

PENELUSURAN FRAKSI AKTIF BIJI BUAH KALANGKALA (*Litsea angulata*) SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN ANTIDIABETES

Nisrien Ilmia¹, Nurkhasanah, Khoirun Nisa²
Departement Farmasi Universitas Ahmad Dahlan
¹Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan
²Badan Riset Inovasi Nasional
e-mail:nisrienilmia22@gmail.com

ABSTRAK

Biji buah kalangkala (*Litsea angulata*) adalah tanaman yang sering digunakan dalam pengobatan tradisional Kalimantan dan telah dilaporkan mengandung senyawa fenolik dan flavonoid. Senyawa fenolik dan flavonoid merupakan senyawa yang berperan dalam aktivitas antioksidan dalam tanaman, selain itu fenolik diketahui mampu melindungi sel beta pankreas dan menjaga kadar insulin dalam tubuh. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antioksidan dan antidiabetes dari fraksi n-heksan, etil asetat dan metanol ekstrak etanol biji buah kalangkala. Metode yang digunakan dalam penentuan aktivitas antioksidan adalah metode DPPH dengan pembanding vitamin C, sedangkan dalam uji aktivitas antidiabetes dilakukan secara in vitro menggunakan metode aktivitas enzim α -glukosidase dengan pembanding akarbosa. Hasil dari penelitian ini, aktivitas antioksidan fraksi n-heksan, etil asetat dan metanol menghasilkan nilai IC_{50} masing-masing $52,05 \pm 1,33$ ppm; $46,10 \pm 0,16$ ppm; $32,84 \pm 1,51$ ppm dan aktivitas α -glukosidase n-heksan $42,67 \pm 10,53$ U/L, etil asetat $59,91 \pm 4,35$ U/L, dan metanol $6,84 \pm 12,86$ U/L, berdasarkan hasil penelitian menunjukkan fraksi metanol memiliki aktivitas antioksidan dan antidiabetes terbaik.

Kata kunci: antioksidan., antidiabetes., biji buah kalangkala.

ABSTRACT

Kalangkala seed (*Litsea angulata*) is a plant that is often used in traditional Kalimantan medicine and has been reported to contain phenolic and flavonoid compounds. Phenolic compounds and flavonoids are compounds that play a role in antioxidant activity in plants. Apart from that, phenolics are known to be able to protect pancreatic beta cells and maintain insulin levels in the body. The aim of this research was to determine the antioxidant and antidiabetic activity of the n-hexane, ethyl acetate and methanol fractions of the ethanol extract of kalangkala fruit seeds. The method used to determine antioxidant activity is the DPPH method with vitamin C as a comparison, while the antidiabetic activity test is carried out in vitro using the α -glucosidase enzyme activity method with acarbose as a comparison. The results of this research, the antioxidant activity of the n-hexane, ethyl acetate and methanol fractions produced IC_{50} values respectively 52.05 ± 1.33 ppm; 46.10 ± 0.16 ppm; 32.84 ± 1.51 ppm and α -glucosidase activity of n-hexane 42.67 ± 10.53 U/L, ethyl acetate 59.91 ± 4.35 U/L, and methanol 6.84 ± 12.86 U /L, based on research results, it shows that the methanol fraction has the best antioxidant and antidiabetic activity.

Keywords : antioxidant., antidiabetic., kalangkala seed.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara megabiodiversity yang memiliki kurang lebih 30.000 jenis tumbuhan dari total 40.000 jenis tumbuhan di dunia dan 940 diantaranya merupakan tumbuhan berkhasiat¹. Salah satu tanaman yang berkhasiat adalah kalangkala (*Litsea angulata*). Biji buah kalangkala di daerah asalnya yaitu Kalimantan, dimanfaatkan oleh sebagian masyarakat untuk pengobatan tradisional, beberapa penelitian pun telah menyebutkan aktivitas antioksidan yang

cukup tinggi dari bagian biji buah ini. Penelitian menyebutkan nilai EC_{50} pada ekstrak metanol biji buah kalangkala adalah 17,3 mg/ml dan pada ekstrak air biji buah kalangkala adalah 22,7 mg/ml. Aktivitas antioksidan diperkirakan karena adanya kandungan fenolik dan flavonoid yang ada pada biji buah kalangkala (*Litsea angulata*)². Adanya aktivitas antioksidan pada tanaman dapat dikaitkan dengan aktivitas antidiabetes. Antioksidan mampu mengurangi stres oksidatif, sehingga dapat mencegah diabetes dan komplikasi pada penderita diabetes. Tumbuhan

yang mengandung fenol sebagai antioksidan mampu melindungi sel beta pankreas dari efek toksik radikal bebas yang dihasilkan selama hiperglikemia kronis, sehingga kadar insulin tetap terjaga dan kadar gula darah normal³. Beberapa penelitian telah membuktikan kemampuan biji buah kalangkala sebagai antioksidan yang kuat, namun belum terdapat penelitian yang dilaporkan mengenai aktivitas antidiabetes dari tanaman ini. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antidiabetes dari fraksi n-heksan, etil asetat dan metanol ekstrak etanol biji buah kalangkala. Metode yang digunakan dalam penentuan aktivitas antioksidan adalah metode DPPH dengan pembanding asam askorbat (vitamin C), sedangkan dalam uji aktivitas antidiabetes dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode aktivitas enzim α -glukosidase dengan pembanding akarbosa. Kedua metode ini dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Erlenmeyer (Schott Duran), kaca arloji, botol vial, kuvet, gelas ukur (Iwaki), gelas beaker (Iwaki), pipet tetes, mikro pipet, neraca analitik (Ohaus AX224/E), *rotary evaporator* (Buchi rotavapor R-200), *waterbath*, lemari asam, spektrofotometer UV-Vis. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji buah kalangkala, vitamin C, akarbosa, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), kertas saring, etanol 96% (PT. Tobacco), metanol (p.a) (EMSURE®), kloroform (p.a) (Merck), etil asetat (p.a) (Merck), n-heksan (p.a) (Merck), butanol (Merck), kloroform, H₂SO₄, AlCl₃, FeCl₃, Dragendorf, Mg, HCl, aquades (Jaya Santosa), DMSO, enzim α -glukosidase, KH₂PO₄, K₂HPO₄.

Ekstraksi

5 kg biji buah kalangkala dicuci bersih, dipotong, dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C, selanjutnya dihaluskan. Simplisia serbuk sebanyak 2,1 kg diekstraksi dengan 6 L etanol 96% selama 24 jam, disaring filtrat dan residu, selanjutnya residu diremeserasi 2 kali. Filtrat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental⁴.

Skrining Fitokimia

Alkaloid: 0,5 g ekstrak dilarutkan 5 ml HCl 2N. Larutan dibagi dalam 3 tabung. Tabung pertama sebagai blanko, tabung ke-dua ditambahkan 3 tetes Dragendroff (positif jika terdapat endapan jingga), dan tabung ketiga ditambahkan 3 tetes pereaksi Mayer (positif jika terdapat endapan putih hingga kekuningan)⁵. **Flavonoid:** 0,5 g ekstrak ditambahkan 5 ml air, dididihkan selama 5 menit lalu disaring. Filtrat 2 ml ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 ml HCl pekat, hasil positif jika terbentuk larutan merah⁵.

Saponin: 0,5 g ekstrak ditambahkan 5 ml air kemudian dikocok kuat dalam tabung reaksi, hasil positif jika terdapat busa⁶. **Tanin:** 0,5 g ekstrak ditambah dengan 1 ml larutan Fe(III) klorida 10%, hasil positif jika terbentuk larutan biru kehitaman⁷. **Steroid & Triterpenoid:** 0,5 g ekstrak ditambahkan 1 ml kloroform, lalu 1 ml asam asetat anhidrat. Campuran selanjutnya ditambah 5 mL asam sulfat pekat, hasil positif jika terbentuk larutan hijau kebiruan⁸.

Fraksinasi

Ekstrak kental 100 g dilarutkan 200 mL n-heksan, kemudian diaduk dan didiamkan beberapa saat lalu dipisahkan fase n-heksan dan fase tidak larut, proses ini dilakukan sebanyak 4 kali. Ekstrak tidak larut n-heksan kemudian dipartisi berturut-turut menggunakan etil asetat dan metanol dengan cara yang sama, semua fraksi diuapkan dengan rotavapor hingga dihasilkan fraksi kental^{9,10}.

Uji Aktivitas Antioksidan

Sampel berupa fraksi biji kalangkala konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100 ppm dan vitamin C sebagai pembanding dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10 ppm, setiap sampel masing-masing dipipet sebanyak 1 ml, ditambahkan 1 ml DPPH 0,1 mM, sampel di vortex 1 menit kemudian diinkubasi ditempat yang terlindung cahaya selama 30 menit pada suhu 37°C. Sampel diuji dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm dan dihitung aktivitas antioksidannya berdasarkan % inhibisi serta IC₅₀¹¹⁻¹⁴.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel})}{\text{absorbansi blanko}} \times 100$$

Uji Aktivitas Antidiabetes

Aktivitas penghambatan α -glukosidase diukur menggunakan QuantiChrom α -Glucosidase Assay Kit DAGD 100 (BioAssay System, Hayward, CA). Penyiapan reagen dilakukan dengan mencampurkan 200 μ L Assay Buffer dan 8 μ L substrat α -NPG (1,0 mM konsentrasi akhir). Sampel berupa fraksi n-heksan, etil asetat, methanol dan kontrol positif acarbose masing-masing 0,04 g dilarutkan dalam 1 mL buffer fosfat 50 mM (pH 7.0). Pengukuran sampel dilakukan dengan memasukkan 20 μ L aquades ke dalam 2 sumur 96-well plate, sumur pertama ditambahkan 200 μ L aquades dan sumur kedua 200 μ L kalibrator (volume masing-masing 220 μ L). Kemudian 20 μ L sampel dimasukkan kedalam sumur dan masing-masing ditambahkan 200 μ L reagen. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 405 nm dimenit 0 dan 20¹⁵. Aktivitas α -glukosidase dihitung dengan rumus berikut

$$\frac{OD_{20} - OD_0}{OD_{\text{kalibrator}} - OD_{\text{aquades}}} \times 250 \text{ (U/L)}$$

Ket. OD20 dan OD0 = sampel uji pada menit 20 dan 0; ODkalibrator dan ODaquades = kalibrator dan aquades pada menit 20

HASIL

Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi

Serbuk simplisia sebanyak 2,1 kg yang diekstraksi menggunakan metode maserasi menghasilkan ekstrak yang selanjutnya dilakukan fraksinasi untuk memisahkan senyawa berdasarkan sifat kepolarannya, rendemen yang dihasilkan tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen Ekstrak dan Fraksi Biji Buah Kalangkala

Sampel	Rendemen
Ekstrak etanol	14,36%
Fraksi n-heksan	6,19%
Fraksi etil asetat	12,52%
Fraksi metanol	45,35%

Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Biji Buah Kalangkala

Komponen senyawa pada ekstrak etanol biji buah kalangkala diidentifikasi secara kualitatif menggunakan uji tabung, hasil uji ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Biji Buah Kalangkala

Jenis Uji	Hasil	Keterangan
Alkaloid	+	Endapan jingga & putih kekuningan
Flavonoid	+	Larutan berwarna merah
Saponin	+	Busa yang stabil
Tanin & Polifenol	+	Larutan hitam kehijauan
Steroid & Terpenoid	+	Larutan hijau kebiruan

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Biji Buah Kalangkala

Fraksi pada biji buah kalangkala memiliki aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} (Tabel 3), hasil yang diperoleh menunjukkan kekuatan antioksidan yang sangat kuat-kuat.

Tabel 3. Aktivitas Antioksidan Fraksi-fraksi Biji Buah Kalangkala

Sampel	IC_{50} (ppm) \pm SD
Fraksi n-heksan	52,05 \pm 1,33
Fraksi etil asetat	46,10 \pm 0,16
Fraksi metanol	32,84 \pm 1,51
Vitamin C	9,93 \pm 0,03

Hasil Uji Aktivitas Antidiabetes Fraksi Biji Buah Kalangkala

Selain aktivitas antioksidan, fraksi biji buah kalangkala juga menunjukkan aktivitas antidiabetes yang tertera pada Tabel 4.

Tabel 4. Aktivitas Antidiabetes Fraksi-fraksi Biji Buah Kalangkala

Sampel	Aktivitas α -glukosidase (U/L) \pm SD
Fraksi n-heksan	42,67 \pm 10,53
Fraksi etil asetat	59,91 \pm 4,35
Fraksi metanol	6,84 \pm 12,86
Akarbosa	10,03 \pm 1,42

PEMBAHASAN

Ekstraksi biji kalangkala (*Litsea angulata*) dilakukan dengan metode dingin yaitu maserasi, maserasi dipilih karena prosesnya sederhana dan tidak menggunakan suhu tinggi yang dapat merusak senyawa kimia⁴. Proses ekstraksi dalam penelitian menggunakan etanol 96% karena lebih selektif, tidak beracun, memiliki daya serap yang baik, serta dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur¹⁶.

Ekstrak yang diperoleh dipekatkan kemudian dilakukan fraksinasi, proses fraksinasi merupakan proses penarikan senyawa menggunakan pelarut yang berbeda sifat kepolarannya. Fraksinasi menggunakan n-heksana bertujuan untuk mengekstrak lemak dan terpena yang bersifat non polar, residu yang diperoleh difraksinasi dengan etil asetat untuk mengisolasi senyawa semi polar, kemudian residu yang diperoleh difraksinasi kembali dengan metanol untuk mengisolasi senyawa polar¹⁷.

Berdasarkan hasil yang diperoleh (Tabel 1), senyawa polar yang terdapat pada biji buah kalangkala lebih dominan dibandingkan senyawa non polar dan semi polar. Senyawa yang tertarik pada fraksi non-polar seperti lemak, steroid, terpenoid. Senyawa dengan sifat semipolar seperti flavonoid aglikon, alkaloid, polifenol, sedangkan segmen polar seperti glikosida flavonoid, saponin, tanin¹⁸.

Pada uji skrining fitokimia, ekstrak etanol biji buah kalangkala positif mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin & polifenol, steroid & terpenoid, hasil ini menunjukkan bahwa maserasi dengan etanol 96% dapat menyari lebih banyak senyawa metabolit sekunder dibandingkan penggunaan etanol 70% yang tidak positif steroid, dan pelarut metanol yang hanya positif alkaloid dan tanin^{4,19}.

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan secara kuantitatif menggunakan metode DPPH. Prinsip pengukuran kuantitatif aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah perubahan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan konsentrasi larutan DPPH. Radikal bebas DPPH dengan elektron tidak berpasangan memberikan warna ungu. Ketika elektron membentuk pasangan, warna yang dihasilkan berubah menjadi kuning.

Perubahan intensitas warna disebabkan oleh melemahnya radikal bebas yang dihasilkan oleh reaksi molekul DPPH dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh molekul senyawa uji kemudian membentuk senyawa *diphenyl picryl hydrazine* yang membuat warna DPPH berubah menjadi kuning²⁰.

Radikal DPPH yang tersisa diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515,70 nm untuk menentukan aktivitas antioksidan²¹ sehingga diketahui nilai aktivitas penangkap radikal bebas yang dinyatakan sebagai nilai IC₅₀ (konsentrasi hambat). Nilai IC₅₀ didefinisikan sebagai konsentrasi senyawa uji yang mampu mereduksi radikal bebas sebesar 50%. Semakin rendah nilai IC₅₀, maka aktivitas antioksidan zat tersebut semakin besar²². Nilai IC₅₀ fraksi n-heksan, etil asetat dan mnl dapat dilihat pada tabel 3.

Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat apabila nilai IC₅₀ < 50 ppm, kuat apabila nilai IC₅₀ 50-100 ppm, sedang apabila nilai IC₅₀ 100-150 ppm, lemah apabila nilai IC₅₀ 150-200 ppm, dan sangat lemah apabila nilai IC₅₀ > 200 ppm²³, sehingga bisa dikatakan fraksi etil asetat dan metanol memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat, hal ini dapat dipastikan bahwa senyawa polar yang terdapat dalam biji buah kalangkala berperan penting dalam aktivitas ini.

Pengukuran aktivitas α -glukosidase dilakukan untuk mengukur aktivitas antidiabetes pada sampel, karena enzim α -glukosidase berperan penting dalam metabolisme karbohidrat, enzim ini mengkatalisis pemecahan oligosakarida kompleks pada permukaan sel usus kecil menjadi monosakarida atau glukosa, yang kemudian diserap ke dalam darah²⁴. Pada penderita DM tipe 2, paling umum disebabkan oleh ketidakpekaan sel β pankreas terhadap insulin, yang menyebabkan resistensi insulin selanjutnya mengakibatkan kadar glukosa meningkat dan menjadi tidak terkendali²⁵. Salah satu pendekatan terapeutik untuk pengobatan DM tipe 2 adalah dengan menunda penyerapan glukosa ke dalam darah, yaitu dengan menghambat aktivitas enzim α -glukosidase. *American Association of Clinical Endocrinologists* telah merekomendasikan α -glukosidase inhibitor (AGIs) sebagai terapi lini pertama untuk diabetes²⁶ sehingga pengukuran aktivitas α -glukosidase menjadi salah satu parameter penting untuk mengetahui apakah sampel memiliki aktivitas antidiabetes atau tidak.

Hasil uji aktivitas α -glukosidase fraksi-fraksi biji buah kalangkala terdapat pada tabel 4. Fraksi metanol menjadi fraksi dengan kemampuan aktivitas α -glukosidase terkuat yang ditandai dengan aktivitas yang rendah (6,84 U/L). Jika aktivitas enzim tinggi maka kemampuan enzim untuk mendegradasi substrat semakin optimal sehingga produk yang dihasilkan semakin bertambah, begitupula sebaliknya

apabila aktivitas enzim rendah maka kemampuan enzim semakin berkurang untuk menghasilkan produk²⁷.

Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan dan antidiabetes, fraksi metanol menjadi fraksi paling baik sehingga kemungkinan senyawa bioaktif yang ada pada biji buah kalangkala dalam aktivitas ini adalah senyawa polar.

SIMPULAN

Biji buah kalangkala (*Litsea angulata*) secara empiris digunakan sebagai obat tradisional, pada pengujian aktivitas in vitro pada fraksi n-heksan, etil asetat dan metanol memiliki aktivitas antioksidan dan antidiabetes dengan fraksi terbaik adalah fraksi methanol, hasil ini menunjukkan bahwa senyawa bioaktif antioksidan dan antidiabetes pada biji buah kalangkala besar kemungkinannya adalah senyawa yang bersifat polar.

DAFTAR PUSTAKA

1. Masyhud. Lokakarya Nasional Tanaman Lokal Indonesia. Badan Litbang Kesehatan.
2. Hassan SHA, Fry JR, Bakar MFA. Antioxidant and phytochemical study on pengolahan (*Litsea garciae*), an edible underutilized fruit endemic to Borneo. *Food Sci Biotechnol*. 2013;22(5):1-7. doi:10.1007/s10068-013-0202-x
3. Wulandari L, Nugraha AS, Azhari NP. Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetes Ekstrak Daun Kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell.Arg.) secara In Vitro. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. 2020;7(1):60. doi:10.25077/jsfk.7.1.60-66.2020
4. Ramadhan H, Arsyad M, Sayakti I, Tinggi S, Kesehatan I, Lestari B. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Biji Kalangkala (*Litsea angulata* Bl.) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat *Propionibacterium acnes*. *Borneo Journal of Phamascientech*. 2020;04(01).
5. Susanty E, Program S, Farmasi S, Biologi J. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). 2014;11(01).
6. Forestryana D, Arnida. Phytochemical Screenings and Thin Layer Chromatography Analysis of Ethanol Extract Jeruju Leaf (*Hydrolea spinosa* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*. 2020;11(2):113-124.
7. Puspitasari L, Swastini DA, Arisanti CIA. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 95% Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Farmasi Udayana*. 2013;2(3):1-4.
8. Rubianti I, Azmin N, Nasir Muh. Analisis Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Golka (*Ageratum conyzoides*) Sebagai Tumbuhan Obat Tradisional Masyarakat Bima. *JUSTER: Jurnal Sains dan Terapan*. 2022;1(2):7-12.

9. Fauziyya R, Nurani LH, Sulistyani N. Penelusuran Senyawa Aktif Antibakteri Ekstrak Daun Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.) terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan Mekanisme Kebocoran Sel. *Traditional Medicine Journal*. 2017;22(3):166-174.
10. Ochoa-Pacheco A, Escalona Arranz J, Beaven M, et al. Bioassay-guided in vitro study of the antimicrobial and cytotoxic properties of the leaves from *Excoecaria lucida* Sw. *Pharmacognosy Res*. 2017;9(4):396-400. doi:10.4103/pr.pr_124_16
11. Hasanah M, Maharani B, Munarsih E. Daya Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Daun Kopi Robusta (*Coffea robusta*) Terhadap Pereaksi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 2017;4(2):42-49.
12. Martiningsih NW, Widana GAB, Kristiyanti PLP. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Matoa (*Pometia pinnata*) Dengan Metode DPPH. *Prosiding Seminar Nasional MIPA*. Published online 2016:332-338.
13. Husnayanti A, Sugiyanto, Kintoko. Penelusuran Isolat Aktif Antioksidan Dari Daun Kenikir (*Cosmos caudatuskunth*) Dan Elusidasi Strukturnya. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian & Pengabdian pada Masyarakat*. Published online October 2017:25-34.
14. Nurkhasanah, Minangsari DNI, Yulianny VA. The Combination of Rosella (*Hibiscus Sabdariffa*, L) and Stevia (*Stevia rebaudiana*) Extracts Increase The Antioxidant Activity and Stability. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*. 2016;8(5):411-412.
15. Yagi M, Hayashi S, Ishizaki K, et al. Inhibitory effect of *Kaempferia parviflora* Wall. Ex. Baker (Zingiberaceae) rhizome on postprandial hyperglycemia. *Glycative Stress Research*. Published online 2019:126-134. doi:10.24659/gsr.6.2_126
16. Damanis FVM, Wewengkang DS, Antasionasti I. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Ascidian *Herdmania Momus* dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Pharmacon*. 2020;9(3):464-469.
17. Firdausi I, Retnowati R, Sutrisno. Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) dengan Pelarut N-Butanol. *Kimia Student Journal*. 2015;1(1):785-790.
18. Pratiwi DN, Utami N, Pratimasari D. Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Ekstrak, Fraksi Polar, Semi Polar serta Non Polar Bunga Pepaya Jantan (*Carica papaya* L.). *Jurnal Farmasi*. 2021;2(1):25-31.
19. Mustikasari K, Ariyani D. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Biji Kalangkala (*Litsea angulata*). *Jurnal Berkala Ilmiah Sains dan Terapan Kimia*. 2010;4(2):131-136.
20. Rizkayanti, Diah AW, Jura MR. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lam). *Jurnal Akademika Kimia*. 2017;6(2):125-131.
21. Sirivibulkovit K, Nouanthavong S, Sameenoi Y. Paper-based DPPH Assay for Antioxidant Activity Analysis. *Analytical Sciences*. 2018;34:795-800.
22. Suena NMDS, Antari NPU. Uji Aktivitas Antioksidan Maserat Air Biji Kopi (*Coffea canephora*) Hijau Pupuan dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Jurnal Ilmiah Medicamento*. 2020;6(2):111-117.
23. Saputri R, Susiani E. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Dan Biji Buah Kalangkala (*Litsea angulata*) Asal Kalimantan Selatan. *Borneo Journal of Pharmacy*. 2018;1(2):81-84.
24. Chatsumpun N, Sritularak B, Likhitwitayawuid K. New biflavonoids with α -glucosidase and pancreatic lipase inhibitory activities from *boesenbergia rotunda*. *Molecules*. 2017;22(11). doi:10.3390/molecules22111862
25. Eid HM, Hadad PS. The Antidiabetic Potential of Quercetin: Underlying Mechanisms. *Curr Med Chem*. 2017;24(4):355-364.
26. Garber AJ, Abrahamson MJ, Barzilay JI, et al. AACE comprehensive diabetes management algorithm 2013. *Endocrine Practice*. 2013;19(2):327-336. doi:10.4158/endorp.19.2.a38267720403k242
27. Insani KV, Herdyastuti N. Pengaruh Konsentrasi Enzim Optimum pada Pembentukan N-Asetil Glukosamin. *UNESA Journal of Chemistry*. 2016;5(3):60-63.

