

Original Research

## **AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN SITOTOKSIK EKSTRAK N-HEKSANA DAN METANOL DAUN MANGGA (*Mangifera indica L.*)**

### **ANTIOXIDANT ACTIVITY AND CYTOTOXIC OF N-hexane AND METHANOL EXTRACT FROM MANGO LEAVES (*Mangifera indica L.*)**

Vina Juliana Anggraeni <sup>\*1</sup>, Asep Roni<sup>1</sup>, Sany Yulianti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana, Bandung, Indonesia, 40614

\*E-mail: [vina.juliana@bku.ac.id](mailto:vina.juliana@bku.ac.id)

Diterima: 14/09/20

Direvisi: 24/09/20

Disetujui: 27/10/20

#### **Abstrak**

Telah dilakukan uji antioksidan dan sitotoksik terhadap ekstrak n-heksana dan metanol daun mangga (*Mangifera indica L.*). Daun mangga diekstrak menggunakan metode maserasi bertingkat menggunakan 2 pelarut yang berbeda yaitu pelarut n-heksana dan metanol. Hasil maserasi dipekatkan kemudian diuji aktivitas antioksidan dan sitotoksiknya. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode spektrometri dengan pereaksi DPPH dan pembandingnya berupa vitamin C. Sedangkan untuk uji sitotoksik menggunakan metode BLST. Hasil pengujian menunjukkan kedua ekstrak memiliki aktivitas antioksidan dan sitotoksik. Pada ekstrak metanol diperoleh IC50 sebesar 13,54 ppm dan LC50 sebesar 260,07 ppm. Sedangkan pada ekstrak n-heksana diperoleh IC50 sebesar 730,03 ppm dan LC50 sebesar 711,73 ppm. Untuk standar DPPH menggunakan vitamin C dengan IC50 sebesar 5.13 ppm. Aktivitas antioksidan dan sitotoksik ekstrak metanol lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak n-heksana.

**Kata kunci: Antioksidan; *Mangifera indica L.*; Sitotoksik**

#### **Abstract**

Antioxidant and cytotoxic tests have been carried out on n-hexane and methanol extracts of mango (*Mangifera indica L.*) leaves. The mango leaves were extracted using a multilevel maceration method using 2 different solvents, namely n-hexane and methanol. The results of maceration were concentrated and then tested for their antioxidant and cytotoxic activity. The antioxidant activity test used the spectrometry method with DPPH reagent and the comparison was vitamin C. Meanwhile, the cytotoxic test used the BLST method. The test results showed that both extracts had antioxidant and cytotoxic activity. The methanol extract obtained an IC50 of 13.54 ppm and an LC50 of 260.07 ppm. Meanwhile, the n-hexane extract obtained an IC50 of 730.03 ppm and an LC50 of 711.73 ppm. The DPPH standard uses vitamin C with an IC50 of 5.13 ppm. The antioxidant and cytotoxic activity of methanol extract was stronger than that of n-hexane extract.

**Keywords: Antioxidant; Cytotoxic; *Mangifera indica L.***

## PENDAHULUAN

Mangga (*Mangifera indica* L.), merupakan tanaman yang sangat melimpah di Indonesia. Menurut Kementerian Pertanian Republik Indonesia pada tahun 2017, negara Indonesia merupakan negara produsen buah mangga ke-4 di dunia dan negara eksportir mangga ke-7 di Asia dengan rata-rata produksi 2 juta ton per tahun. Pemanfaatan tanaman mangga di Indonesia banyaknya berfokus pada buah mangga dan hanya di bidang kuliner saja, selain buahnya daun dari tanaman mangga dapat dimanfaatkan. Daun mangga yang seringkali dianggap limbah dan tidak dimanfaatkan. Padahal daun mangga mengandung senyawa aktif mangiferin, Polifenol, dan Triterpenoid. Ketiga senyawa ini memberikan daun mangga beragam manfaat seperti peluruh lemak, antioksidan, serta penyembuh luka. Dengan manfaatnya yang tersebut daun mangga berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan antikanker. [1]

Kanker adalah sekelompok penyakit yang dibedakan oleh pertumbuhan yang tidak terkendali dan penyebaran sel-sel abnormal. Ada banyak kejadian jenis kanker yang umum, yaitu kanker payudara, paru-paru, hati dan kolorektal. Saat ini, agen kimia seperti acarbose dan doxorubicin masing-masing tersedia untuk pengobatan kanker. Namun, semua perawatan ini terkait dengan efek samping yang tidak diinginkan yang menyebabkan peningkatan penggunaan etnobotani tanaman obat yang mungkin lebih aman dan kurang merusak tubuh manusia [2]

Salah satu penelitian yang mendukung daun mangga memiliki potensi sebagai anti kanker adalah penelitian yang dilakukan oleh Fitriasih pada tahun 2019 [3] menunjukkan bahwa Efek sitotoksitas dari ekstrak metanol daun mangga (*Mangifera indica* L.) dengan MTT assay pada sel MCF-7 menggunakan software ImageJ diperoleh nilai IC50 308µg/ml, serta dapat mempengaruhi apoptosis melalui penurunan ekspresi protein Bcl-2 dan peningkatan ekspresi protein Bax, sehingga sehingga mampu mengganggu potensial membran mitokondria sehingga terjadi pelepasan Cyt c ke sitosol dan Apoptosis (kematian sel kanker) dapat terjadi. Berdasarkan penelitian ini diketahui bahwa ekstrak daun mangga memiliki antikanker secara *in silico* namun belum diketahui aktivitasnya secara *in vitro*. Sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan *invitro* untuk mengetahui besarnya potensi antikanker dari daun mangga. Potensi antikanker dapat dilihat dari adanya aktivitas antioksidan dan sitotoksik dari ekstrak yang diuji dengan metode DPPH untuk antioksidan dan uji BLST untuk pengujian sitotoksik.

## METODE

### *Sampel (Bahan) Penelitian*

Bahan yang digunakan adalah daun mangga yang diperoleh dari perkebunan di majalengka, akuades, n-heksana, air laut, *Artemia salina* Leach, asam sulfat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), besi (III) klorida heksahidrat (FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O) 5%, asam tanat, dimetil sulfoksida (DMSO), 2,2-difenil-1-pikril-hidrazil (DPPH), kloroform (CHCl<sub>3</sub>), metanol (CH<sub>3</sub>OH), , Reagen Dragendroff's, Mayer, Wagner, serbuk Mg, natrium hidroksida (NH<sub>4</sub>OH). Semua bahan kimia menggunakan merk dengan kemurnian 99,5%

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah corong pisah dan labu leher bulat. Botol Jamu, beaker glass (pyrex), peralatan penetasan *Artemia Salina* Leach, botol semprot, botol vial, bulb, kaca arloji, labu ukur (pyrex), mikropipet 1000  $\mu\text{L}$  dan 100  $\mu\text{L}$  (mikrolab), pipet ukur, pipet tetes, spatula, tabung reaksi. Instrumen yang digunakan pada penelitian ini ialah spektrofotometer UV-Vis.

### **Prosedur kerja**

#### **Pembuatan Simplisia**

Pada tahapan ini terdiri dari beberapa langkah yaitu pengumpulan bahan, sortasi basah, pencucian bahan, pengeringan simplisia dengan oven pada suhu  $40^{\circ}\text{C}$  selama 3 hari, sortasi kering kemudian penyimpanan. [4]

#### **Karakterisasi Simplisia**

Setelah pembuatan simplisia dilakukan karakterisasi terhadap simplisia, Karakteristik simplisia meliputi uji kebenaran simplisia, penetapan kadar abu total, penetapan abu larut air, penetapan kadar abu tidak larut asam, penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar air dan penetapan kadar sari larut etanol.

#### **Pembuatan Ekstrak**

Ekstraksi pada simplisia menggunakan maserasi dengan pelarut n-Heksana untuk mendapatkan ekstrak n-heksana, yang dilanjutkan pada residu ekstraksi pertama menggunakan dengan Metanol. Maserasi dilakukan sebanyak 3 x 24 jam dengan perbandingan 1:5 (bahan:pelarut). Ekstrak dikumpulkan dan dipekatkan dengan rotary evaporator sampai di dapat ekstrak pekat.

#### **Uji Fitokimia**

Pengujian fitokimia dilakukan dengan beberapa metode untuk mengidentifikasi golongan senyawa yang terdapat didalam ekstrak n-heksana dan metanol. Metode-metode uji fitokimia sebagai berikut [5] : Uji Alkaloid, Uji Flavanoid, Uji saponin, Uji triterpenoid/steroid, Uji tanin, dan uji kuinon.

#### **Uji antioksidan**

Sebanyak 25 mg ekstrak metanol dan masing-masing ekstrak (metanol dan n-heksan) sampel dilarutkan dalam 25 mL metanol untuk memperoleh 1000 ppm. Ekstrak kemudian dipipet sebanyak 1 mL larutan sampel dengan variasi konsentrasi 0-100 ppm untuk ekstrak metanol dan 0-1000 ppm untuk ekstrak n-heksana . Masing-masing larutan ekstrak dicampurkan dengan 2 mL larutan DPPH 0,002% dalam metanol, kemudian campuran didiamkan selama 30 menit. Absorbansinya diukur pada  $\lambda$  maks 520 nm. Perakuan yang sama juga dilakukan pada larutan blanko Metanol dan kontrol positif vitamin C dengan konsentrasi 0-20 ppm.

## Uji Toksisitas dengan Metode Brine Shrimp Lethality (BSLT)

### Persiapan larva udang dan larutan induk

Wadah diisi dengan air laut sebanyak 1 liter dan disekat menjadi dua bagian. Bagian sekat yang tertutup dimasukkan telur artemia salina dan sekat yang satu dibiarkan terbuka, kemudian pada bagian yang terbuka diberi lampu untuk menarik udang artemia salina agar terpisah dari cangkangnya. Telur-telur dari artemia salina akan menetas menjadi larva dalam waktu 48 jam dan digunakan untuk uji toksisitas dari ekstrak metanol dan ekstrak n-heksana, daun mangga. Larutan induk dibuat 2000 ppm dengan melarutkan sebanyak 0,020 gram ekstrak metanol dan ekstrak n-heksana daun mangga. Dilarutkan dalam 10 ml air laut., ditambah 3 tetes DMSO, kemudian diencerkan menjadi tiga macam konsentrasi yaitu 0, 10, 100, dan 1000 ppm. [6]

### Uji Sitotoksik

Sebanyak 10 ekor udang dimasukkan ke dalam masing-masing botol vial yang telah diisi larutan ekstrak metanol, dan ekstrak n-heksana. Masing-masing ekstrak dan dengan konsentrasi masing-masing 1000,100 dan 10 ppm dalam tiga kali ulangan. Botol vial masing-masing 5 ml air laut. Sampel dan 10 ekor udang, satu sebagai kontrol setelah 24 jam diamati jumlah udang yang mati untuk tiap-tiap konsentrasi. Data hasil penelitian akan diolah dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Data dari uji toksisitas tersebut akan dianalisis dengan analisis probit menggunakan SPSS versi 17 untuk mengetahui harga  $LC_{50}$ .

$$\%LC = \left( \frac{n \text{ larva mati}}{n \text{ larva total}} \right) \times 100\%$$

Keterangan: LC= kematian; n= jumlah

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Penyiapan, Karakterisasi dan Ekstraksi

Bahan simplisia daun *Mangifera Indica* L dikumpulkan pada bulan November 2019, pada awalnya dilakukan determinasi tanaman di Sekolah Ilmu Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung yang bertujuan untuk mengetahui kebenaran jenis tanaman yang digunakan, hasil determinasi daun mangga menyatakan bahwa : Tanaman mangga yang digunakan merupakan tanaman Mangga tanpa varietas khusus. Selanjutnya dilakukan pengolahan bahan menjadi simplisia melalui beberapa tahapan yang dimulai dengan sortasi basah dengan tujuan memisahkan bagian tanaman yang tidak digunakan seperti batang dan daun yang sudah rusak. Kemudian dilakukan pencucian untuk membersihkan pengotor yang terdapat pada daun. Setelah itu dilakukan pengeringan dengan menggunakan oven dengan suhu 40°C yang bertujuan untuk mengurangi kandungan air yang terdapat pada daun sehingga simplisia awet dan tidak di tumbuhi jamur. Selanjutnya sortasi kering dilakukan untuk memisahkan simplisia dengan bahan pengotor lain yang masih tertinggal pada simplisia. Simplisia kering dihaluskan untuk

memperkecil ukuran partikelnya dan memaksimalkan proses ekstraksi yang akan dilakukan. Karakterisasi simplisia dilakukan untuk menjamin keseragaman mutu simplisia yang digunakan agar memenuhi persyaratan standar simplisia dan ekstrak.

Karakterisasi simplisia yang telah dilakukan adalah susut pengeringan, kadar sari larut etanol dan kadar sari larut air dan kadar air. Hasil dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi	Hasil
Susut pengeringan	8,075 %
Kadar sari larut etanol	13%
Kadar sari larut air	13%
Kadar air	10,07%

Penetapan susut pengeringan dilakukan dengan tujuan untuk memberikan batasan maksimal mengenai senyawa yang hilang pada saat proses pengeringan. Kadar sari larut etanol dan larut air dilakukan untuk memberikan gambaran awal jumlah senyawa yang tersari dengan pelarut air dan etanol dari suatu simplisia. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara dingin yaitu maserasi, maserasi dilakukan menggunakan 2 pelarut yang berbeda. Maserasi pertama menggunakan pelarut nonpolar yaitu n-heksana, digunakan untuk menarik senyawa nonpolar yang terkandung pada simplisia. Selanjutnya maserasi dilanjutkan dengan menggunakan pelarut polar yaitu metanol. Pelarut ini menurut pustaka dapat menarik senyawa-senyawa polar seperti alkaloid dan flavonoid. Kemudian hasil ekstraksi di pekatkan menggunakan Rotary evaporator. Hasil dari pemekatan mendapatkan rendemen ekstrak yaitu 16,81% dengan berat ekstrak 84,05 gram.

### **Skrining fitokimia**

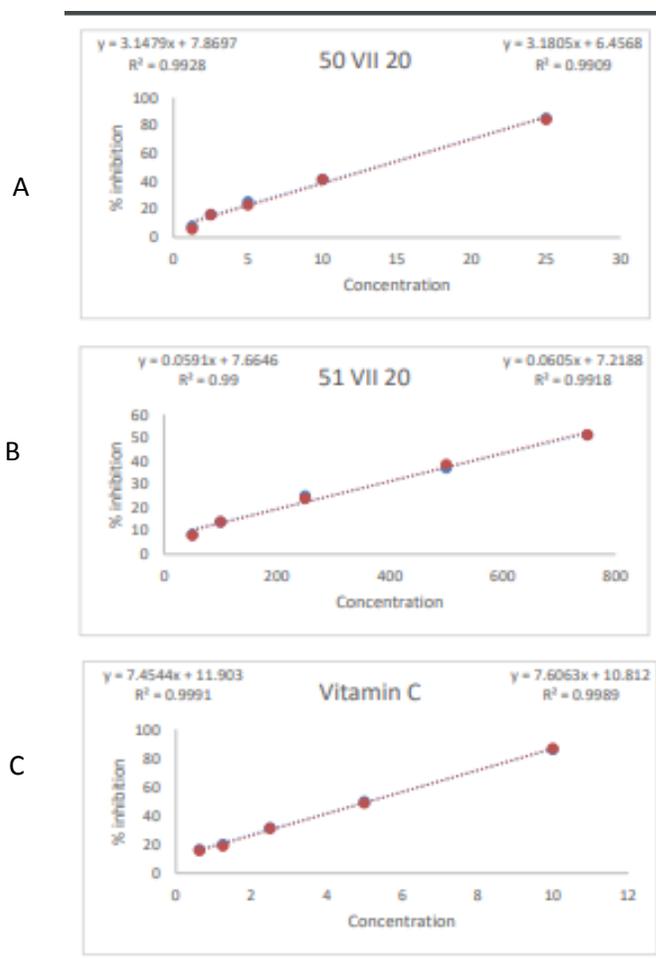
Skrining fitokimia bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan kimia yang ada pada daun mangga. Hasil dari skrining fitokimia ini ditunjukkan pada tabel 2. Hasil skrining menunjukkan bahwa adanya perbedaan fitokimia dari kedua ekstrak. Pada ekstrak n-heksanan hanya terdapat senyawa saponin dan steroid. Hal tersebut dikarenakan kepolaran pelarut n-heksana yang bersifat non polar sehingga hanya dapat menarik komponen senyawa non polar. Saponin dan steroid merupakan senyawa metabolit sekunder yang bersifat non polar sehingga akan mudah di ekstrak oleh n-heksana. Sedangkan pada ekstrak metanol diperoleh lebih banyak kandungan metabolit yang beragam. Diharapkan pada saat ekstraksi menggunakan pelarut heksan pada ekstrak metanol ini tidak terdapat senyawa non polar seperti steroid dan saponin namun senyawa tersebut masih dapat di ekstrak oleh pelarut metanol. Kemungkinan besar golongan senyawa saponin dan steroid yang diperoleh pada ekstrak metanol berkadar sedikit atau merupakan senyawa glikosida dari saponin dan steroid sehingga memiliki karakter semi polar dan dapat ditarik oleh pelarut polar.

**Tabel 2.** Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak n-Heksana dan Metanol daun mangga

<b>Golongan Senyawa</b>	<b>Ekstrak metanol</b>	<b>Ekstrak n-heksana</b>
Flavonoid	Positif	Negatif
Alkaloid		
Wagner	Negatif	Negatif
Mayer	Negatif	Negatif
Dragendorff	Negatif	Negatif
Tanin	Positif	Negatif
Saponin	Positif	Positif
Quinon	Negatif	Negatif
Steroid	Positif	Positif
Triterpen	Negatif	Negatif

### Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dari daun mangga (*Mangifera indica L*) dilakukan melalui radikal 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Radikal DPPH adalah suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorbansi kuat pada 520 nm dan berwarna ungu gelap. Grafik pada gambar 1 menjelaskan aktivitas antioksidan daun mangga pada berbagai ekstrak. Kurva yang dihasilkan dari ekstrak metanol yaitu hubungan konsentrasi terhadap persen (%) inhibisi.



**Gambar 1.** Aktivitas antioksidan ekstrak daun mangga (A: ekstrak metanol; B: ekstrak Heksana C: kontrol positif Vitamin C)

Pada Gambar 1 menjelaskan aktivitas persen inhibisi ekstrak metanol dan ekstrak n-heksana daun mangga menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel maka akan semakin besar kemampuan sampel untuk menyumbangkan atom hidrogen terhadap radikal bebas sehingga membentuk radikal yang lebih stabil [7]. Kurva yang didapat dari persen inhibisi tersebut menyatakan ekstrak mengalami kenaikan konsentrasi dengan perbandingan antara selisih dari absorbansi blanko dan absorbansi sampel. Sampel ekstrak metanol mengalami kenaikan yang signifikan pada konsentrasi 25 ppm. Dimana konsentrasi 25 ppm adalah konsentrasi yang tinggi. Hasil kurva aktivitas antioksidan diperoleh persamaan garis linear yang dapat ditentukan dari nilai  $IC_{50}$ . Tabel 3, menjelaskan nilai  $IC_{50}$  ekstrak daun mangga.

**Tabel 3.** Nilai IC<sub>50</sub> Aktivitas Antioksidan

Sample	Nilai IC <sub>50</sub> (ppm)
Ekstrak n-heksana	711,73
Ekstrak metanol	13,54
Vitamin C	5,13

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat bahwa nilai IC<sub>50</sub> yang dihasilkan oleh ekstrak metanol Jika dibandingkan dengan nilai IC<sub>50</sub> dari Vitamin C sebesar menyatakan bahwa aktivitas antioksidan pada vitamin C lebih kuat 3 kali dibandingkan dari ekstrak metanol. Tingkat kekuatan antioksidan ini diklasifikasi menggunakan uji DPPH pada nilai IC<sub>50</sub>, sampel dikatakan sangat aktif apabila nilai IC<sub>50</sub> itu < 50 ppm, dan dikatakan aktif nilai IC<sub>50</sub> itu berada pada 50-100 ppm, sampel dikatakan sedang maka nilai IC<sub>50</sub> itu 101-250 ppm dan apabila sampel sangat lemah maka nilai IC<sub>50</sub> berada pada 250-500 ppm. Sehingga ekstrak metanol dalam aktivitas antioksidan dapat dikatakan sangat aktif. Berdasarkan analisa statistik uji ANOVA Vitamin C nilai IC<sub>50</sub> dari Vitamin C berbeda nyata dengan ekstrak kasar metanol. Sehingga ekstrak kasar metanol kemampuannya sebanding dengan vitamin C. Sedangkan untuk ekstrak heksana memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah.

Perbedaan aktivitas antioksidan antara ekstrak heksana dan metanol disebabkan oleh perbedaan metabolit sekunder yang dimiliki oleh kedua ekstrak. Pada ekstrak metanol terdapat tanin dan flavonoid yang berperan sebagai antioksidan. Sedangkan pada ekstrak heksan tidak terdapat senyawa tersebut.

### **Uji Sitotoksik dengan Metode Brine Shrimp Lethality (BSLT)**

Analisis metode brine shrimp lethality atau BSLT yang dilakukan menggunakan beberapa konsentrasi yang berbeda-beda yaitu konsentrasi 1000, 100 dan 10 ppm. Hal ini bertujuan untuk mengetahui nilai LC<sub>50</sub> dari masing-masing ekstrak tersebut dengan berbagai konsentrasi. Semakin konsentrasi suatu sampel besar maka akan menyebabkan kematian larva artemia sebanyak 50% [8]. Dari hasil LC<sub>50</sub> ekstrak kasar metanol daun mangga sebesar 260,07 ppm dan untuk ekstrak n-heksana sebesar 730,03 ppm. Dari hasil LC<sub>50</sub> yang didapat bahwa ekstrak kasar metanol dan ekstrak n-heksana Daun Mangga bersifat toksik sesuai dengan pernyataan Meyer. Meyer menyatakan bahwa suatu ekstrak dapat dikatakan toksik jika nilai LC<sub>50</sub>< 1000 ppm [9].

Senyawa yang kemungkinan berperan dalam aktivitas ini adalah Flavonoid, saponin dan steroid. Flavonoid merupakan senyawa di dalam tumbuhan yang telah terbukti dapat menghambat proliferasi beberapa sel kanker yang memiliki toksisitas yang rendah atau bahkan tidak toksik untuk sel normal. Mekanisme flavonoid sebagai antiproliferatif sel kanker dapat melalui beberapa mekanisme. Mekanisme tersebut antara lain aktivasi senyawa karsinogen, antiproliferasi sel, cell cycle arrest, menginduksi apoptosis dan diferensiasi sel, menghambat angiogenesis, dan antioksidan [10]. Quercetin (3,3',4',5,7-pentahidroksiflavin) merupakan salah

satu flavonoid yang mempunyai efek sebagai antikanker dengan berbagai macam mekanisme aksi. Kemudian pada ekstrak metanol dan n-heksana juga mengandung beberapa metabolit sekunder yang berperan dalam aktivitas toksisitas seperti saponin dan steroid.

## KESIMPULAN

Ekstrak metanol dan heksana memiliki aktivitas antioksidan dan sitotoksik, ditunjukkan dengan nilai  $IC_{50}$  dan  $LC_{50}$ .  $IC_{50}$  menunjukkan ekstrak n-heksana memiliki kekuatan lemah sebagai antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  711,73 ppm dan ekstrak metanol memiliki kekuatan yang kuat sebagai antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  13,54 ppm. Hasil  $LC_{50}$  ekstrak kasar metanol daun mangga sebesar 260,07 ppm dan ekstrak n-heksana sebesar 730,03 ppm yang menunjukkan kekuatan sitotoksik yang kuat. Dengan demikian daun mangga memiliki potensi untuk pengobatan antikanker.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada LPM Universitas Bhakti Kencana yang telah mendanai penelitian ini pada tahun anggaran 2019.

## DAFTAR RUJUKAN

- [1] Ningsih; Dian Riana. Ekstrak Daun Mangga (*Mangifera indica L.*) sebagai Antijamur terhadap jamur *Candida albicans* dan Identifikasi Golongan Senyawanya, *Jurnal Kimia Riset*. 2014, vol 2(1), 61-68
- [2] Dwisatyadini, M. Pemanfaatan Tanaman Obat untuk Pencegahan dan Pengobatan Penyakit Degeneratif. In: Optimalisasi Peran Sains dan Teknologi untuk Mewujudkan Smart City; Universitas Terbuka, Tangerang Selatan; p237-270, 2017.
- [3] Fitriasih. Pengaruh Ekstrak Daun Mangga (*Mangifera indica L.*) Terhadap Efek Sitotoksik Dan Penurunan Ekspresi Bcl-2 pada Sel MCF-7 dengan Software ImageJ [Skripsi]; Universitas Wahid Hasyim Semarang; Semarang; 2019
- [4] KEMENKES. 'FARMAKOPE HERBAL INDONESIA'. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2017
- [5] Harborne, J.B. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan; ITB : Bandung; 1987
- [6] Rumayati, N.; Idiawati, L.; Destiarti. Uji aktivitas Antioksidan, Total Fenol dan Toksisitas dari Ekstrak dan dari batang lakum (*Cayratia Trifolia L domin* ), *Jurnal Kimia khatulistiwa*. 2014, Vol 3(3).
- [7] Yuhernita; Juniarti. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi sebagai Antioksidan, *Makara Sains*. 2011, 15(1), 4.

- [8] Raineri, M. Histochemical Localization of Chitin in Larvae of *Artemia salina* Leach (Phyllopoda). *Italian Journal of Zoology*. 1981, 48 (2), 139 -141.
- [9] Meyer, B. N.; Ferrigni, N.R.; et al. Brine Shrimp: A convenient General Bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*. 1982, 48, 31-34.
- [10] Ren, W.; Qiao, Z.; Wang, H.; et al. Flavonoids: Promising Anticancer Agents, *Medicinal Research Review*. 2003, 23 (4), 519-553.