



PENGARUH LAMA MASERASI TERHADAP SENYAWA BIOAKTIF EKSTRAK ETANOLIK TEH DAUN DARUJU (*ACHANTUS ILICIFOLIUS*)

Aldila Sagitaning Putri¹⁾, Anisa Rachma Sari²⁾, Asah Wiari Sidiq³⁾

^{1,2,3} Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Semarang, Indonesia

DOI : [10.26623/jtphp.v19i1.8987](https://doi.org/10.26623/jtphp.v19i1.8987)

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Disubmit 26 Februari 2024
Direvisi 28 Januari 2024
Disetujui 1 Oktober 2023

Keywords:
Ekstrak etanolik, Lama maserasi, Senyawa bioaktif, Teh daun daruju

Abstrak

Senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, fenol dan tanin berpotensi sebagai antioksidan. Potensi antioksidan alami untuk Kesehatan semakin menarik para peneliti, seperti halnya teh memiliki potensi sebagai antioksidan alami karena memiliki senyawa bioaktif. Daun daruju merupakan tanaman lokal berasal dari Desa Banjarsari, Kecamatan Sayung, Kabupaten Demak yang saat ini dikembangkan dengan cara dibuat *tea-like* daun daruju. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui lama waktu maserasi yang paling efektif dalam menghasilkan senyawa bioaktif yang terdapat pada teh daun daruju. Waktu maserasi yang tepat akan menghasilkan rendemen ekstrak senyawa yang tinggi. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan satu faktor yaitu lama waktu maserasi, 4 perlakuan (maserasi 18 jam, 24 jam, 30 jam dan 36 jam) masing masing perlakuan dilakukan 4 kali pengulangan. Perlakuan pertama adalah lama maserasi selama 18 jam, perlakuan kedua lama maserasi selama 24 jam, perlakuan ketiga lama maserasi selama 30 jam dan perlakuan keempat lama maserasi selama 36 jam. Parameter yang diamati adalah total flavonoid, total tannin, total fenolik dan uji aktivitas antioksidan RSA DPPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama maserasi berpengaruh terhadap total flavonoid, total tannin, total fenol, alkaloid dan aktivitas antioksidan. Senyawa bioaktif dengan lama maserasi 24 jam menghasilkan senyawa bioaktif seperti total fenolik (2,28 mg GAE/g; 3,81 mg TAE/g; 2,45 mg QE/g dan aktivitas antioksidan sebesar 92,51% serta alkaloid sebesar 0,75 g/100 g.

Abstract

Bioactive compounds such as alkaloids, flavonoids, phenols and tannins have potential as antioxidants. The potential of natural antioxidants for health is increasingly attracting researchers, as tea has the potential as a natural antioxidant because it has bioactive compounds. Daruju leaves are a local plant originating from Banjarsari Village, Sayung District, Demak Regency which is currently being developed by making tea-like daruju leaves. The aim of this research is to determine the most effective length of maceration time in producing bioactive compounds found in daruju leaf tea. The right maceration time will produce a high yield of compound extract. This research used a Randomized Block Design (RAK) with one factor, namely the length of maceration time, 4 treatments (18 hours, 24 hours, 30 hours and 36 hours maceration) each treatment was carried out 4 times. The first treatment was a maceration period of 18 hours, the second treatment was a maceration duration of 24 hours, the third treatment was a maceration duration of

30 hours and the fourth treatment was a maceration duration of 36 hours. The parameters observed were total flavonoids, total tannins, total phenolics and RSA DPPH antioxidant activity test. The results showed that the length of maceration had an effect on total flavonoids, total tannins, total phenols, alkaloids and antioxidant activity. Bioactive compounds with a maceration period of 24 hours produced bioactive compounds such as total phenolics (2.28 mg GAE/g; 3.81 mg TAE/g; 2.45 mg QE/g and antioxidant activity of 92.51% and alkaloids of 0, 75g/100g.

PENDAHULUAN

Teh daun daruju yang biasa dimanfaatkan oleh masyarakat Sayung, Kabupaten Demak dibuat dengan 2 cara, diseduh. Mengingat banyak masyarakat Sayung, Kabupaten Banjarsari memanfaatkan daun daruju diolah menjadi teh herbal sebagai minuman penghangat tubuh dan dipercaya dapat mengobati berbagai penyakit, maka perlu dikaji lebih lanjut tentang senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak teh daun daruju. Avijit *et al* (2012) telah meneliti tentang aktivitas antioksidan ekstrak metanol pada tanaman daruju (*Acanthus ilicifolius* L.) dengan menggunakan 1,1 Diphenil 2 Picrylhidrazil (DPPH) hasilnya menunjukkan bahwa nilai IC_{50} ekstrak methanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* L) yaitu 5.1 $\mu\text{g/mL}$ yang termasuk pada kategori intensitas antioksidan yang sangat kuat. Senyawa bioaktif bersifat polar sehingga dibutuhkan pelarut yang bersifat polar (Gillespie dan Paul, 2001), namun dalam hal ini pelarut metanol penggunaannya tidak diperbolehkan karena ada residu yang tertinggal di produk. Etanol merupakan pelarut organik yang sering digunakan untuk proses ekstraksi dan sudah sangat banyak laporan atau artikel penelitian dari penggunaan etanol. Beberapa alasan penggunaan etanol yang sangat luas antara lain karena etanol relatif tidak toksik dibandingkan dengan aseton dan metanol, biaya murah, dapat digunakan pada berbagai metode ekstraksi, serta aman untuk ekstrak yang akan dijadikan obat-obatan dan makanan.

Proses ekstraksi yang umum digunakan adalah maserasi. Maserasi merupakan proses perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada temperatur ruangan (Cikita *et al*, 2016). Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel akan terjadi pemecahan dinding sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna. Pemilihan pelarut didasarkan pada efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut (Winata *et al*, 2015). Semakin lama waktu ekstraksi, kuantitas bahan yang terekstrak juga akan semakin meningkat (Winata *et al.*, 2015).. Waktu maserasi yang melewati waktu optimum akan merusak zat terlarut dan berpotensi meningkatkan senyawa yang terekstrak karena penguapan (Cikita *et al.*, 2016). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui lama waktu maserasi yang paling tinggi menghasilkan *yield* dalam menghasilkan senyawa bioaktif teh daun daruju (*Achantus ilicifolius*).

METODE

Bahan Baku

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah Daun Daruju yang diperoleh dari Kecamatan Sayung, Desa Banjarsari dengan spesifikasi daun baris ke 4 dari pangkal. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan satu faktor yaitu lama waktu maserasi, 4 perlakuan (maserasi 18 jam, 24 jam, 30 jam dan 36 jam) masing masing perlakuan dilakukan 4 kali pengulangan. Perlakuan pertama adalah lama maserasi selama 18 jam, perlakuan kedua lama maserasi selama 24 jam, perlakuan ketiga lama maserasi selama 30 jam dan perlakuan keempat lama maserasi selama 36 jam. Parameter yang diamati adalah total fenolik, total flavonoid, total tannin, total alkaloid dan uji aktivitas antioksidan RSA DPPH

Alat

Alat yang digunakan meliputi alumunium foil, plastik klip, autoklaf, erlenmeyer, evaporator, gelas piala (beaker glass), gelas ukur, inkubator, kertas saring Whatman No. 41, oven, pemanas lisrik (hotplate), pipet tetes, spatula, spektrofotometer UV-Vis, tabung reaksi, timbangan analitik, tip dan Vortex

Preparasi Sampel

Penelitian ini mengacu berdasarkan penelitian Kristanti *et al*, 2019. Dalam proses ini bahan baku dipilih dari tingkat kesegaran dan warna. Bagian yang diambil adalah 4 daun daruju keatas. Kemudian dilakukan pemotongan dengan cara dirajang. Daun yang telah dirajang kemudian dijemur dibawah sinar matahari hingga benarbenar kering. Agar mendapatkan ekstraksi yang sempurna, potongan daun daruju yang telah dijemur tersebut kemudian diblender hingga halus.

Metode Ekstraksi Maserasi

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian yaitu metode maserasi Tunggal dengan menggunakan etanol 70%. Metode maserasi tunggal yaitu dengan menggunakan 40 gram serbuk daun

daruju dimasukkan kedalam botol gelap, tambahkan 200 mL larutan etanol 70%. Maserasi menggunakan shacker sesuai perlakuan yaitu maserasi selama 18 jam, 24 jam, 30 jam, dan 36 jam, setelah itu disaring dengan kertas saring Whatman No. 41 (Kristanti *et al*, 2019). Ampas yang didapat kemudian dimaserasi ulang hingga dihasilkan volume ekstrak hingga volume 200 mL. Ekstrak yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C.

Metode Total Flavonoid

Larutan ekstrak 1000 ppm diambil sebanyak 1 mL, ditambahkan dengan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5% didiamkan selama 16 menit. Dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang maksimum. 350-450 nm (Das *et al*, 2014).

Metode Fenolik

1. Penentuan panjang gelombang maksimal

Penentuan panjang gelombang maksimal asam galat dilakukan dengan mengukur larutan asam galat konsentrasi 5 ppm pada range panjang gelombang 400-800 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan diperoleh panjang gelombang maksimal yaitu 662,85 nm.

2. Pengukuran Larutan standar Asam Galat

Dibuat konsentrasi 3, 13, 23, 33, 43, dan 53 ppm yang dipipet dari larutan standar asam galat konsentrasi 100 ppm, kemudian ditambahkan 0,4 ml reagen Folin Ciocalteu, dikocok dan dibiarkan 4-8 menit. Ditambahkan 4,0 ml larutan Na_2CO_3 , dikocok hingga homogen. Kemudian dicukupkan dengan aquabidestillata hingga 10 ml dan didiamkan selama 2 jam pada suhu ruangan. Diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimal 662,85 nm, dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat ($\mu\text{g/ml}$) dengan absorbansi (Ahmad *et al.*, 2015).

3. Penentuan kadar fenolik total ekstrak etanol

Penentuan kadar fenolik total pada ekstrak etanol daun daruju merujuk pada prosedur Chun *et al.*, (2003) yaitu dibuat dengan cara menimbang 10 mg ekstrak etanol daun daruju kemudian dilarutkan dengan 10 ml etanol p.a dan dihomogenkan. Dipipet 1 ml dari larutan tersebut, kemudian ditambahkan dengan 0,4 ml reagen Folin Ciocalteu dikocok dan dibiarkan 4-8 menit.

Metode Tannin

Kandungan total tanin ditentukan dengan metode Chanwitheesuk *et al.* (2004) yang sedikit dimodifikasi. Sebanyak 0,5 g biji alpukat diekstraksi dengan 10 mL dietil eter selama 20 jam, kemudian disaring dan residu yang diperoleh dididihkan dengan 100 mL akuades selama 2 jam, kemudian didinginkan dan disaring. Ekstrak yang diperoleh ditambahkan dengan akuades hingga volume ekstrak 100 mL. Sebanyak 0,1 mL ekstrak ditambahkan N dengan 0,1 mL reagen Folin Ciocalteu dan divortex, ditambahkan dengan 2 mL Na_2CO_3 dan divortex lagi. Absorbansi dibaca pada $\lambda = 760$ nm setelah diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Hasil yang diperoleh diplotkan terhadap kurva standar asam tanat yang dipersiapkan dengan cara yang sama. Kandungan total tanin dinyatakan dalam mg TAE/g ekstrak.

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN RSA- DPPH

Larutan blanko DPPH 0,4 mM sebanyak 1 mL dalam metanol p.a. ditambahkan sampai tanda batas metanol p.a pada labu ukur 5 mL kemudian didiamkan selama 30 menit ditempat gelap. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 450-550 nm (Molyneux, 2004; Nihlati *et al.*, 2008). b. Penentuan Operating Time Larutan DPPH 0,4 mM sebanyak 1 mL ditambahkan larutan standar kuersetin 6 ppm sampai tanda batas pada labu ukur 5 mL. Larutan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 516 nm dengan interval waktu 2 menit (Maulina, 2014).

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis pengaruh dan keterkaitan antar variabel menggunakan Anova dengan tingkat signifikan 5%. Data juga dilakukan analisa dengan uji F, apabila berpengaruh nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan atau Duncan Multiple Range Test (DMRT) pada taraf kepercayaan 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Kadar Tanin

Berdasarkan analisis ragam menunjukkan bahwa semakin lama waktu maserasi, kadar tannin berbeda nyata terhadap lama waktu maserasi. Hasil analisa kadar tannin ekstrak teh daun daruju dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisa kadar tanin ekstrak teh daun daruju

Perlakuan	Kadar Tanin (mg.TAE/g)
P1(lama maserasi 18 jam)	3,49 ± 0,14 ^a
P2 (lama maserasi 24 jam)	3,81 ± 0,06 ^b
P3 (lama maserasi 30 jam)	3,64 ± 0,08 ^{ab}
P4 (lama maserasi 36 jam)	3,59 ± 0,06 ^c

Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 5\%$), n=4.

Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan bahwa semakin lama waktu maserasi, maka ekstrak teh daun daruju semakin meningkat dan pada saat lama waktu maserasi selama 30 jam dan 36 jam, kadar tannin ekstrak teh daun daruju akan mengalami penurunan. Adanya pengaruh waktu ini dikarenakan lamanya waktu kontak antara pelarut dan bahan yang diekstraksi sampai batas tidak adanya senyawa yang terekstraksi (Ningsih, *et al.*, 2015). Sedangkan menurut Kristanti, *et al.* (2019) waktu ekstraksi yang terlalu lama atau terlalu singkat dapat mempengaruhi sifat kimia dan fisika dari bahan yang diekstraksi (Cikita *et al.*, 2016).

Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama maserasi, maka kadar tannin ekstrak teh daun daruju semakin meningkat pada lama maserasi selama 24 jam. Terlalu singkatnya waktu ekstraksi mengakibatkan pelarutan senyawa fenolik tidak optimum sehingga bahan belum terekstraksi secara sempurna dan sebaliknya, semakin lama waktu ekstraksi maka akan menaikkan jumlah analit yang terekstrak karena kontak antara pelarut dengan zat terlarut akan semakin lama sehingga proses pelarutan senyawa bioaktif akan terus berlangsung dan berhenti sampai pelarut jenuh. Hal ini sejalan dengan penelitian Ince *et al.*, 2013 yang menyatakan bahwa ketika waktu ekstraksi telah tercapai, penambahan waktu ekstraksi tidak lagi dapat meningkatkan kandungan senyawa bioaktif yang terekstrak (Ince *et al.*, 2013). Dapat disimpulkan bahwa waktu yang dapat menghasilkan senyawa bioaktif tertinggi adalah pada lama maserasi selama 24 jam.

2. Alkaloid

Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukkan bahwa lama maserasi berpengaruh nyata terhadap alkaloid teh daun daruju. Hasil analisa alkaloid ekstrak teh daun daruju dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil analisa alkaloid ekstrak teh daun daruju

Perlakuan	Alkaloid (g/100g)
P1(lama maserasi 18 jam)	0,56 ± 0,03 ^a
P2 (lama maserasi 24 jam)	0,75 ± 0,01 ^c
P3 (lama maserasi 30 jam)	0,72 ± 0,09 ^{bc}
P4 (lama maserasi 36 jam)	0,71 ± 0,04 ^b

Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 5\%$), n=4.

Tabel 2 menunjukkan bahwa lama maserasi 30 jam dan 36 jam mengalami penurunan alkaloid ekstrak teh daun daruju. Hal ini disebabkan karena pada lama maserasi 24 jam adalah lama maserasi yang paling efektif mengekstrak teh daun daruju. Setelah diuji lanjut DMRT ternyata antar perlakuan memberikan pengaruh yang nyata. Pada lama maserasi selama 24 jam merupakan lama maserasi yang paling efektif untuk menghasilkan senyawa bioaktif seperti alkaloid. Adanya pengaruh waktu ini dikarenakan lamanya waktu kontak antara pelarut dan bahan yang diekstraksi sampai batas tidak adanya senyawa yang terekstraksi (Ningsih, dkk., 2015). Menurut Saliny, dkk. (2019) prinsip dasar ekstraksi

yaitu like dissolves like yang berarti bahwa kelarutan senyawa pada pelarut didasari oleh kesamaan polaritas antara pelarut dan senyawa yang akan diekstrak.

3. Total Fenolik

Berdasarkan analisis ragam menunjukkan bahwa interaksi waktu ekstraksi dalam ekstraksi teh daun daruju berpengaruh nyata. Hasil analisa total fenol ekstrak teh daun daruju dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil analisa total fenolik ekstrak teh daun daruju

Perlakuan	Total Fenolik (mg.GAE/g)
P1(lama maserasi 18 jam)	2,10 ± 0,05 ^a
P2 (lama maserasi 24 jam)	2,38 ± 0,01 ^c
P3 (lama maserasi 30 jam)	2,28 ± 0,00 ^b
P4 (lama maserasi 36 jam)	2,19 ± 0,00 ^b

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 5\%$), $n=4$.

Dari Tabel 3 senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak teh daun daruju maksimal pada lama maserasi 24 jam, dan akan mengalami penurunan pada saat lama maserasi 30 jam dan 36 jam. Setelah dilakukan uji lanjut DMRT, ternyata ada perbedaan nyata.

4. Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan mengalami penurunan pada lama maserasi selama 30 jam dan 36 jam. Penurunan aktivitas antioksidan ini disebabkan kemampuan pelarut etanol dalam mengekstrak senyawa bioaktif yang terdapat di dalam teh daun daruju tidak maksimal atau sudah mengalami titik jenuh. Hasil analisis aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil analisis aktivitas antioksidan ekstrak teh daun daruju

Perlakuan	Aktivitas Antioksidan (% RSA DPPH)
P1(lama maserasi 18 jam)	92,16 ± 0,08 ^a
P2 (lama maserasi 24 jam)	92,46 ± 0,07 ^b
P3 (lama maserasi 30 jam)	92,36 ± 0,07 ^c
P4 (lama maserasi 36 jam)	91,24 ± 0,05 ^d

Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 5\%$), $n=4$.

Berdasarkan Tabel 4, menunjukkan bahwa perlakuan 3 dan perlakuan 4 tidak berbeda nyata namun antara perlakuan 1 dan perlakuan 2 berbeda nyata. Aktivitas antioksidan tertinggi adalah pada lama maserasi selama 24 jam dan akan mengalami penurunan saat lama maserasi selama 30 dan 36 jam, hal ini disebabkan karena pada lama maserasi 24 jam senyawa bioaktif dalam hal ini aktivitas antioksidan sudah terekstrak secara maksimal dan sudah mengalami kondisi jenuh dalam arti senyawa bioaktif sudah tidak mampu terkekstrak lagi.

SIMPULAN

Lama maserasi terhadap senyawa bioaktif ekstrak etanolik teh daun daruju berpengaruh terhadap kadar tannin, total fenol, alkaloid dan aktivitas antioksidan (RSA-DPPH) dan senyawa bioaktif dengan lama maserasi 24 jam menghasilkan total fenolik sebesar 2,28 mg GAE/g; 3,81 mg asam TAE/g; 2,45 mg QE/g total flavonoid aktivitas antioksidan sebesar 92,51% serta alkaloid sebesar 0,75 g/100 g.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A.R., Juwita., Ratulangi, S.A.D., dan Malik, A., 2015, Pharm Sci Res, Penetapan Kadar Fenolik dan Flavanoid Total Ekstrak Metanol Buah dan daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.SM), 2(1): 1-10.
- Avijit, D, Sarkar, R, Howlader, IS, Hamiduzzaman, & Al-Hossain. (2012). *Phytochemical Screening and The Evaluation of the Antioxidant, Cytotoxic and Antimicrobial Properties of Acanthus ilicifolius* (Family: *Acanthaceae*), 3(8):153 -
- Dewi, N. P. (2020). Uji Kuantitatif Metabolit Standar Ekstrak Etanol Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm. f) Dengan Metode kromatografi. *Acta Holistica Pharmacia*, 2(1):16–24.
- Cikita, I., I. H. Hasibuan dan R. Hasibuan. 2016. Pemanfaatan Flavonoid Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynous* (L) Merr) Sebagai Antioksidan pada Minyak Kelapa. *Jurnal Teknik Kimia USU*.Vol (3) Hal 1-7.
- Chanwitheesuk, A.; Teerawutgulrag A.; Rakariyatham N. 2004. Screening of Antioxidant Activity and Antioxidant Compounds of Some Edible Plants of Thailand. *Food Chemistry*. Vol (92): 491- 497.
- Chun, O.K., Kim, D.O., dan Lee, C, Y., 2003,*Journal of Agric Food Chem*. Superoxide Radical Scavenging Activity of The Major Polyphenols in Fresh Plums.
- Das, N., Md. E. Islam., N. Jahan., M. S. Islam., A. Khan, Md. R. Islam, & Mst. S. Parvin. 2014. Antioxidant Activities of Ethanol Extracts and Fractions of *Crescentia cujete* Leaves and Stembark and The Involvement of Phenolic Compounds. *BMC Complementary and Alternative Medicine*.Vol (3):14-45.
- Ince, A.E., S. Sahin dan G.S. Servet. 2013. *Extraction of phenolic compounds from melissa using microwave and ultrasound*. *Turk Journal Agritech*, Vol (37):69-75.
- Kristanti, Yessica; I Wayan Rai Widarta, I Dewa Gede Mayun Permana. 2019. Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Konsentrasi Etanol Menggunakan Metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rambut Jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, ISSN: 2527-8010 (ejournal), 8(1): 94-103.
- Maulina, R. 2014. Penentuan Nilai Sun Protection Factor (SPF) dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Batang Bangkal (*Nauclea subdita*) secara in vitro. Skripsi, Fakultas Matematika, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.
- Ningsih, R; Afif, S., and Fasya, A. G. 2015. *Extraction, Toxicity Assay and Identification of Active Compounds of Red Algae (Euclidean cottonii) from Sumenep Madur*. *ALCHEMY: Journal of Chemistry*, 4(2):101-106.
- Gillespie, R.J. dan Paul. 2001. *Chemical Bonding and Molecular Geometry*. Oxford University Press, London.
- Saliny Aiyer, K.G. Manju. 2019. Phytochemical screening in vitro antioxidant activity, cytotoxicity study using Brine shrimp and antimicrobial study of (Linn.) *Acanthus ilicifolius* leaves. *Journal. Department of Zoology, Mar Ivanios College, Trivandrum: India*, 4(5):654-658
- Winata, E. W dan Yunianta. 2015. Ekstraksi Antosianin Buah Murbei (*Morus alba* L.) Metode *Ultrasonic Batch* (Kajian Waktu dan Rasio Bahan : Pelarut). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(2): 773-783.