



Isolasi Senyawa Flavonoid dari Fraksi Amil Alkohol Daun Mangga Golek (*Mangifera indica* L. cv. Golek)

Maulina Dwi Haryani^a, Enny Fachriyah^{a,*}, Dewi Kusriani^a

^a Organic Chemistry Laboratory, Department of Chemistry, Faculty of Science and Mathematics, Diponegoro University, Tembalang, Semarang 50275, Indonesia

* Corresponding author: enny.fachriyah@live.undip.ac.id

<https://doi.org/10.14710/jksa.22.3.67-72>

Article Info

Article history:

Received: 12 January 2019

Revised: 15 April 2019

Accepted: 24 April 2019

Online: 31 May 2019

Keywords:

mangga golek; flavonoids; isoflavones; FTIR; UV-Vis spectrophotometer

Kata Kunci:

mangga golek; flavonoid; isoflavon; FTIR; spektrofotometer UV-Vis

Abstract

Title: Isolation of Flavonoid Compounds from Amyl Alcohol Fraction of Golek Mango Leaf (*Mangifera indica* L. cv. Golek)

Mango plant (*Mangifera indica* L.) is a tropical fruit plant with high nutrition in the Anacardiaceae family. One of the several varieties of mango plants spread throughout Indonesia, namely mango golek. This study aims to obtain flavonoid isolates and find out the types of flavonoids in the leaves of mango golek. In this study, maceration was carried out to obtain ethanol extract, then followed by phytochemical tests, removal of chlorophyll using distilled water (1: 1), hydrolysis using 2N HCl, followed by liquid-liquid extraction using ethyl acetate and amyl alcohol. In the amyl alcohol fraction, flavonoid was separated using gravity column chromatography with a mixture of eluent n-butanol:n-hexane:methanol (4:2:1). Phytochemical tests showed positive results for alkaloids, saponins, tannins, quinones and flavonoids. UV-Vis spectrophotometer analysis provides absorption at a wavelength of 263 nm while FTIR analysis showed the presence of O-H, C=O, C-O-C aliphatic, and C-O alcohol groups. LC-MS/MS instrument analysis showed m/z of 300 which is the molecular mass of isoflavone compound.

Abstrak

Tumbuhan mangga (*Mangifera indica* L.) merupakan tanaman buah tropis dengan nutrisi tinggi dalam keluarga Anacardiaceae. Salah satu dari beberapa varietas tumbuhan mangga yang tersebar di Indonesia yaitu mangga golek. Penelitian ini bertujuan memperoleh isolat flavonoid dan mengetahui jenis flavonoid yang ada di dalam daun mangga golek. Pada penelitian ini dilakukan maserasi untuk memperoleh ekstrak etanol yang selanjutnya dilakukan uji fitokimia, penghilangan klorofil dengan aquades (1:1), hidrolisis menggunakan HCl 2N, dilanjutkan dengan ekstraksi cair-cair dengan etil asetat dan amil alkohol. Pada fraksi amil alkohol dilakukan pemisahan flavonoid menggunakan kromatografi kolom gravitasi dengan campuran eluen n-butanol:n-heksana:metanol (4:2:1). Uji fitokimia menunjukkan hasil positif pada senyawa alkaloid, saponin, tanin, kuinon, dan flavonoid. Analisis spektrofotometer UV-Vis memberikan serapan pada panjang gelombang 263 nm. Hasil analisis dengan FTIR menunjukkan adanya serapan gugus O-H, C=O, C-H alifatik, C-O-C, dan C-O alkohol. Hasil analisis instrumen LC-MS/MS menunjukkan m/z 300 yang merupakan massa molekul senyawa isoflavon.

1. Pendahuluan

Tanaman mangga (*Mangifera indica* L.,) merupakan tanaman buah tropis dengan nutrisi tinggi dalam keluarga *Anacardiaceae*. Daun mangga sangat terkenal sebagai Obat Tradisional Cina digunakan untuk pencegahan dan penyembuhan sakit *neurophatic* dan maag [1, 2, 3]. Kandungan metabolit sekunder dalam daun mangga adalah alkaloid, flavonoid, saponin [4], kuinon [5], tanin, steroid [6] dan triterpenoid [7]. Ekstrak daun mangga fraksi metanol memiliki aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi [8]. Teknik ekstraksi daun mangga dengan tekanan tinggi menggunakan subkritis air sebagai pelarut memperoleh senyawa mangiferin dan senyawa fenol lainnya yang menunjukkan potensi aktivitas antioksidan [9]. Ekstrak etanol dari daun mangga diperoleh senyawa mangiferin [10]. Kandungan senyawa fenol dari fraksi etil asetat daun mangga adalah asam benzoat, pirogalol, asam para hidroksibenzoat, asam vanilat, asam siringat, asam ferulat, etil galat, dan asam galat [11]. Penelitian daun mangga gedong, golek, apel, dan arumanis didapatkan hasil bahwa keempat varietas daun mangga tersebut memiliki aktivitas antioksidan [12]. Daun mangga mengandung lima flavonoid yaitu, epikatekin glikon, isoflavon, trikuspid, kuersetin, dan epikatekin aglikon [13].

2. Metodologi

2.1. Persiapan Sampel

Sampel daun mangga dikumpulkan dari Sambiroto, Semarang pada Bulan September 2017. Daun mangga golek sebanyak 4 kg dibersihkan dengan air, dipotong kecil-kecil, dan dikeringkan dengan diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung dan dihaluskan menjadi serbuk. Hal ini bertujuan agar senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun mangga golek tidak mengalami kerusakan akibat terpapar sinar matahari langsung.

2.2. Pembuatan Ekstrak

Serbuk daun mangga golek sebanyak 2 kg dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Setiap 24 jam pelarut diganti kemudian dipisahkan ekstrak dan ampasnya. Ekstrak yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak etanol dan ditimbang.

2.3. Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia meliputi uji flavonoid, saponin, fenolik, tanin, alkaloid, triterpenoid dan steroid [14, 15].

2.4. Isolasi Flavonoid

Ekstrak etanol yang diperoleh dilarutkan kembali dengan etanol kemudian dilakukan penghilangan klorofil dengan menambahkan aquades (1:1), didiamkan selama 24 jam dan disaring. Ekstrak etanol-air yang didapat dipekatkan dan ditimbang. Selanjutnya dilakukan uji kandungan gula menggunakan pereaksi Benedict. Hal ini dilakukan dengan mengambil satu tetes ekstrak etanol-air yang pekat ditambahkan etanol hingga sedikit encer. Adanya kandungan gula dalam ekstrak ditandai dengan

terbentuk endapan merah bata. Selanjutnya dihidrolisis menggunakan HCL 2N selama satu jam pada suhu 85°C [16, 17]. Setelah proses hidrolisis berakhir, dilakukan uji kandungan gula menggunakan pereaksi Benedict, hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa flavonoid di dalam ekstrak sudah bebas gula.

Fraksi etanol-air hasil hidrolisis difraksinasi dengan etil asetat, terbentuk dua lapisan, lapisan atas adalah fraksi etil asetat dan lapisan bawah adalah fraksi etanol-air, kemudian dipisahkan. Fraksi etil asetat dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh fraksi etil asetat. Selanjutnya fraksi etil asetat difraksinasi dengan amil alkohol, terbentuk dua lapisan. Lapisan atas adalah fraksi amil alkohol dan lapisan bawah adalah fraksi etil asetat, kemudian fraksi amil alkohol dilakukan *rotary evaporator* sehingga diperoleh fraksi amil alkohol dan ditimbang.

2.5. Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan Kromatografi Kolom Kolom Gravitasi

Fraksi amil alkohol dipisahkan komponennya dengan kromatografi kolom gravitasi menggunakan eluen campuran n-butanol : n-heksana : metanol (4:2:1). Eluat ditampung dalam vial 15 mL. Masing-masing vial dilakukan KLT, vial dengan pola noda yang sama digabungkan menjadi satu fraksi besar (A, B, C,...). Fraksi-fraksi yang diperoleh diuji flavonoid dengan diuji ammonia [18]. Fraksi yang positif flavonoid paling dominan dipisahkan dengan KLT preparatif. Pita yang dominan dikerok dan dilarutkan dengan eluen yang sesuai. Isolat flavonoid diuapkan dan ditimbang.

2.6. Uji Kemurnian

Isolat flavonoid yang didapatkan dari KLT preparatif diuji kemurnian dengan KLT berbagai eluen dan KLT dua dimensi. Noda tunggal yang terbentuk menunjukkan bahwa flavonoid yang didapatkan telah murni. Uji kemurnian selanjutnya adalah menentukan titik leleh.

2.7. Identifikasi Struktur

Isolat flavonoid yang diperoleh diidentifikasi strukturnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis, FTIR, dan LC-MS/MS.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Hasil Ekstrak

Ekstrak etanol daun mangga golek berwarna coklat sebanyak 256 g dengan rendemen sebesar 12,8%.

3.2. Hasil Determinasi sampel tanaman dan Skrining Fitokimia

Hasil determinasi sampel tanaman yang dilakukan di Laboratorium Sistemika Fakultas Biologi UGM sebagai berikut:

Divisi	: Tracheophyta
Sub Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Sapindales
Familia	: Anacardiaceae

Genus : Mangifera
 Spesies : Mangifera indica L. cv. Golek
 Nama Lokal : Mangga golek

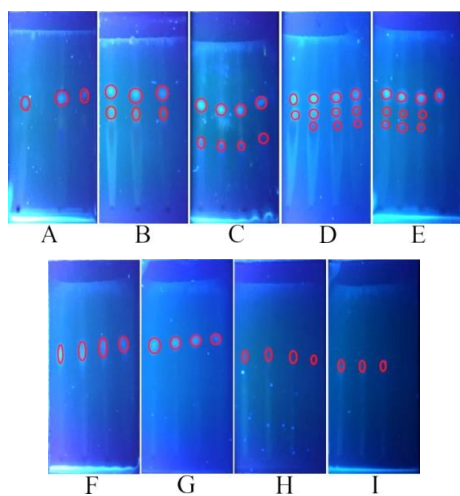
Hasil skrining fitokimia terhadap serbuk daun dan ekstrak etanol daun mangga golek menunjukkan tes positif terhadap alkaloid, saponin, kuinon, tanin, dan flavonoid.

3.3. Hasil Isolasi Flavonoid dari Daun Mangga Golek

Ekstrak etanol diuji adanya gula menggunakan pereaksi Benedict. Hasil uji positif mengandung gula dengan terbentuknya endapan merah bata. Uji adanya gula diulang setelah dilakukan hidrolisis, hasilnya menunjukkan negatif gula, karena gula yang terikat sudah dibebaskan. Hasil hidrolisis dipartisi dengan etil asetat sehingga diperoleh fraksi etil asetat. Untuk mengisolasi flavonoid yang relatif polar, fraksi etil asetat dipartisi dengan amil alkohol, diperoleh 26 g.

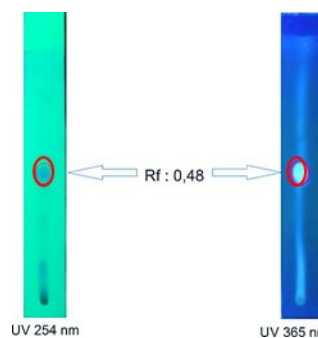
3.4. Hasil Pemisahan Senyawa Flavonoid

Profil KLT fraksi amil alkohol daun mangga golek hasil kromatografi kolom gravitasi (KKG) ditampilkan pada gambar 1. Eluen terbaik untuk pemisahan noda-noda setelah dipisahkan dengan kromatografi kolom gravitasi, yaitu eluen campuran n-butanol : n-heksana : metanol (4:4:1). Pemberian penampak bercak uap ammonia menunjukkan hasil noda tidak mengalami perubahan, yaitu tetap berfluoresensi biru muda.



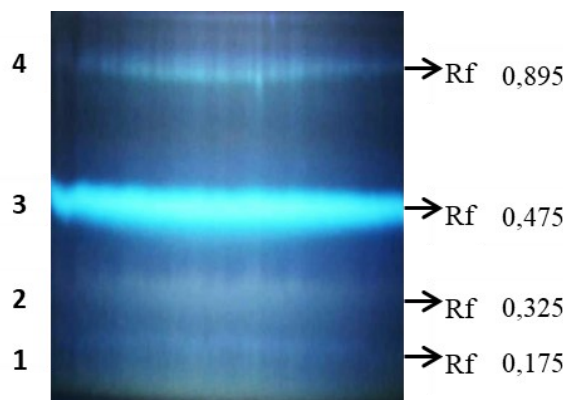
Gambar 1. Profil KLT fraksi amil alkohol hasil KKG (A, B, C, D, E, F, G, H, dan I) dengan eluen campuran n-butanol : n-heksana : metanol (4:4:1) pada UV λ 365 nm

Berdasarkan hasil KLT, fraksi F, G, H, dan I digabung menjadi satu fraksi (Fraksi J) karena memiliki kemiripan pola noda dan juga hasil positif flavonoid pada penampak bercak uap ammonia. Fraksi J dilakukan KLT kembali untuk memastikan noda terpisah dan adanya noda dominan. Hasil KLT dari fraksi J setelah diberi penampak bercak uap ammonia warna tetap ungu gelap pada UV λ 254 nm dan tidak ada perubahan warna pada UV λ 365 nm yang sebelumnya berfluoresensi biru muda.



Gambar 2. Profil KLT fraksi J pada UV λ 254 nm dan 365 nm dengan eluen campuran n-butanol : n-heksana : metanol (4:4:1)

Fraksi J selanjutnya dilakukan KLT preparatif. Profil KLT preparatif fraksi J ditunjukkan pada gambar 3.

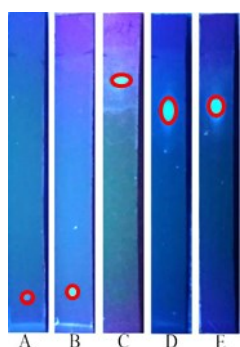


Gambar 3. Profil KLT preparatif fraksi J dengan eluen campuran n-butanol : n-heksana : metanol (4:4:1) pada UV λ 365 nm

Dari gambar di atas dapat dilihat bahwa terjadi pemisahan senyawa menghasilkan 4 pita yang muncul pada lampu UV λ 365 nm. Eluen campuran n-butanol : n-heksana : metanol (4:4:1) tetap digunakan karena mampu memisahkan noda-noda. Pengerokan pada pita 3 dengan Rf sebesar 0,475 dilakukan karena pita 3 memiliki intensitas warna lebih kuat dan konsentrasi paling besar dibandingkan dengan pita lainnya. Hasil pengerokan pita 3 dilarutkan ke dalam n-butanol dan disebut sebagai isolat flavonoid J3.

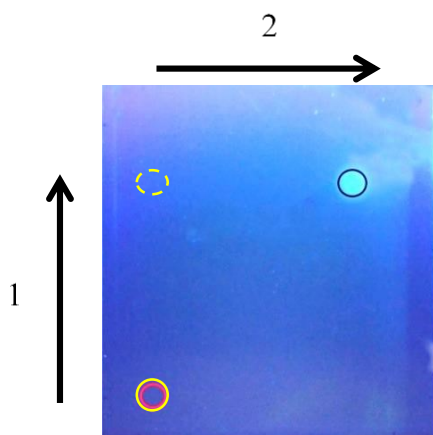
3.5. Hasil Uji Kemurnian

KLT isolat flavonoid J3 menggunakan berbagai eluen menghasilkan 1 noda (Gb. 4.), sehingga diperkirakan bahwa isolat flavonoid telah murni. Isolat flavonoid J3 merupakan flavonoid bersifat polar, dikarenakan dari profil KLT pada gambar 4 menunjukkan naiknya noda saat menggunakan eluen polar, yaitu metanol, kloroform : metanol (4 : 6), dan etil asetat : metanol (1 : 1).



Gambar 4. Profil KLT pada uji kemurnian isolat flavonoid J3 dengan berbagai eluen pada UV λ 365 nm A. n-heksana ; Rf = 0 B. Kloroform ; Rf = 0 C. Metanol ; Rf = 0,78 D. Kloroform : metanol (4 : 6) ; Rf = 0,68 E. Etil Asetat : metanol (1 : 1) ; Rf = 0,7

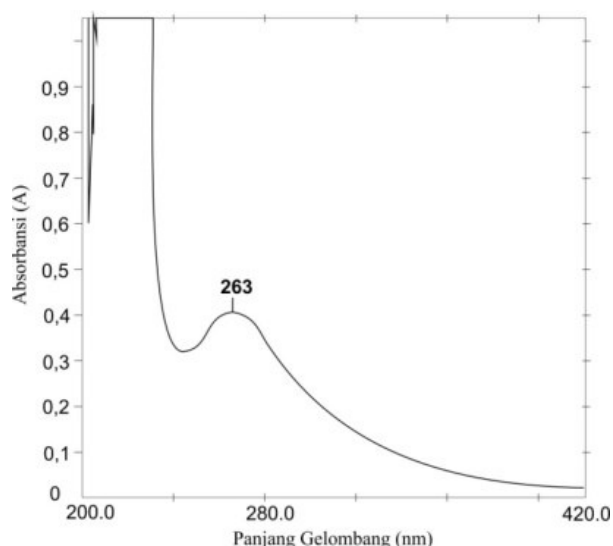
Hasil KLT dua dimensi pada isolat flavonoid J3 menunjukkan satu noda (Gb. 5.). Noda dari isolat flavonoid J3 tidak mengalami perubahan warna setelah diberi penampak bercak uap amonia, yaitu tetap berfluoresensi biru muda dan diduga isolat flavonoid J3 termasuk ke dalam golongan flavonoid jenis isoflavan [16]. Isolat flavonoid berupa padatan coklat sebanyak 3,8 mg. Hasil pengukuran titik leleh untuk isolat flavonoid J3 sebesar 225°C - 226°C. Kemurnian dari senyawa organik berdasarkan titik leleh berada pada rentang suhu 0°C - 1°C [19]. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, isolat flavonoid J3 telah murni.



Gambar 5. Profil KLT dua dimensi isolat flavonoid J3: (1) Eluen campuran kloroform : metanol (4 : 6) pada UV λ 365 nm (2) Eluen campuran etil asetat : metanol (1 : 1) pada UV λ 365 nm

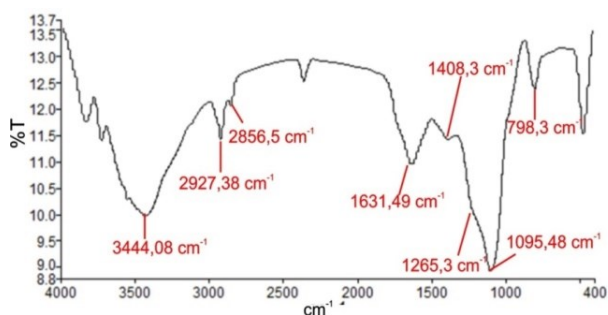
3.6. Hasil Identifikasi Struktur

Identifikasi isolat flavonoid J3 dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Isolat flavonoid J3 dilarutkan dalam metanol, selanjutnya dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis dan diperoleh spektrum pada gambar 6



Gambar 6. Spektrum UV-Vis isolat flavonoid J3 dalam metanol

Hasil analisis isolat flavonoid J3 dengan spektrofotometer UV-Vis menghasilkan serapan panjang gelombang pita II (263 nm). Pada umumnya flavonoid akan menghasilkan absorpsi pita I pada cincin B sinamil dan pita II adalah absorpsi cincin A benzoid. Karakteristik absorpsi untuk isoflavan akan menghasilkan absorpsi pita II (245–270 nm), sedangkan intensitas absorpsi untuk pita I sangat kecil atau berupa bahu (300–340 nm). Hal ini dikarenakan pada umumnya tidak dipengaruhi oleh pola oksigenasi dan substitusi pada cincin B [20]. Serapan isolat flavonoid J3 pada panjang gelombang pita II (263 nm) membuktikan bahwa isolat merupakan flavonoid jenis isoflavan. Penelitian mengenai kandungan isoflavan dalam daun mangga golek masih terbatas, maka dilakukan perbandingan pada tingkat genus Mangifera. Kanwal *dkk.* [13], melakukan penelitian terhadap daun mangga dan didapatkan senyawa isoflavan berupa padatan coklat yang menghasilkan serapan panjang gelombang pita II (270 nm). Analisis FTIR terhadap isolat flavonoid J3 ditunjukkan pada gambar 7



Gambar 7. Spektrum FTIR isolat flavonoid J3

Spektrum inframerah hasil analisis isolat flavonoid J3 memiliki pita serapan pada bilangan gelombang 3444,08 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi ulur O–H intramolekul. Pita serapan pada 2927,38 cm^{-1} dan 2856,5 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi ulur C–H alifatik. Pita serapan pada 1631,49 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi C=O. Pita serapan pada 1408,3 cm^{-1}

menunjukkan adanya vibrasi tekuk C–H alifatik. Pita serapan pada 1265,3 cm⁻¹ menunjukkan adanya vibrasi ulur C–O–C. Pita serapan pada 1095,48 cm⁻¹ menunjukkan adanya vibrasi C–O alkohol. Pita serapan pada 798,3 cm⁻¹ menunjukkan adanya vibrasi C–H luar bidang atau substitusi aromatik [21].

Pada instrumen LC-MS/MS, isolat flavonoid J3 muncul pada waktu retensi 1,18 menit yang berdasarkan database merupakan senyawa flavonoid jenis isoflavon yang memiliki massa molekul relatif m/z sebesar 301. Hal ini dikarenakan instrumen LC-MS/MS menggunakan pengion positif [M+H]. Hasil spektrogram berdasarkan database pada instrumen LC-MS/MS menunjukkan bahwa m/z 300 merupakan *parent peak* untuk senyawa isoflavon.

4. Kesimpulan

Daun mangga golek mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon, dan tanin. Pita serapan pada spektrum UV-Vis menghasilkan pita II (263 nm), menunjukkan bahwa senyawa dari fraksi amil alkohol daun mangga golek mengandung flavonoid, yaitu isoflavon. Hasil FTIR menunjukkan adanya serapan gugus O–H, C=O, C–H alifatik tekuk dan ulur, C–O–C, dan C–O alkohol. Berdasarkan analisis LC-MS/MS senyawa isoflavon memiliki massa molekul 300 m/z.

Daftar Pustaka

- [1] Bárbara B. Garrido-Suárez, Gabino Garrido, Rene Delgado, Fe Bosch, María del C. Rabí, A Mangifera indica L. Extract Could Be Used to Treat Neuropathic Pain and Implication of Mangiferin, *Molecules*, 15, 12, (2010) 9035–9045 <https://doi.org/10.3390/molecules15129035>
- [2] Juliana Aparecida Severi, Zeila Pinheiro Lima, Hélio Kushima, Alba Regina Monteiro Souza Brito, Lourdes Campaner dos Santos, Wagner Vilegas, Clélia Akiko Hiruma-Lima, Polyphenols with Antiulcerogenic Action from Aqueous Decoction of Mango Leaves (*Mangifera indica* L.), *Molecules*, 14, 3, (2009) 1098–1110 <https://doi.org/10.3390/molecules14.031098>
- [3] Qudsia Kanwal, Ishtiaq Hussain, Hamid Latif Siddiqui, Arshad Javaid, Antifungal activity of flavonoids isolated from mango (*Mangifera indica* L.) leaves, *Natural Product Research*, 24, 20, (2010) 1907–1914 <https://doi.org/10.1080/14786419.2010.488628>
- [4] M. T. Yakubu, S. S. Salimon, Antidiarrhoeal activity of aqueous extract of *Mangifera indica* L. leaves in female albino rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 163, (2015) 135–141 <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.12.060>
- [5] Antony V. Samrot, Bennet Rohan, Divya Kumar, K. Sahiti, P. Raji, K. Sree Samanvitha, Detection of antioxidant and antibacterial activity of *Mangifera indica* using TLC bio-autography, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7, 11, (2016) 4467–4472 [http://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.7\(11\).4467-72](http://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.7(11).4467-72)
- [6] Pintu K. De, Arna Pal, Effects of aqueous young leaves extract of *Mangifera indica* on gm (–) microorganisms causing gastro-intestinal disorders, *Asian Journal of Plant Science and Research*, 4, 1, (2014) 23–27
- [7] Kalpna Rakholiya, Sumitra Chanda, Pharmacognostic, Physicochemical and Phytochemical Investigation of *Mangifera indica* L. var. Kesar leaf, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2, 2, Supplement, (2012) S680–S684 [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60295-0](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60295-0)
- [8] C. G. Mohan, M. Deepak, G. L. Viswanatha, G. Savinay, V. Hanumantharaju, C. E. Rajendra, Praveen D. Halemani, Anti-oxidant and anti-inflammatory activity of leaf extracts and fractions of *Mangifera indica*, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 6, 4, (2013) 311–314 [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(13\)60062-0](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(13)60062-0)
- [9] María Fernández Ponce, Lourdes Casas Cardoso, C. Mantell, Enrique Martínez de la Ossa, Potential Use of Mango Leaves Extracts Obtained by High Pressure Technologies in Cosmetic, Pharmaceuticals and Food Industries, *Chemical Engineering Transactions*, 32, (2013) 1147–1152 <http://doi.org/10.3303/CE1332192>
- [10] Tang-Bin Zou, En-Qin Xia, Tai-Ping He, Ming-Yuan Huang, Qing Jia, Hua-Wen Li, Ultrasound-Assisted Extraction of Mangiferin from Mango (*Mangifera indica* L.) Leaves Using Response Surface Methodology, *Molecules*, 19, 2, (2014) 1411–1421 <https://doi.org/10.3390/molecules19021411>
- [11] Abdelnaser Abdelghany Elzaawely, Shinkichi Tawata, Preliminary phytochemical investigation on mango (*Mangifera indica* L.) leaves, *World Journal of Agricultural Sciences*, 6, 6, (2010) 735–739
- [12] Irda Fidrianny, Ari Sri Windyaswari, Komar Ruslan Wirasutisna, Antioxidant Capacities of Various Leaves Extract from Five Colors Varieties of Sweet Potatoes Tubers Using ABTS, DPPH Assays and Correlation with Total Flavonoid, Phenolic, Carotenoid Content, *Research Journal of Medicinal Plants*, 7, 3, (2013) 130–140 <http://doi.org/10.3923/rjmp.2013.130.140>
- [13] Qudsia Kanwal, Hussain Ishtiaq, Hamid Latif Siddiqui, Arshad Javaid, Flavonoids from mango leaves with antibacterial activity, *Journal of the Serbian Chemical Society*, 74, 12, (2009) 1389–1399 <http://doi.org/10.2298/JSC0912389K>
- [14] Enny Fachriyah, Dewi Kusriani, Pratama Jujur Wibawa, Improvement of Bioactivity with Nanoparticle Fabrication: Cytotoxic Test of Ethanol, N-Hexane and Ethyl Acetate Extract from Red Galangal Rhizome (*Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum) in Bulk and Nanoparticle size using BSLT Method, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 21, 1, (2018) 39–43 <http://dx.doi.org/10.14710/jksa.21.1.39-43>
- [15] Norman R. Farnsworth, Biological and phytochemical screening of plants, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55, 3, (1966) 225–276 <http://dx.doi.org/10.1002/jps.2600550302>
- [16] K. R. Markham, Cara Mengidentifikasi Flavonoid, K. Padmawinata, ITB, Bandung, 1988.
- [17] Kautsar Elvira, Enny Fachriyah, Dewi Kusriani, Isolation of Flavonoid Compounds from Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) and Antioxidant Tests with DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) Method, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 21, 4, (2018) 187–192 <http://dx.doi.org/10.14710/jksa.21.4.187-192>

- [18] Windi Susmayanti, Enny Fachriyah, Dewi Kusriani, Isolasi, Identifikasi dan Uji Sitotoksik Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenns) Stennis), *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 15, 3, (2012) 88–93 <http://dx.doi.org/10.14710/jksa.15.3.88-93>
- [19] C. Sandeep Kumar Reddy, K. K. Azam Khan, C. Nagaraja, A Review on the Determination of Melting Point Measurement System, *International Journal of Advanced Research in Electrical, Electronics and Instrumentation Engineering*, 5, 2, (2016) 975–979 <http://doi.org/10.15662/IJAREEIE.2016.0502059>
- [20] Tom Mabry, K.R. Markham, M.B. Thomas, *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer Berlin Heidelberg, 1970.
- [21] Robert Milton Silverstein, Francis X. Webster, David J. Kiemle, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 7 ed., John Wiley & Sons, 2005.