

PENETAPAN KADAR FLAVONOID EKSTRAK KULIT BUAH NYIRIH (*Xylocarpus granatum*) BERDASARKAN VARIASI PELARUT DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Elgi Nurul Hidayah, Achmad Kadri Ansyori, Henny Nurhasnawati
Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda
Email*: achmad.kadri.ansyori@gmail.com
elginurul08@gmail.com

ABSTRAK

Tumbuhan nyirih (*Xylocarpus granatum*) memiliki manfaat sebagai tumbuhan obat. Pemilihan pelarut harus memperhatikan sifat dari metabolit sekunder yang akan diekstrak. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar flavonoid pada ekstrak buah nyirih menggunakan pelarut metanol dan etanol 70% dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Hasil uji kadar air diperoleh hasil pada ekstrak metanol sebesar 24% dan ekstrak etanol 70% sebesar 28,5%. Hasil skrining fitokimia ekstrak buah nyirih (*Xylocarpus granatum*) pada pelarut metanol dan etanol 70% positif mengandung flavonoid. Hasil uji Kromatografi lapis tipis diperoleh hasil nilai Rf kedua pelarut 0,88 sedangkan nilai Rf pembanding kuersetin yang diperoleh yaitu 0,90. Kadar flavonoid tertinggi diperoleh pada ekstrak etanol 70% yaitu sebesar $1,4345 \pm 0,2182\%$ dan ekstrak metanol yaitu sebesar $1,3530 \pm 0,2280\%$. Hasil uji t-Tes menunjukkan terdapat perbedaan signifikan pada nilai kadar flavonoid.

Kata Kunci: *Xylocarpus granatum*, Mangrove, Flavonoid, Pelarut, Spektrofotometri UV-Vis.

ABSTRACT

*The plant Nyirih (*Xylocarpus granatum*) has medicinal benefits. The selection of solvents should consider the characteristics of the secondary metabolites to be extracted. The objective of this study is to determine the flavonoid content in Nyirih fruit extract using 70% methanol and 70% ethanol solvents using UV-Vis spectrophotometry. The results of the moisture content test showed 24% for methanol extract and 28.5% for 70% ethanol extract. Phytochemical screening of Nyirih fruit extract in methanol and 70% ethanol solvents tested positive for flavonoid content. Thin layer chromatography (TLC) results showed an rf value of 0.88 for both solvents, while the reference compound, quercetin, had an rf value of 0.90. The highest flavonoid content was found in the 70% ethanol extract at $1.4345 \pm 0.2182\%$ and in the methanol extract at $1.3530 \pm 0.2280\%$. The t-test results indicated a significant difference in the flavonoid content value.*

Keywords: *Xylocarpus granatum*, Mangrove, Flavonoids, Solvents, UV-Vis Spectrophotometry

PENDAHULUAN

Tumbuhan mangrove merupakan salah satu tumbuhan yang dapat hidup pada lingkungan yang ekstrim, dimana sifat fisik dan kimia habitatnya selalu berubah sebagai akibat pengaruh pasang surut air laut, air tawar, atau sungai, pengendapan lumpur, penguraian bahan organik, dan lain-lain¹. Tanaman ini memiliki potensi yang sangat baik untuk penelitian mengenai senyawa metabolit sekunder yang dikandungnya. Mangrove jenis *Xylocarpus granatum* memiliki biji, buah, daun, dan kulit pohon yang bermanfaat sebagai obat berbagai jenis penyakit karena mengandung senyawa metabolit sekunder salah satunya flavonoid².

Tanaman nyirih (*Xylocarpus granatum*) telah digunakan sebagai obat bahan alam yaitu obat diare kolera, dan pembersih luka. Proses mendapatkan senyawa-senyawa yang mempunyai aktivitas farmakologi maka pemilihan pelarut merupakan faktor penting untuk digunakan dalam mengekstraksi³. Secara umum ekstraksi dapat dilakukan dengan pelarut non-polar, pelarut semi polar,

hingga pelarut polar. Pemilihan pelarut harus memperhatikan sifat dari metabolit yang akan diekstrak. Sifat yang penting adalah sifat kepolaran dan gugus polar pada senyawa yang akan diekstrak. Sifat metabolit dapat diketahui dari bahan yang akan diekstraksi, maka dapat dipilih pelarut yang sesuai berdasarkan kepolarannya⁴. Berdasarkan penelitian sebelumnya didapatkan hasil rendemen ekstrak metanol nyirih pada biji sebesar 16,8%, pada kulit buah 11,2% dan batang yaitu 3,6%. Jenis pelarut yang digunakan mempengaruhi jumlah rendemen yang dihasilkan. Hasil pengujian fitokimia dari ekstrak metanol buah nyirih (*Xylocarpus granatum*) yang diperoleh mengandung flavonoid, saponin, tanin dan fenol³.

Peningkatan mutu sediaan obat dari bahan alam didukung oleh penggunaan yang harus bermutu secara fisik dan kandungan kimianya. Untuk mendapatkan kandungan zat aktif yang tinggi maka perlu dilakukan optimasi pembuatan ekstrak, salah satunya optimasi jenis pelarut⁵. Diketahui bahwa pada tumbuhan

memiliki kadar flavonoid tertinggi terdapat pada bagian buah. Adapun manfaat dari flavonoid yaitu anti virus, anti inflamasi ⁶.

Berdasarkan penelitian sebelumnya mengenai batang nyirih menggunakan pelarut metanol pada penelitian cahyani, 2016 ⁷ telah menunjukkan adanya kandungan senyawa flavonoid pada batang nyirih pada semua varian pelarutnya. Menurut Farmakope Herbal, 2012 ⁸ pembuatan ekstrak menggunakan pelarut yang sesuai, kecuali dinyatakan lain dalam monografi digunakan etanol 70%. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan penetapan kadar flavonoid pada ekstrak kulit buah nyirih (*Xylocarpus granatum*) berdasarkan variasi pelarut dengan metode spektrofotometri uv-vis.

Tujuan penelitian ini mengetahui kadar flavonoid pada ekstrak buah nyirih menggunakan pelarut metanol dan etanol 70% dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Manfaat penelitian ini Sebagai dasar untuk penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan pelarut ekstrak buah nyirih (*Xylocarpus granatum*), Memperkaya

ilmu pengetahuan dalam bidang farmakognosi farmasi mengenai kadar flavonoid dalam berbagai pelarut ekstrak buah nyirih (*Xylocarpus granatum*), Menambah informasi baru mengenai kadar total flavonoid setiap pelarut yang digunakan.

METODE PENELITIAN

Bahan

Buah nyirih diperoleh dari Desa Tepian Kecamatan Sembakung Kabupaten Nunukan Proinsi Kalimantan Utara, Indonesia.

Metanol, Etanol 70%, Kuersetin, Aluminium Klorida (AlCl₃) 10%, Kalium Asetat (KCH₃COO) 1 M, Butanol, Asam Asetat (CH₃COOH), Ammonia, Aquadest.

Alat

Blender, Ayakan Mesh 60, Erlenmeyer, Corong, Kertas Saring, Tabung Reaksi, *Beaker Glass*, Toples Kaca, Aluminium Foil, Spatel, Timbangan Digital, Oven, Spektrofotometri UV-Vis, Lemari Asam, Tabung Reaksi, Labu Ukur, Batang Pengaduk, Vakum Filtrasi, Kaca Arloji, Chamber.

Ekstraksi

Serbuk simplisia buah nyirih ditimbang masing-masing sebanyak 50 gram dan dimasukkan ke dalam 2 buah wadah kaca/toples. Masing-masing ditambah dengan pelarut metanol dan etanol 70% sebanyak 500 mL. Dilakukan maserasi selama 72 jam dengan sesekali pengadukan. Selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring untuk memisahkan ekstrak cair dari ampasnya. Diulang proses yang sama (remaserasi) menggunakan 500 mL pelarut baru. Ekstrak cair (filtrat) yang diperoleh lalu dikumpulkan dan dilakukan penguapan pada suhu 60°C sampai ekstrak agak mengental ditandai dengan ekstrak tidak dapat dituang. Rendemen dihitung sesuai rumus dibawah ini:

Rendemen =

$$\frac{\text{Berat ekstrak kental (g)}}{\text{Berat simplisia awal (g)}} \times 100\%$$

Uji Kromatografi Lapis Tipis

Pada lempeng kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase diam silika gel ditotolkan bersama-sama

ekstrak metanol dan etanol 70% dengan pembanding kuersetin yang telah dilarutkan dengan etanol 70%. Pada jarak 1,5 cm pada masing-masing titik dengan menggunakan pipet mikro pada jarak 1,5 cm dari garis bawah dan 0,5 cm dari garis atas, dengan fase gerak asam asetat : butanol : air (1:6:3) dilakukan proses penjenuhan sebelum fase diam dimasukan chamber. Bercak kromatogram (noda) yang dihasilkan diamati dengan penampak noda sinar ultraviolet 254 nm dan 366 nm, sebelum dan setelah diupkan ammonia. Bercak dengan flouresensi warna kuning menunjukkan adanya flavonoid, noda yang terbentuk yaitu sebanyak 2 noda, noda-noda tersebut lalu dihitung nilai Rfnya dengan rumus.

$$R_f = \frac{\text{jarak (cm)titik pusat bercak}}{\text{jarak (cm)rambat fase gerak}}$$

Pembuatan Larutan Induk dan Blanko

Sebanyak 10 mg kuersetin ditimbang dan dilarutkan dalam 10 mL setelah itu dimasukan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan etanol 70% sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan dengan 1000 ppm, kemudian larutan

1000 ppm di ambil 1 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan etanol 70% sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 100 ppm. Larutan induk dibuat larutan standar dengan deret konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm. Masing-masing larutan diencerkan dengan etanol 70% dalam labu ukur 10 mL sampai tanda batas lalu dihomogenkan. Selanjutnya masing-masing konsentrasi larutan standar dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 mL dan direaksikan dengan 1,5 mL etanol 70%. Kemudian larutan direaksikan menggunakan 0,2 mL aluminum klorida 10% dan selanjutnya larutan standar direaksikan dengan 0,2 mL kalium asetat 1 M, ditambahkan dengan 2,1 mL aquadest dikocok sampai homogen lalu diinkubasi selama 30 menit. Salah satu konsentrasi larutan standar diambil dan diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Salah satu dari konsentrasi larutan standar yang dibuat kemudian diukur

absorbansinya pada panjang gelombang antara 350 nm - 550 nm untuk menentukan nilai serapan maksimum. Nilai serapan tertinggi yang telah didapatkan merupakan panjang gelombang optimum yang akan digunakan untuk menentukan nilai absorbansi masing masing larutan standar⁹. Larutan blanko di buat sebanyak 2,5 mL etanol 70%, direaksikan dengan menggunakan 0,2 mL aluminum klorida 10% dan selanjutnya larutan standar direaksikan dengan 0,2 mL kalium asetat 1 M, kemudian ditambahkan dengan 2,1 mL aquadest dikocok sampai homogen lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar.

Uji Kadar Flavonoid Total

Sebanyak 10 mg ekstrak buah nyirih ditimbang dan dilarutkan dalam 100 mL etanol 70% dilakukan perlakuan yang sama kepada pelarut metanol. Masing-masing diambil sebanyak 1 mL dimasukan ke tabung reaksi dan direaksikan dengan 1,5 mL etanol 70%. Kemudian larutan kembali direaksikan menggunakan 0,2 mL aluminum klorida 10% dan selanjutnya larutan

standar direaksikan dengan 0,2 mL kalium asetat 1 M, kemudian ditambahkan dengan 2,1 mL aquadest dikocok sampai homogen lalu diinkubasi selama 30 menit lalu diukur nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran dilakukan sebanyak 5 kali replikasi disetiap variasi pelarut¹⁰. Flavonoid total ekstrak buah nyirih dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi kuarsetin yang telah diukur sebelumnya dan untuk menghitung kadar flavonoid total, kandungan flavonoid total diperoleh dengan cara memasukkan data absorbansi sampel ke dalam persamaan kurva baku kuarsetin, absorbansi digunakan sebagai nilai y dan x sebagai konsentrasi kuarsetin dalam ppm, digunakan rumus:

% Kadar flavonoid :

$$\frac{C \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) \times V \times Fp \times 10^{-3} \times \left(\frac{\text{L}}{\text{ml}}\right)}{W} \times 100\%$$

keterangan =

C = Konsentrasi kuarsetin (mg/L)

V = Volume total ekstrak (mL)

W = Berat sampel (g)

Fp= faktor Pengenceran

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses pembuatan ekstrak dengan metode maserasi yaitu serbuk simplisia direndam dengan masing-masing pelarut, setelah itu didiamkan selama 72 jam. Ekstrak metanol memiliki hasil rendemen lebih tinggi yaitu 16,98%, sedangkan pada ekstrak etanol 70% yaitu 15,52%. Rendemen yang ideal adalah 100%, jika rendemen suatu senyawa di atas 90% maka disebut *excellent*, untuk nilai rendemen di atas 80% disebut *very good*, selanjutnya jika didapat nilai rendemen sebanyak 70% maka dapat disebut *good*, di atas 50% disebut *fair* dan di bawah 40% disebut *poor*¹¹.

Tabel 1. Berat Ekstrak Kental dan Rendemen

Pelarut	Ekstrak	Rendemen (%)
	kental (g)	
Metanol	8,49	16,98
Etanol	7,76	15,22

Berdasarkan Labagu *et al.*, 2022¹² pengaruh hasil rendemen disebabkan karena metanol adalah pelarut yang dapat menarik senyawa-senyawa yang baik yaitu bersifat polar maupun nonpolar. Hasil penelitian Cahyadi *et al.*, 2018¹³ menunjukkan

rendemen yang lebih rendah pada ekstrak etanol buah mangrove (*Sonneratia alba*) dari kota Tarakan, Kalimantan Utara yang hanya sebesar 6,59%. Penetapan kadar air menggunakan oven dengan suhu 105°C selama 1 jam perlakuan diulang hingga didapat hasil yang konsisten. Penetapan kadar air menunjukkan nilai yang bervariasi, yaitu pada metanol sebanyak 24% dan etanol 70% sebanyak 28,5%. Hasil kadar air ekstrak buah nyirih pada pelarut metanol dan etanol 70% memiliki hasil persentase kadar air berbeda. Salah satu faktor yang mempengaruhi hasil rendemen adalah lama ekstraksi dan adanya sirkulasi pelarut. Suatu ekstrak dinyatakan sebagai ekstrak cair apabila kadar air lebih dari 30%, ekstrak kental kadar airnya 5 - 30%, ekstrak kering kadar airnya kurang dari 5%, sehingga semua ekstrak yang diperoleh merupakan ekstrak kental¹⁴. Kadar air yang diperoleh dalam ekstrak buah nyirih metanol yaitu 21,5 % dan ekstrak buah nyirih etanol 70% yaitu 24,5% yang berarti kadar air dalam ekstrak ini telah memenuhi

standar kadar air ekstrak kental yaitu 5-30%.

Skrining fitokimia dilakukan pada ekstrak metanol dan etanol 70%. Analisis menggunakan metode kualitatif yaitu dengan mengamati perubahan warna yang terjadi sebelum dan sesudah reaksi. Skrining fitokimia yang dilakukan meliputi senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid dan terpenoid. Hasil skrining fitokimia ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan etanol 70% buah nyirih memiliki kandungan flavonoid dan layak untuk dilanjutkan dalam pengujian kadar total flavonoid.

Tabel 2. Skrining Fitokimia

Metabolit sekunder	Metanol	Etanol 70%
Alkaloid	-	-
Flavonoid	+	+
Saponin	-	-
Steroid & terpenoid	-	-

Kromatografi Lapis Tapis

Uji Kromatografi Lapis Tipis flavonoid dilakukan dengan fase gerak asam asetat : butanol : air (1:6:3) dan penampak noda uap ammonia. Eluen

ini menghasilkan masing-masing 1 spot noda berwarna kuning kecoklatan setelah diuapkan dengan ammonia yang diduga adalah senyawa golongan flavonoid¹⁵. Pada pengamatan bercak dilepang KLT didapatkan nilai Rf pada masing-masing sampel seperti pada tabel 4. Ekstrak metanol memiliki nilai Rf 0,88 dan ekstrak etanol 70% memiliki nilai Rf 0,88 sedangkan untuk pembandingnya yaitu kuersetin memiliki nilai Rf 0,9. Nilai Rf yang di dapat hasil penelitian Kusnadi *et al.*, 2017¹⁵ hasil KLT menggunakan eluen yang sama dengan penelitian ini yaitu asam asetat : butanol : air, didapatkan nilai Rf 0,86 - 0,88 dengan Rf standar kuersetin 0,88 semua repikasi mendekati nilai Rf standar kuersetin membuktikan bahwa mengandung senyawa flavonoid. Hasil penelitian ini kedua sampel memiliki nilai Rf hampir mirip atau mendekati dengan Rf standar kuersetin. Selisih kedua sampel ekstrak buah nyirih dengan Rf pembanding yang <0,02 menyatakan bahwa sampel positif mengandung senyawa flavonoid.

Kadar Flavonoid Total

Penentuan panjang gelombang maksimum diperoleh nilai sebesar 440 nm. Hasil analisis didapatkan kurva baku dengan persamaan regresi linear $y = 0,01353x - 0,00158$ dan nilai koefisien korelasi $r = 0,99336$ menunjukkan adanya korelasi antara konsentrasi kuersetin dan absorbansinya. Penentuan nilai kadar flavonoid menggunakan pereaksi $AlCl_3$ 10% dan kalium asetat 1 M agar terbentuk reaksi yang kompleks antara gugus hidroksil dan keton yang gugus hidroksilnya bertetangga. Flavonoid pada ekstrak buah nyirih pada pelarut metanol $1,3530 \pm 0,2280\%$ dan etanol 70% $1,4345 \pm 0,2182\%$ menunjukkan bahwa ada perbedaan dari kedua pelarut.

Tabel 3. Nilai Kadar Total Flavonoid

Pelarut	Kadar Flavonoid (%)
Metanol	$1,3530 \pm 0,2280$
Etanol 70%	$1,4345 \pm 0,2182$

Dilihat dari sisi konstanta dielektriknya bahwa konstanta dielektrik berbanding lurus dengan polaritas pelarut. Pada metanol

memiliki konstanta dielektrik sebesar 33,62 sedangkan pelarut etanol 70% sebesar 45^{16} atau sebesar $41,76^{17}$, flavonoid tertinggi ada pada pelarut yang lebih polar yaitu etanol 70% lebih polar dari metanol.

Hasil uji normalitas menggunakan uji liliefors menunjukkan data terdistribusi normal dan uji selanjutnya menggunakan *F-Test Two-Sample for Variances* menggunakan uji independent yaitu *t-Test* dengan Microsoft Excel, didapatkan nilai p-value 0,017 kurang dari nilai signifikan yaitu sebesar 0,05 ($0,017 < 0,05$) menunjukkan bahwa adanya perbedaan nilai kadar flavonoid. Pada buah nyirih menggunakan pelarut metanol dan etanol 70%.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil bahwa perbedaan pelarut dapat berpengaruh terhadap kadar total flavonoid. Hasil yang didapat pada penelitian ini kadar flavonoid pada ekstrak buah nyirih menggunakan metanol adalah $1,3530 \pm 0,2280$ % sedangkan pada etanol

70% yaitu $1,4345 \pm 0,2182$ %.

Analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan antara ekstrak dengan pelarut metanol dan etanol 70% dalam penetapan kadar total flavonoid

DAFTAR PUSTAKA

1. Karim, Z., Sulistijowati, R. & Yusuf, N. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Flavonoid Buah Mangrove *Sonneratia Alba* Terhadap Bakteri *Vibrio Alginolyticus*. *J. Ilm. Perikan. Dan Kelaut.* **6**, 55–60 (2018).
2. Gabariel, E., Yoswaty, D. & Nursyirwani. Inhibition Of *Xylocarpus Granatum* Extracts Against The Growth Of Pathogenic Bacteria (*Pseudomonas Aeruginosa*, *Escherichia Coli* And *Vibrio Alginolyticus*). *J. Perikan. Dan Kelaut.* **24**, 114–118 (2019).
3. Hendrawan, Zuraida, I. & Pamungkas, B. F. Preliminary Studies Of Antibacterial Activity Methanol Extracts Of *Xylocarpus Granatum* From The Coastal Of Muara Badak. *J. Ilmu Perikan. Trop.* **20**, 15–22 (2015).
4. Verdiana, M., Widarta, I. W. R. & Permana, I. D. G. M. Pengaruh Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus Limon* (Linn.) Burm F.). *J. Ilmu Dan Teknol. Pangan* **7**, 213 (2018).
5. Sa'adah, H. & Nurhasnawati, H. Perbandingan Pelarut Etanol

- Dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (Eleutherine Americana Merr) Menggunakan Metode Maserasi. *J. Ilm. Manuntung* **1**, 149 (2017).
6. Wang, Q. *Et Al.* Anti-Inflammatory Effects, Nuclear Magnetic Resonance Identification, And High-Performance Liquid Chromatography Isolation Of The Total Flavonoids From Artemisia Frigida. *J. Food Drug Anal.* **24**, 385–391 (2016).
 7. Cahyani, A. P. Pengaruh Perbedaan Pelarut Dan Dosis Ekstrak Kasar Kulit Batang Mangrove Xylocarpus Granatum Terhadap Viabilitas Sel Hela. (Universitas Brawijaya, 2016).
 8. Kemenkes Ri. *Formularies. Pocket Handbook Of Nonhuman Primate Clinical Medicine* (2012). Doi:10.1201/B12934-13.
 9. Haeria, Hermawati & Dg.Pine, A. T. Penentuan Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bidara (Ziziphus Spina-Christi L.) Haeria,. *J. Pharm. Med. Sci.* **1**, 57–61 (2016).
 10. Wildan, A., Mutiara, E. V. & Ramonah, D. Pengaruh Kadar Ekstrak Bumbu Briyani Terhadap Aktivitas Penurunan Kolesterol Secara Invitro Beserta Kadar Fenolik Dan Flavonoidnya. *Cendekia Eksakta* **6**, 19–23 (2021).
 11. Vogel Brian S. Furniss, Anton J. Hannaford, Peter W.G. Smith, A. R. T. *Vogel's Textbook Of Pratical Organic Chemistry.* (Longman Scientific And Technical, 1996).
 12. Labagu, R. *Et Al.* Kadar Saponin Ekstrak Buah Mangrove (Sonneratia Alba) Dan Daya Hambatnya Terhadap Radikal Bebas Dpph Levels Of Saponin In Mangrove Fruit (Sonneratia Alba) Extract And Its Inhibition Against Dpph Free Radical. *Jambura Fish Process. J.* **4**, 1–11 (2022).
 13. Cahyadi, J., Satriani, G. ., Gusman, E., Weliyadi, E. & Sabri. Skrining Fitokimia Ekstrak Buah Mangrove (Sonneratia Alba) Sebagai Bioenrichment Pakan Alami Artemia Salina Phytochemical. *J. Borneo Saintek* **1**, 33–39 (2018).
 14. Voight. R. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi.* (Gadjah Mada University Press, 1995).
 15. Kusnadi, K. & Devi, E. T. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Ekstrak Daun Seledri (Apium Graveolens L.) Dengan Metode Refluks. *Psej (Pancasakti Sci. Educ. Journal)* **2**, 56–67 (2017).
 16. Winata, H. Aktivitas Antioksidan Dan Kandungan Daun Wungu (Graptophyllum Pictum L. Griff). (Institut Pertanian Bogor, 2011).
 17. Jeffries Wyman, J. The Dielectric Constant Of Mixtures Of Ethyl Alcohol And Water From -5 To 40'. *Contrib. From Zool. Lab.* **53**, (1931).