

**PENGARUH PERBANDINGAN PELARUT EKSTRAKSI ETANOL-AIR
TERHADAP PEROLEHAN KADAR SENYAWA FENOLAT TOTAL DAN DAYA
ANTIOKSIDAN DARI DAUN DEWA
(*Gynura pseudochina*(L.) DC)**

Krisyanella¹, Andriani Amran¹ dan Harrizul Rivai²

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi STIFARM, Padang

²Fakultas Farmasi, Universitas Andalas

Abstract

Study about comparative influence of ethanol – water as solvent extraction of phenolic compounds from Dewa leaves (*Gynura pseudochina* (L) DC) and it's antioxidant activity has been done. The solvent ratios tested were 100:0; 80:20; 70:30; 60:40; 50:50. The result showed that the ratio of ethanol – water used as solvent has a significant correlation to an extractable material, phenolic compound and it's antioxidant activity ($P < 0.05$). The best solvent obtained by ethanol – water of 60 : 40, which gave the highest phenolic compound and antioxidant activity.

Keyword :Senyawa Fenolat, Antioksidan, Daun Dewa (*Gynura pseudochina* (L) DC)

Pendahuluan

Sejak zaman dahulu masyarakat Indonesia telah mengenal tanaman berkhasiat obat sebagai upaya dalam menanggulangi masalah kesehatan. Tanaman berkhasiat obat tersebut dikenal dengan sebutan tanaman obat tradisional. Pengetahuan tentang tanaman obat tradisional berdasarkan pada pengalaman dan keterampilan yang secara turun temurun telah diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya. Kenyataan membuktikan pemanfaatan tanaman obat tradisional cukup potensial dalam menunjang pembangunan kesehatan. Oleh karena itu penelitian ilmiah perlu dilakukan agar tanaman obat tradisional tersebut dapat dipertanggung jawabkan manfaat dan keamanannya (Sari, 2006).

Salah satu tanaman obat yang banyak digunakan masyarakat saat ini adalah daun dewa (*Gynura pseudochina* (L.) DC). Daun dewa telah diketahui mengandung komponen kimia seperti alkaloid, flavonoid, minyak atsiri, saponin dan tanin. Daun dewa memiliki manfaat yang penting yaitu sebagai anti kanker, menurunkan kolesterol dan hipertensi, melancarkan sirkulasi darah, menyembuhkan batu ginjal, mengatasi haid tidak teratur, haid sakit, rematik, nyeri sendi, wasir, mencegah dan mengatasi penyakit jantung, radang saluran nafas, pembengkakan payudara dan menghentikan pendarahan, batuk darah, muntah darah dan luka terpukul, serta menyembuhkan bengkak, memar, luka bakar, atau luka karena gigitan hewan (Sajuti, 2001; Suharmiati dan Maryani, 2003).

Dalam upaya peningkatan kualitas obat tradisional menjadi sediaan obat fitofarmaka, maka mutu simplisia harus terjamin. Salah satu cara penjaminan mutu adalah dengan cara penetapan kadar zat aktif. Kadar zat aktif dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya adalah pelarut yang digunakan dalam ekstraksi. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melerutkan material lainnya. Dengan memvariasikan campuran pelarut etanol-air dalam ekstraksi tentunya akan berpengaruh pada kadar senyawa yang akan tersari (Velioglo, *et al*, 1998).

Konsumsi antioksidan dalam jumlah memadai dapat menurunkan kejadian penyakit degeneratif, seperti kardiovaskuler, kanker, aterosklerosis, osteoporosis, meningkatkan sistem imunologis dan menghambat timbulnya penyakit degeneratif akibat penuaan (Prakash, 1999)

Perolehan kadar fenolat total dan daya antioksidan dipengaruhi antara lain oleh jenis dan perbandingan pelarut yang dipakai untuk ekstraksi, oleh karena itu perlu diteliti pengaruh perbandingan pelarut ekstraksi etanol - air terhadap perolehan kadar fenolat total dan daya antioksidan daun dewa.

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan memiliki dua fungsi yaitu: (Trilaksani, 2003)

1. Antioksidan Primer

Antioksidan primer meliputi enzim superoksida distimulase (SOD), katalase dan glutation peroksida (GSH-Px). Antioksidan primer disebut juga antioksidan enzimatis. Antioksidan primer bekerja dengan cara :

- Memberikan atom hydrogen secara cepat kepada senyawa radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk segera berubah menjadi senyawa yang lebih stabil.
- Mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif.
- Memutus reaksi berantai kemudian mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil.

2. Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder disebut juga sebagai pertahanan preventif. Kerja sistem antioksidan non enzimatik yaitu dengan cara memotong reaksi oksidasi rantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkapnya. Akibatnya radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler. Contoh antioksidan sekunder : vitamin E, vitamin C, beta karoten, asam urat, bilirubin dan albumin.

3. Antioksidan Tersier

Antioksidan jenis ini memperbaiki kerusakan sel-sel dan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas. Contoh enzim yang memperbaiki DNA pada inti sel adalah metionin sulfoksida reduktase.

Metode Penelitian

Alat

Seperangkat alat *rotary evaporator* (Buchi[®]), oven (Gallen Kamp[®]), timbangan analitik (Denver Instrument[®]), kertas saring Whatman no.1, desikator, seperangkat alat spektrofotometer UV–Visibel (Shimadzu[®]) dan seperangkat alat gelas

Bahan

Daun dewa, aquadest, natrium karbonat p.a.(Merck[®]), asam galat, etanol 96%, reagen fenol Folin-Ciocalteau, DPPH, metanol p.a (Merck[®]).

Prosedur Kerja

I. Pengambilan Sampel

Sampel daun dewa diambil di Kelurahan Kubu Marapalam, Kecamatan Padang Timur, Padang, Sumatra Barat.

II. Identifikasi Sampel

Identifikasi sample dilakukan di Herbarium ANDA, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang.

III. Ekstraksi Sampel

Sampel yang digunakan adalah daun segar, sampel dicuci dengan air bersih, ditiriskan dan dikeringkan dengan dianginkan pada suhu kamar \pm 20 - 30 °C kemudian dihaluskan menjadi serbuk. Sampel yang telah diserbuk ditimbang sebanyak 5 g, dimaserasi dengan 50 mL campuran pelarut etanol-air dengan perbandingan tertentu selama 24 jam, sekali-kali diaduk lalu disaring dengan kertas saring (Filtrat 1). Ampas dimaserasi lagi dengan 50 mL campuran pelarut etanol-air dengan perbandingan tertentu selama 24 jam, sekali-kali diaduk lalu disaring dengan kertas saring (Filtrat 2), Ampas dimaserasi lagi dengan 50 mL campuran pelarut etanol-air dengan perbandingan tertentu selama 24 jam sekali-kali diaduk lalu disaring dengan kertas saring (Filtrat 3). Lakukan beberapa kali pengulangan maserasi hingga diperoleh filtrat yang jernih. Semua filtrate digabung lalu diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai kental. Sebelum dianalisis, masing-masing ekstrak dilarutkan dalam campuran metanol : air (1:1) dalam labu ukur 50 mL, sehingga didapatkan ekstrak encer, kemudian ditentukan kadar ekstraktif, kadar fenolat total dan daya antioksidannya (Keinanen, 1996).

Catatan : Perbandingan campuran pelarut etanol-air (100:0), (80:20), (70:30), (60:40), (50:50)

IV. Pembuatan Reagen

a. Larutan Natrium Karbonat 1 M

Natrium karbonat ditimbang sebanyak 10,6 g, larutkan dengan aquades dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas (Pourmorad, 2006).

b. Pembuatan Larutan Induk Asam Galat 5mg/mL

Asam galat ditimbang sebanyak 0,125 g dimasukkan dalam labu ukur 25 mL, tambahkan 2,5 mL etanol lalu ditambahkan dengan aquades sampai tanda batas.

c. Larutan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazid) 35 μ g/mL)

DPPH ditimbang sebanyak 10 mg lalu dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas, dipipet 35 mL dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 35 μ g/mL.

V. Penentuan Kadar Zat Tersari

Dari larutan sampel (50 mL) dipipet 10 mL, kemudian dimasukkan dalam cawan penguap yang sudah ditara sebelumnya, uapkan sampai kering diatas waterbath dan panaskan dalam oven pada temperatur 105° C selama 1 jam, masukan dalam desikator 10 menit dan ditimbang, ulangi penimbangan sampai diperoleh bobot konstan. Kemudian hitung kadar ekstraktifnya

VI. Penentuan Kadar Senyawa Fenolat Total dalam Larutan Sampel (Pourmorad, 2006)

a. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Asam Galat Folin Ciocalteau

Larutan induk asam galat (5 mg/mL) dipipet sebanyak 2 mL dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL lalu diencerkan dengan air suling sampai tanda batas. Kemudian dipipet 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam vial, ditambahkan 5 mL reagen Folin-Ciocalteau (diencerkan 1:10 dengan air suling), lalu ditambahkan 4 mL natrium karbonat 1M, dikocok homogen. Didiamkan selama 15 menit. Serapan diukur pada panjang gelombang 400-800nm dengan spektrofotometer UV-Vis dan dibuat spektrum serapan dan ditentukan panjang gelombang maksimumnya.

b. Penentuan Kurva Kalibrasi Asam Galat-folin Ciocalteau

Dibuat larutan asam galat dengan konsentrasi 25, 50, 75, 100, 125, 150 μ g/mL asam galat. Masing-masing konsentrasi larutan dipipet 0,5 mL lalu tambahkan 5 mL reagen fenol Folin-Ciocalteau (diencerkan 1:10 dengan air suling), lalu ditambahkan 4 mL natrium karbonat 1M dan dimasukkan ke dalam vial, dikocok homogen. Didiamkan selama 15 menit. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer UV-Visibel dan kurva kalibrasi dibuat sehingga persamaan regresi linear dapat dihitung.

c. Penentuan Kadar Senyawa Fenolat Total dalam Larutan Sampel

Larutan sampel masing – masing dipipet 0,5 mL, dimasukkan ke dalam vial, ditambahkan 5 mL reagen Folin-Ciocalteau (diencerkan 1:10 dengan air suling), ditambahkan 4 mL natrium karbonat 1 M, dikocok homogen. Didiamkan selama 15 menit, dimasukkan ke dalam kuvet, serapan diukur pada panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer UV-Visibel, dilakukan tiga kali pengulangan, kadar senyawa fenolat ditentukan dengan kurva kalibrasi.

d. Penentuan % Perolehan Kembali Larutan Standar Asam Galat

Pipet 1 mL larutan sampel (20 mg/mL) tambahkan 1 mL larutan asam galat (50 μ g/mL), kocok homogen, dari larutan tersebut dipipet 0,5 mL, masukkan kedalam vial, ditambahkan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu (diencerkan 1:10 dengan air suling) tambahkan 4 mL natrium karbonat 1M, kocok homogen. Diamkan selama 15 menit sehingga terbentuk warna kompleks biru, masukkan kedalam kuvet, ukur serapan pada panjang gelombang 748 nm dengan Spektrofotometer UV-Visibel. Hitung Konsentrasi larutan menggunakan persamaan regresi asam alat.

Pipet 0,5 mL larutan sampel (20 mg/mL), masukkan kedalam vial, ditambahkan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu (diencerkan 1:10 dengan air suling) tambahkan 4 mL natrium karbonat 1 M, kocok homogen. Diamkan selama 15 menit sehingga terbentuk warna kompleks biru, masukkan kedalam kuvet, ukur serapan pada panjang gelombang 748 nm dengan spektrofotometer UV-Visibel, Hitung konsentrasi larutan menggunakan persamaan regresi Asam Galat.

VII. Penentuan Daya Antioksidan dengan Metoda DPPH (Mosquera, 2007).

a. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Larutan DPPH 35 μ g/mL yang baru dibuat dipipet sebanyak 4 mL, dimasukkan ke dalam vial dan ditambahkan 2 mL campuran air suling : metanol (1:1), dibiarkan selama 30 menit di tempat gelap. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang 400 – 800 nm.

b. Penentuan IC₅₀ Larutan Sampel

Larutan Sampel 1, Sampel 2 dan Sampel 3, Sampel 4 dan Sampel 5 dibuat konsentrasi 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 ; 0,6 mg/mL. dipipet sebanyak 2 mL masing-masingnya lalu dimasukkan kedalam vial, ditambahkan 4 mL larutan DPPH 35µg/mL. Di biarkan selama 30 menit di tempat gelap. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang maksimum.

Sebagai pembanding digunakan larutan asam galat dengan konsentrasi 1, 2, 3, 4 dan 5 µg/mL, dari masing – masing konsentrasi dipipet 2 mL dimasukan ke dalam vial kemudian ditambahkan 4 mL larutan DPPH 35µg/mL. Dibiarkan selama 30 menit di tempat gelap. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang maksimum.

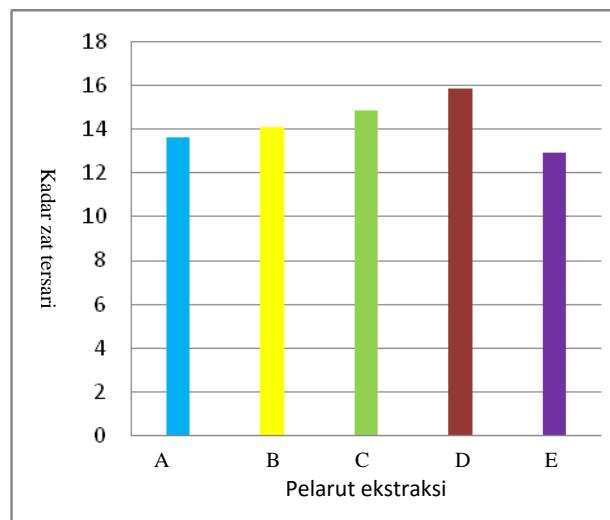
% inhibisi masing-masing dihitung, lalu buat grafik antara konsentrasi dan % inhibisi sehingga diperoleh persamaan regresi linearinya. IC₅₀larutan sampel dan IC₅₀ asam galat adalah konsentrasi larutan sampel yang akan memberikan inhibisi sebesar 50% yang dapat dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear yang telah diperoleh.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil Perolehan Kadar Zat Tersari dari DaunDewa (*Gynurapseudochina* (L.) DC).

Dari tabel dapat dilihat bahwa perlakuan pelarut ekstraksi etanol-air 60:40 adalah hasil yang bagus untuk kadar zat tersari

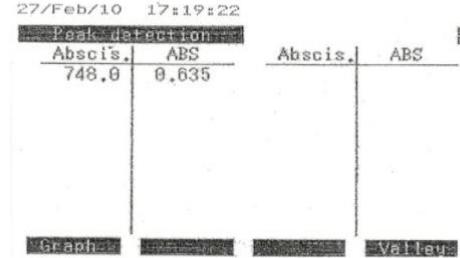
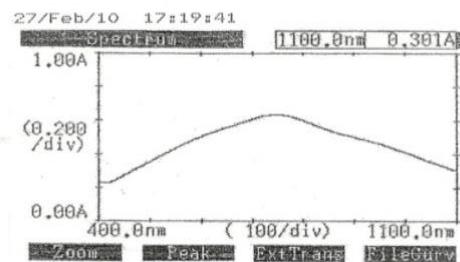
No	Perlakuan	Rendemen (g) (Rata-Rata)	% Kadar Zat Tersari (Rata-Rata)
1	Pelarut Etanol-Air 100:0	0,1363 ± 0,00075	13,63 ±0,750
2	Pelarut Etanol-Air 80:20	0,1406 ±0,00026	14,06 ±0,260
3	Pelarut Etanol-Air 70:30	0,1484 ±0,00041	14,84 ±0,410
4	Pelarut Etanol-Air 60:40	0,1582 ±0,00085	15,82 ±0,850
5	Pelarut Etanol-Air 50:50	0,1291 ±0,00093	12,91 ±0,930



Gambar 1. Grafik Perolehan Kadar Zat Tersari dari DaunDewa (*Gynurapseudochina* (L.) DC)

Keterangan :

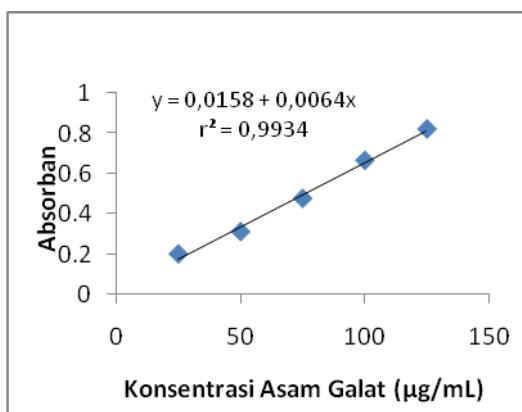
- A. Pelarut ekstraksi etanol – air (100:0)
- B. Pelarut ekstraksi etanol – air (80:20)
- C. Pelarut ekstraksi etanol – air (70:30)
- D. Pelarut ekstraksi etanol – air (60:40)
- E. Pelarut ekstraksi etanol – air (50:50)



Gambar 2. Spektrum serapan Larutan Asam Galat + reagen Folin Ciocalteau, dengan panjang gelombang yang didapat adalah 748 nm

Tabel 2. Data Hasil Pengukuran Absorban Asam Galat + reagen Folin Ciocalteau pada Panjang Gelombang 748 nm dengan Spektrofotometer UV-Visibel

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorban
1	25	0,200
2	50	0,311
3	75	0,476
4	100	0,665
5	125	0,821

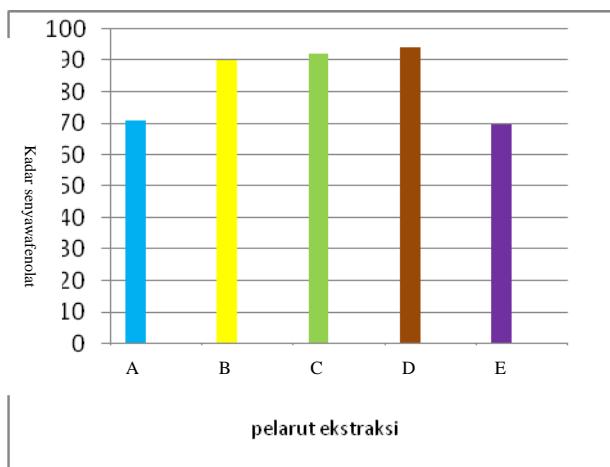


Gambar 3. Kurva Kalibrasi Larutan Asam Galat + reagen Folin Ciocalteau

Tabel 3. Hasil Pengukuran Konsentrasi Senyawa fenolat dari Daun Dewa (*Gynura pseudochina* (L.) DC) dengan Spektrofotometer UV-Visibel pada Panjang Gelombang 748 nm.

Dari tabel dapat dilihat bahwa dengan perlakuan pelarut ekstraksi etanol:air 60:40 hasil yang bagus untuk kadar senyawa fenolat total dari daun dewa (*Gynura pseudochina* (L.) DC)

No	Perlakuan	Konsentrasi Senyawa Fenolat ($\mu\text{g/mL}$) (Rata-Rata)	Kadar Senyawa Fenolat Dalam Daun Dewa (mg/g) (Rata-Rata)
1	Pelarut Etanol-Air 100:0	70,92 ±0,3389	70,92 ±0,3389
2	Pelarut Etanol-Air 80:20	90,08 ±0,3927	90,08 ±0,3927
3	Pelarut Etanol-Air 70:30	92,32 ±0,6509	92,32 ±0,6509
4	Pelarut Etanol-Air 60:40	94,24 ±0,1552	94,24 ±0,1552
5	Pelarut Etanol-Air 50:50	69,76 ±0,3927	69,76 ±0,3927

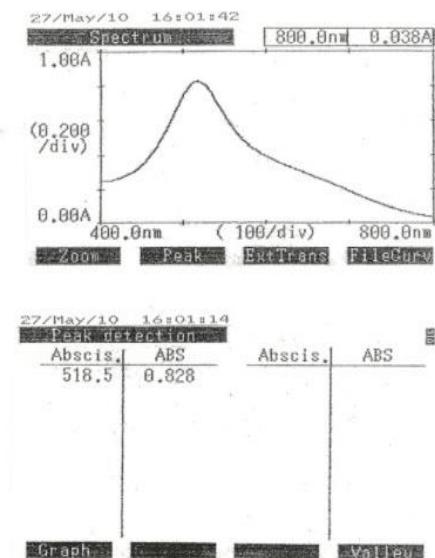


Gambar 4. Grafik Perolehan Kadar Senyawa Fenolat dari Daun Dewa (*Gynura pseudochina* (L.) DC)

Keterangan :

- A.Pelarut ekstraksi etanol – air (100:0)
- B.Pelarut ekstraksi etanol – air (80:20)
- C. Pelarut ekstraksi etanol – air (70:30)
- D.Pelarut ekstraksi etanol – air (60:40)
- E.Pelarut ekstraksi etanol – air (50:50)

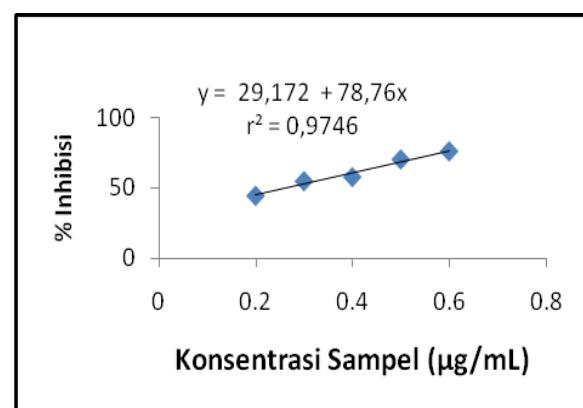
Penentuan kadar senyawa fenolat total dengan metoda Folin-Ciocalteu. Metoda ini dipilih karena merupakan metoda yang spesifik, sensitif terhadap senyawa fenol dan menggunakan reagen dalam jumlah yang sedikit serta dapat bereaksi dalam waktu yang singkat. Reagen Folin-Ciocalteu ini akan membentuk larutan kompleks berwarna biru tua jika direaksikan dengan lautan sampel yang telah ditambahkan dengan natrium karbonat. Sesuai dengan prinsip kerja spektrofotometer UV-Visibel yang mengabsorbsi larutan warna pada panjang gelombang 400-800 nm, maka larutan kompleks biru tua inilah yang akan ditentukan nilai absorbannya dengan panjang gelombang yang sesuai sehingga kadar dari larutan sampel dapat diketahui. Pada penentuan kadar senyawa fenolat total ini digunakan asam galat yang didapat adalah 748 nm dengan absorban 0,635 (Gambar 2). Setelah didapatkan panjang gelombang maksimum, diukur absorban untuk penentuan kurva kalibrasi asam galat pada konsentrasi 25, 50, 75, 100, 125 $\mu\text{g/mL}$, sehingga didapatkan persamaan regresi $y = 0,0158+0,0064x$



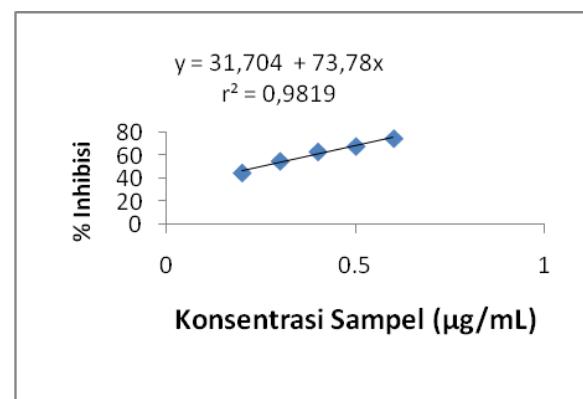
Gambar 5. Spektrum Visibel serapan Larutan DPPH

Tabel IV. Data Hasil Pengukuran IC₅₀ Larutan Sampel Daun Dewa (*Gynura pseudochina* (L.) DC)

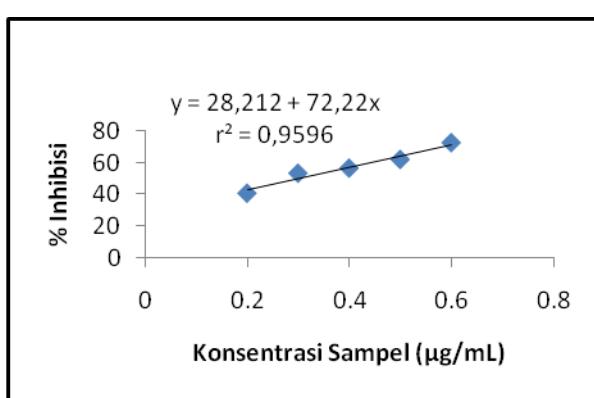
No	Perlakuan	IC ₅₀ (μg/mL)
1	Pelarut Etanol-Air 100:0	0,301
2	Pelarut Etanol-Air 80:20	0,264
3	Pelarut Etanol-Air 70:30	0,247
4	Pelarut Etanol-Air 60:40	0,238
5	Pelarut Etanol-Air 50:50	0,312



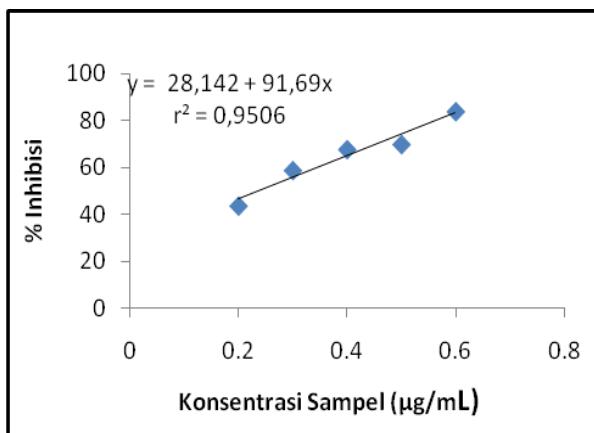
Gambar 7. Kurva % Inhibisi Daun Dewa Perbandingan Pelarut Ekstraksi Etanol :Air (80:20)



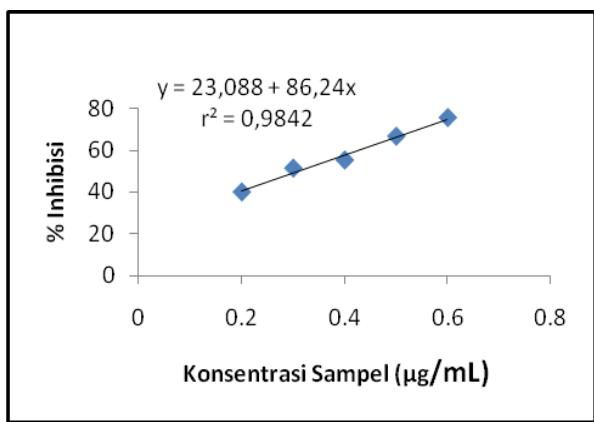
Gambar 8. Kurva % Inhibisi Daun Dewa Perbandingan Pelarut Ekstraksi Etanol :Air (70:30)



Gambar 6. Kurva % Inhibisi Daun Dewa Perbandingan Pelarut Ekstraksi Etanol :Air (100:0)



Gambar 9. Kurva % Inhibisi Daun Dewa Perbandingan Pelarut Ekstraksi Etanol :Air (60:40)



Gambar 10. Kurva % Inhibisi Daun Dewa Perbandingan Pelarut Ekstraksi Etanol :Air (50:50)

Daya antioksidan dapat ditentukan dengan menggunakan metoda DPPH. Metoda ini dipilih karena mudah, cepat, peka dan hanya memerlukan sedikit sampel. Senyawa yang mempunyai aktifitas antioksidan akan beraksi dengan DPPH melalui pemberian elektron dari senyawa antioksidan kepada DPPH yang mempunyai elektron sunyi, sehingga elektron tersebut menjadi berpasangan. Reaksi ini menyebabkan perubahan warna larutan DPPH dari ungu menjadi kuning. Perubahan inilah yang akan diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visibel. Semakin rendah serapan maka semakin tinggi daya antioksidan dari larutan sampel.

Untuk pengujian daya antioksidan senyawa fenolat digunakan DPPH dengan konsentrasi 35 µg/mL. Pada konsentrasi ini diperoleh panjang gelombang maksimum 518,5 nm dengan absorban 0,828 (Gambar 5). Absorban ini digunakan sebagai kontrol. Daya antioksidan dapat ditentukan dari nilai IC₅₀,

yaitu konsentrasi senyawa antioksidan yang memberikan inhibisi sebesar 50% yang berarti bahwa pada konsentrasi tersebut antioksidan dapat menghambat radikal bebas sebesar 50%. Sebagai pembanding digunakan larutan asam galat dengan konsentrasi 1, 2, 3, 4, 5 µg/mL. Dari absorban yang didapat maka dapat dihitung persen inhibisi DPPH, sehingga diperoleh persamaan regresi $y = 39,559 + 11,025x$. Dari persamaan ini dapat dihitung nilai IC₅₀ asam galat yaitu 0,947 µg/mL. Pada larutan sampel diukur pada konsentrasi 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6 mg/mL. Hasil IC₅₀ pada tiap-tiap konsentrasi pelarut etanol:air didapatkan 0,301; 0,264; 0,247; 0,238; 0,312 µg/mL (Tabel.IV.). Nilai IC₅₀ yang semakin rendah menunjukkan daya antioksidan yang semakin kuat.

Dari uraian diatas dapat dilihat bahwa cara pemakaian pelarut ekstraksi dengan berbagai konsentrasi memberikan pengaruh terhadap perolehan kadar zat tersari ,kadar senyawa fenolat dan pengukuran daya antioksidan. Pada sampel dengan konsentrasi pelarut etanol:air 60:40 memperlihatkan kadar zat tersari yang tinggi, senyawa fenolat yang tinggi dan daya antioksidan yang paling kuat dibandingkan dengan konsentrasi yang lain. Semakin besar kadar senyawa fenolat semakin tinggi pula daya antioksidan yang dihasilkannya.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :Kadar zat tersari yang paling tinggi diperoleh pada pelarut ekstraksi etanol-air (60:40) yaitu 15,82%. Kadar senyawa fenolat yang paling tinggi diperoleh pada pelarut ekstraksi etanol-air 60:40 yaitu 94,24mg/mL. Daya antioksidan yang paling kuat ditunjukkan oleh sampel pada konsentrasi pelarut ekstraksi etanol - air (60:40) yang dapat dilihat dari nilai IC₅₀ yang diperoleh yaitu 0,238 µg/mL

DaftarPustaka

- Mosquera, O. M., Yaned M, Correa, Diana C. Buitrago, and Jaime Nino., (2007),Antioxidant Activity of Twenty Five Plants from Colombian Biodeirvesity,*Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de janeiro*, 102 (5) : 631 – 634.

Pourmorad, F, HosseiniMehr, S. J., Shahabimajd, N., (2006), Antioxidant Activity Phenol and Flavonoid Content of Some Selected Iranian Medical Plants, *African Journal of Biotechnology*, Vol.5 (11) :1142 – 1145.

Prakash Aruma., Fred Rigelhorf, and Eugene Miller., 1999, Antioxidant Activity, *Medallion Labs*,Minneapolis

Sari,L.O.R.K., (2006), Pemanfaatan Obat Tradisional Dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya, *Majalah Ilmu Farmasi*, III,(1) : 01-07.

Sajuti,D., (2001), Ekstraksi, Fraksinasi, Karakterisasi Dan Uji Hayati In Vitro Senyawa Bioaktif Daun Dewa (*Gynura pseudochina* (Linn.)DC.) Sebagai Antikanker, Tahap II, *Buletin Kimia*, 75-79.

Suharmiati, Herti Maryani.,(2003), *Khasiat dan Manfaat Daun Dewa*, Pustaka Agromedia, Surabaya.

Trilaksani, W., 2003, *Antioksidan Jenis, Sumber, Mekanisme dan Peranan Terhadap Kesehatan*, Institut Pertanian Bogor.

Velioglo, Y.S,G. Mazza, L.Gao, dan B.D.O Omah., (1998), Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables and Grain Products, *J. Agric.Food.Chem*, 46,4113 – 4117.