
UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI *n*-HEKSAN EKSTRAK ETANOL DAUN KARIKA (*Carica pubescens*) DAN IDENTIFIKASI SENYAWA ALKALOID DAN FLAVONOIDNYA

Annis Mu'awwanah dan Maria Ulfah

Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang

e-mail: mariau_astra@yahoo.com

ABSTRACT

Free radicals can lead to various dangerous diseases, such as cancer. Active compounds from medicinal plants such as flavonoids and alkaloids have been shown the antioxidant effects and may serve to prevent the negative effects of free radicals. Two of these compounds have been identified in leaf extract (*Carica pubescens*) and can be separated from other compounds with fractionation method. The purpose of this study was to determine the antioxidant activity of *n*-hexane fraction of karika leaves ethanol extract (HFKLEE) with DPPH method and identify its alkaloids and flavonoids compounds. Antioxidant activity of HFKLEE series concentration (50; 100; 150; 200; 250 and 300) ppm was performed by the DPPH method. Vitamin C series concentration (0.5; 1.0; 1.5; 2.0 and 2.5) ppm was used as a standard solution. Identification of alkaloids and flavonoids compound in HFKLEE determined by the thin layer chromatography (TLC) method. The results showed that HFKLEE has antioxidant activity with IC₅₀ values of 157.134 ppm and Vitamin C at 2.875 ppm. TLC results indicate the presence of alkaloids and flavonoids compounds in HFKLEE.

Key words: Karika leaves (*Carica pubescens*), *n*-hexane fraction, antioxidant, flavonoids and alkaloids

PENDAHULUAN

World Health Organization (2014) menyebutkan bahwa polusi udara di perkotaan dapat menyebabkan 1,3 juta kematian di seluruh dunia setiap tahunnya. Selain polusi udara, pembentukan radikal bebas juga dipicu makanan yang digoreng, dibakar, paparan sinar UV dari matahari yang berlebihan dan obat-obat tertentu (Winarsi, 2007). Radikal bebas di dalam tubuh dapat merusak struktur maupun fungsi sel. Sebagai akibatnya adalah kerusakan jaringan yang memicu terjadinya penuaan dini, timbulnya berbagai penyakit seperti kanker, jantung, paru, lambung, sistem imun dan mata (Tjay dan Raharja, 2010). Radikal bebas dalam tubuh dapat diatasi oleh antioksidan alami tubuh. Namun, jumlah radikal bebas yang tinggi, mengakibatkan antioksidan alami dalam tubuh tidak mampu lagi mengatasinya, maka diperlukan asupan antioksidan dari luar tubuh, misalnya buah, sayur, suplemen, vitamin dan lain-lain.

Saat ini, orang lebih memilih untuk menggunakan obat tradisional dibandingkan dengan obat modern. Obat tradisional dinilai aman dan memberikan efek samping yang relatif kecil (Sari, 2006). Obat herbal dapat dibuat dengan memanfaatkan tanaman, seperti buah, kulit buah, kulit batang, daun, bunga, akar bahkan biji buah. Bagian tanaman tersebut diambil sari atau bahan aktifnya yang berkhasiat sebagai obat.

Novalina (2013) menyatakan bahwa ekstrak daun karika (*Carica pubescens*) mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, dan fenol. Penelitian Hanani dkk. (2005) menunjukkan bahwa ekstrak *Spongyia sp* mengandung senyawa alkaloid yang berkhasiat sebagai antioksidan. Fraksi *n*-heksan ekstrak metanol daging buah dan kulit biji mahkota dewa yang mengandung flavonoid mempunyai aktivitas antioksidan (Lisdawati dan Kardono, 2006). Susilowati dkk. (2012) menyebutkan bahwa pelarut *n*-heksan mampu menyari senyawa flavonoid dari ekstrak etanol herba alfalfa.

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efek antioksidan dari seri konsentrasi fraksi *n*-heksan ekstrak etanol daun karika (FHEEDK) dengan menggunakan metode 1,1 difenil-2-

pukrilhidrazil (DPPH). Simplisia daun karika diekstraksi dengan etanol 96% dan difraksinasi dengan pelarut *n*-heksan. Seri konsentrasi larutan vitamin C standar digunakan sebagai pembanding. Potensi antioksidan ditetapkan berdasarkan nilai IC_{50} . Senyawa flavonoid dan alkaloid dalam FHEEDK ditetapkan berdasarkan metode kromatografi lapis tipis (KLT).

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan adalah daun karikayang dipetik dari pohon karika yang tumbuh di perkebunan karika di Desa Sembungan, Pegunungan Dieng, Wonosobo, Jawa Tengah. Berbagai bahan lain yang digunakan adalah etanol 96% (Brataco), *n*-heksan, air, kloroform, pereaksi Dragendorff, uap amoniak, asam klorida (HCl) pekat, silika gel 60 F254, metanol, ammonia, butanol, asam asetat, dietil eter, kuinin (E. Merck) dan rutin (kuersetin 3-rutinosid) (E. Merck).

Alat Penelitian

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat maserasi, pengaduk kayu, timbangan elektrik (Ohaus), oven (Memmert), blender (Philips), *moisture balance* (Ohaus), *vacuum rotary evaporator* (Heidolph), corong Buchner, ayakan, wadah ekstrak, seperangkat alat gelas (Pyrex), corong pisah (Pyrex), mikropipet (Socorex), stirer, spektrofotometer UV-Visibel (Shimadzu), timbangan elektrik (Ohaus), lempeng KLT, bejana kromatografi (Camag), lampu UV 254 nm dan 366 nm (Camag) dan botol semprot.

Pembuatan Fraksi *n*-Heksan Ekstrak Etanol Daun Karika

Daun karika disortasi basah dengan membuang bagian tangkai daunnya, dicuci menggunakan air bersih yang mengalir, kemudian ditiriskan dan diangin-anginkan. Daun selanjutnya dikeringkan dan dihaluskan menggunakan blender. Serbuk yang didapat diayak agar diperoleh serbuk dengan derajat halus yang seragam, serta diukur kadar airnya dengan menggunakan alat *moisture balance*.

Serbuk simplisia daun karika sebanyak 1,0 kg diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan 10 L etanol 96%. Cairan penyari etanol 96% dibagi menjadi dua bagian. Perbandingan pelarut pertama dan kedua adalah 70%:30%. Serbuk daun karika dibiarkan terendam selama lima hari, sambil diaduk. Campuran serbuk simplisia daun karika dan etanol 96%, Selanjutnya disaring dan diperoleh maserat I dan ampas. Ampas ditambah dengan sisa etanol 96% dan diperlakukan sama dengan maserasi sebelumnya selama dua hari. Campuran serbuk simplisia dan etanol 96% disaring kembali menghasilkan maserat II dan ampas. Ampas dibuang, sementara Maserat I dan maserat II dicampur, kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 50 °C.

Sebanyak 60,0 gram ekstrak etanol daun karika kental difraksinasi dengan jalan partisi cair-cair menggunakan pelarut *n*-heksan dan air. Fraksinasi dilakukan dengan melarutkan ekstrak kental ke dalam campuran air dan etanol (9:1). Larutan tersebut dimasukkan dalam corong pisah dan ditambah *n*-heksan. Jumlah *n*-heksan yang digunakan sebanding dengan jumlah air-etanol yang ditambahkan ke dalam ekstrak etanol (1:1). Fraksi *n*-heksan yang terbentuk (lapisan atas) dipisahkan Fraksi air-etanol digojog kembali menggunakan *n*-heksan hingga fraksi *n*-heksan jernih. Fraksi *n*-heksan yang diperoleh dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 45 °C.

Uji aktivitas antioksidan FHEEDK dan Vitamin C dengan metode DPPH

Sampel larutan uji FHEEDK dibuat dalam seri konsentrasi (50; 100; 150; 200; 250 and 300) ppm dan larutan vitamin C standar dalam seri konsentasi (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 and 2,5) ppm. Larutan DPPH 0,1 mM sebanyak 2,0 mL ditambahkan masing-masing 2,0 mL sampel, kemudian distirer selama satu menit. Campuran larutan tersebut didiamkan dalam tempat gelap selama 30 menit, selanjutnya dibaca absorbansi DPPH dengan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516,6 nm. Persen penghambatan sampel dihitung menggunakan rumus:

$$\%Aktivitas\ antioksidan = \frac{Abs_{kontrol} - Abs_{perlakuan}}{Abs_{kontrol}} \times 100 \%$$

Keterangan:

Abs kontrol : Absorbansi larutan DPPH 0,1 mM.

Abs perlakuan : Absorbansi larutan DPPH 0,1 mM dalam sampel seri konsentrasi FHEEDK atau vitamin C

Identifikasi Senyawa Golongan Alkaloid dengan Metode KLT

Sampel FHEEDK seberat 100 mg ditambahkan dengan 2,0 mL amoniak 10% dan divortex selama dua menit. Selanjutnya, 5,0 mL kloroform ditambahkan dan divortex selama dua menit. Campuran larutan tersebut disentrifugasi selama tiga menit, fase kloroform dipisahkan dan diuapkan dengan gas nitrogen. Fase kloroform dilarutkan dalam 200,0 µL kloroform. Sampel dan senyawa kuinin standar (pembanding) ditotolkan sebanyak 20,0 µL pada fase diam silika gel 60 F254. Fase diam dimasukkan ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhi oleh fase gerak metanol : ammonia (100 :1,5). Fase diam dielusi hingga batas (8 cm), diangkat dan dikeringkan. Bercak disemprot dengan pereaksi Dragendorff. Sampel FHEEDK terbukti mengandung senyawa ktif golongan alkaloid apabila terbentuk bercak berwarna kuning orange.

Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid dengan Metode KLT

Sampel FHEEDK seberat 50,0 mg dimasukkan ke dalam labu alas bulat dan dilarutkan dengan 10,0 mL asam klorida 4 N. Selanjutnya, larutan dihidrolisis/refluk dengan pendingin balik selama 30 menit, didinginkan dan diekstraksi dengan 5,0 mL pelarut dietileter. Fase dietileter diambil dan diuapkan dengan gas nitrogen. Larutan sampel sebanyak 10,0 µL dan pembanding rutin ditotolkan pada fase diam silika gel 60 F254. Fase diam dimasukkan ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhi dengan berisi fase gerak butanol-asam asetat-air (3:1:1) dan dielusi hingga batas (8 cm). Fase diam dikeringkan dan bercak diamati di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Uap amoniak digunakan sebagai pereaksi semprot penampang bercak. Terbentuknya spot berwarna kuning menunjukkan adanya senyawa flavonoid dalam sampel FHEEDK.

Analisa data

Potensi antioksidan dinyatakan dalam bentuk nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ FHEEDK dan vitamin C ditetapkan dengan menggunakan analisis probit pada taraf kepercayaan 95 %.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

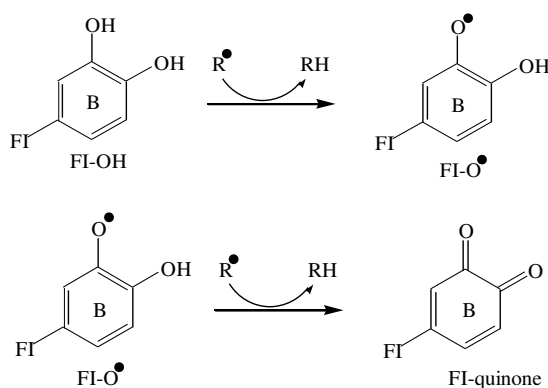
Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Karika

Ekstrak kental daun karika yang diperoleh dari 1000,0 gram serbuk kering daun karika adalah 145,0 gram, sehingga diperoleh rendemen ekstrak sebesar 14,5%. Ekstrak etanol daun karika yang diperoleh berwarna hijau kehitaman, bertekstur sangat kental dan berbau khas. Ekstrak etanol daun karika disimpan dalam tempat yang terlindung dari sinar matahari langsung. Cahaya matahari dapat menimbulkan terjadinya reaksi dikatalisis yang dapat merusak senyawa aktif (Voight, 1994). Setelah dilakukan fraksinasi, FHEEDK yang diperoleh dari 60,0 gram ekstrak etanol daun karika adalah sebanyak 15,0 gram. FHEEDK yang diperoleh berwarna hijau pekat, memiliki tekstur yang kental dan berbau khas dengan rendemen sebesar 25%.

Aktivitas Antioksidan FHEEDK dan Vitamin C

Hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan bahwa FHEEDK dan vitamin C mampu menangkap radikal bebas DPPH yang ditandai dengan perubahan warna ungu yang memudar menjadi kuning pucat. Hal tersebut terjadi karena adanya reduksi elektron tunggal pada radikal DPPH oleh atom hidrogen dari senyawa antioksidan. Pemberian atom hidrogen dari antioksidan akan membentuk senyawa difenilpicrilhidrazin tereduksi (DPPH-H) yang bersifat non radikal. Akibat reaksi tersebut, terjadi peningkatan senyawa kompleks non radikal dan penurunan radikal bebas DPPH. Jumlah DPPH yang tersisa diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis

dengan panjang gelombang 516,6 nm (Molyneux, 2004). Mekanisme reaksi pemadaman radikal bebas DPPH dapat dilihat pada gambar 1. Hasil uji aktivitas antioksidan FHEEDK dan vitamin C dapat dilihat pada tabel I.



Gambar 1. Penangkapan spesies oksigen reaktif (R^\bullet) oleh flavonoid (Pietta, 2000)

Tabel I. Aktivitas Antioksidan FHEEDK dan vitamin C dengan metode DPPH

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Aktivitas Antioksidan (%)*	Persamaan Probit	IC ₅₀ (ppm)
Fraksi n-Heksan Ekstrak Etanol Daun Karika	50	26,979	$y = 0,490 x + 0,574$ $r = 0,999$	157,134
	100	42,434		
	150	46,419		
	200	51,427		
	250	55,627		
Vitamin C	300	71,782	$y = 0,405 x + 0,306$ $r = 0,987$	2,875
	0,5	22,025		
	1,0	24,610		
	1,5	36,564		
	2,0	42,488		
	2,5	50,458		

*hasil tersebut merupakan hasil dari 3 kali pengukuran

FHEEDK dan vitamin C dinyatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila mampu mengurangi kadar radikal bebas larutan DPPH 0,1 mM yang ditandai dengan semakin rendahnya nilai absorbansi yang terbaca pada alat spektrofotometer UV-Vis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan FHEEDK memiliki korelasi yang positif dengan konsentrasi. Peningkatan konsentrasi sampel FHEEDK dan vitamin C mengakibatkan penurunan kadar radikal bebas larutan DPPH 0,1 mM.

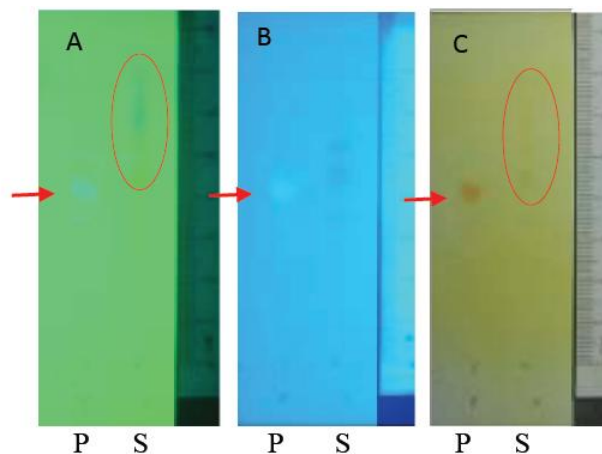
Potensi antioksidan suatu senyawa dinyatakan dalam ukuran nilai *inhibition concentration* (IC₅₀) yang dapat diperkirakan menggunakan analisis probit. Nilai ini menggambarkan kemampuan suatu senyawa dalam mengurangi senyawa radikal bebas larutan DPPH 0,1 mM sebesar 50%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ FHEEDK sebagai antioksidan adalah sebesar 151,134 ppm dan nilai IC₅₀ vitamin C adalah 2,875 ppm. Nilai IC₅₀ berbanding terbalik dengan potensi antioksidannya. Semakin kecil nilai IC₅₀ suatu senyawa, maka semakin kuat daya antioksidannya, begitupun sebaliknya. Menurut Blois (1958), senyawa antioksidan dengan nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm memiliki daya antioksidan yang kuat, dan senyawa antioksidan dengan nilai IC₅₀ antara 150-200 ppm memiliki daya antioksidan lemah. Berdasarkan nilai IC₅₀, potensi antioksidan FHEEDK termasuk dalam kategori lemah, sedangkan daya antioksidan vitamin C sangat kuat. Hal ini mungkin disebabkan karena masih ada senyawa lain yang terkandung dalam FHEEDK yang mengganggu aktivitas antioksidannya, seperti lapisan lilin daun dan mengakibatkan

kadar senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan yang adalah dalam fraksi lebih sedikit. Vitamin C merupakan senyawa tunggal bersifat reduktor dan sangat poten sebagai antioksidan.

Identifikasi Senyawa Golongan Alkaloid dan Flavonoid dengan Metode KLT

Identifikasi senyawa golongan alkaloid dengan KLT dilakukan menggunakan fase diam silika gel 60 F254 karena baik untuk memisahkan senyawa alkaloid (Sastrohamidjojo, 2002). Perbandingan yang digunakan adalah senyawa kuinin. Pengamatan juga dilakukan di bawah sinar UV 254 nm, sinar UV 365 nm dan secara visibel. Penampak bercak untuk identifikasi alkaloid adalah pereaksi semprot Dragendorff.

Hasil identifikasi di bawah sinar UV 254 nm menunjukkan bahwa bercak sampel FHEEDK mampu meredamkan fluoresensi silika gel 60 F 254, namun tidak terjadi pada kuinin. Senyawa kuinin berfluoresensi biru di bawah sinar UV 254 nm. Sementara itu, bercak sampel FHEEDK tidak terlihat setelah disinari dengan sinar UV 366 nm, sedangkan bercak perbandingan kuinin berfluoresensi biru. Hasil pengamatan secara visibel setelah bercak sampel FHEEDK dan perbandingan kuinin disemprot dengan pereaksi semprot Dragendorff menunjukkan bercak berwarna kuning orange. Oleh karena itu, sampel FHEEDK dinyatakan positif mengandung senyawa golongan alkaloid (Robinson, 1995). Hasil identifikasi senyawa golongan alkaloid FHEEDK dapat dilihat pada gambar 2.



Keterangan :

- Fase diam : Silika gel 60 F254
- Fase gerak : Metanol : Amonia (100:1,5)
- Penampak bercak : Dragendorff
- A : Pengamatan pada sinar UV 254 nm
- B : Pengamatan pada sinar UV 365 nm
- C : Pengamatan secara visibel
- P : Perbandingan kuinin
- S : fraksi n-heksan ekstrak etanol daun karika

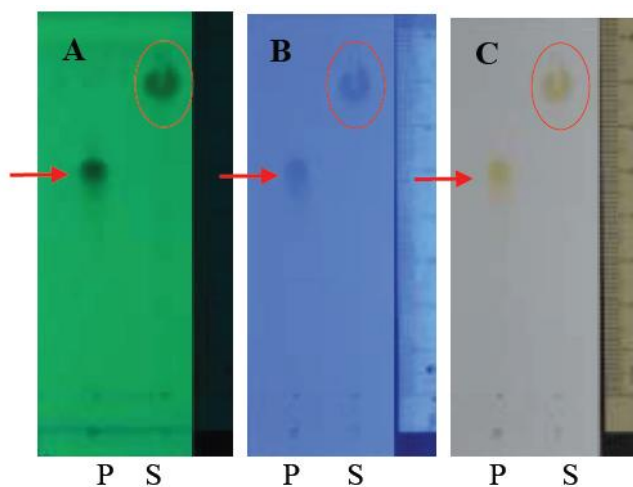
Gambar 2. Hasil identifikasi senyawa alkaloid dari fraksi n-heksan ekstrak etanol daun karika

Perbedaan sifat dan tingkat kepolaran senyawa alkaloid dalam FHEEDK dan kuinin dapat dilihat dari perbedaan nilai Rf bercak. Nilai Rf bercak sampel FHEEDK adalah sebesar 0,65 dan Rf kuinin adalah 0,51. Oleh karena itu, penelitian ini menyimpulkan bahwa senyawa alkaloid dalam FHEEDK memiliki sifat dan tingkat kepolaran yang berbeda dengan kuinin.

Analisis bercak senyawa golongan flavonoid pada plat KLT dilakukan dengan menggunakan penampak bercak uap amoniak untuk memberikan suasana basa. flavonoid dalam larutan netral atau asam merupakan senyawa tidak berwarna. Akan tetapi, senyawa flavonoid akan berwarna terang atau jingga dalam suasana basa dan bercak akan dapat terdeteksi secara visibel maupun di bawah sinar ultraviolet. Perbandingan yang digunakan dalam identifikasi senyawa golongan flavonoid adalah senyawa rutin yang merupakan glikosida flavonol. Senyawa ini

digunakan sebagai pembanding karena merupakan jenis flavonoid yang paling sering dijumpai pada pemeriksaan flavonoid, banyak terdapat dalam tumbuhan dan tersebar luas dalam pigmen tanaman (Harborne, 1987).

Pengamatan bercak dilakukan di bawah sinar UV 254 nm, 366 nm dan secara visibel. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa bercak sampel FHEEDK dan rutin berwarna coklat di bawah sinar UV 254 nm dan secara visibel berwarna kuning. Bercak sampel FHEEDK dan pembanding rutin berwarna biru setelah dilihat di bawah sinar UV 366 nm. Hal ini menunjukkan bahwa sampel FHEEDK memiliki senyawa aktif golongan flavonoid. Wagner and Bladt (2001) menyebutkan bahwa flavonoid dapat berfluoresensi dan memberikan warna kuning, hijau, maupun biru serta berwarna kuning lebih intens setelah diuapi amoniak. Hasil identifikasi senyawa flavonoid dalam FHEEDK dapat dilihat pada Gambar 3.



Keterangan :

- Fase diam : Silika gel 60 F254
- Fase gerak : Butanol : Asam Asetat : Air (3:1:1)
- Penampak bercak : Uap amoniak
- A : Pengamatan pada sinar UV 254 nm
- B : Pengamatan pada sinar UV 365 nm
- C : Pengamatan secara visible
- P : Pembanding rutin
- S : fraksi *n*-heksan ekstrak etanol daun karika

Gambar 3. Hasil identifikasi senyawa flavonoid dari fraksi *n*-heksan ekstrak etanol daun karika

Nilai Rf bercak sampel FHEEDK sebesar 0,82, sedangkan nilai Rf pembanding rutin adalah 0,56. Nilai Rf sampel yang lebih besar dibanding rutin menunjukkan bahwa senyawa aktif yang terdeteksi memiliki polaritas lebih rendah dibanding rutin dan jenis flavonoid yang terkandung dalam fraksi uji berbeda dengan rutin.

KESIMPULAN

Fraksi *n*-heksan ekstrak etanol daun karika (FHEEDK) mempunyai aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Nilai IC₅₀ FHEEDK adalah sebesar 157,1 ppm dan vitamin C sebesar 2,9 ppm. Senyawa golongan alkaloid dan flavonoid berhasil teridentifikasi dalam FHEEDK.

DAFTAR PUSTAKA

- Blois M.S., 1958, Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical, *Nature*, **18**, 1199-1200

- Gunawan D. dan Mulyani S., 2004, *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*, Jilid I, Cetakan I, 12-13, Penebar Swadaya, Jakarta
- Hanani E., Mun'im A. dan Sekarini R., 2005, Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam *Spongyella sp.* dari Kepulauan Seribu, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, **2**(3), 127-133
- Harborne J.B., 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinta dan Iwang Soediro, Institut Teknologi Bandung, Bandung
- Lisdawati V. dan Kardono L.B.S., 2006, Aktivitas Antioksidan dari Beberapa Fraksi Ekstrak Daging Buah dan Kulit Biji Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*), *Media Litbang Kesehatan* **16**(4), 1-7
- Molyneux, P., 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazil (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarin J. Science Technology*, **26**(2), 211-219
- Novalina D., 2013, Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Carica pubescens* dari Dataran Tinggi Dieng Terhadap Penyebab Diare, *Tesis*, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Pietta P.G., 2000, Flavonoids as Antioxidants, *J. Nat. Prod.*, **63**(7), 1035-1042
- Robinson T., 1995, *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*, Diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata., Institut Teknologi Bandung, Bandung
- Sari L.S.O.T., 2006, Pemanfaatan Obat Tradisional Dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, **3**(1), 1-7
- Sastrohamidjojo H., 2002, *Kromatografi*, Universitas Gadjah Mada Press, Yogyakarta.
- Susilowati S., Claesa A. dan Arifin I., Uji Sitotoksik Fraksi n-Heksan Ekstrak Etanol Herba Alfalfa (*Medicago sativa* L.) pada Sel T47D dan Sel Hela Serta Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia, *Jurnal Ilmu Farmasi & Farmasi Klinik*, **9**(2), 1-9
- Tjay T.H. dan Raharja, K., 2010, *Obat-obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek sampingnya*, Edisi VI, 643, PT. Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia, Jakarta
- Voight R., 1994, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, diterjemahkan oleh Soendari, N.S., Gadjah Mada University Press, Yogyakarta
- Wagner H. and Blatt S., 2001, *Plant Drugs Analysis: a Thin Layer Chromatography Atlas*, second edition, Springer Verlag Berlin Heidelberg, New York
- WHO., 2014, Air Pollution, <http://www.who.int/ceh/risks/cehair/en/>, diakses tanggal 1 November 2014
- Winarsi H., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, 19, Kansius, Yogyakarta
-