

## IDENTITAS DOKUMEN (*Preview*)

- Judul : Penentuan Kandungan Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* Scheff Boerl)
- Nama Jurnal : Jurnal Logika
- Edisi : Volume 5-Nomor 1-Agustus 2008
- Penulis : Yuli Rohyami
- Abstrak : Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* Boerl) merupakan tanaman obat yang sudah dikenal dan saat ini semakin diminati masyarakat. Tanaman yang berasal dari Papua berkhasiat untuk mengobati luka, diabetes, lever, flu, alergi, sesak nafas, desentri, penyakit kulit, diabetes, jantung, ginjal, kanker, darah tinggi, asam urat, penambah stamina, ketergantungan narkoba, dan pemicu kontraksi rahim. Penelitian tentang uji aktivitas dan karakterisasi senyawa aktif terus dikembangkan, terutama aktivitasnya sebagai antioksidan yang merupakan senyawa polifenol, flavonoid, alkaloid, dan saponin. Salah satu senyawa aktif yang ditemukan terdapat dalam ekstrak metanol daging buahnya yang merupakan senyawa flavonoid. Maka sangatlah perlu untuk terus digali untuk mengetahui berapa kandungan senyawa flavonoid dalam ekstrak tersebut. Untuk itu dilakukan penelitian tentang penentuan kandungan flavonoid dari ekstrak metanol daging buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* Scheff Boerl) menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Penelitian dilakukan dengan ekstraksi soxhletasi sampel daging buah mahkota dewa menggunakan pelarut metanol selama 3 - 7 jam. Senyawa non polar dihilangkan dengan ekstraksi menggunakan pelarut n-heksana. Ekstrak metanol yang diperoleh difraksinasi dengan Kromatografi Lapis Tipis Kresgel G 60 F 254 dengan eluen fase atas n-butanol : asam asetat : air, 9:2:6(v/v). Jika pemisahan belum optimal dibuat variasi perbandingan volumenya. Fraksinasi dilakukan dengan KLT preparatif dan setiap fraksi yang diperoleh dilarutkan dalam metanol. Penentuan kandungan senyawa flavonoid secara kuantitatif dengan metode Spektrofotometri UV-Vis memakai standar rutin. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kandungan senyawa flavonoid pada buah masak rata-rata 1,7647 mg.L<sup>-1</sup> atau 2,2334 mg.kg<sup>-1</sup> atau 0,004463 % dan pada buah mentah rata-rata adalah 2,1535 mg.L<sup>-1</sup> atau 2,7559 mg.kg<sup>-1</sup> atau 0,005453 %.
- keywords : mahkota dewa, ekstrak metanol, flavonoid, spektrofotometer UV-Vis
- Kesimpulan : Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa hasil pengukuran flavonoid dari ekstrak metanol daging buah mahkota dewa menggunakan spektrofotometer UV-Vis dapat ditunjukkan bahwa kandungan senyawa flavonoid pada buah masak rata-rata 1,7647 mg.L<sup>-1</sup> atau 2,2334 mg.kg<sup>-1</sup> atau 0,004463 % dan pada buah mentah rata-rata adalah 2,1535 mg.L<sup>-1</sup> atau 2,7559 mg.kg<sup>-1</sup> atau 0,005453 %. Saran yang dapat diberikn adalah pemanfaatan senyawa antioksidan pada daging buah mahkota dewa sebaiknya menggunakan buah yang masih mentah dengan kandungan senyawa flavonoid yang lebih banyak. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang perbandingan kandungan flovonoid pada buah mahkota dewa yang ditanam di berbagai lokasi. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji aktivitas isolat flavonoid pada buah masak dan pada buah mentah.
- Penerbit : Direktorat Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (DPPM)  
Univervitas Islam Indonesia (UII) Yogyakarta
- Bahasa : Indonesia
- Format : PDF
- Web : <http://www.uii.ac.id> ; <http://dppm.uii.ac.id>
- Tag : Jurnal Penelitian dan Pengabdian

## Penentuan Kandungan Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* Scheff Boerl)

Yuli Rohyami

Program DIII Kimia Analis FMIPA UII Yogyakarta

### ABSTRAK

Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* Boerl) merupakan tanaman obat yang sudah dikenal dan saat ini semakin diminati masyarakat. Tanaman yang berasal dari Papua berkhasiat untuk mengobati luka, diabetes, lever, flu, alergi, sesak nafas, desentri, penyakit kulit, diabetes, jantung, ginjal, kanker, darah tinggi, asam urat, penambah stamina, ketergantungan narkoba, dan pemicu kontraksi rahim.

Penelitian tentang uji aktivitas dan karakterisasi senyawa aktif terus dikembangkan, terutama aktivitasnya sebagai antioksidan yang merupakan senyawa polifenol, flavonoid, alkaloid, dan saponin. Salah satu senyawa aktif yang ditemukan terdapat dalam ekstrak metanol daging buahnya yang merupakan senyawa flavonoid. Maka sangatlah perlu untuk terus digali untuk mengetahui berapa kandungan senyawa flavonoid dalam ekstrak tersebut. Untuk itu dilakukan penelitian tentang penentuan kandungan flavonoid dari ekstrak metanol daging buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* Scheff Boerl) menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Penelitian dilakukan dengan ekstraksi soxhletasi sampel daging buah mahkota dewa menggunakan pelarut metanol selama 3 - 7 jam. Senyawa non polar dihilangkan dengan ekstraksi menggunakan pelarut n-heksana. Ekstrak metanol yang diperoleh difraksinasi dengan Kromatografi Lapis Tipis Kresgel G 60 F 254 dengan eluen fase atas n-butanol : asam asetat : air, 9:2:6(v/v). Jika pemisahan belum optimal dibuat variasi perbandingan volumenya. Fraksinasi dilakukan dengan KLT preparatif dan setiap fraksi yang diperoleh dilarutkan dalam metanol. Penentuan kandungan senyawa flavonoid secara kuantitatif dengan metode Spektrofotometri UV-Vis memakai standar rutin. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kandungan senyawa flavonoid pada buah masak rata-rata 1,7647 mg.L<sup>-1</sup> atau 2,2334 mg.kg<sup>-1</sup> atau 0,004463 % dan pada buah mentah rata-rata adalah 2,1535 mg.L<sup>-1</sup> atau 2,7559 mg.kg<sup>-1</sup> atau 0,005453 %.

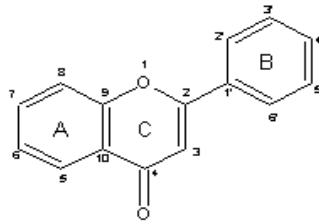
Kata kunci : mahkota dewa, ekstrak metanol, flavonoid, spektrofotometer UV-Vis

### I. PENDAHULUAN

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman hijau, kecuali alga. Flavonoid yang lazim ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi (*Angiospermae*) adalah flavon dan flavonol dengan C- dan O-glikosida, isoflavon C- dan O-glikosida, flavanon C- dan O-glikosida, khalkon dengan C- dan O-glikosida, dan dihidrokhalkon, proantosianidin dan antosianin, auron O-glikosida, dan dihidroflavonol O-glikosida. Golongan flavon, flavonol, flavanon, isoflavon, dan khalkon juga sering ditemukan dalam bentuk aglikonnya

Menurut Markham (1988), flavonoid tersusun dari dua cincin aromatis yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga dengan susunan C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Struktur flavonoid dapat

ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 1. Struktur flavonoid (Sumber : Markham, 1988)

Flavonoid merupakan termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Salah satu tanaman yang mengandung flavonoid adalah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* Boerl). Senyawa ini ditemukan pada batang, daun, bunga, dan buah. Produk utama yang dihasilkan dari tanaman ini adalah buah mahkota dewa, seperti yang ditunjukkan pada gambar 2.



Gambar 2. Buah mahkota dewa (Sumber : Harmanto, 2001)

Menurut Harmanto (2001) buah mahkota dewa mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, dan polifenol dan ekstrak daunnya dapat memberikan efek antihistamin (Siswono, 2001). Daging buah mahkota dewa mempunyai efek hipoglikemik (dapat menurunkan kadar gula dalam darah). Berdasarkan hasil penelitian dapat ditunjukkan bahwa daging buah mahkota dewa menghasilkan efek antihipoglikemik dengan dosis 241,35 mg/kg berat badan (Primsa, 2002).

Menurut Sumastuti (2002) daun serta buah mahkota dewa mengandung saponin dan flavonoid yang mempunyai efek antihistamin. Secara invitro dan metode Magnus yang dimodifikasi pada berbagai ekstrak daun buah muda, buah tua mahkota dewa mampu menurunkan kontraksi histamin murni pada ileum marmot terisolasi. Mahkota dewa juga memberikan efek terhadap uterus, efek sitosik pada sel kanker rahim, efek hipoglikemik, hepatoprotektor, antiinflamasi, histopatologik pada hati, ginjal, lambung, ovarium, uterus, pankreas, serta antibakteri.

Secara in vitro dan in vivo juga dapat memberikan efek hipoglikemik sebagai inhibitor  $\alpha$ -Glucosidase, terutamaa pada ekstrak n-butanol buah muda dan yang sudah masak, ekstrak etil asetat, dan metanol (Sugiwati, 2006). Ekstrak kloroform, petroleum eter, etanol, dan air

memberikan efek toksisitas akut pada Larva *Artemia salina* Leach yang diduga kuat merupakan senyawa terpenoid, saponin, dan flavonoid (Puspaningsih, 2003).

Lisdawati (2002) juga telah melakukan pengujian terhadap kadar toksisitas ekstrak daging buah dan kulit biji dengan melihat tingkat kematian terhadap larva *Artemia salina* Leach setelah diinkubasi selama 24 jam. Hasil menunjukkan bahwa toksisitas yang sangat tinggi yang menyebabkan kematian 50% larva udang ( $LC_{50}$ ) berkisar antara 0,1615 – 11,8351  $\mu\text{g/mL}$ . Ekstrak mahkota dewa juga mampu menghambat pertumbuhan sel Leukimia L1210 sebesar 50 % setelah masa inkubasi 48 jam ( $IC_{50}$ ) sangat rendah, yaitu <10  $\mu\text{g/mL}$  (4,99 – 7,71  $\mu\text{g/mL}$ ).

Secara klinis fraksi air dan etil asetat daging buahnya mampu meningkatkan kelarutan kalsium pada batu ginjal hingga 1,50 mg/mL (Damayanti, 2004). Ekstrak air juga memberikan efek angiogenik (Triasmanto, 2006). Hasil uji toksisitas terhadap hasil fraksinasi ekstrak kloroform biji mahkota dewa pada *Artemia salina* Leach dapat ditunjukkan bahwa senyawa antikanker yang ditemukan termasuk senyawa alkaloid, terpenoid, dan polifenol (Mursiti, 2002).

Menurut Utami (2003), pada ekstrak metanol biji mahkota dewa ditemukan senyawa flavonoid dari golongan khalkon. Biji mahkota dewa juga mengandung 3 asam lemak yang terdiri dari asam palmitat, asam oleat, dan asam linoleat (Astuti, 2006). Sedangkan Kulit buahnya mengandung flavonoid dan ekstrak kloroformnya juga ditemukan senyawa alkaloid dan terpenoid.

Hasil uji toksisitas terhadap daun mahkota dewa pada ekstrak kloroform, metanol, dan air mengandung senyawa aktif berupa terpenoid (Pratiwi, 2002). Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada ekstrak metanol daun ditemukan senyawa flavon (Istiningrum, 2003). Dengan metode yang sama juga ditemukan adanya tannin (Retnita, 2006). Nawawi (2004) menemukan komponen utama ekstrak etanol daun mahkota dewa berupa kristal putih kekuningan, dan tidak berbau dengan jarak lebur 200-203°C merupakan senyawa benzofenon glukosida.

Lusiana (2006) telah melakukan penelitian pada formulasi sediaan padat tablet efervesen mahkota dewa yang mempunyai efek menghambat sel kanker rahim (in vitro), aktivitas antioksidan, hipoglikemik dan antiradang. Senyawa yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi pada sediaan tersebut merupakan senyawa 2,4',6-trihidroksi-4 metoksibenzofenon-2-O-glukosida. Sedangkan pada tablet granulasi ekstrak etanol 50 % ditemukan saponin (Krismiati, 2005).

Menurut Dewanti (2004) stabilitas antioksidan semua produk mahkota dewa lebih rendah dari antioksidan sintetik tetapi aktivitasnya lebih tinggi. Berdasarkan hasil uji aktifitas terhadap sel kanker darah (leukemia L1210) mahkota dewa memberikan reaksi positif sebagai antioksidan (Harmanto, 2003). Senyawa aktif ditemukan pada ekstrak metanol (Sant, 2002). Akan tetapi senyawa ini sampai saat ini belum teridentifikasi secara pasti. Rohyami (2007) menduga adanya senyawa flavanon dan flavonol pada ekstrak metanol daging buah mahkota dewa.

Flavonoid juga ditemukan pada ekstrak etanol. Dengan metode yang sama (Permatasari, 2004) meramalkan adanya senyawa flavan yang mengandung gugus hidroksi pada posisi 4' dan senyawa 4-OH flavonol dengan 5-OH tersubstitusi alkil.

Isolasi flavonoid akan difokuskan pada ekstrak metanol. Menurut Markham (1988) untuk mendapatkan ekstrak flavonoid sebaiknya dilakukan ekstraksi soxhletasi menggunakan pelarut metanol : air (9 : 1). Senyawa flavonoid pada umumnya mudah larut dalam air, terutama bentuk glikosidanya. Senyawa tersebut dapat diekstrak menggunakan pelarut air. Senyawa yang sedikit larut dalam air bersifat semi polar dapat diekstraksi dengan pelarut metanol 80 %, aseton, dan etanol (Robinson, 1991).

Analisis kualitatif flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Spektrum serapan ultra violet dan serapan tampak merupakan cara tunggal yang paling bermanfaat untuk mengidentifikasi struktur flavonoid (Markham, 1988). Flavonoid mengandung sistem aromatis yang terkonjugasi dan dapat menunjukkan pita serapan kuat pada daerah UV-Vis (Rohyami, 2007; Nawawi, 2004; Rohyami, 2003; Copriyadi, 2002; Harborne, 1987).

Metode tersebut juga dapat digunakan untuk melakukan uji secara kuantitatif untuk menentukan jumlah flavonoid yang terdapat dalam ekstrak metanol daging buah mahkota dewa juga dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis (Carbonaro, 2005). Standar yang digunakan adalah flavonoid rutin (Slimestad, 2005).

## **II. METODOLOGI**

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah pelarut n-heksana, n-butanol, asam asetat, metanol, amoniak, dan standar rutin dari produk E. Merck. Sedangkan bahan pendukung yang digunakan adalah akuades, dan kertas saring. Peralatan yang digunakan selama penelitian adalah pisau antikarat, loyang, oven, neraca analitik, blender, seperangkat soxhlet, kromatografi lapis tipis (KLT) kresgel 60 F 254 E. Merck, Chamber KLT, Lampu UV 254 nm dan 366 nm, Spektrofotometer UV-Vis Hitachi seri U-2800, serta peralatan gelas laboratorium. Sampel yang digunakan adalah buah mahkota dewa dari koleksi peneliti yang ditanam di dusun Mangiran, Trimurti, Srandakan, Bantul, Jogjakarta. Sampel yang digunakan adalah buah yang bentuknya utuh (tidak cacat) dan diambil pada sore hari.

### **Tahapan Penelitian:**

#### **1. Ekstraksi daging buah mahkota dewa menggunakan pelarut metanol**

Sampel dihaluskan dengan menggunakan blender, kemudian dikemas dengan menggunakan kertas saring sedemikian rupa sehingga ukurannya sesuai dengan kapasitas ekstraktor. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan soxhlet melalui 2 tahap. Tahap pertama

dengan pelarut n-heksana selama 5 - 7 jam untuk menghilangkan komponen yang bersifat non polar. Residu didiamkan selama 1 malam dalam keadaan terendam n-heksana. Fraksi n-heksana diambil dan residu diekstraksi dengan metanol selama 5 - 7 jam. Residu didiamkan selama 1 malam dalam keadaan terendam dalam metanol. Penelitian difokuskan pada ekstrak metanol dan fraksi yang diperoleh kemudian difraksinasi dengan kromatografi lapis tipis.

## **2. Fraksinasi ekstrak metanol menggunakan Kromatografi Lapis Tipis**

Fraksinasi dilakukan untuk mendapatkan isolat (ekstrak) murni flavonoid dari ekstrak metanol daging buah mahkota dewa. Pada tahapan ini dilakukan optimasi eluen yang akan digunakan untuk mendapatkan isolat murni dengan menggunakan plat KLT kresgel G 60 F 254 (Carollo, 2006; Urzua, 2004) 3 x 10 cm. Eluen yang digunakan adalah fase atas n-butanol : asam asetat : air, 9 : 2 : 6 (v/v) atau BAA (Rohyami, 2007). Elusi dilakukan setelah chamber KLT penuh dengan uap eluen, didiamkan sekitar 5 – 10 menit. Untuk mendeteksi bercak dilakukan dengan menggunakan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Bercak ditandai dengan menggunakan pensil.

Pembuktian kemurnian isolat flavonoid dilakukan dengan kromatografi lapis tipis dua dimensi. Elusi dilakukan pada plat KLT 6 x 6 cm. Ekstrak kloroform ditotolkan 1 cm dari tepi bawah kanan. Eluen yang digunakan pada pengembangan pertama adalah eluen terbaik yang telah diperoleh dari hasil identifikasi pendahuluan. Pengembangan kedua menggunakan pelarut asam asetat 15 %. Posisi plat yang dielusi adalah posisi 90° dari kondisi mula-mula.

Jika sudah diperoleh isolat murni pada tahapan di atas, kemudian dilakukan fraksinasi dengan KLT preparatif. Deteksi dilakukan dengan menggunakan lampu UV 366 nm. Bercak yang berupa pita diberi tanda dengan pensil. Setiap bercak yang diperoleh dikerok dan dilarutkan dalam metanol.

## **3. Penentuan kandungan flavonoid dalam ekstrak metanol daging buah mahkota dewa menggunakan Spektrofotometer UV-Vis**

Analisis dilakukan dengan tahapan pembuatan larutan standar, yakni dengan menggunakan larutan standar flavonoid rutin, optimasi panjang gelombang, penentuan absorbansi isolat murni senyawa flavonoid, dan kalibrasi hasil pengukuran dengan standar yang sudah dibuat. Larutan standar yang digunakan adalah senyawa flavonoid rutin dengan konsentrasi 0, 10, 20, 30, 40, dan 50 mg.L<sup>-1</sup> masing-masing dibuat 25 mL dalam pelarut metanol dari larutan standar induk 1000 mg.L<sup>-1</sup>.

Mula-mula ditimbang 1000 g senyawa rutin kemudian dimasukkan dalam gelas piala 100 mL dan dilarutkan dengan sekitar 50 mL metanol dan diaduk hingga homogen. Larutan kemudian dipindahkan ke dalam labu takar 1000 mL dan ditambahkan metanol sampai tanda dan digojog hingga homogen. Larutan standar induk kemudian diencerkan menjadi 100 mg.L<sup>-1</sup> dengan dipipet

dengan teliti sebanyak 10 mL larutan kemudian diencerkan dengan labu takar 100 mL dengan metanol sampai tanda batas. Larutan standar 10, 20, 30, 40, dan 50 mg.L<sup>-1</sup> dibuat dengan dipipet dengan teliti 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; dan 12,5 mL larutan standar 100 mg.L<sup>-1</sup> masing-masing diencerkan dengan pelarut metanol dalam labu takar 25 mL sampai tanda dan digojog hingga homogen. Blanko yang digunakan adalah metanol murni.

Optimasi panjang gelombang dilakukan untuk menentukan panjang gelombang maksimum yang akan digunakan dalam pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan menggunakan salah satu larutan standar rutin. Langkah selanjutnya adalah penentuan absorbansi larutan standar pada panjang gelombang maksimum dilanjutkan dengan penentuan absorbansi sampel.

Absorbansi fraksi flavonoid dikalibrasikan dengan kurva konsentrasi standar versus absorbansi standar dengan persamaan regresi linear. Hasil yang diperoleh diperhitungkan dengan faktor pengenceran sehingga diperoleh konsentrasi flavonoid yang terdapat dalam ekstrak metanol daging buah mahkota dewa.

### **III. HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **1. Preparasi Sampel**

Buah mahkota dewa yang digunakan adalah buah mahkota dewa yang tidak cacat. Pemilihan sampel harus diperhatikan dengan cermat untuk menghindari komposisi kimia sampel yang tidak representatif. Buah yang tidak utuh (cacat) telah mengalami kerusakan pada jaringan sel sehingga komposisinya akan berbeda dengan komposisi buah yang utuh.

Buah yang digunakan merupakan bahan segar yang baru dipetik dari pohon mahkota dewa yang ditanam di Dusun Mangiran, Trimurti, Srandakan, Bantul, Jogjakarta pada hari Senin, 18 Februari 2008. Pengambilan buah dilakukan pada 1 pohon yang telah berusia 4 tahun. Buah mahkota dewa yang dianalisis adalah buah yang masih mentah dan buah yang sudah masak. Sampel yang masih mentah merupakan buah mahkota dewa yang masih berwarna hijau, dagingnya lebih kenyal, dan cangkang bijinya masih lunak diberi kode Masak R1 – R3 Sedangkan buah yang telah masak berwarna merah marun, daging buahnya berserat, dan cangkang bijinya lebih keras diberi kode Mentah R1 – R3.

Buah dipetik pada sore hari pada saat tidak berlangsung proses fotosintesis sehingga buah lebih tampak segar sebelum preparasi. Kandungan getah dalam buah cukup tinggi, sehingga perlu didiamkan selama 2 hari agar getah mengering. Getah ini cukup keras dan bisa melepuhkan kulit dan dapat menyebabkan pisau tumpul.

Identifikasi flavonoid dilakukan pada daging buah mahkota dewa. Bagian kulit, cangkang, dan biji dipisahkan dari dagingnya. Bagian kulit dipisahkan dengan cara dikupas dengan pisau

anti karat yang steril. Buah dibelah agar bagian cangkang dan bijinya mudah dipisahkan. Bagian daging dipotong kecil-kecil untuk mempercepat proses pengeringan dan mempermudah penggilingan.

Daging buah mahkota dewa yang telah diiris dikeringkan sampai diperoleh perbandingan segar dengan bahan kering sebaiknya 10 : 3. Massa rata-rata dari 1400 g sampel buah segar diperoleh sampel kering sebanyak 460 g. Pengeringan dimaksudkan untuk mengurangi kadar air, menghentikan reaksi enzimatik, dan mencegah tumbuhnya jamur atau cendawan sehingga dapat disimpan lebih lama dan tidak mudah rusak sehingga komposisi kimianya tidak mengalami perubahan.

Bahan kering yang diperoleh digiling dengan blender sehingga diperoleh serat halus daging buah mahkota dewa. Ukuran bahan yang akan diekstrak dapat mempengaruhi efisiensi ekstraksi. Ukuran bahan yang terlalu besar mengakibatkan kontak antara komponen yang akan dipisahkan lebih kecil. Jika ukuran bahan lebih kecil, maka pelarut lebih mudah berinteraksi dengan komponen yang akan dipisahkan.

## **2. Ekstraksi soxhlet**

Senyawa flavonoid yang terdapat dalam buah mahkota dewa dipisahkan dengan metode ekstraksi soxhlet. Masing-masing sebanyak 20 g sampel daging buah mahkota dewa dibungkus rapat dengan kertas saring dan dimasukkan ke dalam soxhlet. Pelarut dimasukkan ke dalam labu alas bulat melalui bagian atas soxhlet agar terjadi kontak antara bahan yang akan diekstrak.

Ekstraksi dilakukan menggunakan penangas air untuk menjaga agar tidak terjadi kelebihan temperatur selama pemanasan. Ekstraksi dilakukan selama 5 jam, sehingga perlu dihindari terjadinya *bumping*. Sebelum pelarut dimasukkan, 3 butir batu didih dimasukkan ke dalam labu alas bulat. Selain untuk mencegah terjadinya *bumping*, batu didih dapat berfungsi untuk meratakan panas.

Adanya pemanasan, pelarut akan mencapai titik didihnya. Pada saat pelarut mendidih, terjadi kesetimbangan antara fasa uap dengan fasa cair dalam labu alas bulat. Fasa uap keluar melalui pipa menuju ke pendingin dan akhirnya mengembun. Embun menetes pada soxhlet mengenai serbuk daging buah mahkota dewa. Pelarut ditampung dalam soxhlet untuk sementara waktu sampai tingginya mencapai tinggi pipa kapiler.

Selama ditampung di dalam soxhlet terjadi kontak yang lebih lama antara bahan yang diekstrak dengan pelarut sehingga pemisahan lebih optimal. Setelah tingginya sama dengan tinggi pipa kapiler, pelarut yang telah membawa komponen yang akan dipisahkan kembali ke labu alas bulat. Pelarut akan mendidih kembali dan menguap menuju kondensor. Komponen yang dipisahkan tetap berada dalam labu alas bulat. Proses ini berlangsung secara terus-menerus sampai komponen yang akan dipisahkan dapat larut dalam pelarut.



Ekstraksi dilakukan dua langkah, yaitu ekstraksi menggunakan pelarut n-heksana dan ekstraksi menggunakan pelarut metanol 80 %. Ekstraksi yang dilakukan dengan menggunakan pelarut n-heksana dimaksudkan untuk memisahkan senyawa-senyawa non polar yang terdapat dalam daging buah mahkota dewa. Pelarut ini termasuk pelarut non polar, sehingga dapat melarutkan senyawa-senyawa non polar yang terdapat di dalamnya.

Pelarut n-heksana yang digunakan untuk memisahkan senyawa non polar sebanyak 250 mL. Ekstraksi berlangsung terus-menerus sampai fraksi n-heksana menjadi tidak berwarna. Ekstraksi berlangsung selama 5 jam. Agar pemisahan lebih optimal, ekstrak didiamkan selama satu malam. Pemanasan dihentikan ketika soxhlet mendekati penuh, sehingga pada saat didiamkan selama 1 malam residu dalam keadaan terendam n-heksana.

Senyawa flavonoid dipisahkan dengan pelarut metanol. Residu yang telah terbebas dari senyawa non polar diekstrak dengan 250 mL metanol. Ekstraksi dilakukan sampai metanol yang berada dalam soxhlet menjadi tidak berwarna. Proses ini berlangsung selama 5 jam. Untuk mendapatkan flavonoid yang optimal, ekstrak didiamkan selama 1 malam pada saat bahan yang diekstrak terendam metanol. Hasil pengamatan ekstraksi dengan n-heksana dan metanol dapat ditunjukkan pada tabel 1:

Tabel 1. Data pengamatan warna ekstrak n-heksana dan metanol

No	Sampel	Ekstrak n-heksana	Ekstrak metanol
1	Masak	Coklat kekuningan	Coklat
2	Mentah	Hijau	Hijau tua

Ekstrak n-heksana pada sampel buah masak yang diperoleh berwarna kuning tua sedangkan pada sampel buah mentah berwarna hijau. Ekstrak ini mengandung senyawa-senyawa nonpolar yang terdapat dalam daging buah mahkota dewa. Buah yang masih mentah mengandung lebih banyak klorofil sehingga ekstraknya berwarna hijau, begitu pula pada ekstrak metanolnya. Ekstrak metanol pada sampel masak dan mentah inilah yang selanjutnya akan diidentifikasi adanya senyawa flavonoid yang diduga merupakan senyawa yang berperan sebagai antioksidan.

### **3. Fraksinasi menggunakan kromatografi lapis tipis**

Kromatografi lapis tipis merupakan cara sederhana pada identifikasi pendahuluan senyawa flavonoid. Data yang diperoleh berupa harga  $R_f$  dan warna bercak kromatogram yang diperoleh dari pengembangan bercak pada plat kromatografi lapis tipis. Metode ini juga bermanfaat pada pemisahan flavonoid, baik menggunakan KLT preparatif maupun menggunakan kromatografi

kolom.

Fasa diam yang digunakan adalah silika gel G yang dilekatkan pada plat aluminium. Pengembangan dilakukan pada plat KLT dengan ukuran 3 x 10 cm dengan eluen n-butanol : asam asetat : air (BAA) dengan perbandingan BAA, 9:2:6 (v/v). Penotolan dilakukan 1 cm dari batas bawah plat KLT dengan menggunakan pipet mikro. Noda dikeringkan dengan diletakkan di bawah kipas angin. Eluen dimasukkan dalam bejana pengembang setinggi 0,5 cm. Bejana yang digunakan harus tertutup rapat dan didiamkan selama sekitar 10 menit agar terjadi kesetimbangan uap eluen. Pengembangan dilakukan dalam bejana penuh uap eluen dan tertutup rapat agar pemisahan berlangsung lebih sempurna. Bercak yang diperoleh dikeringkan di bawah kipas angin. Deteksi bercak dilakukan dengan lampu UV 366 nm. Bercak yang diperoleh ditandai dengan pensil.

Kemurnian isolat flavonoid dibuktikan dengan kromatografi lapis tipis dua dimensi. Pengembangan dilakukan pada plat KLT 10 x 10 cm. Eluen sebagai pengembang pertama menggunakan fase atas BAA (9:2:6 v/v) dan pengembang kedua menggunakan asam asetat 15 % v/v. Metode ini merupakan cara sederhana untuk menentukan kemurnian isolat flavonoid. Bercak yang dihasilkan pada pengembangan pertama dikeringkan terlebih dahulu menggunakan kipas angin, sebelum dilakukan pengembangan dengan asam asetat 15 %. Hasil pengembangan membuktikan bahwa tidak ada bercak baru setelah dilakukan pengembangan kedua dengan eluen asam asetat 15 % v/v.

Identifikasi pendahuluan flavonoid dengan KLT berguna dalam pemisahan flavonoid menggunakan KLT preparatif. Eluen terbaik pada identifikasi pendahuluan digunakan untuk pemisahan flavonoid dari fraksi metanol daging buah mahkota dewa. Prinsip pemisahan pada KLT preparatif tidak berbeda dengan pemisahan pada KLT. Ukuran plat yang ideal adalah 20 x 20 cm, tetapi ukuran ini dapat disesuaikan dengan kebutuhan.

Pemisahan flavonoid dilakukan pada 3 buah plat KLT dengan ukuran 5 x 10 cm. Penotolan dilakukan dengan bentuk pita yang lebarnya sekitar 5 mm dengan 0,5 mL fraksi metanol dari masing-masing sampel. Eluen yang digunakan adalah fasa atas BAA (9:2:6 v/v). Pengembangan dilakukan pada bejana penuh uap eluen agar pemisahan lebih sempurna.

Bercak dideteksi dengan lampu UV 366 nm dan diberi tanda dengan pensil. Bercak yang dihasilkan berupa pita dan bercak yang mempunyai warna sama dengan bercak pada identifikasi pendahuluan akan mempunyai harga R<sub>f</sub> yang sama. Bercak pertama berwarna lembayung dengan harga R<sub>f</sub> 81,82 disebut sebagai fraksi 1, bercak kedua berwarna kuning redup dengan harga R<sub>f</sub> 72,73 disebut sebagai fraksi 2 dikumpulkan kemudian dikerok dan dilarutkan dalam metanol. Campuran bercak dengan padatan silika gel dipisahkan dengan disaring menggunakan kertas saring Whatman No.1, sehingga diperoleh fraksi metanol yang jernih.

#### 4. Penentuan kandungan flavonoid menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

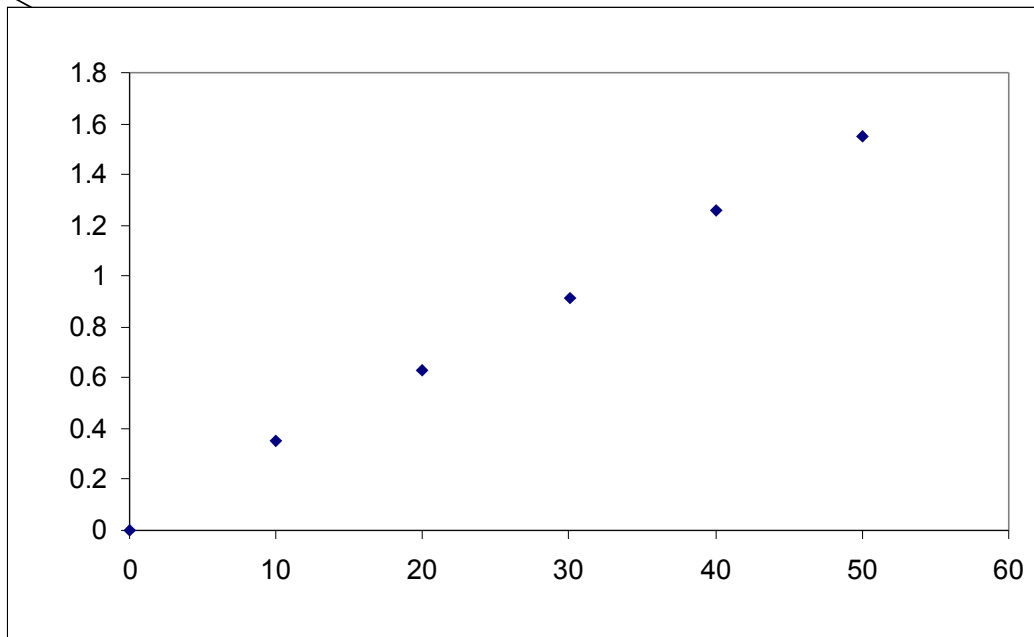
Analisis dilakukan dengan tahapan pembuatan larutan standar, yakni dengan menggunakan larutan standar flavonoid rutin, optimasi panjang gelombang, penentuan absorbansi isolat murni senyawa flavonoid, dan kalibrasi hasil pengukuran dengan standar yang sudah dibuat. Larutan standar yang digunakan adalah senyawa flavonoid rutin dengan konsentrasi 0, 10, 20, 30, 40, dan 50 mg.L<sup>-1</sup> masing-masing dibuat 25 mL dalam pelarut metanol dari larutan standar induk 1000 mg.L<sup>-1</sup>. Konsentrasi 0 mg.L<sup>-1</sup> adalah konsentrasi blanko berupa metanol murni.

Langkah pertama analisis adalah dengan melakukan optimasi panjang gelombang dilakukan untuk menentukan panjang gelombang maksimum yang akan digunakan dalam pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan menggunakan salah satu larutan standar rutin. Dari hasil pengukuran diperoleh tiga panjang gelombang maksimum khas senyawa rutin, yaitu pada panjang gelombang 211 nm, 257 nm, dan 357 nm. Pada pengukuran absorbansi larutan standar dan sampel dipilih pada panjang gelombang 257 nm pada puncak serapan maksimum medium. Hasil pengukuran absorbansi standar pada panjang gelombang 257 nm dapat diperoleh data yang dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Penentuan absorbansi larutan standar rutin

No	Konsentrasi, C (mg.L <sup>-1</sup> )	Absorbansi, A
1	0	0
2	10	0,349
3	20	0,629
4	30	0,911
5	40	1,258
6	50	1,547

Berdasarkan hasil penentuan absorbansi larutan standar tersebut dapat digambarkan kurva kalibrasi larutan standar berupa grafik kurva konsentrasi (C) versus absorbansi (A) yang dapat ditunjukkan pada gambar 3.



Gambar 3. Kurva kalibrasi larutan standar rutin

Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi larutan standar pada berbagai konsentrasi maka kurva kalibrasi larutan standar senyawa flavonoid rutin diperoleh hubungan yang linear antara absorbansi dengan konsentrasi yang ditunjukkan dengan pengukuran linearitas sebesar 0,9989. Besarnya linearitas ini mendekati nilai satu sehingga dapat dikatakan bahwa absorbansi merupakan fungsi yang besarnya berbanding lurus dengan konsentrasi dan mengikuti persamaan regresi linear sebagai berikut :

$$y = A + B x$$

Berdasarkan hasil perhitungan, diperoleh nilai intersep sebesar 0,0149 dan slope sebesar 0,0307 sehingga persamaan yang diperoleh dari kurva pada gambar 2 adalah :

$$y = 0,0149 + 0,0307 x$$

x : konsentrasi (C) mg.L<sup>-1</sup>

y : absorbansi (A)

Persamaan di atas pada kurva kalibrasi standar senyawa flavonoid rutin tersebut digunakan sebagai pembanding dalam analisis kuantitatif pada pengukuran kandungan senyawa flavonoid rutin ekstrak metanol daging buah mahkota dewa. Berdasarkan hasil pengukuran pada sampel daging buah masak dan mentah diperoleh data yang ditunjukkan pada tabel 3.

Tabel 3. Penentuan absorbansi sampel daging buah mahkota dewa

No	Sampel	Absorbansi
1	Masak R1	0,089
2	Masak R2	0,089

3	Masak R3	0,090
4	Mentah R1	0,214
5	Mentah R2	0,217
6	Mentah R3	0,217

Absorbansi pada pengukuran sampel kemudian dikalibrasikan dengan persamaan regresi linear dari kurva konsentrasi standar versus absorbansi standar dengan persamaan  $y = 0,0149 + 0,0307 x$ . Hasil yang diperoleh diperhitungkan dengan faktor pengenceran sehingga diperoleh konsentrasi flavonoid yang terdapat dalam ekstrak metanol daging buah mahkota dewa. Hasil perhitungan pengukuran sampel dapat ditunjukkan oleh tabel 4.

Tabel 4. Kandungan flavonoid pada daging buah mahkota dewa

No	Sampel	Konsentrasi (mg.L <sup>-1</sup> )	Pengenceran	Kadar (mg.L <sup>-1</sup> )
1	Masak R1	0,017636808	100 kali	1,7637
2	Masak R2	0,017636808	100 kali	1,7637
3	Masak R3	0,017667505	100 kali	1,7667
4	Mentah R1	0,021473950	100 kali	2,1474
5	Mentah R2	0,021566042	100 kali	2,1566
6	Mentah R3	0,021566042	100 kali	2,1566

Hasil pengukuran kandungan flavonoid dengan menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis menunjukkan bahwa kandungan senyawa flavonoid rata-rata pada daging buah yang telah masak adalah 1,7647 mg.L<sup>-1</sup> sedangkan pada sampel daging buah mahkota dewa yang masih mentah adalah 2,1535 mg.L<sup>-1</sup>. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dalam 1 liter ekstrak metanol daging buah mahkota dewa masak mengandung 1,7647 mg senyawa flavonoid, sedangkan dalam ekstrak daging buah yang masih mentah mengandung 2,1535 mg. Konsentrasi yang diperoleh dapat dikonversikan dalam satuan mg.kg<sup>-1</sup> dengan menggunakan rumus :

$$\text{Kadar} = \text{kadar dalam } 1\text{mg.L}^{-1} \times \frac{1,2658 \text{ mg.kg}^{-1}}{1\text{mg.L}^{-1}}$$

Dengan demikian prosentase massa senyawa flavonoid dapat ditentukan dengan perhitungan :

$$\% \text{ Flavonoid} = \frac{\text{kadar mg}}{1.000.000 \text{ mg sampel kering}} \times 20 \times 100 \%$$

Banyaknya sampel yang diekstrak adalah 20 g sehingga prosentasenya dikalikan dengan 20 kalinya karena perhitungan di atas adalah kadar dalam setiap 100 mg atau 1 gram bahan

kering buah mahkota dewa. Hasil konversi perolehan kandungan senyawa flavonoid dari hasil perhitungan di atas dapat ditunjukkan pada tabel 5.

Tabel 5. Konversi kadar flavonoid pada ekstrak metanol buah mahkota dewa

No	Sampel	Kadar (mg.L <sup>-1</sup> )	Kadar (mg.kg <sup>-1</sup> )	% Flavonoid
1	Masak R1	1,7637	2,2325	0,00446
2	Masak R2	1,7637	2,2325	0,00446
3	Masak R3	1,7667	2,2364	0,00447
4	Mentah R1	2,1474	2,7182	0,00544
5	Mentah R2	2,1566	2,7298	0,00546
6	Mentah R3	2,1566	2,7298	0,00546

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa flavonoid rata-rata pada ekstrak metanol daging buah mahkota dewa yang masih mentah adalah 2,7559 mg.kg<sup>-1</sup> atau 0,005453 % yang menunjukkan 22 % relatif lebih banyak daripada daging buah mahkota dewa yang telah masak yang hanya mengandung 2,2334 mg.kg<sup>-1</sup> atau 0,004463 % dari masa sampel keringnya. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak metanol daging buah mahkota dewa merupakan hasil metabolisme sekunder yang ketika buah semakin masak maka akan terjadi biosintesis menjadi bentuk yang berbeda, sehingga dapat disarankan agar pemanfaatan daging buah mahkota dewa sebagai herbal yang potensial sebagai agen antioksidan dengan menggunakan buah yang masih mentah.

#### **IV. KESIMPULAN DAN SARAN**

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa hasil pengukuran flavonoid dari ekstrak metanol daging buah mahkota dewa menggunakan spektrofotometer UV-Vis dapat ditunjukkan bahwa kandungan senyawa flavonoid pada buah masak rata-rata 1,7647 mg.L<sup>-1</sup> atau 2,2334 mg.kg<sup>-1</sup> atau 0,004463 % dan pada buah mentah rata-rata adalah 2,1535 mg.L<sup>-1</sup> atau 2,7559 mg.kg<sup>-1</sup> atau 0,005453 %. Saran yang dapat diberikan adalah pemanfaatan senyawa antioksidan pada daging buah mahkota dewa sebaiknya menggunakan buah yang masih mentah dengan kandungan senyawa flavonoid yang lebih banyak. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang perbandingan kandungan flavonoid pada buah mahkota dewa yang ditanam di berbagai lokasi. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji aktivitas isolat flavonoid pada buah masak dan pada buah mentah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Copriady, J. dkk., 2002, *Gallokatekin : Senyawa Flavonoid Lainnya dari Kulit Batang Rengas (Gluta renghas Linn.)*, Jurnal Natur Indonesia, 4 (1)
- Carollo, C.A., et.al., 2006, Alkaloids and Flavonoid from Aeral Parts (Leaves and Twigs) of *Duguetia Furfuracea-Annonaceae*, J. Chil. Chem. Soc., Vol. 51, No 2, 2006
- Carbonaro, M., et.al, 2005, *Absorption of Quercetin and Rutin in Rat Small Intestine*, Annals of Nutrition and Metabolism 2005;49:178-182 (DOI: 10.1159/000086882)
- Dewanti, W.,T., Wulan, S.N., dan Nur, C.I., 2004, *Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Produk Kering, Instan, dan Effervescent dari Buah Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa)*, Prosiding Seminar Nasional dan Kongres Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI) di Jakarta 17-18 Desember 2004
- Eni, M.I., 1998, *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Kloroform Daun Kecombrang (Nicotia speciosa Horan)*, Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Gajah Mada, Jogjakarta
- Furusawa, M., et.al., 2005, *Antioxidant Activity of Hidroxyflavonoids*, Journal of Health Science Vol. 51 2005
- Hanani, E., dkk, 2005, *Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spon Callyspongia sp dari Kepulauan Seribu*, Majalah Ilmu Kefarmasian Vol. II, No.3 Desember 2005
- Handayani, S.N., 1998, *Isolasi Isoflavon dan Arekolin dalam Ekstrak Kloroform Biji Pinang (Areca catethu L.) dengan Metode Kromatografi Kolom*, Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Gajah Mada, Jogjakarta
- Harborne, J.B., 1987, *Phytochemical Methods*, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Sudiro, Penerbit ITB, Bandung
- Harmanto, N., 2001, *Mahkota Dewa : Obat Pusaka Para Dewa*, Agromedia Pustaka, Jakarta
- Harmanto, N., 2003, *Menaklukkan Penyakit Bersama mahkota Dewa*, Agromedia Pustaka, Jakarta
- Istiningrum, R.B., 2003, *Identifikasi Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daun Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa Boerl) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis*, Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia, Jogjakarta.
- Lisdawati, V., 2002, *Buah Mahkota Dewa-Toksisitas, Efek Antioksidan, dan Efek Anti Kanker Berdasarkan Uji Penapisan Farmakologi*, [www.mahkotadewa.com](http://www.mahkotadewa.com)
- Lusiana, 2006, *Formulasi Tablet Efervesen Ekstrak Air Buah Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl)*, Thesis, Departemen Farmasi ITB
- Marby, J.T., Markham, K.R., Thomas, M.B., 1970, *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer Verlag, Berlin
- Markham, K.R., 1988, *Techniques of Flavonoids Identification*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung
- Meloan, C.E., 1999, *Chemical Separations : Principles, Techniques, and Experiments*, John Wiley and Sons Inc., New York

- Mursiti, H. ,2002, *Uji Toksikologi Hasil Fraksinasi Ekstrak Kloroform Biji Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa Scheff. Boerl) terhadap Artemia salina Leach dan Profil kromatogram Hasil Kromatografi Lapis Tipisnya*, Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada, Jogjakarta
- Nawawi A. 2004, *Isolasi Benzofeneon dari Daun Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl, Acta Pharmaceutika Indonesia*
- Pratiwi, R.W. 2002, *Uji Toksisitas Daun Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa Scheff. Boerl) terhadap Artemia salina serta Profil Kromatogram Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Aktif*, Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada, Jogjakarta
- Primsa, E. ,2002, *Efek Hipoglikemik Infusiasia Simpliasia Daging Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa Scheff Boerl) pada Tikus Jantan Putih*, Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada, Jogjakarta
- Purwaningsih, D., 2001, *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Kacang Panjang (Vigna sinensis L. savi ex Hessk)*, Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Gajah Mada, Jogjakarta
- Robinson, T., 1991, *The Organic Constituents of Higher Plants*, 6<sup>th</sup> Ed., Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung
- Rohyami Y, Shabur, T.J.2003, *Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daging Buah Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa Boerl) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis*, Prosiding Seminar Nasional Farmasi UII, Jogjakarta
- Rohyami Y, 2007, *Identifikasi Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daging Buah Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa Boerl) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FT-IR*, Laporan Penelitian PDM DIKTI 2007
- Sant, J., 2002, *Makuthodewo dan Oleander Dijagokan Melawan Kanker*, Minggu Pagi, Minggu V, September 2002
- Setyawati, M., W., 2003, *Naluri Bisnis Muncul Saat Krisis*, Kompas Senin, 17 Februari 2003
- Siswono, 2001, *Mahkota Dewa 'Racun' Irian yang Berkhasiat*, Gizi.net 4 Oktober 2001
- Slimestad, R., et.al., 2005, *Flavonoids from black chokeberries, Aronia melanocarpa*, [Journal of Food Composition and Analysis](#) [Volume 18, Issue 1](#), February 2005, Pages 61-68
- Sugiwati, S., et. al., 2006,  *$\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activity and Hypoglycemic Effect of Phaleria macrocarpa Fruit Pericarp Extract by Oral Administration to Rats*, Journal of Applied Sciences 6 (10) : 2312 – 2316 2006 ISSN 1812-5654
- Sumastuti, 2002, *Efek Antihistamin Ekstrak Daun dan Buah Mahkota Dewa pada Ileum Marmot Terpisah*, www.mahkotadewa.com
- Urzua, A, 2004, *Secondary Metabolites in the Epicuticle of Haplopappus Foliosus Dc. (Asteraceae)*, J. Chil. Chem. Soc., Vol 49, No 2, 2004
- Williams, D.G., 1994, *Quercetin-Protect Your Helth with This Important Flavonoid*, Immune support.com 4 Januari 1994
- Yudana, I.G.A., 2002, *Mahkota Dewa Musuh Baru Aneka Penyakit*, Intisari, Januari 2002