

DOI: 10.30644/rik.v8i2.329

Uji antioksidan dan bioaktivitas fraksi etil asetat batang jarak tintir (*Jatropha multifida* L.)

Akhirul Kahfi Syam*, Fahrauk Faramayuda, Julia Ratnawati, Desti Hermawati, Puspita Satriyani
Permatasari Surasa
Fakultas Farmasi Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Indonesia, 40531
*Email korespondensi: akhirulkahfisyam@gmail.com

Accepted: 01 Februari 2020; revision: 11 Mei 2020; published: 30 Juni 2020

Abstrak

Latar Belakang: *Jatropha multifida* L. atau jarak tintir merupakan tanaman yang digunakan secara empiris getahnya sebagai obat luka oleh masyarakat Indonesia sejak lama. Penelitian ini merupakan lanjutan dari penelitian sebelumnya mengenai batang jarak tintir yang telah diuji toksisitas dengan metode BSLT dan peredaman antioksidan dengan metode DPPH yang secara berturut memberikan nilai LC50 terendah 3,69 µg/mL dan IC50 56,85 µg/mL pada ekstrak etil asetat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai toksisitas BSLT dan aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat batang jarak tintir.

Metode: Penelitian meliputi tahap-tahap pengumpulan bahan uji batang jarak tintir, penyiapan simplisia, pembuatan ekstrak dengan 3 pelarut yang berbeda kepolarannya penapisan fitokimia dari simplisia, fraksinasi menggunakan metode Kromatografi Cair Vakum (KCV) dari ekstrak etil asetat menjadi 4 fraksi.

Hasil: Hasil pengujian antioksidan metode peredaman DPPH memberikan IC50 terhadap f1 (n-heksan 75%:etil asetat 25%), f2 (n-heksan 50%:etil asetat 50%), f3 (n-heksan 25%:etil asetat 75%), dan f4 (etil asetat 100%) secara berturut-turut adalah 3759,06± 28,76 µg/mL; 790,50± 4,08 µg/mL; 167,44± 0,58 µg/mL; dan 164,91± 0,57 µg/mL. Hasil pengujian BSLT terhadap fraksi etil asetat memberikan hasil LC50 sebesar f1 64,43 µg/mL; f2 37,54 µg/mL; f3 41,94 µg/mL; dan f4 25,70 µg/mL.

Kesimpulan: F4 merupakan fraksi dengan nilai IC50 dan LC50 yang paling rendah dari seluruh fraksi, yang menunjukkan f4 merupakan fraksi yang paling aktif sebagai antioksidan dan BSLT serta diduga golongan flavonoid yang diketahui dari profil kromatogram KLT dengan Rf 0,57 yang memberikan hasil positif terhadap penampak bercak FeCl₃ dan AlCl₃ merupakan senyawa aktif dari kedua aktifitas tersebut.

Kata kunci: antioksidan, *brine shrimp lethality test*, DPPH, *Jatropha multifida* L.

Abstract

Background: *Jatropha multifida* L. or jarak tintir was empirically used as wound treatment for the sap by Indonesian people for a long time ago. The toxicity and antioxidant capacity of the jarak tintir stem was done by brain shrimp lethality test (BSLT) with LC50 3.69 µg/mL and DPPH scavenging activity with IC50 56,85 µg/mL for ethyl acetate extract.

Method: Extraction was performed by continuous extraction with Soxhlet apparatus using various polarity solvents (n-hexane, ethyl acetate, and methanol) and ethyl acetate extract was fractioned by vacuum liquid chromatography (VLC) into 4 fraction with gradien eluen of n-hexane and ethyl acetate.

Results: Antioxidant assay gave IC50 for f1 (n-hexane 75%:ethyl acetate 25%), f2 (n-hexane 50%: ethyl acetate 50%), f3 (n-hexane 25%: ethyl acetate 75%), and f4 (ethyl acetate 100%) respectively as 3759.06± 28.76 µg/mL; 790.50± 4.08 µg/mL; 167.44± 0.58 µg/mL; and 164.91± 0.57 µg/mL. BSLT assays for each fractions gave LC50 as f1 64.43 µg/mL; f2 37.54 µg/mL; f3 41.94 µg/mL; and f4 25.70 µg/mL.

Conclusion: Fraction 4 was the best fraction with the lowest IC50 and LC50 with flavonoid was suspected as responsible compound for both assays after TLC analysis that gave spot with Rf 0.57 and gave positive result after sprayed with FeCl₃ dan AlCl₃ spray reagent.

Keywords: antioxidant, *brine shrimp lethality test*, DPPH, *Jatropha multifida* L

PENDAHULUAN

Perkembangan beberapa penyakit seperti penuaan, artritis, aterosklerosis, dan karsinogenik yang diderita oleh manusia pada saat ini memiliki kaitan dengan radikal bebas. Radikal bebas dihasilkan akibat adanya stres oksidatif dimana potensinya meningkat apabila adanya paparan dari zat kimia, gaya hidup yang tidak sehat, merokok, polusi udara, dalam kondisi stres dan lainnya. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas tersebut dan dapat mengurangi dampak akibat stres oksidatif yang ditimbulkan¹. Antioksidan alami dan obat tradisional merupakan sumber utama dari senyawa antioksidan tersebut. Diet dengan beragam jenis makanan yang sehat merupakan cara terbaik untuk memperoleh manfaat dari senyawa antioksidan².

Brine shrimp lethality test (BSLT) merupakan pengujian toksisitas pada larva udang *Artemia salina* L. dimana dapat mendeteksi adanya senyawa bioaktif yang bersifat toksik pada suatu tanaman. Metode ini sudah lama digunakan karena mudah, murah, cepat dan memiliki keterulangan yang baik serta dapat digunakan sebagai data pendahuluan untuk pengujian toksisitas yang lazim menggunakan tikus ataupun mencit³.

Tanaman jarak tintir (*Jatropha multifida* L) merupakan tanaman yang banyak ditemukan di Indonesia. Tanaman yang secara empiris banyak digunakan daunnya oleh masyarakat untuk mengurangi rasa nyeri⁴. Namun sudah banyak penelitian yang dilakukan berbagai penelitian aktivitas ataupun farmakologi terhadap bagian tanaman ini seperti antioksidan, antimikroba, antibakteri, imunomodulator, antimalaria dan antikanker⁵⁻⁸.

Pada penelitian mengenai batang jarak tintir ditemukan senyawa multifidone yang merupakan senyawa diterpenoid dan telah diuji aktivitasnya terhadap sel kanker secara *in vitro*. Hasilnya memberikan gambaran bahwa senyawa multifidone memiliki aktifitas sitotoksik dengan nilai IC₅₀ berkisar antara 45-160 μ M pada fraksi non-pola⁹. Telah ditemukan juga senyawa-senyawa diterpenoid dari bagian batang berupa 15-O-acetyl japodagrone, (4E)-jatrogrossidentadione, multidione, multifidanol dan multifidenol¹⁰.

Pada penelitian sebelumnya, bagian batang jarak tintir telah diuji toksisitas BSLT dan antioksidan metode peredaman radikal bebas DPPH yang memberikan nilai LC₅₀ terendah 3,69 μ g/mL¹¹ dan IC₅₀ 56,85 μ g/mL pada ekstrak etil asetat dibandingkan dengan ekstrak n-heksan dan metanol. Hasil penelitian tersebut memberikan gambaran bahwa terdapat senyawa antioksidan dan senyawa toksik pada ekstrak etil asetat yang memiliki sifat semi-polar berbeda dengan senyawa yang ditemukan pada tanaman ini yang bersifat sitotoksik.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memandu peneliti dalam menggali potensi antioksidan dan toksisitas batang tanaman jarak tintir dari hasil fraksinasi ekstrak etil asetat yang memiliki nilai IC₅₀ dan LC₅₀ terbaik yang diperoleh sebelumnya.

Pemeriksaan antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas DPPH dan pemeriksaan toksisitas BSLT digunakan untuk memandu peneliti dalam pencarian senyawa baru yang memiliki potensi sebagai calon senyawa antikanker yang baru¹²⁻¹⁴.

METODE PENELITIAN

Penyiapan simplisia. Tanaman dikumpulkan dari Perkebunan Manoko Bandung dan telah dilakukan determinasi oleh Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung terhadap identitas tanaman jarak tintir ini. Cabang batang tanaman ini dikumpulkan, dirajang, disortasi, dicuci dan dikeringkan. Simplisia batang yang telah diperoleh kemudian diserbukkan sebelum dilakukan pengujian selanjutnya.

Karakterisasi Simplisia. Simplisia dikarakterisasi dengan penentuan kadar air, kadar abu dan kadar sari¹⁵

Penapisan Fitokimia. Metabolit sekunder yang dimiliki oleh tanaman dilakukan pemeriksaan kualitatif dengan metode metode penapisan fitokimia¹⁶

Ekstraksi dan Fraksinasi. Simplisia diekstraksi menggunakan cara panas sinambung alat Soxhlet dengan pelarut sistem gradien (n-heksana, etil asetat, metanol). Ekstrak etil asetat kemudian dipisahkan dan dikentalkan sehingga menjadi ekstrak kental. Fraksinasi menggunakan metode Kromatografi Cair Vakum (KCV) dari ekstrak etil asetat menjadi 4 fraksi. Ekstrak etil asetat dan fraksi etil asetat dilanjutkan untuk dilakukan pengujian antioksidan dan BSLT.

Uji Bioaktivitas Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Proses dilakukan dengan penyiapan ekstrak dan fraksi uji dengan membuat minimal 6 konsentrasi dari setiap sampel ekstrak dan fraksi uji. Dimana masing-masing konsentrasi dilakukan triplo dan ditambah kontrol pada tiap konsentrasi. Pengujian dilakukan selama 24 Jam terhadap larva yang berumur 48 jam. Menurut Meyer 1982 apabila variasi konsentrasi yang dilakukan belum mencapai

50% kematian maka dilakukan pengujian kembali dengan variasi konsentrasi yang diperbesar. Jumlah larva udang yang mati dihitung dari setiap vial untuk seuruh konsentrasi. Kemudian menghitung mortalitas dengan cara membagi jumlah kematian larva udang dengan jumlah larva yang diuji (total) dikali 100%³.

Uji Antioksidan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Masing-masing 50 mg ekstrak dan fraksi batang jarak tintir ditimbang dan dilarutkan dalam 50 mL metanol pro analisis dalam labu ukur, kemudian dikocok hingga homogen (1000 ppm). Dibuat pengenceran dengan mengambil 5 mL dan dilarutkan dalam 100 mL metanol pro analisis (larutan standar 50 ppm). Dari larutan standar tersebut dibuat pengenceran sebanyak 6 variasi konsentrasi dari masing masing ekstrak dan fraksi. Kemudian mencampurkan 2 mL larutan DPPH dan 2 mL sampel baik ekstrak ataupun fraksi, lalu dikocok hingga homogen dan diinkubasi pada suhu ruang dan kondisi gelap selama 30 menit. Larutan tersebut diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum DPPH¹⁷.

HASIL

Karakterisasi Simplisia. Seluruh parameter pengujian telah memenuhi persyaratan simplisia yang baik berdasarkan persyaratan yang telah pada monografi acuan baik Materia Medika Indonesia ataupun Farmakope Herbal Indonesia (Tabel 1).

Penapisan Fitokimia. Hasil penapisan fitokimia dari simplisia, ekstrak dan fraksi menunjukkan reaksi positif terhadap flavonoid, polifenol, kuinon, monoterpen-seskuiterpen, dan steroid-triterpenoid (Tabel 2).

Tabel 1. Karakterisasi Simplisia Batang Jarak Tintir¹¹

| Parameter | Hasil |
|--------------------------------|--------------|
| Kadar air (%v/b) | 3,02 ± 0,05 |
| Kadar abu total (%b/b) | 5,17 ± 0,54 |
| Kadar abu larut air (%b/b) | 2,04 ± 0,15 |
| Kadar abu larut asam (%b/b) | 0,36 ± 0,07 |
| Kadar sari larut air (%b/b) | 11,46 ± 0,57 |
| Kadar sari larut etanol (%b/b) | 7,56 ± 0,33 |

Tabel 2. Hasil Penapisan Fitokimia

| Golongan | Simplisia | Eks EtoAc | F1 | F2 | F3 | F4 |
|----------------------|-----------|-----------|----|----|----|----|
| Alkaloid | - | - | - | - | - | - |
| Flavonoid | + | + | + | + | + | + |
| Polifenol | + | + | - | + | + | + |
| Kuinon | + | + | + | + | + | + |
| Saponin | + | - | - | - | - | - |
| Tanin | - | - | - | - | - | - |
| Mono-seskuitepen | + | + | + | + | + | + |
| Steroid-Triterpenoid | + | + | + | + | + | + |

Uji Bioaktivitas Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Hasil pengujian (Tabel 3) menunjukkan ekstrak etil asetat dan F4 memiliki nilai LC50 terendah dengan rentang nilai LC50 fraksi sebesar 25,70-64,43 µg/mL.

Tabel 3. Nilai LC50 Ekstrak dan Fraksi Etil Asetat

| Sampel | LC50 (µg/mL) |
|---|--------------|
| Ekstrak Etil Asetat | 7,90 |
| Fraksi 1(n-heksana 75%:etil asetat 25%) | 64,43 |
| Fraksi 2(n-heksana 50%:etil asetat 50%) | 37,54 |
| Fraksi 3(n-heksana 25%:etil asetat 75%) | 41,94 |
| Fraksi 4 (etil asetat 100%) | 25,70 |

Uji Antioksidan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH. Hasil pengujian antioksidan metode peredaman DPPH (Tabel 4) menunjukkan bahwa nilai IC50 pada fraksi 3 dan 4 lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak etil asetat dengan rentang IC50 fraksi sebesar 164,91-3759,06 µg/mL.

Tabel 4. Nilai IC50 Ekstrak dan Fraksi Etil Asetat

| Sampel | IC50 (µg/mL) |
|---|----------------|
| Kuersetin | 3,96±0,03 |
| Ekstrak Etil Asetat | 249,97±0,50 |
| Fraksi 1 (n-heksana 75%: etil asetat 25%) | 3759,06± 28,76 |
| Fraksi 2 (n-heksana 50%: etil asetat 50%) | 790,50± 4,08 |
| Fraksi 3 (n-heksana 25%: etil asetat 75%) | 167,44± 0,58 |
| Fraksi 4 (etil asetat 100%) | 164,91± 0,57 |

Profil Kromatogram. Hasil profil kromatogram dari ekstrak dan fraksi yang telah disemprot berbagai penampak bercak (Gambar 1) memberikan gambaran terkait senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas BSLT dan antioksidan. Fraksi 3-4 memiliki senyawa flavonoid dan polifenol dengan Rf 0,57, sedangkan F1-F2 memiliki gambaran senyawa terpenoid pada Rf 0,93.

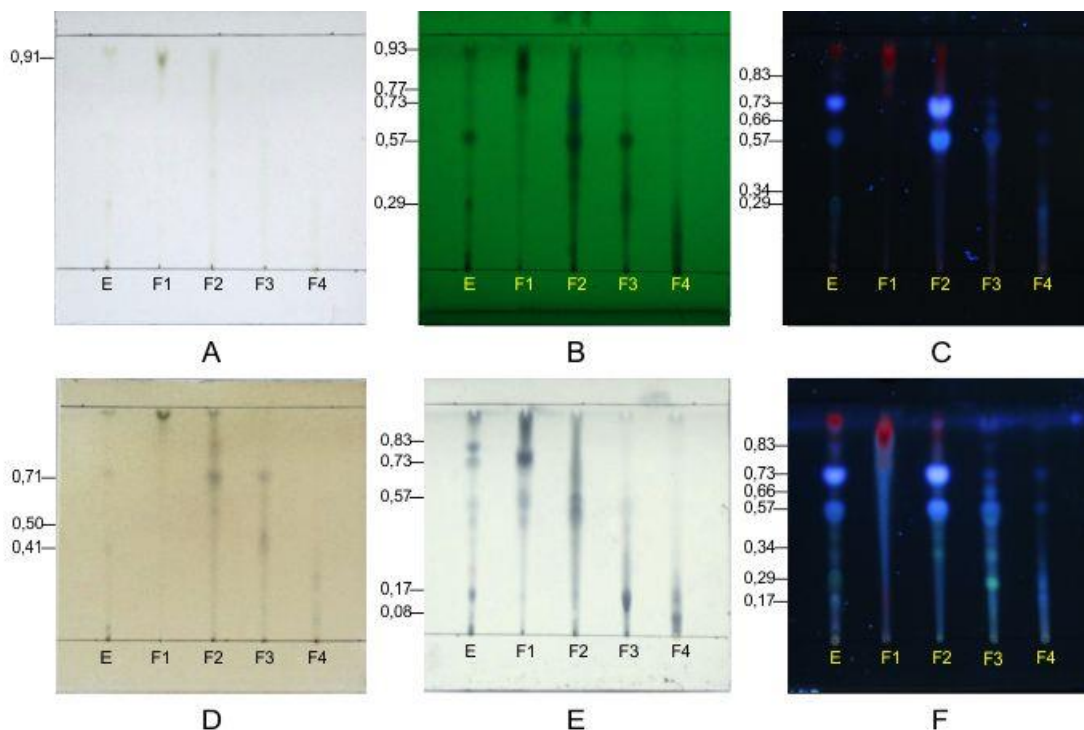
PEMBAHASAN

Penapisan Fitokimia. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan ekstrak dan fraksi etil asetat masih memiliki senyawa flavonoid dan polifenol walaupun diperoleh dari hasil ekstraksi menggunakan cara panas, ini menunjukkan senyawa flavonoid dan polifenol yang terkandung dalam ekstrak dan fraksi tersebut bersifat termostabil. Beberapa penelitian yang telah dilakukan terdapat korelasi atau hubungan senyawa flavonoid dan polifenol terhadap aktivitas antioksidan dan BSLT^{12,13}. Sehingga dengan adanya kedua senyawa ini secara kualitatif sampel fraksi yang digunakan memiliki potensi antioksidan dan BSLT.

Ekstraksi dan Fraksinasi. Metode panas digunakan karena mengingat simplisia berasal dari batang yang memiliki tekstur yang cukup keras sehingga untuk memaksimalkan penarikan metabolit

sekunder memerlukan energi yang cukup besar yang dapat diperoleh dari pemanasan. Sistem pelarut gradien dalam fraksinasi bertujuan untuk mendistribusikan metabolit sekunder yang dimiliki oleh ekstrak

etil asetat berdasarkan perbedaan koefisien distribusi dari campuran pelarut (n-heksan:etil asetat) yang digunakan saat fraksinasi.



Gambar 1. Profil kromatogram ekstrak dan fraksi etil asetat (F1-F4), fase diam silika gel GF254, fase gerak n-heksan:etil asetat (1:1)

Keterangan:

E = Ekstrak etil asetat

F1 = Fraksi n-heksan : etil asetat (75:25)

F2 = Fraksi n-heksan : etil asetat (50:50)

F3 = Fraksi n-heksan : etil asetat (25:75)

F4 = Fraksi n-heksan : etil asetat (0:100)

A = Visual

B = UV 254 nm

C = UV 366 nm

D = Visual+FeCl₃ 10%

E = Visual+Folin-Ciocalteu

F = UV 366 nm +AlCl₃

Uji Bioaktivitas Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Menurut Mayer nilai LC₅₀ dari seluruh fraksi termasuk kedalam kategori toksisitas sedang dengan konsentrasi 10-100 µg/ml³ kecuali ekstrak dan fraksi 4 yang memiliki sifat sitotoksik menurut Mclaughlin dengan konsentrasi <30 µg/ml¹⁸. Semakin rendah nilai LC₅₀ maka semakin toksik sifat sampel tersebut.

Mekanisme kematian larva udang akibat flavonoid diduga dikarenakan adanya interaksi antara gugus hidroksi (-OH) dengan protein integral pada membran sel sehingga tidak dapat menghentikan transport aktif dari ion Na⁺ dan K⁺. Hal ini dapat menyebabkan pecahnya membran sel yang mengakibatkan kematian larva *Artemia salina*¹⁹.

Penelitian BSLT terhadap jarak tintir sudah banyak dilakukan namun sebagian besar berasal dari ekstrak dan fraksi yang bersifat non polar^{10,20,21}. Penemuan senyawa baru yang bersifat sitotoksik dari tanaman ini juga merupakan senyawa diterpenoid²². Dimana senyawa-senyawa tersebut diduga mengganggu organ pencernaan larva sehingga menyebabkan kematian²³.

Ekstrak etil asetat memiliki nilai LC50 yang cukup rendah diduga dikarenakan adanya potensi sinergisme dari senyawa-senyawa yang dimiliki oleh batang jarak tintir serta terdapat dugaan adanya senyawa-senyawa terpenoid yang masih tertarik kedalam pelarut etil asetat. Hal ini terlihat dari hasil fraksi yang mengakibatkan peningkatan nilai LC50 4-10 kali lipat dari nilai LC50 ekstrak sehingga dapat dilihat potensi toksisitas dari fraksi lebih menurun dibandingkan dengan ekstrak. Fraksi 4 merupakan fraksi dengan sifat sitotoksik, dimana terdapat senyawa fenolik, kuinon dan terpenoid yang menyebabkan kematian dari larva.

Uji Antioksidan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH. Menurut Blois fraksi 3 dan 4 merupakan antioksidan lemah dengan rentang konsentrasi 100-150 µg/mL²⁴.

Hasil penelitian baik ekstrak ataupun fraksi etil asetat tidak memiliki potensi yang cukup kuat sebagai antioksidan. Lemahnya kemampuan antioksidan dari senyawa flavonoid yang dimiliki oleh ekstrak dan fraksi etil asetat dapat disebabkan jumlah gugus hidroksi (OH) yang cukup sedikit, tidak adanya 3-OH dan ada atau tidaknya gugus OH pada cincin B²⁵.

Pada penelitian sebelumnya pada ekstrak etil asetat diperoleh IC50 56,85 µg/mL, namun setelah dilakukan pengulangan

terdapat kenaikan nilai sebesar 5 kali lipat. Hal ini dapat dikarenakan sumber tanaman yang digunakan pada penelitian ini dipanen pada tahun dan musim yang berbeda. Musim akan dengan perbedaan keadaan lingkungan seperti, nilai pH (*Power of hydrogen*), intensitas matahari, jumlah dan kualitas dari nutrisi yang diserap oleh tumbuhan akan menyebabkan perbedaan jumlah dan kualitas metabolit sekunder yang dihasilkan akan berbeda pula²⁶⁻²⁸.

KESIMPULAN

Fraksi 3 dan fraksi 4 memiliki nilai IC 50 terendah dan termasuk kedalam antioksidan lemah berada pada rentang 150-200 µg/mL. Fraksi 4 merupakan senyawa dengan nilai LC50 terendah dengan 25,70 µg/mL dan bersifat sitotoksik <30 µg/mL. Fraksi 3-4 memiliki senyawa flavonoid dan polifenol dengan Rf 0,57. Untuk pengembangan penelitian selanjutnya dapat dilakukan penentuan kadar flavonoid dan polifenol dari fraksi etil asetat untuk dapat melengkapi data ilmiah dari fraksi etil asetat batang jarak tintir. Kemudian dapat dilakukan penelitian isolasi terhadap fraksi 3 dan 4 yang diduga merupakan senyawa antioksidan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian Dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Jenderal Achmad Yani atas pendanaan penelitian berdasarkan SKEP Rektor No. SKEP/174/UNJANI/VIII/2018.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bagchi D, Bagchi M, Stohs SJ, Das DK, Ray SD, Kuszynski CA, et al. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology*. 2000 Aug;148(2-3):187-97.
2. Jamshidi-Kia F, Wibowo JP, Elachouri

- M, Masumi R, Salehifard-Jouneghani A, Abolhassanzadeh Z, et al. Battle between plants as antioxidants with free radicals in human body. *J Herbmed Pharmacol*. 2020;9(3):191–9.
- Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Med*. 1982;45(5):31–4.
 - Hutapea J. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. 2000.
 - Rampadarath S, Puchooa D, Ranghoo-Sanmukhiya M. Antimicrobial, Phytochemical and Insecticidal Properties of *Jatropha* Species and wild *Ricinus communis* L. Found in Mauritius. *Int J Pharmacogn Phytochem Res*. 2014;6(4):831–40.
 - Sabandar CW. A Review of *Jatropha multifida* Linn . 2008;1–3.
 - Falodun A, Imieje V, Erharuyi O, Joy A, Langer P, Jacob M, et al. Isolation of antileishmanial, antimalarial and antimicrobial metabolites from *Jatropha multifida*. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2014;4(5):374–8.
 - Fitria A, Suparmi, Upziah DN, Lestari SLW. Studi Aktivitas dan Analisis Kandungan Senyawa Antioksidan Batang *Jatropha multifida* L. *J Ilm Farm*. 2016;12(2):52–9.
 - Das B, Ravikanth B, Ravinder K, Thirupathi P, Venugopal T, Sridhar B. Phytochemistry Diterpenoids from *Jatropha multifida* q. *Phytochemistry* [Internet]. 2008;69(14):2639–41.
 - Das B, Ravikanth B, Laxminarayana K, Ramarao B, Raju TV. New Macrocyclic Diterpenoids from *Jatropha multifida*. *Chem Pharm Bull*. 2009;57(3):318–20.
 - Syam AK, Insanu M, Wirasutisna KR. Isolation Of 8-Hidroxy-6 , 7-Dimethoxy Coumarin From Jarak Tintir Stem (*Jatropha Multifida* L .) And Its Toxicity Value Using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Tradit Med J*. 2017;22(1):21–4.
 - Tanjung M, Tjahjandarie TS, Sentosa MH. Antioxidant and cytotoxic agent from the rhizomes of *Kaempferia pandurata*. *Asian Pacific J Trop Dis*. 2013;3(5):401–4.
 - Nurcholis W, Priosoeryanto BP, Purwakusumah ED. Antioxidant , Cytotoxic Activities and Total Phenolic Content of Four Indonesian Medicinal Plants. 2012;2(4).
 - Emrizal, Fernando A, Yuliandari R, Rullah K, Indrayani NR, Susanty A, et al. Cytotoxic Activities of Fractions and Two Isolated Compounds from Sirih Merah (Indonesian red betel),. *Procedia Chem* [Internet]. 2014;13:79–84.
 - Depkes. *Paramater Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 2000.
 - Farnsworth N. Biological and Phytochemical Screening of Plants. *J Pharm Sci*. 1966;55(3):243–68.
 - Molyneux P. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J Sci Technol*. 2004;26:211–219.
 - McLaughlin, L J. Crown Gall Tumours on Potato Discs and Brine Shrimp Lethality: Two Simples Bioassays for Higher Plant Screening and Fractination. *Methods Plant Biochem*. 1991;6:8–10.
 - Scheuer JS. *Produk Alami Lautan Cetakan Pertama*. Semarang: IKIP Semarang Press; 1994.
 - Shashi B, Satya A, Balaji D, Hari K, Venugopal T, Ganesh C, et al. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters New bioactive macrocyclic diterpenoids from *Jatropha multifida* q. *Bioorg Med Chem Lett* [Internet]. 2011;21(22):6808–10.
 - Das B, Ravinder K, Ravikanth B, Venugopal T, Sridhar B, Usman P, et al. Multifidone: A novel cytotoxic lathyrane-type diterpene having an unusual six-membered A ring from *Jatropha multifida*. *Bioorg Med Chem Lett* [Internet]. 2009;19(1):77–9.
 - Das B, Laxminarayana K, Krishnaiah M,

- Srinivas Y. Multidione , a novel diterpenoid from *Jatropha multifida*. *Tetrahedron Lett* [Internet]. 2009;50(34):4885–7.
23. Ngoc TH, Ngoc QN, Tran A, Van T, Phung N. Hypolipidemic Effect of Extracts from *Abelmoschus esculentus* L. (Malvaceae) on Tyloxapol-Induced Hyperlipidemia in Mice. *J Pharm Sci*. 2008;35(1–4):42–6.
24. Blois MS. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*. 1958;181:1199–200.
25. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J Nutr Biochem*. 2002;13(10):572–84.
26. Yang B, Zheng J, Laaksonen O, Tahvonon R, Kallio H. Effects of latitude and weather conditions on phenolic compounds in currant (*Ribes* spp.) cultivars. *J Agric Food Chem*. 2013;61(14):3517–32.
27. Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG, Scheffer JJC. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour Fragr J* [Internet]. 2008;23:213–26.
28. Januar H, Wikanta T. Kadar Caulerpin dalam *Caulerpa racemosa*. *Jurnal Penelit Perikan Indonesia*. 2004;10(3):1–6.