel uji dengan % peredaman.

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan aktivitas peredaman radikal bebas DPPH antara helai daun dan akar *Plantago major* L. maka dilakukan analisis statistik dengan *T-Test* menggunakan SPSS 15.0 terhadap nilai EC_{50} dari ekstrak air helai daun dan akar *Plantago major* L. dan diperoleh hasil

signifikansi (0,000) lebih kecil dari $\alpha=0,05$, yang berarti terdapat perbedaan bermakna dari aktivitas peredaman radikal bebas antara helai daun dengan akar *Plantago major* L (Tabel 2).

Suhu, waktu dan pelarut yang digunakan dalam penelitian ini didasarkan pada hasil penelitian optimasi kondisi *MAE* dari *Morinda citrifolia* (Hemwimon *et al.*, 2006) yang dimodifikasi karena keterbatasan-keterbatasan yang telah diuraikan sebelumnya sehingga sebaiknya juga dilakukan optimasi kondisi ekstraksi dengan *MAE* (suhu, waktu dan pelarut) untuk *Plantago major* L.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan helai daun *Plantago major* L. yang diekstraksi menggunakan air dengan bantuan *microwave* memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar dibandingkan akar.

KESIMPULAN

Dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan total helai daun *Plantago major* L. relatif lebih besar dibandingkan akarnya.

DAFTAR PUSTAKA

Badan Pengawasan Obat dan Makanan, 2004, *Ketentuan Pokok*

- Pengelompokan dan Penandaan Obat Bahan Alam Indonesia*, BPOM RI, Jakarta, 2-3.
- Departemen dan Kesehatan Republik Indonesia, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta, Dirjen POM, 3-12.
- Hemwimon S, Pavasant P, Shotipruk A, 2006 *Microwave assisted extraction of antioxidant anthraquinones from roots of Morinda citrifolia*: Elsevier, Separation Purification Technology, 54, 44-50.
- Jain T, Jain V, Pandey R, Vyas A, Shukla SS, 2009, *Microwave assisted extraction for phytoconstituents-An overview*: Asian Journal. Research Chemistry, 2(1), 19-25.
- Joyeux, Lobstein A, Anton R, Mortier, 1995, *Comperative Antilipoperoxidant, Antinecrotic, and Scavenging Properties of Terpens and Biflavones from Gingko and some Flavonoids*, Planta Medica, 62, 126-129.
- Khopkar S.M., 2003, *Konsep Dasar Kimia Analitik*, UI Press, Jakarta, 215-218.
- Larson, R.A., 1997, *Naturally Occuring Antioxidant*, Lewis Publisher, Boca Raton, New York, 106-107.
- Markham KR, 1988, *Cara Megidentifikasi Flavonoid*, ITB, Bandung, 1-8; 15.
- Muhlisah, F., Hening, S., 2000, *Sayur dan Bumbu Dapur Berkhasiat Indonesia*, Penebar Swadaya, Jakarta, iii.
- Samuelsen AB, 2000, *Traditional uses, chemical constituent and biological activities of Plantago major L. A review*: Elsevier, Journal of Ethnopharmacology, 71(21):1-21.
- Supriadi, 2001, *Tumbuhan Obat Indonesia, Penggunaan dan Khasiatnya*, Pustaka Populer Obor, Jakarta, ix, xiii.
- Windono T, Soediman S, Yudawati U, Ermawati E, Srielita A, Erowati TI, 2001, *Uji Peredam Radikal Bebas Terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) dari Ekstrak Kulit Buah dan Biji Anggur (Vitis vinifera L.) Probolinggo Biru dan Bali*, Artocarpus-Media Pharmaceutica Indonesiana, Fakultas Farmasi Universitas Surabaya, Surabaya, 1(1), 34-43.