

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN NODA KLT PREPARATIF DARI EKSTRAK TUMBUHANAN NYIRIH (*Xylocarpus granatum*)

Sumardi^{1*}, Dhea A. Anastasya², Syahrika Triandini Tarigan³, Kharisma Insyara⁴, Ulfa Meriza Yufita⁵

¹Program Studi Farmi, Fakultas Farmasi, Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam, Medan, Indonesia

^{2,3,4,5}Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Tjut Nyak Dhien, Medan, Indonesia.

Email: mardisaad@gmail.com

*corresponding author

ABSTRAK

Negara Indonesia kaya akan keanekaragaman tumbuhan yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat alternatif karena mudah dijangkau dan aman dikonsumsi. Daun dan kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) terbukti secara heuristik mampu mengobati panas dalam, diabetes dan menjaga sistem imun. Penelitian ini bertujuan memberikan gambaran serta informasi data mengenai senyawa aktif antioksidan ekstrak n-heksan daun dan kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) serta ekstrak air daun dan kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*). Penentuan aktivitas antioksidan n-heksan yang diekstraksi dari daun dan kulit batang (*Xylocarpus granatum*) serta air yang diekstraksi dari daun dan kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) menggunakan 2 metode yaitu metode kualitatif dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dan dilanjutkan dengan metode kuantitatif dengan ELISA Reader. Hasil pada penelitian ini adalah isolat KLT preparatif pada fraksi n-heksan daun nyirih dan kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) serta fraksi air daun nyirih dan kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) dengan perbandingan n-heksan:etil asetat (eluen) yang terbaik secara berturut adalah 2:8, 4:6, 6:4 dan 4:6 sedangkan nilai aktivitas antioksidan yang diperoleh secara berturut adalah 1,1880 ppm, 2,1923 ppm, 46, 910 ppm dan 0,3631 ppm sehingga dinyatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat.

Kata kunci: Antioksidan; Daun nyirih; Elisa reader; Kulit batang nyirih; Kromatografi lapis tipis

ABSTRACT

The country of Indonesia is rich in plant diversity which is widely used by the community as an alternative medicine because it is easily accessible and safe for consumption. The leaves and bark of nyirih (*Xylocarpus granatum*) are heuristically proven to treat heatiness, diabetes and maintain the immune system. This study aims to provide an overview and data information about the active antioxidant compounds of n-hexan extract of nyirih leaves and bark (*Xylocarpus granatum*) and water extracts of nyirih leaves and bark (*Xylocarpus granatum*). Determination of antioxidant activity of n-hexan extracted from leaves and bark (*Xylocarpus granatum*) and water extracted from leaves and bark nyirih (*Xylocarpus granatum*) using 2 methods, namely qualitative method with lapis tipis chromatography (KLT) and continued with quantitative method with ELISA Reader. The results in this study were preparative TLC isolates on the n-hexan fraction of nyirih leaves and nyirih bark (*Xylocarpus granatum*) and water fractions of nyirih leaves and nyirih bark (*Xylocarpus granatum*) with the best n-hexane:ethyl acetate (eluent) ratio respectively were 2:8, 4:6, 6:4 and 4:6 while the value of antioxidant activity obtained successively is 1.1880 ppm, 2.1923 ppm, 46, 910 ppm and 0.3631 ppm so that it is declared as a very strong antioxidant.

Keyword: Antioxidant; ELISA reader; isolate ; Thin layer chromatography

PENDAHULUAN

Mangrove merupakan jenis tumbuhan rabung yang mampu tumbuh di zona pesisir antara lautan dan daratan, terutama di wilayah sub-tropis dan tropis. Indonesia merupakan wilayah hutan mangrove terbesar di dunia, mencapai 28,5% dari populasi mangrove global. Masyarakat Indonesia secara luas memanfaatkan

mangrove untuk berbagai keperluan, seperti bahan makanan, obat-obatan tradisional, kosmetika, produk pertanian, perabotan, dan peralatan kerja. Selain itu, mangrove juga digunakan sebagai sumber bahan obat herbal tradisional karena mengandung beragam senyawa metabolit sekunder yang memiliki berbagai efek biologis. Salah satu jenis mangrove yang sering dimanfaatkan adalah *Xylocarpus granatum* (Darmadi et al., 2021; Djamaluddin, 2018; Heryanto et al., 2023; Sumardi et al., 2022).

Berbagai bagian tanaman mangrove, termasuk akar, batang, kulit batang, daun, dan buah, telah lama dimanfaatkan dalam bidang medis sebagai pengobatan untuk berbagai penyakit, seperti malaria, rematik, kanker, demam, tumor, hepatitis, diabetes, antibiotik, kolera, asma, disentri, analgesik, penyakit mata, penyakit kulit, leukimia, serta racun ular. Daun *Xylocarpus granatum* yang juga dikenal sebagai daun Nyirih, terbukti memiliki sifat pengobatan panas dalam dan diabetes secara empiris. Masyarakat pantai memanfaatkan daun ini sebagai obat diare dan luka yang menunjukkan aktivitas antidiare dan antibakteri. Buahnya berguna dalam perawatan kulit sedangkan kulit batangnya digunakan sebagai antibakteri dan penangkal radikal bebas karena mengandung antioksidan tinggi. Senyawa flavonoid dalam daun nyirih juga membantu tubuh melawan kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas pada sel-sel tubuh manusia (Darmadi et al., 2021; Das et al., 2019; Gabariel et al., 2019; Saptiani et al., 2020; Suhaera et al., 2022).

Antioksidan adalah senyawa yang bertugas melawan radikal bebas yang merupakan molekul atau atom yang tidak stabil. Ada dua jenis antioksidan: alami yang berasal dari tumbuhan, dan buatan yang disintesis secara kimia. Namun, antioksidan buatan memiliki efek samping yang merugikan bagi tubuh (Rahmi, 2017). Antioksidan sering digunakan oleh masyarakat sebagai terapi utama, terapi pendukung, suplemen peningkat daya tahan tubuh, profilaksis penyakit, dan pencegahan penuaan. Penelitian juga sering menunjukkan penggunaan antioksidan dalam berbagai peran tersebut pada berbagai penyakit (Handajani, 2019).

Dalam mengidentifikasi senyawa antioksidan dalam tumbuhan, terdapat dua metode yang dapat digunakan. Metode pertama melibatkan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk memastikan keberadaan senyawa antioksidan dalam tumbuhan. Setelah itu, langkah kedua dapat dilanjutkan dengan menggunakan Elisa Reader. Kromatografi adalah suatu teknik yang digunakan untuk memisahkan senyawa berdasarkan perbedaan distribusi mereka di antara fase diam yang bisa dalam bentuk padatan atau cairan dan fase gerak yang bisa dalam bentuk cairan atau gas (Rizalina et al., 2018).

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) adalah metode analisis kuantitatif yang sering digunakan untuk mengukur senyawa aktif dalam spesimen biologis dan menentukan konsentrasinya. Metode ini menggunakan panjang gelombang khas, biasanya antara 400-750 nm yang digunakan untuk mendeteksi cahaya dari sampel dan mengukur absorbansinya. ELISA digunakan untuk menentukan kandungan senyawa aktif dengan mengidentifikasi respons enzimatik pada reaksi antigen-antibodi, dan hasilnya memberikan informasi kuantitatif tentang konsentrasi senyawa tersebut dalam sampel biologis. (Li et al., 2023; Fernanda et al., 2019).

Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak n-heksan dari daun Nyirih dan kulit batang (*Xylocarpus granatum*) serta ekstrak air dari daun nyirih dan kulit batang nyirih menggunakan dua metode yaitu metode kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan dilanjutkan dengan metode kuantitatif dengan ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yang belum ada dilaporkan datanya sehingga menimbulkan ketertarikan peneliti untuk melaksanakan penelitian mengenai Uji Aktivitas Antioksidan Noda KLT Preparatif Dari Ekstrak N-Heksan Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih(*Xylocarpus granatum*) Serta Ekstrak Air Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*). Maka dari itu penelitian ini mampu memberikan gambaran serta informasi data mengenai aktivitas antioksidan ekstrak n-heksan dari daun nyirih dan kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) serta ekstrak air dari daun nyirih dan kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) yang diharapkan dapat bermanfaat pada bidang kesehatan, kefarmasian, dan bermanfaat untuk memperluas pandangan ilmu pengetahuan.

METODE PENELITIAN

Identifikasi Tumbuhan

Identifikasi tumbuhan Nyirih (*Xylocarpus granatum*) pada penelitian ini dilakukan berdasarkan bantuan buku Panduan Mangrove Estuari Perancak.

Pembuatan Ekstrak Kloroform:Metanol (2:1) Daun Nyirih (*Xylocarpus granatum*)

Metode yang digunakan pada penelitian ini dalam pembuatan ekstrak kloroform:metanol (2:1) daun Nyirih (*Xylocarpus granatum*) yaitu metode maserasi atau disebut juga ekstraksi dingin. Di maserasi simplisia daun Nyirih (*Xylocarpus granatum*) sejumlah 300 gram dalam toples kaca menggunakan pelarut kloroform:metanol (2:1) sejumlah 2100 ml dengan suhu kamar, disimpan dan ditutup dalam waktu 3×24 jam pada suhu kamar, diaduk sekali- kali serta dipastikan agar terhindar dari sinar matahari. Dilakukan penyaringan agar mendapatkan hasil maserat, diulang proses penyaringannya sejumlah 3 kali hingga mendapatkan 1700 ml. Lalu diuapkan maserat hingga diperoleh ekstrak kental, kemudian ditimbang berat ekstraknya (Arisa, 2022).

Pembuatan Ekstrak Kloroform:Metanol (2:1) Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*)

Dimaserasi simplisia kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) sejumlah 620 gram dalam toples kaca menggunakan pelarut kloroform:metanol (2:1) sejumlah 2100 ml dengan suhu kamar, disimpan dan ditutup dalam waktu 3×24 jam pada suhu kamar, diaduk sekali- kali serta dipastikan agar terhindar dari sinar matahari. Dilakukan penyaringan agar mendapatkan hasil maserat, diulang proses penyaringannya sejumlah 3 kali hingga mendapatkan 830 ml. Lalu diuapkan maserat hingga diperoleh ekstrak kental, kemudian ditimbang berat ekstraknya (Arisa, 2022).

Fraksinasi Ekstrak Daun Nyirih (*Xylocarpus granatum*) dengan Aqua Pro Injeksi:N-Heksana (2:1)

Dalam eksperimen ini, sebanyak 2 gram ekstrak kental daun *Xylocarpus granatum* yang merupakan hasil ekstraksi menggunakan campuran kloroform dan metanol (2:1). Proses fraksinasi cair-cair dilakukan menggunakan pelarut polar (aqua pro injeksi) dan non polar (n-heksan). Ekstrak kental awalnya dilarutkan dalam beaker glass 500 ml. Lalu ditambahkan 10 ml aqua pro injeksi dan 20 ml n-heksan. Setelah diaduk dan didiamkan, terbentuk dua lapisan, yaitu lapisan bawah berisi fraksi air dan lapisan atas berisi fraksi n-heksan. Fraksi n-heksan dipisahkan dan dikumpulkan dalam cawan penguap. Proses ini diulang dengan menambahkan kembali 10 ml aqua pro injeksi dan 20 ml n-heksan hingga mencapai 10 kali penambahan. Pada titik ini, fraksi n-heksan yang bening, residu yang tidak larut dalam n-heksan dan air terpisah sehingga terbentuk 3 lapisan. Kemudian, fraksi air dan fraksi n-heksan dipindahkan ke dalam cawan penguap dan diuapkan di waterbath pada suhu 50°C hingga mencapai bobot konstan. Berat kosong cawan telah diukur sebelumnya. Setelah evaporasi, berat fraksi kental yang dihasilkan diukur untuk menghitung persentase rendemen. Bagian fraksi air dan fraksi n-heksan ekstrak kental daun *Xylocarpus granatum* dijadikan objek penelitian (Fadlilaturrahmah et al, 2021).

Fraksinasi Ekstrak Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*) dengan Aqua Pro Injeksi:N-Heksana (2:1)

Dalam eksperimen ini, sebanyak 2 gram ekstrak kental kulit batang *Xylocarpus granatum* yang merupakan hasil ekstraksi menggunakan campuran kloroform dan metanol (2:1). Proses fraksinasi cair-cair dilakukan menggunakan pelarut polar (aqua pro injeksi) dan non polar (n-heksan). Ekstrak kental awalnya dilarutkan dalam beaker glass 500 ml. Lalu ditambahkan 10 ml aqua pro injeksi dan 20 ml n-heksan. Setelah diaduk dan didiamkan, terbentuk dua lapisan, yaitu lapisan bawah berisi fraksi air dan lapisan atas berisi fraksi n-heksan. Fraksi n-heksan dipisahkan dan dikumpulkan dalam cawan penguap. Proses ini diulang dengan menambahkan kembali 10 ml aqua pro injeksi dan 20 ml n-heksan hingga mencapai 10 kali penambahan. Pada titik ini, fraksi n-heksan yang bening, residu yang tidak larut dalam n-heksan dan air terpisah sehingga terbentuk 3 lapisan. Kemudian, fraksi air dan fraksi n-heksan dipindahkan ke dalam cawan penguap dan diuapkan di waterbath pada suhu 50°C hingga mencapai bobot konstan. Berat kosong cawan telah diukur sebelumnya. Setelah evaporasi, berat fraksi kental yang dihasilkan diukur untuk

menghitung persentase rendemen. Bagian fraksi air dan fraksi n-heksan ekstrak kental kulit batang *Xylocarpus granatum* dijadikan objek penelitian (Fadlilaturrahmah et al, 2021).

Pengujian Kromatografi Lapis Tipis Fraksi N-Heksan Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*) Serta Fraksi Air Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*)

Pada perlakuan ini, dilakukan pengaktifan plat kromatografi lapis tipis (KLT) berukuran 10×2 cm dengan pemanasan pada oven pada suhu 100°C selama 30 menit sebelum aplikasi sampel. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi elusi optimal dalam KLT untuk menganalisis fraksi n-heksan dan fraksi air dari daun serta kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*). Variasi perbandingan fase gerak n-heksana dan etil asetat, yaitu (1:9), (2:8), (3:7), (4:6), (5:5), (6:4), (7:3), (8:2), dan (9:1) yang digunakan untuk elusi sampel n-heksan daun nyirih (*Xylocarpus granatum*). Sampel dilarutkan dalam metanol p.a dan diaplikasikan ke plat KLT yang telah diberi tanda. Kemudian, plat KLT dielusi dengan fase gerak yang berbeda-beda hingga mencapai batas atas yang telah ditandai sebelumnya. Hasil elusi diamati di bawah lampu UV 254 dan 366. Nilai Rf (retention factor) dihitung setelah noda yang diinginkan terlihat. Hasil ini akan menjadi dasar untuk pengujian selanjutnya. Langkah serupa dilakukan untuk sampel fraksi n-heksan kulit batang nyirih, fraksi air daun nyirih, dan fraksi air kulit batang nyirih (Abdulkadir et al, 2023; Djuwarno et al, 2022; Fadlilaturrahmah, 2021; Naselia et al, 2020).

Pengujian Aktivitas Antioksidan Pada Kromatografi Lapis Tipis Fraksi N-Heksan Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*) Serta Fraksi Air Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*) Menggunakan DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan pada fraksi n-heksan daun Nyirih (*Xylocarpus granatum*) dilakukan dengan menyemprotkan larutan DPPH pada semua plat Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang telah diberi variasi perbandingan fase gerak. Aktivitas antioksidan diamati melalui perubahan warna bercak pada plat KLT yang awalnya berwarna ungu menjadi putih kekuningan. Setelah mendapatkan noda yang diinginkan, nilai Rf (retention factor) dihitung. Selanjutnya, hasil ini akan menjadi dasar untuk tahap pengujian berikutnya. Langkah serupa dilakukan untuk sampel fraksi n-heksan kulit batang nyirih, fraksi air daun nyirih, dan fraksi air kulit batang nyirih (Djuwarno et al, 2022; Fadlilaturrahmah, 2021).

Pengujian Kromatografi Lapis Tipis Preparatif Fraksi N-Heksan Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*) Serta Fraksi Air Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*)

Pada KLT preparatif fraksi n-heksan daun Nyirih (*Xylocarpus granatum*), digunakan fase diam berupa plat kaca silika gel 60 F254 berukuran 20×20 cm. Plat tersebut diaktifkan melalui pemanasan pada suhu 100°C selama 30 menit dan diberi tanda pada batas atas dan bawah sejauh 2 cm. Proses ini dilakukan sesuai dengan metode yang telah dijelaskan sebelumnya. Selanjutnya, dilakukan penjenuhan fase gerak (eluen) dan fraksi kental n-heksan daun nyirih dilarutkan dengan sedikit pelarut metanol p.a. pada plat KLT preparatif. Sampel ditotolkan membentuk pola pita di sepanjang plat, dengan pengulangan pada tempat yang sama, dan plat dikeringkan menggunakan hairdryer. Penjenuhan fase gerak dilakukan dengan n-heksan:etil asetat pada perbandingan yang terbaik pada KLT sebelumnya untuk mencapai pemisahan optimal. Proses elusi dihentikan saat mencapai tanda batas atas yang telah ditandai sebelumnya. Plat KLT preparatif dikeluarkan dari chamber, dikeringkan, dan noda pada plat diamati di bawah lampu UV 254 dan 366. Selanjutnya, dilakukan penyemprotan DPPH pada plat KLT preparatif, namun hanya pada ±1 cm dari pinggir kiri plat. Noda yang dihasilkan diambil dengan mengikis dan ditempatkan dalam cawan penguap. Noda tersebut dilarutkan dengan pelarut metanol p.a., disaring ke dalam vial dan diuapkan pada suhu 50°C hingga terbentuk isolat. Isolat yang terbentuk akan digunakan dalam tahap berikutnya. Langkah serupa dilakukan untuk sampel fraksi n-heksan kulit batang nyirih, fraksi air daun nyirih, dan fraksi air kulit batang nyirih namun dengan perbandingan penjenuhan fase gerak n-heksan:etil asetat yang terbaik (Djuwarno et al, 2022; Fadlilaturrahmah, 2021; Fasya et al, 2019; Suhardiman et al, 2018).

Pengujian Isolat KLT Preparatif Fraksi N-Heksan Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*) Serta Fraksi Air Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*) Menggunakan ELISA Reader

Untuk pengujian isolat KLT preparatif fraksi n-heksan daun nyirih (*Xylocarpus granatum*) menggunakan ELISA Reader, diawali dengan langkah-langkah berikut. Dibuat larutan DPPH berkonsentrasi 100 ppm dan dilarutkan dengan metanol p.a sampai tanda batas. Kemudian, Isolat dilarutkan dalam vial menggunakan 10 ml metanol p.a. Lalu, 100 µl larutan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ditambahkan ke sumuran 1, 2, dan 3 dalam sebuah microplate sebagai kontrol absorbansi. Selanjutnya, 200 µl isolat ditambahkan ke sumuran ke-4. Dari sumuran ke-4, 100 µl isolat ditarik dan dimasukkan ke sumuran ke-5 yang berisi 100 µl DPPH. Proses ini diulang untuk sumuran ke-6, ke-7, dan ke-8 dengan mengambil 100 µl isolat dari sumuran sebelumnya. Kemudian, dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan ELISA Reader pada panjang gelombang 490 nm untuk menentukan nilai IC50. Setelah selesai, data hasil pengukuran dapat diolah menggunakan perangkat lunak Microsoft Excel untuk menghitung nilai IC50 yang relevan dalam analisis. Langkah serupa dilakukan untuk isolat fraksi n-heksan kulit batang nyirih, fraksi air daun nyirih, dan fraksi air kulit batang nyirih (Anton et al., 2021; Chewchinda et al., 2020; Seo et al., 2022).

Analisis Data Aktivitas Antioksidan

Analisis aktivitas antioksidan melibatkan penggunaan persamaan regresi linier sederhana $y = ax + b$. Koefisien determinasi (R^2) digunakan untuk menilai sejauh mana variabel bebas (X) menjelaskan variabel terikat (Y). Semakin tinggi nilai R^2 , semakin baik variabel bebas dalam memprediksi variabel terikat. Rentang nilai R^2 adalah antara 0 hingga 1. Penilaian aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC50 dibagi menjadi empat kategori, yaitu sangat kuat ($IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$), kuat ($IC_{50} 50-100 \mu\text{g/mL}$), sedang ($IC_{50} 100-250 \mu\text{g/mL}$), dan lemah ($IC_{50} 250-500 \mu\text{g/mL}$). Nilai IC_{50} di atas $500 \mu\text{g/mL}$ menunjukkan bahwa sampel tidak memiliki aktivitas antioksidan yang signifikan (Arsianti et al., 2020; Parveen et al., 2021; Yodha et al., 2021).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil identifikasi tumbuhan

Identifikasi tumbuhan pada penelitian ini dilakukan berdasarkan bantuan buku Panduan Mangrove Estuari Perancak sehingga ditemukan ciri khas dan dapat disimpulkan bahwa tumbuhan ini bernama lokal Nyirih (*Xylocarpus granatum*) dengan famili Meliaceae. Sampel tumbuhan yang digunakan yaitu daun Nyirih (*Xylocarpus granatum*) yang didapatkan dari Pulau Sembilan, Kabupaten Langkat, Sumatera Utara.

Hasil Pembuatan Ekstrak Kloroform:Metanol (2:1) Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*)

Table 1. Hasil Pembuatan Ekstrak Kloroform:Metanol (2:1) Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*)

Sampel	Berat Ekstrak	Rendemen
Daun nyirih	11,8 gram	3,9%
Kulit Batang Nyirih	90,0 gram	14,28%

Tabel 1 menunjukan hasil pembuatan ekstrak kloroform:metanol (2:1) daun nyirih dan kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) dengan sejumlah 300 g serbuk simplisia daun nyirih (*Xylocarpus granatum*) dilakukan ekstraksi secara maserasi dengan pelarut kloroform:metanol (2:1) sehingga diperoleh 1700 ml maserat. Lalu, diuapkan hingga memperoleh 11,8 gram ekstrak kloroform:metanol (2:1) yang kental berwarna coklat kehijauan dengan nilai persentase rendemennya yaitu 3,9%.

Pada perlakuan yang sama dilakukan dengan kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) dengan sejumlah 630 gram serbuk simplisia kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) dilakukan ekstraksi secara maserasi dengan pelarut kloroform:metanol (2:1) sehingga diperoleh 850 ml maserat. Lalu, diuapkan hingga memperoleh 90,0 gram ekstrak kloroform:metanol (2:1) yang kental berwarna coklat dengan nilai persentase rendemennya yaitu 14,28%.

Hasil Fraksinasi Ekstrak Daun Nyirih dan Ekstrak Kulit Nyirih (*Xylocarpus granatum*) dengan Aqua Pro Injeksi:N-Heksana (2:1)

Table 2. Hasil Fraksinasi Ekstrak Daun Nyirih dan Ekstrak Kulit Nyirih (*Xylocarpus granatum*) dengan Aqua Pro Injeksi:N-Heksana (2:1)

Sampel	Berat Ekstrak	Rendemen
Ekstrak daun nyirih	0,14 gram	7,0%
Ekstrak kulit batang nyirih	0,31 gram	15,5%

Tabel 2 menunjukkan hasil fraksinasi ekstrak daun nyirih dan ekstrak kulit nyirih (*Xylocarpus granatum*) dengan aqua pro injeksi:n-heksana (2:1) dengan ekstrak kloroform:metanol (2:1) daun nyirih (*Xylocarpus granatum*) sebanyak 2 gram ekstrak kloroform:metanol (2:1) daun nyirih yang didapatkan, dipartisi dengan pelarut non-polar dan polar bertingkat yakni pelarut n- heksan:aqua pro injeksi (2:1) yakni pelarut n-heksan sejumlah 20 ml dan aqua pro injeksi sejumlah 10 ml sehingga diperoleh sejumlah 0,14 gram fraksi n-heksan kental berwarna hijau kehitaman dengan nilai persentase rendemennya yaitu 7%.

Pada perlakuan yang sama dilakukan dengan pembuatan fraksi air kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) dengan menggunakan metode fraksinasi dengan cara ekstrak kloroform:metanol (2:1) kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) sebanyak 2 gram ekstrak kloroform:metanol (2:1) daun nyirih yang didapatkan, dipartisi dengan pelarut non-polar dan polar bertingkat yakni pelarut n- heksan:aqua pro injeksi (2:1) yakni pelarut n-heksan sejumlah 20 ml dan aqua pro injeksi sejumlah 10 ml sehingga diperoleh sejumlah 0,31 gram fraksi n-heksan kental berwarna kecoklatan dengan nilai persentase rendemennya yaitu 15,5%.

Prinsip kelarutan like dissolve like digunakan dalam proses maserasi ini yaitu non polar akan melarutkan zat non polar dan polar akan melarutkan zat polar sehingga zat-zat yang terambil secara selektif sesuai dengan kepolarannya (Bahriul,2018; Djuwarnoet al, 2022).

Hasil Pengujian Kromatografi Lapis Tipis Fraksi N-Heksan Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus Granatum*) Serta Fraksi Air Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus Granatum*)

Table 3. Nilai Rf pada Kromatografi Lapis Tipis Fraksi N-Heksan Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*)

Sampel	Perbandingan Fase Gerak	Visual	UV 254	UV 366
Fraksi n-heksan daun nyirih	N-heksan:etil asetat (2:8)	0,94(a)	0,20 (b)	0,17 (c)
			0,82 (b)	0,82 (c)
			0,94 (a)	0,91 (c)
Fraksi n-heksan kulit batang nyiri	N-heksan:etil asetat (4:6)	0,94 (b)	0,87 (d)	0,78 (c)
			0,90 (b)	0,84 (c)
				0,89 (c)

Keterangan: a= hijau tua, b= hijau, c=jingga, d= biru

Hasil secara berturut analisis KLT terhadap fraksi n-heksan dari daun nyirih dan kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) yang dilarutkan dalam metanol p.a menunjukkan bahwa nilai Rf memperlihatkan perbedaan sifat senyawa dan dapat dimanfaatkan untuk mengidentifikasi senyawa sehingga diantara 9 perbandingan fase gerak yang dibuat dalam pengujian ini dipilih perbandingan eluen n-heksana:etil asetat (2:8) dan (4:6) karena menghasilkan pemisahan yang optimal dengan nilai Rf yang menunjukkan pemisahan yang jelas antara komponen-komponen. Hasil dari perlakuan ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Table 4. Nilai Rf pada Kromatografi Lapis Tipis Fraksi Air Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*)

Sampel	Perbandingan Fase Gerak	Visual	UV 254	UV 366
Fraksi air daun nyirih	N-Heksan:Etil Asetat (6:4)	0,98(a)		0,70 (f)
				0,77 (f)
			0,59 (d)	0,82 (b)
			0,86 (e)	0,87 (b)
			0,96 (a)	0,92 (a)
			0,97 (g)	
Fraksi air kulit batang nyirih	N-Heksan:Etil Asetat (4:6)	0,34 (h)	0,34 (c)	0,34 (j)
		0,76 (a)	0,78 (i)	0,96 (c)
		0,91 (i)	0,90 (b)	

Keterangan: a= hijau, b=jingga, c= biru, d= biru tua, e= biru muda, f= putih, g= jingga kemerahan, h= coklat, i= kuning kecoklatan, j= kuning

Hasil secara berturut analisis KLT terhadap fraksi air dari daun nyirih dan kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) yang dilarutkan dalam metanol p.a menunjukkan bahwa nilai Rf memperlihatkan perbedaan sifat senyawa dan dapat dimanfaatkan untuk mengidentifikasi senyawa sehingga diantara 9 perbandingan fase gerak yang dibuat dalam pengujian ini dipilih perbandingan eluen n-heksana:etil asetat (6:4) dan (4:6) karena menghasilkan pemisahan yang optimal dengan nilai Rf yang menunjukkan pemisahan yang jelas antara komponen-komponen. Variasi perbandingan fase gerak (eluen) dilakukan untuk menentukan kondisi terbaik yang dapat digunakan dalam analisis KLT dengan penggunaan DPPH pada tahap selanjutnya (Naselia et al, 2020). Hasil dari perlakuan ini dapat dilihat pada Tabel 4.

Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Pada Kromatografi Lapis Tipis Fraksi N-Heksan Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus Granatum*) Serta Fraksi Air Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus Granatum*) Menggunakan DPPH

Table 5. Nilai Rf pada Kromatografi Lapis Tipis Fraksi N-Heksan Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*) Menggunakan DPPH

Sampel	Perbandingan Fase Gerak	Visual	UV 254	UV 366
Fraksi n-heksan daun nyirih	N-heksan:Etil asetat (2:8)	0,94 (a)(d)	0,94 (b)(d)	0,94 (c)(d)
				0,90 (c)
Fraksi n-heksan kulit batang nyirih	N-heksan:Etil asetat (4:6)	0,94 (a)(d)	-	-
		0,80 (a)(d)		
		0,23 (a)(d)		

Keterangan: a= putih kekuningan, b= kuning, c= jingga, d= positif antioksidan

Berdasarkan hasil analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang tercantum dalam Tabel 5, pemisahan komponen terbaik pada daun nyirih dan kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) dapat dicapai dengan menggunakan perbandingan eluen n-heksana:etil asetat sebesar (2:8) dan (4:6). Hasil ini

menunjukkan bahwa fraksi n-heksan dari daun nyirih dan kulit batang nyirih, ketika dilarutkan dalam metanol p.a, menghasilkan bercak noda berwarna putih kekuningan pada KLT. Bercak tersebut tampak lebih jelas karena latar belakangnya berwarna ungu. Pemilihan perbandingan eluen n-heksana:etil asetat (2:8) dan (4:6) ini memiliki implikasi penting untuk analisis KLT preparatif. Dalam konteks ini, perbandingan eluen tersebut akan digunakan dalam analisis lanjutan. Dalam percobaan preparatif, fraksi-fraksi yang diinginkan dari daun nyirih dan kulit batang nyirih akan dipisahkan dengan lebih efisien menggunakan perbandingan eluen yang telah ditentukan ini.

Table 6. Nilai Rf pada Kromatografi Lapis Tipis Fraksi Air Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*) Menggunakan DPPH

Sampel	Perbandingan Fase Gerak	Visual	UV 254	UV 366
Fraksi air daun nyirih	N-Heksan:Etil	0,94 (a)(g)	0,88 (a)(g)	0,96 (c)
	Asetat (6:4)	0,81 (a)(g)		0,94 (b)
Fraksi air kulit batang nyirih	N-Heksan:Etil Asetat (4:6)	0,88 (d)	0,97 (f)	0,76 (a)(g)
		0,78 (e)		0,90 (a)(g)
		0,34 (a)(g)		0,81 (e)
				0,37 (a)(g)

Keterangan: a= Putih kekuningan, b= Biru muda, c= Jingga, d= Kuning keputihan, e= Kuning, f= Hijau kekuningan, g= positif antioksidan

Berdasarkan hasil analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang tercantum dalam Tabel 6, pemisahan komponen terbaik pada daun nyirih dan kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) dapat dicapai dengan menggunakan perbandingan eluen n-heksana:etil asetat sebesar (6:4) dan (4:6). Hasil ini menunjukkan bahwa fraksi air dari daun nyirih dan kulit batang nyirih, ketika dilarutkan dalam metanol p.a, menghasilkan bercak noda berwarna putih kekuningan pada KLT. Bercak tersebut tampak lebih jelas karena latar belakangnya berwarna ungu.

Pada Kromatografi Lapis Tipis (KLT), bercak yang terlihat berwarna putih kekuningan dengan latar belakang berwarna ungu mengindikasikan adanya potensi aktivitas antioksidan pada senyawa tersebut, yang diuji menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Pada awalnya, larutan DPPH memiliki warna ungu yang intens. Namun, ketika senyawa yang memiliki sifat antioksidan bereaksi dengan DPPH, senyawa tersebut mereduksi DPPH, yang menyebabkan perubahan warna dalam larutan DPPH. Dalam proses ini, semakin kuat aktivitas antioksidan dari senyawa yang diuji, maka warna ungu dalam larutan DPPH akan semakin pudar seiring dengan waktu. Bahkan, dalam kasus di mana aktivitas antioksidan sangat kuat, larutan DPPH dapat mengalami perubahan warna menjadi kuning atau bahkan tidak memiliki warna sama sekali. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa bercak putih kekuningan pada KLT dengan latar belakang ungu menandakan adanya senyawa dengan potensi aktivitas antioksidan yang dapat mereduksi DPPH. Semakin kuat aktivitas antioksidan dari senyawa tersebut, semakin signifikan perubahan warna yang terjadi dalam larutan DPPH, dari ungu menuju ke kuning atau bahkan tidak ada warna, mengindikasikan kemampuan senyawa tersebut dalam melawan oksidasi (Fadillaturrahman, 2021; Muthia et al., 2019).

Hasil Pengujian Kromatografi Lapis Tipis Preparatif Fraksi N-Heksan Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus Granatum*) Serta Fraksi Air Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus Granatum*)

Table 7. Hasil Dari Berat Isolat Pengujian KLT Preparatif Fraksi N-Heksan Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*) Menggunakan Fase Gerak N-heksan:etil asetat

Sampel	Perbandingan Fase Gerak	Pita	Berat (gram)
Fraksi n-heksan daun nyirih	N-heksan:Etil asetat (2:8)	1	0,02
		2	0,03
		3	0,02
		4	0,04
Fraksi n-heksan kulit batang nyirih	N-heksan:Etil asetat (4:6)	1	0,03
		2	0,04
		3	0,02
		4	0,03
		5	0,05
		6	0,05

Tabel 7 menunjukkan hasil pengujian KLT preparatif fraksi n-heksan daun nyirih dan kulit batang nyirih (*xylocarpus granatum*) dengan menggunakan fase gerak n-Heksan : etil asetat (2:8) dan (4:6) secara berturut memperlihatkan pola kromatogram sebanyak 4 pita dan 6 pita yang akan dikerok sebelum dilakukan pengerokan pinggir plat disemprot DPPH dahulu agar mengetahui noda mana yang akan dikerok, jika berwarna kuning pucat tampak dipinggir plat maka noda tersebut yang akan dikerok, kemudian serbuk yang didapatkan dikumpulkan dan dilarutkan menggunakan metanol p.a, hingga didapat larutan bening pada vial yang akan diuapkan menggunakan hairdrier hingga metanol p.a menguap seluruhnya menyisakan isolat pada pelarut. Pada fraksi n-heksan daun nyirih menghasilkan berat plat dari 4 pita yang dihasilkan yaitu 0,02 gram, 0,03 gram, 0,02 gram dan 0,04 gram. Sedangkan fraksi n-heksan kulit batang nyirih menghasilkan berat plat dari 6 pita yang dihasilkan yaitu 0,03 gram, 0,04 gram, 0,02 gram, 0,03 gram, 0,05 gram, dan 0,05 gram.

Table 8. Hasil Dari Berat Isolat Pengujian KLT Preparatif Fraksi Air Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus granatum*) Menggunakan Fase Gerak N-heksan:etil asetat

Sampel	Perbandingan Fase Gerak	Pita	Berat (gram)
Fraksi air daun nyirih	N-heksan:Etil asetat (6:4)	1	0,04
		2	0,02
		3	0,02
		4	0,03
Fraksi air kulit batang nyirih	N-heksan:Etil asetat (4:6)	1	0,06
		2	0,04
		3	0,06
		4	0,05
		5	0,04

Tabel 8 menunjukkan hasil pengujian KLT preparatif fraksi air daun nyirih dan kulit batang nyirih (*xylocarpus granatum*) dengan menggunakan fase gerak n-Heksan : etil asetat (2:8) dan (4:6) secara berturut memperlihatkan pola kromatogram sebanyak 4 pita dan 5 pita yang akan dikerok sebelum dilakukan pengerokan pinggir plat disemprot DPPH dahulu agar mengetahui noda mana yang akan dikerok, jika berwarna kuning pucat tampak dipinggir plat maka noda tersebut yang akan dikerok, kemudian serbuk yang didapatkan dikumpulkan dan dilarutkan menggunakan metanol p.a, hingga didapat larutan bening pada vial yang akan diuapkan menggunakan hairdrier hingga metanol p.a menguap seluruhnya menyisakan

isolat pada pelarut. Pada fraksi air daun nyirih menghasilkan berat plat dari 4 pita yang dihasilkan yaitu 0,04 gram, 0,02 gram, 0,02 gram dan 0,03 gram.. Sedangkan fraksi air kulit batang nyirih menghasilkan berat plat dari 5 pita yang dihasilkan yaitu 0,06 gram, 0,04 gram, 0,06 gram, 0,05 gram dan 0,04 gram.

Cara rekristalisasi termasuk kedalam pemurnian isolat yaitu suatu proses pengkristalan kembali sehingga dilakukan penguapan pelarut hingga pelarut sudah tidak tersisa lagi (Amaliah et al., 2020).

Hasil Penentuan Nilai Antioksidan Isolat Dari Hasil KLT Preparatif Fraksi N-Heksan Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus Granatum*) Serta Fraksi Air Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus Granatum*)

Table 9. Hasil Penentuan Nilai Antioksidan Isolat Dari Hasil KLT Preparatif Fraksi N-Heksan Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus Granatum*) Serta Fraksi Air Daun Nyirih Dan Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus Granatum*)

Sampel	Perbandingan Fase Gerak	Koefesien korelasi	IC50 (ppm)
Isolat fraksi n-heksan daun nyirih	N-heksan:Etil asetat (2:8)	0,9341	1,1880
Isolat fraksi n-heksan kulit batang nyirih	N-heksan:Etil asetat (4:6)	0,9429	2,1923
Isolat fraksi air daun nyirih	N-heksan:Etil asetat (6:4)	0,9512.	46,910
Isolat fraksi air kulit batang nyirih	N-heksan:Etil asetat (4:6)	0,9156.	0,3631

Pada semua isolat fraksi n-heksan daun nyirih yang diujikan pada ELISA Reader hanya pada pita 1 yang memenuhi kriteria sebagai antioksidan yang kuat yaitu 1,1880 ppm dengan nilai koefesien korelasi 0,9341. Sedangkan semua isolat fraksi n-heksan kulit batang nyirih yang diujikan pada ELISA Reader hanya pada pita 5 yang memenuhi kriteria sebagai antioksidan yang kuat yaitu 2,1923 ppm dengan nilai koefesien korelasi 0,9429. Hasil dapat dilihat pada tabel 9.

Pada semua isolat fraksi air daun nyirih yang diujikan pada ELISA Reader hanya pada pita 4 yang memenuhi kriteria sebagai antioksidan yang kuat yaitu 46,910 ppm dengan nilai koefesien korelasi 0,9512. Sedangkan semua isolat fraksi air kulit batang nyirih yang diujikan pada ELISA Reader hanya pada pita 1 yang memenuhi kriteria sebagai antioksidan yang kuat yaitu 0,3631 ppm dengan nilai koefesien korelasi 0,9156. Hasil dapat dilihat pada tabel 9.

Dari ke 4 sampel yang diuji pada ELISA Reader telah memenuhi kriteria sebagai antioksidan yang kuat. Kriteria antioksidan yang kuat yaitu tidak lebih besar dari 50 ppm nilai IC50 yang diperoleh (Arsianti et al., 2020). Tingkat hubungan dikatakan kuat apabila garis regresi antara sumbu X dan sumbu Y menunjukkan hasil koefesien korelasi antara 0,8000 – 1,0000 (Sanny dan Dewi, 2020).

Dalam penelitian ini, nilai IC50 merupakan konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk mencapai 50% penghambatan aktivitas radikal bebas DPPH. Untuk menghitungnya, dilakukan analisis regresi linier antara konsentrasi (ppm) dan persentase penghambatan (%). Dengan menggantikan nilai "y" dengan 50% dalam persamaan regresi sehingga dapat menentukan nilai IC50 sebagai konsentrasi yang diperlukan untuk mencapai 50% penghambatan (Chewchinda et al., 2021; Sinala et al., 2020).

KESIMPULAN

Pemisahan fraksi n-heksan dari daun nyirih dan kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) serta fraksi air dari daun nyirih dan kulit batang nyirih (*Xylocarpus granatum*) dengan berbagai perbandingan n-heksan:etil asetat (eluen) telah dilakukan. Hasil percobaan menunjukkan bahwa perbandingan eluen terbaik

secara berturut-turut adalah 2:8, 4:6, 6:4, dan 4:6. Selain itu, hasil percobaan juga mengungkapkan bahwa nilai aktivitas antioksidan yang diperoleh secara berturut-turut adalah 1,1880 ppm, 2,1923 ppm, 46,910 ppm, dan 0,3631 ppm.

REFERENSI

- Abdulkadir, W. D., Pakaya, M. S., Ramadhani, F. N., Uno, W. Z., Salama, A. (2023). Analisis Kualitatif Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antioksidan Jamur Endofit Cangkang Bulu Babi (*Diadema setosum*). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*. 3(2): 280-290.
- Amaliah, N., Salempa, P., Muharram. (2020). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Fraksi Metanol Batang Belajang Susu (*Scindapsus pictus* Hassk). *Jurnal Chemica*. 1(21): 78-85.
- Anton, A., Yudistira, A., & Siampa, J. P. (2021). Antioxidant Activity Test of Ethanol Extracts Of Sponge *Ianthella basta* From Tumbak Village Waters Pusomaen District Southeast Regency. *Pharmacon*, 10(1), 713-719.
- Arisa, D. (2022). Profil Noda Ekstrak Kloroform:Metanol (2:1) Dan Aktivitas Bioassay Brine Shrimp Lethality Test (Bslt) Daun Nyirih (*Xylocarpus granatum*). Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Tjut Nyak Dhien.
- Arsianti, A., Bahtiar, A., Wangsaputra, V. K., Azizah, N. N., Fachri, W., Nadapdap, L. D., Fajrin, A. M., Tanimoto, H., Kakiuchi, K. (2020). Phytochemical Composition and Evaluation of Marine Algal *Sargassum polycystum* for Antioxidant Activity and In Vitro Cytotoxicity on Hela Cells. *Pharmacognosy Journal*. Jan-Feb, 2020. 12(1): 88-94.
- Bahriul, P. U. A. A. E. D. S. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), 368–374.
- Chewchinda, S., Suriyaphan, O., Kanchanadumkerng, P., Sato, H., Sato, V. H. (2021). Comparison of Antioxidant and α -Glucosidase Inhibitory Activities in Different Cultivars of Five Mango (*Mangifera Indica* L.) Leaf Extracts. *Chiang Mai University Journal of Natural Sciences*. 20(1): 1-16.
- Darmadi, J., Batubara, R. R., Himawan, S., Azizah, N. N., Audah, H. K., Arsianti, A., ... & Audah, K. A. (2021). Evaluation of Indonesian mangrove *Xylocarpus granatum* leaves ethyl acetate extract as potential anticancer drug. *Scientific reports*, 11(1), 6080.
- Das, S. K., Prusty, A., Samantaray, D., Hasan, M., Jena, S., Patra, J. K., ... & Thatoi, H. (2019). Effect of *Xylocarpus granatum* bark extract on amelioration of hyperglycaemia and oxidative stress associated complications in STZ-induced diabetic mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019.
- Djamaluddin, R. (2018). *Mangrove Biologi, Ekologi, Rehabilitasi, dan Konservasi*. Cetakan Pertama. Manado: Unsrat Press. Halaman 1.
- Djuwarno, E. N., Hasan, H., Pakaya, M. S., Hiola, F., Dewi, D. A. P. (2022). Isolasi dan Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Daun Andong (*Cordyline fruticosa* (L) A.Chev). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*. 4(3): 696-708.
- Fadlilaturrahmah, Putra, A. M. P., Nor, T. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan dan Antitirosinase Fraksi n-Butanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack.) Secara Kualitatif Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Pharmascience*. Oktober 2021. 8(2): 90-101.
- Fasya, A. G., Purwantoro, B., Ulya, L. H., Ahmad, M. (2019). Aktivitas Antioksidan Isolat Steroid Hasil Kromatografi Lapis Tipis dari Fraksi n- Heksana *Hydrilla verticillata*. *ALCHEMY: Journal Of Chemistry*. 8(1): 23- 34
- Fernanda, M. A. H. F., Sa'adi, A., Sudjarwo. (2019). Verifikasi Linieritas Kurva Baku Testosteron Menggunakan Metode ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). *Journal of Research and Technology*. 5(1): 50-56.

- Gabariel, E., Yoswaty, D., Nursyirwani. (2019). Daya Hambat Ekstrak *Xylocarpus Granatum* terhadap Bakteri Patogen (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichiacoli* dan *Vibrio alginolyticus*). *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*. 24(2): 114- 118.
- Handajani, F. (2019). Oksidan Dan Antioksidan Pada Beberapa Penyakit Dan Proses Penuaan. Cetakan Pertama. Sidoarjo: Zifatama Jawa. Halaman 1.
- Heryanto, R., Putra, C. A., Khalil, M., Rafi, M., Putri, S. P., Karomah, A. H., Batubara, I. (2023). Antioxidant Activity and Metabolite Profiling of *Xylocarpus granatum* Extracts Using Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Metabolites* 2023. 13(156): 1-13.
- Li, W., Wang, H., Ying, X., Liang, Z., Li, J., Chen, X., ... & Zhang, X. (2023). Aptasensors with palladium nanoparticles-modified hemin-containing metal-organic frameworks as signal marker for detection of exosomes. *Analyst*.
- Muthia, R., Saputri, R., dan Verawati, S.A. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Mundar (*Garcinia forbesii* King.) Menggunakan Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil). 6(1): 74-82.
- Naselia, U. A., Septiani, Silalahi, I. H., Rahmalia, W., (2020). Isolasi Dan Karakterisasi Pigmen Bixin Dari Tanaman Kesumba (*Bixa orellana* L.). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 8(3): 53-61.
- Parveen, A., Zahiruddin, S., Agarwal, N., Siddiqui, M.A., Ansari, S.H., Ahmad, S. (2021). effects of the synergistic combination of extracts of herbal drugs on cyclophosphamide-induced immunosuppressed mice. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 28(11): 6178-6190.
- Rahmi, H. (2017). Review : Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Sumber Buah- buahan di Indonesia. *Jurnal Agrotek Indonesia*. 2 (1) : 34-38.
- Rizalina, H., Cahyono, E., Mursiti, S., Nurcahyo, B., Supartono. (2018). Optimasi Penentuan Kadar Metanol dalam Darah Menggunakan Gas Chromatography. *Indonesian Journal of Chemistry Science*. 7(3): 254-261.
- Sanny, B.I. dan Dewi, R.K. (2020). Pengaruh Net Interest Margin (NIM) Terhadap Return on Asset (ROA) Pada PT Bank Pembangunan Daerah Jawa Barat Dan Banten Tbk Periode 2013-2017. *Jurnal E-Bis (Ekonomi-Bisnis)*. 4(1): 78-87.
- Saptiani, G., Sidik, A. S., Ardhani, F., Hardi, E. H. (2020). Response of Hemocytes Profile in The Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*) Against *Vibrio harveyi* Induced By *Xylocarpus granatum* Leaves Extract. *Veterinary World*. 13(4): 751-757.
- Seo, J., Shin, Y. H., Jo, S. J., Du, Y. E., Um, S., Kim, Y. R., Moon, K. (2022). Cystargamides C and D, New Cyclic Lipopeptides From a Tidal Mudflat- Derived *Streptomyces* sp. JMS132. *Frontiers in Microbiology*. Vol. 13: 1-10.
- Sinala, S., Ibrahim, I., Salasa, A. M. (2020). The Ability Free Radical Binding of Dengen's Stem Bark Extract (*Dillenia serrata*) From Luwu District Indonesia. *Pharmacognosy Journal*. Nov-Dec 2020. 12(6): 1340-1345.
- Suhaera, Mayefis, D., Santika, R., Vonikartika, A. (2022). Aktivitas Antioksidan Dan Toksisitas Ekstrak Etil Asetat Dan N-Heksan Daun Nyireh (*Xylocarpus granatum* J. Koenig). *Jurnal Endurance : Kajian Ilmiah Problema Kesehatan*. October 2022. 7(3): 500-505.
- Suhardiman, A., Roni, A., Febrianty, A. E. D. (2018). Isolasi Senyawa Aktif Antioksidan Rimpang Gandasuli (*Hedychium coronarium*). *Journal of Pharmacopolium*. Desember 2018. 1(3): 114-121.
- Sumardi, Masfria, Basyuni, M., Septama, A. W. (2022). Potential of Polyisoprenoid of Mangroves as Antimicrobial and Anticancer: A Bibliometric Analysis. *Science and Technology Indonesia*. January 2022. 7(1): 22-28.
- Yodha, A. W. M., Abdillah, M., Indalifiany, A., Elfahmi, Chahyadi, A., Sahidin. (2021). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Dari Ekstrak Metanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*). *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis (JFSP)*. Desember 2021. 7(3): 214-223.