

SKRINING FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL KULIT BATANG SOYOGIK (*Saurauia bracteosa* DC)

Marlyne Mailuhu^{1*}, Max R.J. Runtuwene¹, Harry S.J. Koleangan¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sam Ratulangi Manado

ABSTRACT

This study aims to know the potential contained in the bark extract Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) to determine antioxidant activity using DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Beginning with a maceration process using methanol, then evaporated at 40°C and produce a viscous extract 35.775 g of 670 g of powder samples. Furthermore, the methanol extract was partitioned with *n*-hexane, ethyl acetate and distilled water. The antioxidant activity of three factions solvent immersion tested with DPPH radical in ethyl acetate fraction with IC₅₀ value of 82.065 mg/mL followed by methanol extract, fractions distilled, and the fraction of *n*-hexane.

Keywords: *Saurauia bracteosa* DC, antioxidants, total phenolic, total flavonoids

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi yang terkandung pada ekstrak kulit batang Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dan mengetahui aktivitas antioksidannya dengan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Diawali dengan proses maserasi menggunakan pelarut metanol, kemudian dievaporasi pada suhu 40°C dan menghasilkan 35,775 g ekstrak kental dari 670 g serbuk sampel. Selanjutnya, ekstrak metanol dipartisi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan aquades. Aktivitas antioksidan ketiga fraksi pelarut diuji dengan perendaman radikal DPPH pada fraksi etil asetat dengan nilai IC₅₀ sebesar 82,065 µg/mL diikuti dengan ekstrak metanol, fraksi aquades, dan fraksi *n*-heksana.

Kata kunci: *Saurauia bracteosa* DC, antioksidan, total fenolik, total flavonoid.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan Negara yang terletak di daerah tropis yang sangat kaya dengan tumbuh-tumbuhan. Oleh karena itu, kekayaan alam hutan yang begitu besar sehingga masyarakat disekitar hutan dapat memanfaatkan tumbuhan sebagai obat yang sering dikenal sebagai obat tradisional. Beberapa penyakit kronis seperti kanker, jantung, artritis, diabetes, liver, inflamasi dan penyakit degeneratif lain saat ini sudah sangat lazim dijumpai di masyarakat. Ada berbagai macam teori yang mencoba menjelaskan penyebab penyakit degeneratif, salah satunya ialah teori radikal bebas (Oeinitan, 2013).

Proses oksidasi radikal bebas dapat dihambat dengan senyawa yang tergolong antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat menghambat reaksi oksidasi. Antioksidan bertindak sebagai penyumbang radikal hidrogen atau bertindak sebagai akseptor

radikal bebas (Jadhav dkk., 1996). Senyawa antioksidan yang sering digunakan terdiri dari antioksidan sintesis dan antioksidan alami, tetapi antioksidan sintesis diduga dapat menimbulkan efek negatif bagi kesehatan seperti dapat menyebabkan kanker (El Ghany dkk., 2010).

Salah satu tumbuhan yang telah dimanfaatkan oleh masyarakat di Tombatu, Sulawesi Utara sebagai tumbuhan obat adalah soyogik (*Saurauia bracteosa* DC). Berdasarkan penelitian Runtuwene dkk. (2012), yang bekerja sama dengan Balai Penelitian dan Pengembangan Kementrian Kesehatan menyatakan bahwa etnis Tonsawang telah menggunakan tumbuhan dalam pengobatan penyakit degeneratif seperti tumor dan kanker. Penelitian juga telah dilakukan oleh Kadji dkk. (2013), bahwa daun soyogik mengandung aktivitas antioksidan yang ditentukan nilai aktivitas dengan ekstraksi maserasi etanol IC₅₀ = 38,01 ppm, nilai ekstraksi soxhlet etanol IC₅₀ = 28,18 ppm dan memiliki kandungan senyawa metabolic sekunder seperti

* Korespondensi :

Telpon: +62 813-4475-6652

E-mail : merlynmailuhu@yahoo.com

DOI: <https://doi.org/10.35799/cp.10.1.2017.27737>

fenolik, flavonoid, steroid dan saponin.

Sejauh ini belum dilakukan penelitian tentang bagian lain dari tumbuhan soyogik yaitu kulit batang soyogik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi yang terkandung pada ekstrak kulit batang soyogik dan mengetahui aktivitas antioksidannya dengan menggunakan metode DPPH yang diekstraksi menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, metanol dan aquades.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang soyogik diperoleh dari Daerah Silian Tengah, Tombatu, Sulawesi Utara. Bahan kimia yang digunakan adalah besi (III) klorida, aquades, asam klorida, asam sulfat, natrium hidroksida, reagen dragendorff, reagen wagner, reagen mayer, asam asetat anhidrat, dietil eter, serbuk magnesium, DPPH, natrium karbonat, aluminium klorida, dan pelarut destilasi ulang, seperti : metanol, n-heksana, etil asetat, etanol. Alat yang digunakan adalah alat-alat gelas, neraca analitik, oven, aluminium foil, ayakan 65 mesh, desikator, kertas saring, vorteks, mikropipet, *rotary evaporator*, corong pisah, spektrofotometer UV-VIS Shimadzu dan blender.

Preparasi sampel

Sampel dikupas kulit batangnya, dibersihkan, dikering anginkan selama 1 minggu, diblender secara kering, dimasukkan ke dalam oven bersuhu 40 °C dan diayak dengan ayakan 65 mesh.

Uji kadar air (AOAC, 1999)

Uji kadar air dengan menggunakan cawan kosong dikeringkan dalam oven pada suhu 105 °C selama 3 jam. Selanjutnya cawan didinginkan dalam desikator, setelah dingin berat cawan ditimbang. Sebanyak 2 g sampel dimasukkan ke dalam cawan kosong dan dikeringkan dalam oven pada suhu 105 °C selama 3 jam. Setelah kering, sampel dimasukkan ke dalam desikator selama 1 jam untuk menstabilkan suhu agar konstan, kemudian ditimbang berat akhir cawan yang berisi sampel. Pengujian kadar air dapat dihitung dengan persamaan:

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{(\text{berat awal} - \text{berat akhir})}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

Berat awal = berat cawan + sampel sebelum pemanasan
Berat akhir = berat cawan + sampel sesudah pemanasan

Ekstraksi maserasi

Sebanyak 670 g serbuk kulit batang soyogik direndam dengan metanol sebanyak 3200 mL dikocok dan didiamkan selama 24 jam. Selanjutnya disaring, diperoleh filtrat dan residu. Proses ini dilakukan tiga kali pengulangan. Ketiga filtrat digabungkan, dievaporasi menggunakan *rotary evaporator*, hasil ekstrak yang diperoleh adalah ekstrak pekat ditempatkan di cawan petri lalu disimpan dalam oven dengan suhu 40°C selama 24 jam untuk pengujian selanjutnya.

Skrining fitokimia (Harborne, 1996)

Sebanyak 2 g serbuk kulit batang soyogik dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian diekstraksi dengan pelarut metanol sebanyak 10 mL. Setelah sampel mengendap, sampel disaring dengan kertas saring dan filtrat yang diperoleh dipindahkan ke tabung reaksi lain untuk dilakukan pengujian fitokimia selanjutnya.

Uji fenolik

Diambil 1 mL ekstrak metanol kulit batang soyogik dan dimasukkan ke tabung reaksi lalu ditambahkan 2-3 tetes FeCl₃ 5% apabila terjadi perubahan warna dari warna awal hijau muda menjadi biru kehitaman, hal itu berarti sampel mengandung fenolik.

Uji flavonoid dengan HCl dan logam Mg

Diambil sebanyak 1 mL ekstrak metanol kulit batang soyogik dimasukkan ke tabung reaksi, kemudian ditambahkan asam klorida pekat sebanyak 2 tetes dan dikocok kuat. Setelah itu, ditambahkan serbuk magnesium (Mg) dan dikocok kuat. Sampel mengandung flavonoid bila terdapat buih dengan intensitas yang banyak dan larutan akan mengalami perubahan warna dari warna awal hijau muda menjadi warna jingga.

Uji flavonoid dengan H₂SO₄

Sebanyak 1 mL ekstrak metanol kulit batang soyogik dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan H₂SO₄ 2 N sebanyak 2 tetes dan dikocok kuat. Sampel mengandung flavonoid bila larutan mengalami perubahan warna yang sangat mencolok dari warna awal hijau muda menjadi warna kuning, merah, atau coklat.

Uji flavonoid dengan NaOH 10%

Sebanyak 1 mL ekstrak metanol kulit batang soyogik dimasukkan ke tabung reaksi, kemudian ditambahkan NaOH sebanyak 2 tetes dan dikocok kuat. Sampel mengandung flavonoid bila larutan mengalami perubahan warna yang sangat mencolok dari warna awal hijau muda menjadi warna kuning, merah, coklat, atau hijau.

Uji alkaloid

Disediakan tiga buah tabung reaksi untuk dimasukkan ekstrak metanol kulit batang soyogik sebanyak 1 mL. Setelah itu masing-masing ditambahkan 10 tetes H₂SO₄ 2 N dan dikocok kuat. Pada tabung pertama ditambahkan reagen dragendorff, pada tabung kedua ditambahkan reagen wagner, dan tabung ketiga ditambahkan reagen mayer, dan amati perubahan yang terjadi. Hasil positif bila pada tabung pertama (reagen dragendorff) menghasilkan endapan merah, pada tabung kedua (reagen wagner) menghasilkan endapan kecoklatan dan pada tabung ketiga (reagen mayer) menghasilkan endapan putih.

Uji terpen dan steroid (Sangi dkk., 2008)

Ekstrak metanol ditetaskan pada ke 3 titik plat tetes (titik pertama sebagai standart, kedua sebagai terpenoid dan ketiga sebagai steroid) dan biarkan hingga kering. Setelah kering ditambahkan asam sulfat pekat sebanyak 1 tetes, asam asetat anhidrat sebanyak 1 tetes, dan dietil eter sebanyak 2 tetes, kemudian diamati perubahan warnanya dari warna awal hijau muda. Sampel mengalami perubahan warna dari warna awal hijau muda menjadi warna merah atau coklat untuk terpenoid (triterpenoid) dan mengandung steroid bila berwarna biru, ungu atau hijau.

Uji saponin (Harborne, 1987)

Diambil 1 mL ekstrak metanol kulit batang soyogik dan dimasukkan ke tabung reaksi, lalu ditambahkan 5 mL air panas dan ditambahkan 2 tetes asam klorida (HCl) 2 N lalu dikocok kuat. Setelah itu, dilihat apakah terbentuk buih dari warna awal hijau muda setelah didiamkan selama 10 menit. Sampel mengandung saponin bila terdapat buih dan intensitas yang banyak dan konsisten selama 10 menit.

Uji tanin (Harborne, 1987)

Diambil 1 mL ekstrak metanol kulit batang soyogik dan dimasukkan ke tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes FeCl₃ 1%. Sampel mengandung tanin bila terjadi perubahan warna

dari warna awal hijau muda menjadi hijau kehitaman.

Fraksinasi

Sebanyak 12,78 g ekstrak dilarutkan dalam 100 mL aquades, kemudian larutan dipartisi dengan menambahkan 100 mL n-heksana dan dikocok dalam labu pemisah hingga terdapat dua lapisan (aquades pada lapisan bawah dan n-heksana pada lapisan atas). Diambil lapisan n-heksana, dilakukan beberapa kali sampai lapisan n-heksana menjadi bening. Lapisan aquades kemudian dipartisi kembali dengan cara yang sama menggunakan pelarut etil asetat dan aquades. Hasil partisi dari n-heksana, etil asetat dan aquades diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator*.

Uji aktivitas antioksidan (Subedi dkk., 2012)

Pengujian aktivitas antioksidan dibuat kontrol atau blanko yang mengandung metanol dengan DPPH tanpa dimasukkan ekstrak. Sebanyak 0,5 mL larutan fraksi dengan berbagai konsentrasi (25, 50, 100, 150 dan 200 µg/mL) dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan masing-masing 1,5 mL larutan DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhidrazil*) dan divortex selama 2 menit. Berubahnya warna ungu menjadi warna kuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Diukur absorbansi pada spektrofotometer dengan λ 517 nm setelah diinkubasi selama 30 menit. Nilai absorbansi dari tiap sampel dihitung presentase (%) inhibisinya dan menentukan nilai IC₅₀ dari persamaan regresi ($y = ax \pm b$). Aktivitas penangkal radikal bebas (%):

$$\% \text{ Inhibisi} = 1 - \left(\frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \right) \times 100\%$$

Absorbansi kontrol = Absorbansi blanko + DPPH

Absorbansi sampel = Absorbansi sampel + DPPH

HASIL DAN PEMBAHASAN**Kadar air**

Uji kadar air bertujuan untuk mengetahui kandungan air yang ada di dalam sampel yang diuji. Pengujian kadar air terhadap kulit batang soyogik dilakukan sebanyak 2 kali pengulangan, karena semakin banyak ulangan maka standar deviasi makin kecil sehingga hasil perhitungan yang diperoleh semakin baik.

Menurut Sudarmadji dkk. (1989), kandungan air dalam pengujian ini diharapkan nilainya rendah yaitu dibawah 10%. Karena

apabila kandungan airnya tinggi dapat menyebabkan peluang hidup mikroorganisme didalam sampel besar maka bisa mempengaruhi kandungan kimia yang ada didalam sampel.

Uji fitokimia

Hasil pengujian fitokimia kulit batang soyogik positif mengandung senyawa fenolik, flavonoid, triterpenoid, saponin dan tanin serta negatif untuk alkaloid dan steroid. Pengujian ini lebih ke arah ada tidaknya suatu senyawa sekunder atau biasa disebut uji kualitatif.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia kulit batang soyogik

Metabolit sekunder	Hasil uji
Fenolik	+
Flavonoid:	
a. HCl pekat + Mg	+
b. H ₂ SO ₄ 2 N	+
c. NaOH 10%	+
Alkaloid:	
a. Reagen Dragendorff	-
b. Reagen Wagner	-
c. Reagen Mayer	-
Steroid	-
Triterpenoid	+
Saponin	+
Tanin	+

Keterangan : (+) = positif (adanya perubahan warna),
(-) = negatif (tidak terjadi perubahan warna)

Tabel 1 menunjukkan bahwa, perubahan warna fenolik dari hijau muda menjadi biru kehitaman, disebabkan karena ion Fe³⁺ bereaksi dengan gugus keto pada fenolik yang bersifat sebagai logam pengkelat (Harborne, 1996). Pada uji flavonoid diperoleh hasil positif karena ketika sampel kulit batang soyogik ditambahkan asam klorida (HCl) pekat dan serbuk magnesium (Mg), terjadi perubahan warna hijau muda menjadi jingga. Hasil positif juga diperoleh pada uji flavonoid, yang ditunjukkan oleh perubahan warna hijau muda menjadi kuning, sehingga ketika sampel kulit batang soyogik direaksikan dengan asam sulfat (H₂SO₄) akan terbentuknya garam flavilium (Achmad, 1986). Hasil positif juga diperoleh pada uji flavonoid, yang ditandai dengan perubahan warna bila sampel kulit batang soyogik direaksikan dengan basa kuat seperti natrium hidroksida (NaOH) akan membentuk

asetofenon yang berwarna merah (Achmad, 1986).

Hasil negatif yang diperoleh pada uji alkaloid, disebabkan karena tidak terbentuknya endapan berwarna. Menurut (Achmad, 1986) hasil positif yang diperoleh pada uji alkaloid terlihat dari endapan yang terbentuk. Pereaksi dragendorff akan bereaksi dengan alkaloid membentuk endapan berwarna merah. Peraksi wagner akan bereaksi dengan alkaloid dan membentuk endapan berwarna coklat, sedangkan pereaksi mayer membentuk endapan berwarna putih.

Hasil negatif juga diperoleh pada uji steroid ketika sampel kulit batang soyogik ditambahkan pereaksi, sampel tidak mengalami perubahan warna. Pada uji terpenoid diperoleh hasil positif yang ditunjukkan oleh perubahan warna hijau muda menjadi coklat, ketika sampel kulit batang soyogik direaksikan dengan asam sulfat pekat. Hal ini disebabkan karena molekul-molekul asam anhidrida asetat dengan dietil eter akan berikatan dengan senyawa terpenoid yang terkandung dalam sampel tersebut (Sangi dkk., 2012). Dalam pengujian saponin diperoleh hasil positif yang ditunjukkan dengan adanya terbentuk busa/buih karena senyawa saponin memiliki sifat fisik yang mudah larut dalam akuades dan akan menimbulkan busa ketika dikocok.

Dalam uji tanin juga diperoleh hasil positif yang ditunjukkan oleh perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Hal ini disebabkan karena sampel kulit batang soyogik direaksikan dengan FeCl₃, agar gugus hidroksi dalam senyawa tanin dapat bereaksi dengan Fe³⁺, sehingga senyawa tanin tersebut adalah senyawa tanin (Sangi dkk., 2012).

Fraksinasi kulit batang soyogik

Hasil pengujian fraksinasi disajikan dalam Tabel 2. Tabel 2, menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki rendemen ekstrak paling besar yaitu 23,29 % diikuti dengan fraksi aquades dan fraksi n-heksana.

Tabel 2. Rendemen fraksi kulit batang soyogik

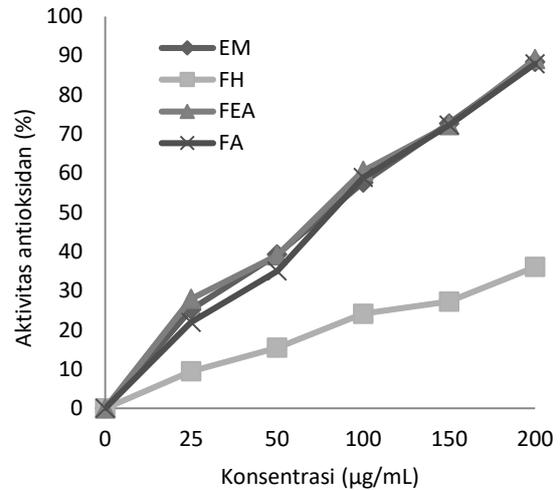
Fraksi	Berat (g)	Randemen (%)
Fraksi n-heksana (FH)	2,02	8,01
Fraksi etil asetat (FEA)	2,97	23,29
Fraksi air (FA)	1,20	9,43

Artinya dalam ekstrak kulit batang soyogik senyawa fitokimia yang paling banyak bersifat semipolar seperti senyawa fenolik dan flavonoid yang larut dalam etil asetat dan paling sedikit yang bersifat non polar seperti lemak, steroid dan alkaloid yang larut dalam n-heksana.

Aktivitas penangkal radikal bebas DPPH

Aktivitas penangkal radikal bebas DPPH dari ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi aquades dengan variasi konsentrasi 25, 50, 100, 150 dan 200 µg/mL ditambahkan masing-masing 0,5 mL ekstrak kulit batang dan 1,5 mL larutan DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl*). Berdasarkan Gambar 1, hasil perhitungan % inhibisi menunjukkan bahwa etil asetat memiliki daya hambat paling tinggi dibandingkan ekstrak metanol, fraksi aquades maupun fraksi n-heksana. Hal tersebut disebabkan karena sebagian besar senyawa yang terdapat pada kulit batang soyogik merupakan senyawa fenol yang bersifat polar sehingga dapat larut pada fraksi etil asetat. Persamaan regresi

dari fraksi pelarut dan ekstrak kulit batang soyogik untuk menentukan nilai IC₅₀ disajikan dalam Tabel 3.



Gambar 1. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol kulit batang soyogik. Keterangan: ekstrak methanol (EM), fraksi heksana (EH), fraksi etil asetat (FEA) dan fraksi air (FA)

Tabel 3. Persamaan regresi dan nilai IC₅₀ dari fraksi pelarut dan ekstrak kulit batang soyogik

Ekstrak fraksi	Persamaan regresi	R ²	IC ₅₀ (µg/mL)
Ekstrak metanol (EM)	$y = 0,3515x + 19,739$	0,9902	86,091
Fraksi n-heksana (FH)	$y = 0,1428x + 7,4879$	0,9728	297,703
Fraksi etil asetat (EA)	$y = 0,3442x + 21,753$	0,9886	86,065
Fraksi air (FA)	$y = 0,3809x + 16,02$	0,9792	89,209

Nilai IC₅₀ berbanding terbalik dengan kemampuan senyawa antioksidan. Nilai IC₅₀ yang semakin kecil menunjukkan bahwa senyawa uji tersebut mempunyai tingkat keefektifan yang lebih baik sebagai penangkal radikal bebas (Molyneux, 2004). Pada Tabel 3, dapat dilihat bahwa dengan nilai IC₅₀ menunjukkan bahwa fraksi etil asetat adalah yang paling tinggi sebesar 82,025 µg/mL diikuti dengan fraksi aquades, fraksi n-heksana dan ekstrak metanol.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian pada kulit batang soyogik mengandung senyawa metabolit sekunder, seperti fenolik, flavonoid, triterpenoid, saponin, dan tanin. Pengujian menggunakan DPPH menunjukkan bahwa, diperoleh nilai IC₅₀ dari fraksi etil asetat, ekstrak metanol, fraksi aquades dan fraksi n-heksana secara berturut-turut

sebesar 82,065; 86,091; 89,209 dan 297,703 µg/mL.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A. 1986. *Kimia organik bahan alam*. Karnunika, Jakarta.
- Assocoation of Official Analytical Chemist (AOAC) 925.45. 1999. Official methods of analysis of association of official analytical chemists. 15th edition. Kenneth Helrich, USA. *Chapter 44.1.03*.
- El Ghany, M.E., Ammar, M.S. & Hegazy, A.E. 2010. Use of olive waste cake extract as a natural antioxidant for improving the stability of heated sunflower oil. *Journal of World Applied Science*. 11(1), 106-113.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode fitokimia, penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Terjemahan K. Padmawinata dan Iwang Soediro. ITB. Bandung.

- Harborne, J.B. 1996. *Metode fitokimia*. Terbitan Kedua. Terjemahan Kokasih Padmawinata dan Iwang Soediro. ITB, Bandung.
- Jadhav, S.J., Nimbalkar, S.S., Kulkarni, A.D. & Madhavi, D.L. 1996. Lipid oxidation in biological and food systems. Dalam D.L. Madhavi, S.S. Deshpandeand, D.K. Salunkhe (eds.) *Food antioxidants technological, toxicological, and health drespectives*. Marcel Dekker, Inc, New York.
- Kadji, H.M., Runtuwene, M.R.J. & Citraningtyas, G. 2013. Uji fitokimia dan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun soyogik (*Saurauia bracteosa* DC). *Pharmacon*. 5(2), 13-17
- Molyneux, P. 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioksidan activity. *Songklanakarın Journal of Science Technology*. 26(2), 211-219.
- Oeinitan, J. 2013. Daya antioksidan ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) hasil pengadukan dan reflux. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Surabaya*. 1(2), 1-2.
- Runtuwene, M.R.J., Walingkas, S., Rantung, M., Tumbelaka, A. & Lampian, M. 2012. Riset khusus explorasi pengetahuan lokal etnomedisin dan tumbuhan obat di Indonesia berbasis komunitas etnis tonsawang. Laporan. 7109.00404. Lembaga Penelitian Universitas Sam Ratulangi Bekerja Sama Dengan Badan Litbang Kesehatan.
- Sangi, M., Runtuwene, M.R.J., Simbala, H.E. & Makang, V.A. 2008. Analisis fitokimia tumbuhan obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*. 1(1), 47-53.
- Sangi, M., L. Momuat. & Kumanaung, M. 2012. Uji toksisitas dan skrining fitokimia tepung gabah pelepah aren (*Arenga Pinnata*). *Jurnal Ilmiah Sains*. 12(2), 123-124.
- Subedi, A., Aimatya, M.P., Shrestha, T.M., Mishra, S.K. & Pokhrel, B.M. 2012. Antioxidant and antibacterial activity of methanolic extract of *Machilus odoratissima*. *Journal of Science, Engineering and Technology*. 8(1), 73-80.
- Sudarmadji, S., Haryono B. & Suhardi. 1989. *Prosedur analisis untuk bahan makanan dan pertanian*. Liberty, Yogyakarta.