

# Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Enzim $\alpha$ -amilase dari Ekstrak dan Fraksi Pelepah Aren (*Arenga pinnata* Merr.) serta Potensinya sebagai Nanoemulsi

## Antioxidant Activity and $\alpha$ -amylase Enzyme Inhibition of Extract and Fractions of Sugar Palm (*Arenga pinnata* Merr.) Fronds and their Potential as Nanoemulsions

Azizah Wulandari<sup>1</sup>, Edi Suryanto<sup>1\*</sup>, Henry Fonda Aritonang<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi, Manado

\*Email korespondensi: edisuryanto@unsrat.ac.id

### ABSTRACT

Research has been carried out on the antioxidant activity and inhibition of the  $\alpha$ -amylase enzyme extract and fractions of sugar palm fronds and their potential as nanoemulsions. The research stages include preparation, extraction, fractionation, determination of total phenolic content, flavonoids, condensed tannins, scavenging activity of DPPH free radicals and ABTS cation radicals, inhibition of the  $\alpha$ -amylase enzyme, nanoemulsion formulation and nanoemulsion characterization. The yield of the resulting extract was 5.46% with the highest fractionation yield in the water fraction (FA) (34.71%) and the lowest in the n-hexane (FNH) fraction (3.50%). The ethyl acetate (FEA) fraction has total phenolic content (176.91  $\mu\text{g/mL}$ ), flavonoid content (17.64  $\mu\text{g/mL}$ ) and condensed tannin (7.34  $\mu\text{g/mL}$ ), DPPH free radical scavenging activity (90.55%), ABTS cation radicals (99.15%), as well as inhibition of the  $\alpha$ -amylase enzyme (84.77%) with the highest value. Formulation 1 has the smallest nanoemulsion size, namely 13.58 nm with a polydispersity index of 0.017. The conclusion of this research is that palm frond extracts and fractions have antioxidant activity and inhibition of the  $\alpha$ -amylase enzyme and have potential as nanoemulsions.

Keywords: Sugar palm fronds, antioxidants,  $\alpha$ -amylase enzyme, nanoemulsion

### ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase ekstrak dan fraksi pelepah aren serta potensinya sebagai nanoemulsi. Tahapan penelitian meliputi preparasi, ekstraksi, fraksinasi, penentuan kandungan total fenolik, flavonoid, tanin terkondensasi, aktivitas penangkal radikal bebas DPPH dan radikal kation ABTS, penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase, formulasi nanoemulsi dan karakterisasi nanoemulsi. Rendemen ekstrak yang dihasilkan sebesar 5,46% dengan rendemen hasil fraksinasi tertinggi pada fraksi air (FA) (34,71%) dan terendah pada fraksi n-heksana (FNH) (3,50%). Fraksi etil asetat (FEA) memiliki kandungan total fenolik (176,91  $\mu\text{g/mL}$ ), flavonoid (17,64  $\mu\text{g/mL}$ ) dan tanin terkondensasi (7,34  $\mu\text{g/mL}$ ), aktivitas penangkal radikal bebas DPPH (90,55%), radikal kation ABTS (99,15%), serta penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase (84,77%) dengan nilai tertinggi. Formulasi 1 memiliki ukuran nanoemulsi terkecil yaitu sebesar 13,58 nm dengan indeks polidispersitas sebesar 0,017. Kesimpulan hasil penelitian ini adalah ekstrak dan fraksi pelepah aren memiliki aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase serta berpotensi sebagai nanoemulsi.

Kata kunci: Pelepah aren, antioksidan, enzim  $\alpha$ -amilase, nanoemulsi

### PENDAHULUAN

Diabetes melitus adalah penyakit kronis yang terjadi ketika tidak cukupnya produksi insulin oleh pankreas. Faktor gaya hidup yang buruk seringkali menjadi pemicu timbulnya diabetes sehingga menyebabkan orang yang sebelumnya tidak berisiko terkena diabetes pun ikut terkena penyakit tersebut (Ramdanawati dkk., 2020). Pada tahun 2021, *International Diabetes Federation* (IDF) mencatat 537 juta orang dewasa menderita diabetes di seluruh dunia. Indonesia menempati urutan kelima dengan jumlah penderita diabetes terbanyak setelah China, India, Pakistan dan Amerika. Diabetes melitus dapat

diobati dengan beberapa cara, termasuk mempertahankan kadar gula darah normal dengan penggunaan antioksidan dan melalui penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase (Rais dkk., 2013).

Kadar antioksidan vitamin A, C dan E ditemukan berkurang pada penderita diabetes. Hal ini diduga disebabkan oleh meningkatnya kebutuhan untuk mengendalikan stres oksidatif berlebihan yang disebabkan oleh metabolisme glukosa yang tidak normal (Roxana dkk., 2015). Stres oksidatif adalah ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan. Pembentukan radikal bebas akibat autooksidasi glukosa pada diabetes melitus melebihi kemampuan antioksidan intraseluler dalam menetralkan radikal bebas sehingga menyebabkan kerusakan sel. Kerusakan sel diketahui berhubungan dengan progresi diabetes (Febrinda dkk., 2013). Untuk menekan peningkatan produksi radikal bebas tersebut diperlukan antioksidan (Widaryanti dkk., 2021). Antioksidan adalah molekul yang cukup stabil untuk menetralkan molekul radikal bebas dengan menyumbangkan elektron atau hidrogennya. Antioksidan ini menghambat kerusakan sel terutama melalui sifat anti radikal bebasnya (Ibroham dkk., 2022).

Selain menggunakan senyawa antioksidan, pengobatan diabetes juga dapat dilakukan dengan menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase. Penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase dapat memperlambat waktu pencernaan karbohidrat, menurunkan laju penyerapan glukosa, dan mencegah peningkatan konsentrasi plasma glukosa postprandial (Pambudi dkk., 2021).

*Acarbose* adalah salah satu obat yang digunakan dalam pengobatan diabetes yang dapat menghambat kerja enzim  $\alpha$ -amilase. Sama halnya seperti obat lain, *acarbose* memiliki efek samping antara lain mual, kembung, atau diare (Khirzin dkk., 2020). Alternatif terapi yang lebih baik diperlukan untuk mencegah efek samping yang ditimbulkan dari penggunaan obat antidiabetes oral jangka panjang tersebut. Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat herbal kemungkinan akan semakin meningkat seiring dengan fenomena *back to nature* dan krisis ekonomi yang menyebabkan menurunnya daya beli masyarakat terhadap obat-obatan modern yang relatif lebih mahal dan dinilai mempunyai efek samping yang berbahaya (Kurniawan dkk., 2022).

Tanaman Aren (*Arenga pinnata* Merr.) merupakan salah satu jenis sumber daya alam yang tersebar luas di Indonesia, khususnya Sulawesi Utara. Bagian pohon aren yang paling sedikit dimanfaatkan adalah pelepah aren (Rindayatno dkk., 2022). Berdasarkan penelitian Dewi dkk. (2015), ekstrak etanol pelepah aren mengandung senyawa metabolit sekunder fenolik, khususnya golongan flavonoid. Senyawa tersebut berpotensi untuk mengobati diabetes karena dapat menurunkan kadar glukosa dengan cara menghambat adsorpsi glukosa, merangsang pelepasan insulin, dan merangsang enzim yang terlibat dalam metabolisme karbohidrat (Emelda dkk., 2022).

Kebanyakan obat yang berbahan dasar alami akan mempunyai masalah seperti kelarutan dan bioavailabilitas yang buruk (Tungadi, 2017). Penggunaan bahan alam sebagai bahan obat seringkali dalam bentuk sediaan berbasis nanoemulsi. Nanoemulsi adalah dispersi koloid yang stabil secara termodinamika, terdiri dari dua cairan yang tidak saling larut minyak dan air yang dicampur dengan bantuan surfaktan. Ukurannya berkisar antara 10 hingga 1000 nm (Gurpreet & Singh, 2018). Keunggulan bentuk sediaan nanoemulsi adalah ukuran partikel yang kecil yang membantu proses penyerapan obat lebih efektif dan bertahan lebih lama (Samsiar dkk., 2021).

## BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan antara lain pelepah aren dari Desa Talaitad, Sulawesi Utara. Bahan kimia meliputi etanol, n-heksana, etil asetat, butanol, reagen Folin Ciocalteu, kalium iodida, tween 80, natrium karbonat, aluminium klorida, natrium dihidrogen fosfat monohidrat, dinatrium hidrogen fosfat dodekahidrat, asam klorida dari E. Merck (Darmstaff, Germany) sedangkan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), vanilin, kuersetin, asam galat, asam askorbat, enzim  $\alpha$ -amilase dari Sigma-Aldrich. *Acarbose* dari Dexa Medica, serta *virgin coconut oil* (VCO), pati dan polietilenglikol (PEG) 400 berkualifikasi teknis.

### Preparasi sampel

Pelepah aren tua dari Desa Talaitad, Sulawesi Utara dibersihkan, dan diambil bagian dalamnya dengan cara dipisahkan dari kulit luar pelepah, kemudian dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C hingga kering. Setelah kering, pelepah aren diblender dan diayak dengan ayakan 80 mesh hingga diperoleh serbuk dengan ukuran seragam.

## Ekstraksi

Serbuk pelepah aren diekstraksi dengan metode maserasi. Sebanyak 500 g sampel ditempatkan dalam wadah maserasi dan ditambahkan 2000 mL pelarut etanol 96% sambil diaduk beberapa kali selama  $5 \times 24$  jam dan disaring menggunakan kertas saring untuk mendapatkan filtrat dan residu. Selanjutnya, filtrat diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu  $78^\circ\text{C}$  dilanjutkan pengeringan dalam oven pada suhu  $60^\circ\text{C}$  hingga didapatkan ekstrak kental yang disimpan sebagai ekstrak etanol pelepah aren (EE). Cara yang sama dilakukan untuk ekstraksi maserasi ulangan 2.

## Fraaksinasi

Sebanyak 5 g ekstrak etanol dilarutkan dalam 100 mL akuades. Kemudian, dipartisi dengan 150 mL n-heksana dalam corong pisah dan didiamkan hingga terdapat dua lapisan yang terpisah. Lapisan n-heksana diambil, lakukan beberapa ulangan sampai lapisan n-heksana berubah bening. Dengan cara yang sama, lapisan air kemudian difraaksinasi lagi dengan pelarut etil asetat dan butanol secara berturut-turut. Hasil fraaksinasi kemudian diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental yang disimpan sebagai fraksi n-heksana (FNH), fraksi etil asetat (FEA), fraksi butanol (FB), dan fraksi air (FA).

## Penentuan kandungan total fenolik

Kandungan total fenolik ditentukan mengikuti metode Folin-Ciocalteu (Conde dkk., 1997). Sebanyak 0,1 mL sampel FNH, FB, FEA, EE, dan FA ( $1000 \mu\text{g/mL}$ ) ditambahkan 0,1 mL reagen Folin Ciocalteu 50% dalam tabung reaksi dan *divortex*. Setelah itu, ditambahkan 2 mL larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2% dan diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi dibaca pada  $\lambda$  750 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasilnya dinyatakan sebagai setara asam galat dalam  $\mu\text{g/mL}$  ekstrak.

## Penentuan kandungan total flavonoid

Kandungan total flavonoid ditentukan menurut metode Meda dkk. (2005). Sebanyak 1 mL masing-masing sampel ( $1000 \mu\text{g/mL}$ ) ditambahkan 2 mL  $\text{AlCl}_3$  2% dalam tabung reaksi, *divortex* dan diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi dibaca pada  $\lambda$  415 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasilnya dinyatakan sebagai setara kuersetin dalam  $\mu\text{g/mL}$  ekstrak.

## Penentuan kandungan total tanin terkondensasi

Kandungan tanin terkondensasi ditentukan menurut metode Julkunen-Titto dkk. (1985), dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 0,1 mL masing-masing sampel ( $1000 \mu\text{g/mL}$ ) dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah dilapisi dengan aluminium foil, ditambahkan 3 mL larutan vanilin 4% dan *divortex*. Kemudian, ditambahkan 1,5 mL HCl 12 M lalu *divortex* lagi dan diinkubasi selama 20 menit dalam ruang gelap. Absorbansi dibaca pada  $\lambda$  500 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasilnya dinyatakan sebagai setara katekin dalam  $\mu\text{g/mL}$  ekstrak.

## Uji aktivitas penangkal radikal bebas DPPH

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH ditentukan menurut metode Burda & Oleszeck (2001). Sebanyak 0,5 mL masing-masing sampel ( $1000 \mu\text{g/mL}$ ) ditambahkan 2 mL larutan DPPH dan *divortex* lalu diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi dibaca pada  $\lambda$  517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Prosedur yang sama dilakukan dengan menggantikan sampel dengan asam askorbat ( $1000 \mu\text{g/mL}$ ) sebagai kontrol positif. Aktivitas penangkal radikal bebas (APRB) dihitung dengan menggunakan persamaan:

$$\text{APRB (\%)} = 1 - \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

## Uji aktivitas penangkal radikal kation ABTS

Penentuan aktivitas penangkal radikal kation ABTS ditentukan menurut metode Re dkk. (1999). Sebanyak 0,1 mL masing-masing sampel ( $1000 \mu\text{g/mL}$ ) ditambahkan 2 mL larutan ABTS dalam tabung reaksi, *divortex* dan diinkubasi selama 6 menit. Absorbansi dibaca pada  $\lambda$  734 nm spektrofotometer UV-Vis. Prosedur yang sama dilakukan dengan menggantikan sampel dengan asam askorbat ( $1000 \mu\text{g/mL}$ )

sebagai kontrol positif. Aktivitas penangkal radikal kation (APRK) dihitung dengan menggunakan persamaan:

$$\text{APRK (\%)} = 1 - \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

### Penentuan aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -amilase

Penentuan penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase menurut metode Bhutkar & Bhise (2012) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 1 mL masing-masing sampel (1000  $\mu\text{g/mL}$ ), enzim  $\alpha$ -amilase (1000  $\mu\text{g/mL}$ ), buffer fosfat pH 7 dipipet ke dalam tabung reaksi dan diinkubasi selama 90 menit, ditambahkan pati 2% dan diinkubasi lagi selama 10 menit kemudian ditambahkan 1 mL HCl 1 M dan 0,1 mL KI 0,01 N dan absorbansi dibaca pada  $\lambda$  614 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Prosedur yang sama dilakukan dengan menggantikan sampel dengan *acarbose* (1000  $\mu\text{g/mL}$ ) sebagai kontrol positif. Aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase dihitung menggunakan persamaan:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

### Formulasi nanoemulsi

Formulasi nanoemulsi menurut metode Asmarani & Wahyuningsih (2015) dengan sedikit modifikasi terhadap variasi ekstrak/fraksi dengan hasil terbaik pada 6 pengujian sebelumnya. Rasio pada formulasi nanoemulsi ditentukan berdasarkan berat ekstrak/fraksi, surfaktan dan kosurfaktan. Formulasi nanoemulsi disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Formulasi sediaan nanoemulsi

Bahan Nanoemulsi	Formula (%)		
	Formula I	Formula II	Formula III
Ekstrak/fraksi terbaik	1	2,5	5
<i>Virgin Coconut Oil</i>	5	5	5
Tween 80	36	36	36
PEG 400	35	35	35
Akuades	add 100	add 100	add 100

Berdasarkan metode Yuliani dkk. (2016) yang sedikit dimodifikasi, ekstrak/fraksi terbaik, *virgin coconut oil*, tween 80, dan PEG 400 dimasukkan ke dalam botol vial lalu divortex dan ditambahkan akuades sedikit demi sedikit, lalu disentrifugasi selama 5 menit. Kemudian, disonikasi selama 40 menit. Dengan prosedur yang sama dilakukan tanpa adanya ekstrak atau fraksi terbaik, hanya adanya surfaktan dan ko-surfaktan sebagai kontrol.

### Karakterisasi nanoemulsi

Karakterisasi nanoemulsi dilakukan dengan mengamati ukuran dan *Polidispersity Index* (PDI) nanoemulsi menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA).

### Analisis data

Semua data eksperimen diulang dua kali dan hasilnya dinyatakan sebagai rata-rata  $\pm$  standar deviasi (SD). Uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk analisis ragam dilakukan menggunakan *software SPSS* versi 26.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Rendemen hasil ekstraksi

Hasil rendemen dari suatu sampel sangat penting dalam menentukan jumlah ekstrak yang diperoleh dalam proses ekstraksi. Nilai rendemen mengacu pada senyawa aktif dalam suatu sampel, sehingga semakin tinggi rendemen, maka semakin banyak pula jumlah senyawa aktif dalam sampel (Hasnaeni dkk., 2019). Rendemen ekstrak etanol pelepah aren ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rendemen ekstrak etanol pelepah aren

Sampel	Serbuk sampel (g)	Ekstrak (g)	Rendemen (%)	Rataan Rendemen (%)
EE 1	500	36,88	7,38	5,46
EE 2	500	17,76	3,55	

Keterangan: Serbuk pelepah aren yang diekstraksi dengan pelarut etanol untuk ulangan 1 (EE 1), serbuk pelepah aren yang diekstraksi dengan pelarut etanol untuk ulangan 2 (EE 2).

Sebanyak dua kali ekstraksi menghasilkan rendemen rata-rata 5,46% (b/b). Sampel berukuran 80 mesh digunakan dalam proses ekstraksi, hal ini dimaksudkan untuk menambah ukuran permukaan sampel. Semakin besar luas permukaan sampel, maka interaksi antara sampel dengan pelarut juga semakin besar sehingga proses ekstraksi berlangsung optimal (Ncube dkk., 2008). Etanol 96% dipilih sebagai pelarut dalam proses ekstraksi karena selektif, absorpsinya baik, dan kemampuan penyariannya yang tinggi (Wendersteyt dkk., 2021).

### Rendemen hasil partisi pelepah aren

Pada proses fraksinasi ekstrak etanol pelepah aren dilakukan metode ekstraksi cair-cair yaitu menggunakan tiga pelarut yang berbeda polaritas, sehingga senyawa-senyawa yang terkandung di dalamnya akan terpisah berdasarkan kepolarannya. Rendemen hasil fraksinasi ekstrak etanol pelepah aren disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Rendemen hasil partisi

Fraksi	Rendemen (%)
Fraksi n-heksana (FNH)	3,50±0,31 <sup>d</sup>
Fraksi butanol (FB)	9,63±0,20 <sup>b</sup>
Fraksi etil asetat (FEA)	5,11±0,69 <sup>c</sup>
Fraksi air (FA)	34,71±0,51 <sup>a</sup>

Keterangan: Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ )

Berdasarkan Tabel 3, rendemen tertinggi ada pada fraksi air (FA) sebesar 34,71% dan terendah pada fraksi n-heksana (FNH) sebesar 3,50%. Rendemen tertinggi yang terdapat pada fraksi air (FA) disebabkan oleh banyaknya kandungan senyawa polar pada ekstrak pelepah aren yang terekstrak, hal ini sesuai dengan pernyataan Laeliocattleya dkk. (2014) dimana senyawa polar lebih terkonsentrasi pada fraksi air. Rendahnya rendemen pada FNH dikarenakan jenis senyawa yang terdapat pada pelepah aren lebih bersifat polar dan semipolar sehingga kurang larut dalam pelarut nonpolar seperti n-heksana. Penggunaan pelarut yang polaritasnya berbeda akan memengaruhi jenis senyawa yang terekstrak.

### Kandungan total fenolik, flavonoid dan tanin terkondensasi

Kandungan fenolik ditentukan berdasarkan kemampuan senyawa fenolik pada pelepah aren yang bereaksi dengan asam fosfomolibdat-fosfotungstat membentuk senyawa kompleks yaitu molibdenum-tungstat berwarna biru. Semakin gelap warna birunya, maka semakin tinggi konsentrasi total senyawa fenolik dalam sampel (Makanaung dkk., 2021). Analisis kuantitatif flavonoid dilakukan dengan metode  $AlCl_3$ . Ketika  $AlCl_3$  ditambahkan, terbentuk kompleks antara  $AlCl_3$  dan kuersetin, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah sinar tampak ( $\lambda$  415 nm), hal ini ditandai dengan perubahan warna larutan dari tidak berwarna menjadi kuning (Asmorowati & Lindawati, 2019). Kandungan tanin terkondensasi ditentukan dengan metode uji vanillin HCl, di mana vanillin terprotonasi dalam asam dan membentuk karbokation yang bereaksi dengan flavonoid sehingga terjadi reaksi dehidrasi yang membentuk senyawa berwarna ungu atau merah (Salunkhe dkk., 1990). Hasil penentuan kandungan total fenolik, flavonoid, dan tanin terkondensasi dari berbagai hasil fraksinasi ekstrak etanol pelepah aren ditunjukkan pada Tabel 4. Tabel 4 menunjukkan bahwa kandungan fenolik tertinggi adalah pada FEA diikuti FNH, FB, EE, dan FA. Hasil yang diperoleh sesuai dengan penelitian Prasetyo dkk., (2016) bahwa kandungan fenolik pelepah aren tertinggi terdapat pada fraksi etil asetat. Rohman dkk. (2006) juga melaporkan bahwa pelarut etil asetat sangat cocok untuk ekstraksi senyawa fenolik.

Tabel 4. Kandungan total fenolik, flavonoid, dan tanin terkondensasi

Sampel	Kandungan Total Fenolik ( $\mu\text{g/mL}$ )	Kandungan Total Flavonoid ( $\mu\text{g/mL}$ )	Kandungan Total Tanin Terkondensasi ( $\mu\text{g/mL}$ )
Fraksi n-heksana (FNH)	84,17 $\pm$ 0,33 <sup>b</sup>	9,98 $\pm$ 0,14 <sup>c</sup>	5,74 $\pm$ 0,20 <sup>b</sup>
Fraksi butanol (FB)	79,33 $\pm$ 0,65 <sup>c</sup>	15,18 $\pm$ 0,18 <sup>b</sup>	5,18 $\pm$ 0,12 <sup>c</sup>
Fraksi etil asetat (FEA)	176,91 $\pm$ 0,40 <sup>a</sup>	17,64 $\pm$ 0,19 <sup>a</sup>	7,10 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>
Ekstrak etanol (EE)	74,22 $\pm$ 0,49 <sup>d</sup>	8,40 $\pm$ 0,04 <sup>d</sup>	4,91 $\pm$ 0,08 <sup>c</sup>
Fraksi air (FA)	50,51 $\pm$ 0,67 <sup>e</sup>	2,73 $\pm$ 0,15 <sup>e</sup>	5,77 $\pm$ 0,16 <sup>d</sup>

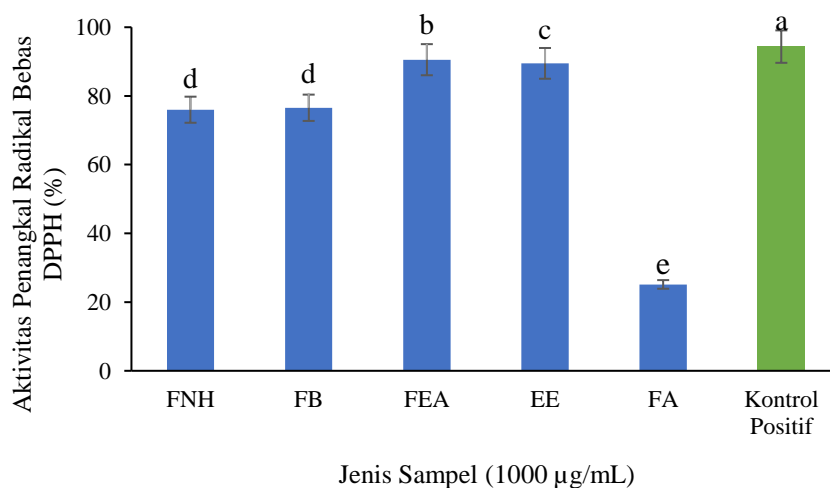
Keterangan: Huruf yang berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ )

Kandungan total flavonoid tertinggi terdapat pada FEA dengan FB, FNH, EE, dan FA. Flavonoid yang dilarutkan dalam etil asetat diperkirakan merupakan flavonol yang berbentuk aglikon, o-glikosida, dan aglikon polihidroksi (Harborne, 1998). Kandungan total flavonoid FNH lebih kecil dari FEA dan FB, dikarenakan n-heksana bersifat non polar, hal ini menunjukkan jumlah senyawa yang bersifat nonpolar yang dapat larut dalam n-heksana lebih sedikit dibandingkan dengan jumlah senyawa yang dapat larut oleh pelarut semipolar. Ada beberapa flavonoid yang larut dalam pelarut nonpolar seperti aglikon polimetoksi atau isoflavon yang gugus gula atau bentuk glikosidanya telah dihilangkan (Wulandari dkk., 2022).

Kandungan total tanin terkondensasi terdapat pada FEA diikuti dengan FA dan FNH secara statistik hasilnya tidak menunjukkan perbedaan, serta FB dan EE yang juga tidak menunjukkan perbedaan secara statistik. Tingginya kandungan tanin terkondensasi pada FEA didukung oleh penelitian Rosamah dkk. (2017) yang melaporkan bahwa fraksi yang terlarut dalam etil asetat, kaya akan kandungan tanin terkondensasi.

### Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH

Aktivitas penangkal radikal bebas DPPH diukur berdasarkan transfer elektron yang dilakukan oleh antioksidan. DPPH yang mempunyai warna ungu tua memberikan serapan pada  $\lambda$  517 nm, namun setelah mengalami reduksi, DPPH akan berubah menjadi senyawa difenil pikrilhidrazin yang lambat laun warnanya akan berubah menjadi kuning dan nilai serapannya sebanding dengan jumlah elektron yang diterima (Wulansari, 2018). Gambar 1 menunjukkan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH ekstrak dan fraksi-fraksi yang diteliti.



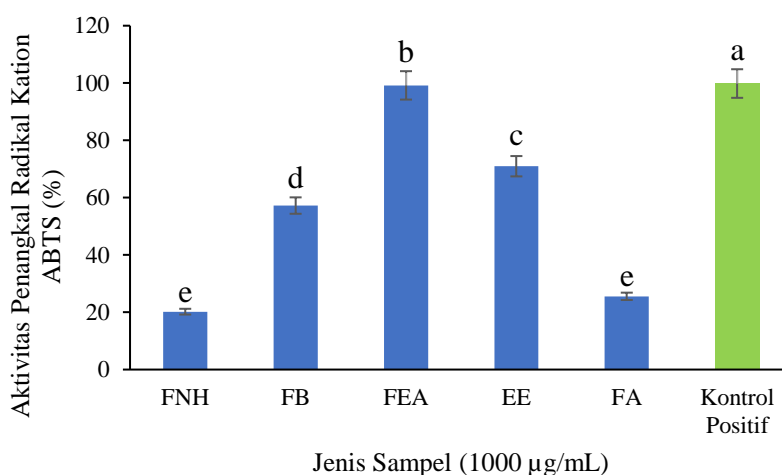
Gambar 1. Aktivitas penangkal radikal bebas DPPH. Asam askorbat sebagai kontrol positif. Singkatan sama seperti pada Tabel 4. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ).

Berdasarkan Gambar 1, aktivitas tertinggi pada FEA (90,55%) yang diikuti EE (89,48%), FB (76,56%), FNH (75,99%), dan FA (25,14%) yang menunjukkan perbedaan statistik dengan asam

askorbat sebagai kontrol positif (94,36%). Semakin tinggi nilai peredaman radikal bebas (%) maka semakin baik pula daya serap antioksidan tersebut untuk menangkai radikal bebas pada DPPH. Tingginya aktivitas penangkai radikal bebas DPPH pada fraksi etil asetat sesuai dengan kandungan total flavonoidnya. Kemampuan senyawa flavonoid dalam menangkap radikal bebas disebabkan oleh adanya gugus hidroksi fenolik sebagai donor atom hidrogen bagi radikal tersebut (Hidayah & Anggarani, 2022). Hasil ini didukung dengan penelitian Sangi & Pontoh (2019) yang melaporkan aktivitas penangkai radikal bebas DPPH tepung pelepah aren paling besar pada fraksi etil asetat dan terendah terdapat pada fraksi air.

### Penentuan aktivitas penangkai radikal kation ABTS

Metode ABTS didasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan dalam menstabilkan radikal bebas dengan cara menyumbangkan proton kepada radikal bebas yang ditandai dengan perubahan warna dari biru kehijauan menjadi tidak berwarna (Theafelicia & Wulan, 2023). Gambar 2 menunjukkan aktivitas penangkai radikal bebas kation ABTS dari ekstrak dan fraksi-fraksi yang diteliti.

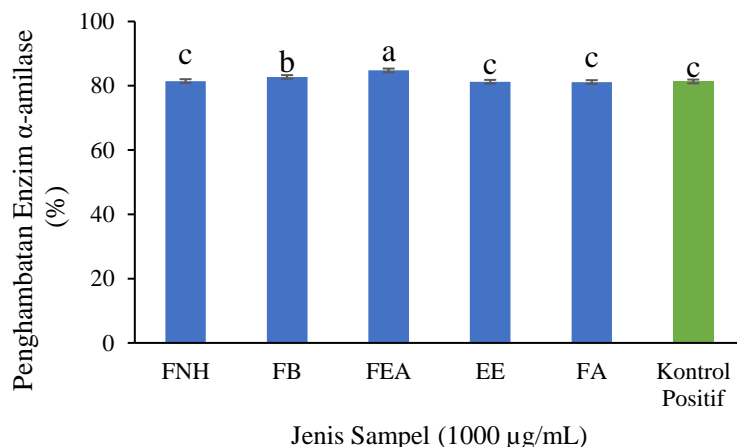


Gambar 2. Aktivitas penangkai radikal kation ABTS. Asam askorbat sebagai kontrol positif. Singkatan sama seperti pada Tabel 4. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ).

Berdasarkan Gambar 2, aktivitas tertinggi pada FEA (99,17%) yang diikuti EE (70,49%), FB (57,23%), FA (25,56%), dan FNH (20,20%) yang menunjukkan perbedaan statistik dengan asam askorbat sebagai kontrol positif (99,82%). Asam askorbat umumnya digunakan sebagai standar pembandingan dalam uji antioksidan dikarenakan memiliki gugus hidroksi bebas yang berperan dalam penangkapan radikal bebas (Kusumawati & Haryoto, 2020). Menurut Warsi & Puspitasari (2017), penggunaan pelarut etil asetat dalam proses fraksinasi lebih lanjut dapat mengisolasi senyawa-senyawa yang berperan sebagai antioksidan, antara lain flavonoid dan polifenol yang bersifat semipolar. Hal ini menghasilkan efek penghambatan yang lebih tinggi pada fraksi etil asetat dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi lainnya.

### Penentuan aktivitas penghambatan enzim $\alpha$ -amilase

Pengujian aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase dilakukan untuk mengukur aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase dengan mengamati intensitas warna biru pada kompleks iodine-amilum. Hal ini disebabkan adanya reduksi substrat pati melalui hidrolisis oleh enzim  $\alpha$ -amilase menjadi monosakarida (glukosa) dan tidak bereaksi dengan iodine (Wahyudi dkk., 2022). Gambar 3 menunjukkan penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase dari ekstrak dan fraksi-fraksi yang dikaji.



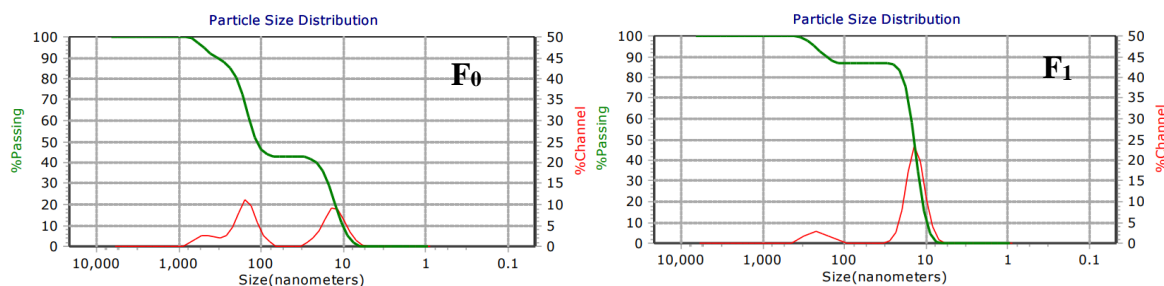
Gambar 3. Aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase ekstrak dan fraksi pelepah aren. Singkatan sama seperti pada Tabel 4. *Acarbose* sebagai kontrol positif. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ).

Berdasarkan Gambar 3, aktivitas tertinggi terdapat pada FEA (84,77%) yang diikuti FB (82,73%) dan FNH (81,47%) menunjukkan perbedaan statistik dengan *acarbose* (81,34%), serta EE (81,25%), dan FA (81,16%) yang hasilnya tidak memiliki perbedaan secara statistika dengan *acarbose* (81,34%). Hasil ini sesuai dengan tingginya kandungan total flavonoid pada FEA. Senyawa fenolik merupakan salah satu komponen bioaktif utama yang mempunyai kemampuan menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase. Adanya ikatan hidrogen gugus hidroksil fenolik dengan gugus NH- dan CO- pada protein menyebabkan terbentuknya kompleks protein-fenol. Ikatan kovalen dan hidrofobik juga dilaporkan terdapat pada kompleks tersebut (Prangdimurti & Julian, 2013). Selain senyawa fenolik, salah satu turunannya yaitu senyawa flavonoid juga memengaruhi efektivitas dalam menghambat enzim  $\alpha$ -amilase. Reaksi antara flavonoid dan enzim  $\alpha$ -amilase dapat mengakibatkan penurunan aktivitas katalitik enzim yang bergantung pada dosis, sehingga melemahkan afinitas pengikatannya terhadap enzim  $\alpha$ -amilase karena hidroksilasi cincin C dari flavonoid (Kusmiyati dkk., 2023).

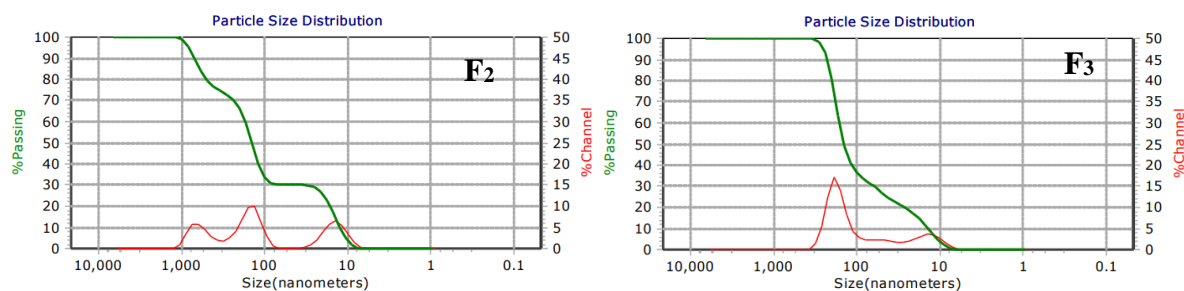
Aktivitas katalisis dari enzim  $\alpha$ -amilase dengan pati akan menghasilkan gula reduksi. Ekstrak dan fraksi pelepah aren dimaksudkan menjadi senyawa inhibitor yang mampu menghambat kerja enzim  $\alpha$ -amilase dalam mengkatalisis pati atau substrat sehingga tidak terbentuk gula reduksi. Tidak adanya gula pereduksi menyebabkan penurunan intensitas warna yang terbentuk sehingga serapan pada panjang gelombang maksimum juga menurun. Semakin kecil nilai serapan yang diukur, semakin besar pula kemampuan sampel dalam menghambat enzim  $\alpha$ -amilase (Nugraha & Hasanah, 2018).

### Karakterisasi nanoemulsi

Nanoemulsi adalah emulsi yang transparan dan stabil secara termodinamika yang memiliki rentang ukuran partikel 5-200 nm (Mishra dkk., 2014). Rata-rata ukuran nanoemulsi dapat dilihat pada Gambar 4 dan Tabel 5.







Gambar 4. Hasil ukuran nanoemulsi fraksi etil asetat pelepah aren. Kontrol ( $F_0$ ); formulasi I ( $F_1$ ); formulasi II ( $F_2$ ); dan formulasi III ( $F_3$ )

Tabel 5. Karakteristik nanoemulsi fraksi etil asetat pelepah aren

Formulasi	Ukuran nanoemulsi (nm)	<i>Polydispersity Index (PDI)</i>
$F_0$	13,04	0,643
$F_1$	13,58	0,017
$F_2$	132,2	1,283
$F_3$	165,1	0,554

Keterangan: kontrol ( $F_0$ ); formulasi I ( $F_1$ ); formulasi II ( $F_2$ ); dan formulasi III ( $F_3$ )

Berdasarkan Tabel 5, semakin besar jumlah fraksi etil asetat (FEA) yang ditambahkan ke dalam formulasi, maka semakin besar pula ukuran nanoemulsi yang dihasilkan. Faktor lain yang memengaruhi produksi nanoemulsi ukuran kecil adalah jenis surfaktan. Jenis surfaktan yang umum digunakan dalam proses nanoemulsi adalah surfaktan nonionik khususnya tween 80 karena mempunyai kemampuan afinitas yang erat fase air dan minyak, menurunkan tegangan permukaan, menghasilkan muatan droplet yang kecil tanpa memengaruhi oksidasi sampel (Walker dkk., 2017). Selain surfaktan, adanya PEG 400 yang merupakan MCH (*Medium Chain Hydrocarbon*) sebagai kosurfaktan dalam formulasi nanoemulsi berfungsi untuk memaksimalkan proses emulsifikasi sehingga dapat menghasilkan sediaan nanoemulsi yang jernih dan stabil (Widyastuti & Saryanti, 2023). *Virgin Coconut Oil (VCO)* digunakan sebagai fase minyak, mengandung *Medium Chain Triglyceride (MCT)* yang mempunyai kemampuan interaksi lebih baik karena lebih mudah larut di dalam air dan mengandung lebih banyak gugus polar sehingga mampu memperluas permukaan dan membentuk emulsi yang stabil (Puspitasari dkk., 2022). Proses sonikasi dilakukan untuk menghasilkan partikel berukuran nanometer (Sulungbudi dkk., 2017). Sonikasi adalah metode yang menggunakan gelombang ultrasonik untuk mengubah sinyal listrik menjadi getaran fisik atau gelombang ultrasonic yang menyebabkan terurainya molekul-molekul dalam sampel karena adanya efek kavitasi (Rusdiana dkk., 2018).

Hasil analisis PSA menunjukkan bahwa semua sediaan nanoemulsi telah memenuhi kriteria <200 nm (Mishra dkk., 2014) dengan  $F_1$  sebagai formulasi terbaik yang memiliki ukuran partikel terkecil sebesar 13,58 nm dengan indeks polidispersitas sebesar 0,017. Ukuran partikel yang kecil ditunjukkan oleh rendahnya indeks polidispersitas. Indeks ini juga menggambarkan distribusi keseragaman globul-globul dalam nanoemulsi. Indeks polidispersitas yang baik mempunyai nilai yang kurang dari 0,5, sedangkan nilai yang lebih besar dari 0,5 menunjukkan distribusi partikel yang tidak merata (Suciati dkk., 2014).

## KESIMPULAN

Fraksi etil asetat (FEA) pelepah aren memiliki kandungan total fenolik, flavonoid, tanin terkondensasi, kemampuan penangkal radikal bebas DPPH dan penangkal radikal kation ABTS serta kemampuan penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase dengan nilai tertinggi. Formulasi nanoemulsi terbaik yaitu  $F_1$  dengan rasio penambahan FEA terkecil dibanding  $F_2$  dan  $F_3$  memiliki ukuran nanoemulsi terkecil yaitu sebesar 13,58 nm dengan indeks polidispersitas sebesar 0,017.

## DAFTAR PUSTAKA

- Asmarani, F., & Wahyuningsih, I. 2015. Pengaruh variasi konsentrasi tween 80 dan sorbitol terhadap aktivitas antioksidan minyak zaitun (*Oleum olivae*) dalam formulasi nanoemulsi. *Jurnal Farmasains*, 2(5), 223-228.
- Asmorowati, H., & Lindawati, N. 2019. Penetapan kadar flavonoid total alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 15(2), 51-63.
- Bhutkar, M.A., & Bhise, S.B. 2012. In vitro assay of alpha amylase inhibitory activity of some indigenous plants. *International Journal of Chemical Science*. 10(1), 457-462.
- Burda, S., & Oleszek, W. 2001. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6), 2774-2779.
- Conde, E.E., Cadahia, M.C., Garcia-Vallejo, Simon, B.F.D., & Adrados, J.R.G. 1997. Low molecular weight polyphenol in cork of quercus suber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(7), 2695-2700.
- Dewi, M., Ratnawati, J., & Sukmaningsih, F. 2015. Aktivitas antimikroba ekstrak etanol dan fraksi pelepah aren (*Arenga Pinnata* Merr) terhadap *Propionibacterium Acnes* dan *Staphylococcus Aureus*. *Kartika: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(1), 43-48.
- Emelda, A., Wati, A., Yulismayanti, B., & Yuliana, D. 2022. Uji efektivitas ekstrak etanol daun lamun (*Cymodocea rotundata*) terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus diabetes melitus. *As-Syifa Jurnal Farmasi*, 14(2), 168-173.
- Febrinda, A., Astawan, M., Wresdiyanti, T., & Yuliana, N. 2013. Kapasitas antioksidan dan inhibitor alfa glukosidase ekstrak umbi bawang dayak. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 24(2), 161-167.
- Harborne, J. 1998. *Phytochemical Methods*. London: Chapman & Hall.
- Hasnaeni, Wisdawati, & Usman, S. 2019. Pengaruh metode ekstraksi terhadap rendemen dan kadar fenolik ekstrak tanaman kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco). *Jurnal Farmasi Galenika*, 5(2), 175-182.
- Hidayah, L., & Anggarani, M. 2022. Determination of total phenolic, total flavonoid, and antioxidant activity of india onion extract. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 11(2), 124-135.
- Ibroham, M., Jamilatun, S., & Kumalasari, I. 2022. A review: potensi tumbuhan-tumbuhan di indonesia sebagai antioksidan alami. *Seminar Nasional Penelitian LPPM UMJ*. Universitas Muhammadiyah Jakarta, 26 Oktober 2022.
- International Diabetes Federation Atlas. 2021. Diabetes Around the World in 2021. <https://diabetesatlas.org/>. [25 November 2023].
- Julkunen-Titto, R. 1985. Phenolic Constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33(2), 213-217.
- Khirzin, M., Hilmi, M., Prastujati, A., Mawardi, N., & Rahayu, R. 2020. Karakteristik hidrolisat gelatin tulang itik dengan enzim tripsin sebagai penghambat alfa amilase ( $\alpha$ -Amilase Inhibitor). *Jurnal Ilmiah Inovasi*, 20(3), 55-60.
- Kurniawan, D.W., Lestari, N.D., Sulisty, H., & Cacu, C. 2022. Pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol brotowali, sambiloto, meniaran dan kayu manis terhadap histopatologi glomerulus tikus model hiperglikemia. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 7(3), 294-306.
- Kusmiyati, M., Sudaryat, Y., Rismiarti, Z., & Sari, E.D. 2023. Uji aktivitas ekstrak daun dan buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai antidiabetes melalui inhibisi  $\alpha$ -amilase. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, 15(1), 163-171.
- Kusumawati, N., & Haryoto, H. 2020. Antioxidant activity of extract and fraction from *Boesenbergia pandurata* rhizome by FRAP Method. *International; Summit on Science Technology and Humanity*. 1(2), 630-634.
- Laeliocattleya, R., Prasiddha, I., Estiasih, T., Maligan, J., & Muchlisyyah, J. 2014. Potensi senyawa bioaktif rambut jagung (*Zea mays* L.) hasil fraksinasi bertingkat menggunakan pelarut organik untuk tabir surya alami. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 15(3), 175-184.
- Makanaung, E., Rorong, J., & Suryanto, E. 2021. Analisis fitokimia dan uji efek sedatif dari ekstrak etanol dan beberapa fraksi daging buah pala (*Myristice Fragrans* Houtt). *Chemistry Progress*, 14(1), 7-13.

- Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O.G. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in burkina fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91(3), 571-577.
- Mishra, R., Soni, G., & Mishra, R. 2014. Review article: on nanoemulsion. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 3(9), 258-274.
- Ncube, N., Afolayan, A., & Okoh, A. 2008. Assesement techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. *Africa Journal of Biotechnology*, 7(12), 30-32.
- Pambudi, D., Fajriyah, N., & Maharisti, R. 2021. Test of a-Amylase Inhibition activity in ethanol extract of fennel leaves (*Foeniculum vulgare* Mill.) using elisa reader. *Urecol Journal*, 1(1), 1-7.
- Prangdimurti, E., dan Julian, A.R. 2013. Inhibisi alfa-amilase dan alfa-glukosidase teh hijau dipengaruhi oleh cara penyeduhan dan proses pencernaan. *Prosiding Seminar Nasional PATPI*. Hal. 29-37.
- Prasetyo, Y.E., Sangi, M.S., & Wuntu, A.D. 2016. Penentuan total fenolik dan aktivitas antioksidan fraksi etil asetat tepung pelepah aren (*Arenga pinnata*). *Jurnal Ilmiah Sains*, 16(2), 68-72.
- Puspitasari, D.A., Rahmawati, N., Putri, N.K., & Fajar, M. 2022. Nanoemulsi ekstrak wortel dan virgin coconut oil sebagai supleme provitamin a untuk mencegah kekurangan vitamin a. *Agritech: Jurnal Fakultas Teknologi Pertanian UGM*, 42(1), 65-74.
- Rais, I.R., Samudra, A.G., Widyarini, S., & Nugroho, A.E. 2013. Determination of andrographolide isolate activity to alpha-amylase and alpha-glucosidase using apostolidis and mayur method. *Traditional Medicine Journal*, 18(3), 162-166.
- Ramdanawati, L., Kurnia, D., Roni, A., Kalimatillah, Q., & Nurachman, Z. 2020. Aktivitas inhibisi  $\alpha$ -amilase ekstrak mikroalga *chlorella vulgaris* sebagai kandidat antidiabetes. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 5(1), 105-113.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. 1998. Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 1231-1237.
- Rindayatno., Rohman, F., & Fahmi, A.N. 2022. Analisis kualitas briket arang berdasarkan komposisi serbuk arang pelepah kelapa sawit (*Elais guineensis* Jacq) dengan serbuk arang pelepah aren (*Arenga pinnata* Merr). *Jurnal Multidisiplin Madani*, 2(6), 2879-2894.
- Rohman, A., Riyanto, S., & Utari, D. 2006. Aktivitas antioksidan, kandungan fenolik total dan kandungan flavonoid total ekstrak etil asetat buah mengkudu serta fraksi-fraksinya. *Majalah Farmasi Indonesia*, 17(3), 136-142.
- Rosamah, E., Awaliyan, H.M.R., & Sukaton, E. 2017. Karakteristik tanin dari ekstrak kulit kayu leda (*Eucalyptus deglupta* Blume.). *Jurnal Hutan Tropis*. 1(1), 16-28.
- Roxana, V.R., Guadarrama, L.A.L., Martinez, C.B.E., & Benitez, A.A.D. Vitamins and type 2 diabetes mellitus. *endocrine, metabolic & immune disorders-drug targets*, 15(1), 54-63.
- Rusdiana, I.A., Hambali, E., & Rahayuningsih, M. 2018. Pengaruh sonikasi terhadap sifat fisik formula herbisida yang ditambahkan surfaktan dietanolamida. *AGRORADIX: Jurnal Ilmu Pertanian*, 1(2), 149-153.
- Salunkhe, D., Chavan, J., & Kadam, S. 1990. *Dietary Tannins Consequences and Remedies*. Boca Raton: CRC Press.
- Samsiar, A., Mahardika, R.G., & Roanisca, O. 2021. Nanoemulsion of pelawan leaf (*Tristanopsis merguensis* Griff) as antidiabetic. *Stannum: Jurnal Sains dan Terapan Kimia*, 3(2), 76-83.
- Sangi, M., & Pontoh, J. 2019. Determination of total phenolic content and antioxidant activity from several fractions of aren's (*Arenga pinnata*) midrib flour. *IORA International Conference on Operations Research*. 19-20 September 2019, Manado, Indonesia. 497-499.
- Suciati, T.A., Aliyandi, & Satrialdi. 2014. Development of transdermal nanoemulsion formulation for simultaneous delivery of protein vaccine and anti-m adjuvant. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(6), 536-546.
- Sulungbudi, G.T., Wildan, Z.L., Salam, R., & Mujamilah. 2017. Pengendalian suhu ultrasonikasi pada pelapisan nanopartikel magnet ( $Fe_3O_4$ ) dengan kitosan. *Jurnal Kimia dan Kemasan*, 39(2), 95-101.
- Theafelicia, Z., & Wulan, S. 2023. Perbandingan berbagai metode pengujian aktivitas antioksidan (DPPH, ABTS dan FRAP) pada teh hitam (*Camellia sinensis*). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 24(1), 35-44.

- Tungadi, R. 2017. *Teknologi Sediaan Steril*. Edisi ke-1. Jakarta: Sagung Seto.
- Wahyudi, D., Raharjo, D., & Wardani, T. 2022. Penetapan kadar flavonoid dan uji aktivitas penghambat enzim  $\alpha$ -amilase ekstrak etanol dan fraksi akar kersen (*Muntingia calabura* L.) secara in vitro. *Duta Pharma Journal*, 2(2), 67-79.
- Walker, R.M., Gumus, C.E., Decker, E.A., & McClements, D.J. 2017. Improvements in the formation and stability of fish oil-in-water nanoemulsions using carrier oils: mct, thyme oil, & lemon oil. *Journal of Food Engineering*, 221, 60-68.
- Warsi & Puspitasari, G. 2017. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dengan metode fosfomolibdat. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 4(2), 67-73.
- Wedersteyt, N.V., Mewengkang, 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*. *PHARMACON*, 10(1), 706-712.
- Widaryanti, B., Khikmah, N., & Sulistyani, N. 2021. Efek rebusan sereh (*Vymbopogon citratus*) terhadap respon stress oksidatif pada tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) diabetes. *Life Science*, 10(2), 173-181.
- Widyastuti, A.I., & Saryanti, D. 2023. Formulasi dan evaluasi sediaan nanoemulsi ekstrak umbi bawang putih (*Allium sativum* L.), *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 5(2), 178-185.
- Wulandari, H., Rohama, & Darsono, P.V. 2022. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak daun kapuk randu (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn) berdasarkan tingkatan fraksi. *Journal of Pharmaceutical Care and Sciences*, 3(1), 45-60.
- Wulansari, A. 2018. Alternatif cantigi ungu (*Vaccinium varingiaefolium*) sebagai antioksidan alami: review. *Farmaka*, 16(2), 419-429.
- Yuliani, S, Medaliana, H., Stephanie., Bety, P., & Enade, P. I. 2016. Perbandingan stabilitas fisis sediaan nanoemulsi minyak biji delima dengan fase minyak long-chain triglyceride dan medium-chain triglyceride. *Traditional Medicine Journal*, 21(2), 93-98.