

EKSTRAK DAUN SEMBUNG (*BLUMEA BALSAMIFERA*): PROFIL SIDIK JARI DENGAN HPTLC, KAPASITAS ANTIOKSIDAN, UJI TOKSISITAS DAN KADAR METABOLIT SEKUNDER

Fernando Yosafat^{1*}, Frans Ferdinal²

Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara¹

Departemen Biokimia dan Biologi Molekular, Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara, Jakarta²

*Corresponding Author : Fernando.405190097@stu.untar.ac.id

ABSTRAK

Reactive Oxygen Species (ROS) adalah radikal bebas oksigen atau molekul dengan elektron tidak berpasangan yang sangat reaktif, ROS ini dapat merusak sel membrane. Keseimbangan antara antioksidan dan oksidan berguna dalam homeostasis sel tubuh. Keadaan dimana oksidan melebihi antioksidan akan memicu stres oksidatif sehingga mengakibatkan terjadi kerusakan ke-empat makromolekul yang merupakan komponen struktur sel. Peran antioksidan diperlukan untuk mencegah gangguan tersebut salah satunya dari kelompok tanaman herbal yaitu daun sembung (*blumea balsamifera*) yang merupakan antioksidan eksogen. Penelitian ini bertujuan untuk melihat kandungan metabolit sekunder dan kemampuan antioksidan serta toksisitas ekstrak daun sembung (*blumea balsamifera*). Daun sembung dikeringkan dan dihaluskan hingga terbentuk simplisia, kemudian dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi dengan methanol, kemudian dievaporasi. Ekstrak yang terbentuk dilakukan uji kualitatif fitokimia berdasarkan Harborne, kapasitas antioksidan dengan uji DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) menggunakan metode Blois dan uji toksisitas menggunakan uji BSLT (Mayer). Uji fitokimia ekstrak daun sembung mengandung *alkaloids, anthocyanin* dan *betacyanin, cardio glycosides, flavonoids, glycosides, phenolics, quinones, steroids, coumarins, terpenoids* dan *tannins* dan kapasitas antioksidan daun sembung dengan DPPH dalam IC₅₀ sebesar 36,135 µg/mL dan uji toksisitas ekstrak daun sembung dengan BSLT dalam LC₅₀ didapatkan sebesar 168,178 µg/mL. Disimpulkan bahwa ekstrak daun sembung memiliki beberapa kandungan metabolit sekunder serta berpotensi sebagai antioksidan dan antimetabolit.

Kata kunci : antioksidan, metabolit sekunder, spesi oksigen reaktif, stres oksidatif dan toksisitas

ABSTRACT

Reactive Oxygen Species (ROS) are oxygen free radicals or molecules with unpaired electrons that are highly reactive, these ROS can damage cell membranes. The balance between antioxidants and oxidants is useful in the body's cell homeostasis. Conditions where oxidants exceed antioxidants will trigger oxidative stress resulting in damage to the four macromolecules which are components of cell structure. The role of antioxidants is needed to prevent these disorders, one of which is from the herbal plant group, namely sembung leaves (*blumea balsamifera*) which is an exogenous antioxidant. This study aims to look at the content of secondary metabolites and antioxidant abilities as well as the toxicity of sembung leaf extract (*blumea balsamifera*). Sembung leaves were dried and mashed to form simplicia, then extracted by maceration method with methanol, then evaporated. The extracts formed were subjected to qualitative phytochemical tests based on Harborne, antioxidant capacity by DPPH test (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) using method Blois and toxicity test using the BSLT test (Mayer). Phytochemical test of sembung leaf extract contains *alkaloids, anthocyanin and betacyanin, cardio glycosides, flavonoids, glycosides, phenolics, quinones, steroids, coumarins, terpenoids and tannins* and antioxidant capacity of sembung leaves with DPPH resulted in IC₅₀ of 36.135 µg/mL and toxicity test of sembung leaf extract with BSLT obtained LC₅₀ of 168.178 µg/mL. It was concluded that sembung leaf extract contains several secondary metabolites as well as potential as antioxidants and antimetabolites.

Keyword : antioxidants, secondary metabolites, reactive oxygen species, oxidative stress and toxicity

PENDAHULUAN

Oksigen merupakan salah satu komponen yang sangat penting di dalam kehidupan kita, terutama di dalam sistem pernafasan. Oksigen berperan sebagai aseptor akhir dari elektron dalam proses respirasi seluler di mitokondria, yang menghasilkan energi. Manusia dapat mengubah oksigen menjadi energi (*adenosin triphosphate / ATP*), proses tersebut terjadi di mitokondria yang ada di sel eukariotik dan metabolisme aerob yang paling berperan dalam pembentukan energi ini dengan cara fosforilasi oksidatif. Dibalik pentingnya oksigen dan rumitnya metabolisme oksigen untuk menghasilkan energi bagi manusia, metabolisme oksigen juga akan membentuk beragam (*Reactive Oxygen Spesies*) ROS, bisa dikatakan oksigen juga merupakan zat toksik, namun manusia memiliki mekanisme defensif yaitu antioksidan.

Reactive Oxygen Spesies (ROS) adalah radikal bebas oksigen atau molekul dengan elektron tidak berpasangan yang sangat reaktif, ROS ini dapat merusak sel membrane. Radikal bebas ini diketahui berperan pada 100 penyakit manusia termasuk kanker, serangan jantung, stroke, dan arthritis. ROS dapat dibagi menjadi dua yaitu oxygen centered non-radicals dan oxygen centered radicals. Oxygen-centered nonradicals adalah hydrogen peroksida (H_2O_2), dan singlet oxygen (1O_2), Sedangkan Oxygen-Centered Radicals meliputi anion superoksida ($O_2^{\bullet -}$), radikal hidroksil (OH^{\bullet}), radikal alkoksil (RO^{\bullet}), dan radikal peroksil (RO_2^{\bullet} dan ROO^{\bullet})². ROS terbentuk dari reaksi reduksi dari metabolisme aerobik oksigen diatomik di mitokondria sehingga menghasilkan O_2 -radikal.

Stress oksidatif adalah ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan ROS (*Reactive Oxygen Spesies*) dengan antioksidan. Ketidakseimbangan ini akan mengakibatkan kerusakan pada sel, jaringan, hingga organ. Keadaan stress oksidatif yang terus menerus akan berakibat pada kerusakan dan disfungsi organ sehingga dapat menimbulkan gangguan seperti penyakit degenerative, diantaranya: penyakit jantung dan pembuluh darah (hipertensi, jantung, *stroke*), endokrin (diabetes melitus, tiroid, kekurangan nutrisi, hiperkolesterol), neoplasma (tumor jinak, tumor ganas), osteoporosis, gangguan pencernaan (konstipasi, wasir, kanker usus), dan kegemukan.

Tanaman sembung atau (*Blumea balsamifera*) dari suku *Astreaeae* merupakan salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional, tanaman ini tumbuh di tempat terbuka dan tanah yang agak basah, bagian tanaman ini yang sering digunakan sebagai obat adalah daunnya. Dilakukannya penelitian ini untuk mengetahui peranan daun sembung (*Blumea Balsamifera*) sebagai antioksidan maka dilakukanlah uji antioksidan, uji metabolit sekunder dan uji toksisitas.

METODE

Penelitian ini termasuk ke dalam penelitian eksperimental in vitro dan bioassay. Penelitian yang dilakukan secara uji in vitro terdiri dari uji fitokimia, uji kapasitas antioksidan, analisis sidik jari HPTLC dan penelitian bioassay dalam bentuk uji toksisitas. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium BBM, Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara, Jl. S. Parman no. 1, Grogol, Jakarta Barat. Mulai dari oktober 2021 hingga mei 2022 dan sampel penelitiannya adalah daun sembung yang didapatkan dari toko tanaman herbal.

Uji Fitokimia

Fitokimia adalah zat kimia yang berasal dari tumbuhan dan merupakan zat yang diproduksi melalui metabolisme primer atau sekunder. Zat ini umumnya memiliki aktivitas biologis dalam tumbuhan untuk melindungi dari patogen, atau predator dan berperan dalam pertumbuhan tanaman itu sendiri. Fokus utama penelitian pada daun sembung ini adalah untuk melakukan uji pada metabolit sekundernya seperti flavonoid, alkaloid, tannin, terpenoid, fenolik, saponin,

glikosida dan lainnya, yang memiliki fungsi utama untuk menjaga kelangsungan hidup tanaman.

Uji Kapasitas Antiksidan

Uji kapasitas Antioksidan dilakukan dengan DPPH *Free Radical Scavenging Assay*, yaitu metoda yang menggunakan *1,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) adalah uji untuk menilai suatu senyawa atau ekstrak atau sumber biologis lain terhadap potensi antioksidan. Uji ini sederhana dimana satu ekstrak atau senyawa yang akan diuji dilarutkan dengan larutan DPPH dan dinilai absorbansinya pada periode tertentu dan dengan suhu ruangan. Uji DPPH bisa digunakan pada pelarut organik polar dan nonpolar serta dapat digunakan juga untuk memeriksa antioksidan hidrofilik dan lipofilik.

High-Performance Thin-Layer Chromatography (HPTLC)

High-Performance Thin-Layer Chromatography (HPTLC) merupakan metode analisis kualitatif yang sangat berguna. Metode perkembangan di dalam lapisan tipis (planar) kromatografi adalah salah satu langkah paling penting untuk analisis kualitatif. Selama menetapkan prosedur analitis baru, selalu dimulai dengan survei literatur yang luas, yaitu informasi utama tentang karakteristik fisikokimia sampel dan sifat sampel (struktur, polaritas, volatilitas, stabilitas dan kelarutan). HPTLC menghasilkan kompleks kromatogram yang terlihat informasi tentang keseluruhan sampel tersedia sekilas Pelat HPTLC memberikan resolusi yang lebih baik dan sensitivitas pendeteksian yang lebih tinggi.

Uji Toksisitas (BSLT)

Uji toksisitas merupakan pengujian untuk mendeteksi efek toksik suatu zat sehingga didapatkan dosis-respon dari zat tersebut untuk memberikan informasi derajat bahaya dari sediaan uji guna keamanan saat penggunaan ke manusia. Kemudian didapatkan konsentrasi kematian (LC₅₀) larva udang terhadap logaritma konsentrasi sampel.

HASIL

Hasil daun kering kemudian diblender hingga menjadi bubuk sebanyak 52 gr serta dilakukan maserasi dan evaporasi sehingga didapatkan ekstrak buah hingga berbentuk pasta sebanyak 11 gr. Dengan demikian perolehan/ rendemen/ *yield* sebesar 21.5% dengan rumus berat ekstrak akhir dibagi berat sampel setengah padat/bubuk dikali 100%.

Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Sembung

Tabel 1. Hasil Uji Analisis Kualitatif Fitokimia Daun Sembung

Fitokimia	Metode/Reagen	Ekstrak Bunga Chamomile
Alkaloid	Mayer	+
Antosianin	NaOH	-
Betasianin	NaOH	+
Kardioglikosida	Keller-Kiliani	+
Koumarin	NaOH	+
Flavonoid	NaOH	+
Glikosida	Modified Borntrager	+
Fenolik	Folin Ciocalteau	+
Kuinon	H ₂ SO ₄	+
Saponin	Uji Busa	-
Steroid	Liebermann-Burchard	+
Tepenoid	Liebermann-Burchard	+
Tanin	Ferric-Chloride	+

Uji Kapasitas Antioksidan Metode DPPH Ekstrak Daun Sembung

Dari kurva hasil data, didapatkan persamaan linier yaitu $Y = 0,4313x + 34.42$ dengan $R^2 = 0,9613$ (Gambar 1) dan didapatkan juga IC_{50} daun sembung dari persamaan linier tersebut (Tabel 2) sebesar 36.123 $\mu\text{g/mL}$.

Tabel 1. Hasil Hitung Persentase Inhibisi dan IC_{50} Berdasarkan Konsentrasi Sampel

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Persentase Inhibisi (%)	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
25	47.160	
50	51.721	
75	67.040	36.135
100	81.928	
125	85.972	

Uji Pembandingan Vitamin C

Kurva standar vitamin C menunjukkan persamaan garis linear $Y = 6,934 * X + 12,52$ dengan $R^2 = 0,9988$, dari persamaan linear tersebut didapatkan IC_{50} standar vitamin C adalah 5,4 $\mu\text{g/mL}$.

Tabel 3. Konsentrasi, %Inhibisi, dan IC_{50} Standar Vitamin C

Konsentrasi	%Inhibisi(%)	$IC_{50}(\mu\text{g/mL})$
2	26,85	
4	39,11	
6	54,97	5,4
8	67,87	
10	81,81	

Dari kurva hasil data, didapatkan persamaan linier yaitu $Y = 0,4313x + 34.42$ dengan $R^2 = 0,9613$ dan didapatkan juga IC_{50} daun sembung dari persamaan linier tersebut sebesar 36.123 $\mu\text{g/mL}$ (Tabel 2). Hasil perhitungan kadar alkaloid total ekstrak daun sembung adalah 36.123 $\mu\text{g/mL}$. Hasil ini bermakna bahwa daun sembung mengandung senyawa antioksidan. Alkaloid bersama-sama dengan fenolik dapat berfungsi sebagai antioksidan. Selain antioksidan, alkaloid juga berperan dalam tubuh sebagai anti hipertensi, anti kanker, anti inflamasi, dan antimalaria.

Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Daun Sembung

Penentuan Standar Tanin

Hasil dari pembuatan kurva didapatkan persamaan garis linear $Y = 0,0007300 * X - 0,1568$ dengan $R^2 = 0,9727$

Tabel 4. Nilai Absorbansi dan Kadar Standar Tanin

Kadar Standar Tanin ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi (765 nm)
300	0,084
400	0,122
500	0,189
600	0,272
700	0,374

Uji fenolik Ekstrak Daun Sembung

Ekstrak daun sembung yang telah dilakukan pengujian fenolik diukur pada spektrofotometer genesys 30-Vis pada panjang gelombang 765 nm (Tabel 5) untuk menilai absorbansi. Persamaan garis linear $Y = 0,0007300 * X - 0,1568$ dan absorbansi digunakan untuk mendapatkan kadar fenolik ekstrak daun sembung. Pada pemeriksaan dilakukan pengenceran 1:2, sehingga didapatkan kadar fenolik ekstrak daun sembung sebesar 962.47 $\mu\text{g/mL}$

Tabel 2. Kadar Fenolik Ekstrak Daun Sembung

Sampel	Absorbansi (765nm)	Kadar ($\mu\text{g/mL}$)	Rerata Kadar ($\mu\text{g/mL}$)
I	0.197	484.66	
II	0.192	477.81	481.235

Penentuan Kadar Alkaloid Total Ekstrak Daun Sembung

Berberine chloride dengan konsentrasi berbeda-beda dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer genesis 30-Vis pada panjang gelombang 420 nm (Tabel 6). Hasil yang didapatkan kemudian dibuat kurva persamaan garis linear dengan sumbu Y sebagai absorbansi dan sumbu X sebagai konsentrasi berberine chloride. Hasil dari pembuatan kurva didapatkan persamaan garis linear $Y = 0,09105 * X - 0,09590$ dengan $R^2 = 0,9857$

Tabel 3. Nilai Absorbansi dan Kadar Standar Berberine Chloride

Kadar Standar Berberine Chloride ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi ($\lambda = 420 \text{ nm}$)
2	0.129
4	0.222
6	0.428
8	0.645
10	0.828

Ekstrak daun sembung yang telah dilakukan pengujian alkaloid diukur dengan spektrofotometer genesys 30-Vis pada panjang gelombang 420 nm untuk menilai absorbansi. Persamaan garis linear $Y = 0,09105 * X - 0,09590$ dan absorbansi digunakan untuk mendapatkan kadar alkaloid ekstrak daun sembung. pada pemeriksaan dilakukan pengenceran 1:4, sehingga didapatkan kadar alkaloid ekstrak daun sembung sebesar 33.842 $\mu\text{g/mL}$ (Tabel 7).

Tabel 4. Nilai Absorbansi dan Kadar Alkaloid Ekstrak Daun Sembung

Tabung	Absorbansi	Kadar Alkaloid ($\mu\text{g/mL}$)	Rerata Kadar Alkaloid ($\mu\text{g/mL}$)
I	0.680	8.522	
II	0.668	8.390	8.456

Uji Toksisitas Daun Sembung

Penelitian ini dilakukan dengan menghitung jumlah kematian dari larva *Artemia Salina* yang sebelumnya dimasukkan ke larutan homogenisasi air laut dan ekstrak daun sembung yang

memiliki konsentrasi berbeda. Kemudian angka mortalitas larva *Artemia Salina* dibuat kurva dengan konsentrasi ekstrak daun sembung untuk mendapatkan persamaan sehingga didapatkan *Lethality Concentration 50* (LC₅₀) dan logaritma *Lethality Concentration 50* (logLC₅₀). Logaritma *Lethality Concentration 50* (logLC₅₀). Log konsentrasi dinyatakan dengan sumbu X dan persentase kematian dinyatakan dengan sumbu Y.

Tabel 5. Angka Mortalitas (%) Larva *Artemia salina* pada Konsentrasi Ekstrak Daun Sembung

Konsentrasi (µg/mL)	Angka Mortalitas (%)	LC ₅₀ (µg/mL)
100	16,33	
150	38,30	
200	59,57	
250	81,25	168,178

Hasil penelitian ini dalam bentuk LC₅₀ yang bermakna suatu nilai konsentrasi yang dapat mengakibatkan kematian 50% larva *Artemia Salina*. LC₅₀ yang diperoleh daun sembung adalah 168.178 µg/mL.

Profil Sidik Jari Daun Sembung Menggunakan HPTLC

Dokumentasi menggunakan alat CAMAG TLC *Visualizer* dan dilakukan pengambilan gambar pada panjang gelombang 256 nm (Gambar A), 366nm (Gambar B), serta cahaya tampak sebelum derivatisasi, serta pengambilan gambar pada cahaya tampak setelah derivatisasi. *High-Performance Thin-Layer Chromatography* (HPTLC) dilakukan untuk isolasi dan identifikasi yang lebih baik dari berbagai komponen ekstrak daun sembung. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sembung mengandung senyawa terpenoid, namun berbeda jenis dengan standar yang digunakan. Terpenoid terdeteksi di posisi puncak 0,78 Rf.

PEMBAHASAN

Dari hasil kualitatif penelitian uji fitokimia dengan ekstrak daun sembung menggunakan metode Harborne menunjukkan bahwa daun sembung mengandung senyawa antioksidan seperti *alkaloids*, *anthocyanin* dan *betacyanin*, *cardio glycosides*, *flavonoids*, *glycosides*, *phenolics*, *quinones*, *steroids*, *coumarins*, *terpenoids* dan *tannins* (Tabel 1) yang berguna untuk menurunkan senyawa reaktif di dalam tubuh.

Hasil dari kapasitas antioksidan pada daun sembung mendapatkan hasil IC₅₀ daun sembung yaitu 36.135µg/mL dan IC₅₀ asam askorbat yaitu 5.4 µg/mL, dimana asam askorbat digunakan sebagai standar antioksidan. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa asam askorbat lebih efektif dari daun sembung untuk menghambat radikal bebas. Berbanding terbalik dari penelitian yang dilakukan oleh Yuxin Pang IC₅₀ pada daun sembung memiliki kapasitas antioksidan 72 µg /ml, namun penelitian lain yang dilakukan Marshal et al memperoleh hasil yang lebih tinggi pada rebusan daun sembung dengan nilai IC₅₀ 293.80 µg /ml.

Dari hasil kadar fenoliknya Kadar fenolik total pada ekstrak daun sembung yang didapatkan pada penelitian ini adalah 962.47 µg/mL. Penelitian yang dilakukan oleh Azimatur et al, didapatkan kadar fenolik total ekstrak daun sembung adalah 161.101 mg GAE/g. fenolik

total pada penelitian ini lebih tinggi dari penelitian yang telah dilakukan oleh Halim *et al* yaitu 4.39 mg GAE/g dengan metode dan pelarut yang sama. Kandungan fenolik total pada penelitian ini jika dibandingkan dengan penelitian lainnya dengan sampel dan pelarut yang sama termasuk cukup tinggi.

Kadar alkaloid pada perhitungan kadar alkaloid total ekstrak daun sembung adalah 33.842 µg/mL, hasil ini bermakna bahwa daun sembung mengandung senyawa antioksidan. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Eris Septiana *et al*. *High-Performance Thin-Layer Chromatography* (HPTLC) dilakukan untuk isolasi dan identifikasi yang lebih baik dari berbagai komponen ekstrak daun sembung. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sembung mengandung senyawa terpenoid, namun berbeda jenis dengan standar yang digunakan. Terpenoid terdeteksi di posisi puncak 0,78 Rf. Penelitian yang dilakukan Eri Septiana *et al* juga mendapatkan hasil positif terpenoid yang menguatkan penelitian ini.

Sedangkan untuk uji toksisitasnya dalam bentuk LC₅₀ diperoleh daun sembung adalah 168.178 µg/mL, yang berarti daun sembung tergolong toksik menurut Meyet *et al*.

KESIMPULAN

Pada pemeriksaan kuantitatif fitokimia menunjukkan hasil yang positif semua kecuali saponin. Pemeriksaan antioksidan total didapatkan kadar 36.135 µg/mL sehingga dapat berfungsi sebagai antioksidan tinggi. Kadar fenolik total daun sembung adalah 962.47 µg/mL sedangkan kadar alkaloid total daun sembung adalah 33.842 µg/mL. Tingkat toksisitas daun sembung adalah 168.178 µg/mL sehingga dapat berfungsi sebagai senyawa antimitotik. Pada pemeriksaan HPTLC didapatkan kandungan terpenoid dengan nilai Rf 0,78. Diperlukan penelitian *in vivo*, menggunakan pelarut lain, reagen lain, serta bagian lain seperti akar dan batang agar mengetahui potensi lebih lanjut dari tumbuhan sembung.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. dr. Frans Ferdinal, MS selaku Ketua Bagian Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara serta dosen pembimbing dan staf Bagian Biokimia dan Biologi Molekuler Universitas Tarumanagara.

DAFTAR PUSTAKA

- Ani Isnawati, Raini M, Sukmayati Alegantina.(2006). Standarisasi Simplisia Dan Ekstrak Etanol Daun Sembung (*Blumea Balsamifera* (L)) Dari Tiga Tempat Tumbuh. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*.;16(2):156409. doi:10.22435/mpk.v16i2 Jun.893.
- Anis Nur Laili, Esyuananik, Uswatun Khasanah.(2021). Menjaga Malondialdehid dan Kadar Superoksida Dismutase Ovarium yang Terpapar Rhodamin. Published October. Accessed July 14, 2022.
- Blois MS. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*. 1958;181:1199–200.
- Brasted RC. Oxygen. *Encyclopedia Britannica*. (2018) [cited 2020 Apr 22]. Available from: <https://www.britannica.com/science/oxygen>.
- Chittela KISHOREBABU | Scientist-II | Doctor of Philosophy | PharmaZell, Raubling | R&D. ResearchGate. Published July 28, (2020). Accessed December 3, 2021. <https://www.researchgate.net/profile/Chittela-Kishorebabu>

- Endarini LH. Farmakognisi Dan Fitokimia. Volume 3. Jakarta Selatan: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2016. 213 p.
- Eris Septiana, Aulia Umaroh, Erlindha Gangga, Partomuan Simanjuntak. AKTIVITAS PENGHAMBATAN POLIMERISASI HEME EKSTRAK DAUN SEMBUNG (*Blumea balsamifera*) SEBAGAI ANTIMALARIA. ResearchGate. Published June 9, 2017. Accessed May 31, 2022.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. 4th ed. London: Oxford University Press; 2007
- Halliwell B. Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life. *Plant Physiol.* 2006; 141(2): 312-322
- Hamidi MR, Jovanova B, Panovska TK. Toxicological evaluation of the plant products using Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) model. *Maced pharm bull.* 2014;60(1):9-18
- Handajani A, Roosihermatie B, Maryani H. Faktor-faktor yang berhubungan dengan pola kematian pada penyakit degeneratif di Indonesia. *Buletin penelitian sistem kesehatan.* 2010;13(1 Jan).
- Harborne JB. *Phytochemical Methods: A guide to modern techniques of plant analysis* 3rd edition 1998. Chapman & Hall, London, UK.:1-271.
- Heyne, K. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya, 1988.
- Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine Shrimp: a Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Med.* 1982;45(1):31–4
- Nicklisch SCT, Waite JH. Optimized DPPH assay in a detergent-based buffer system for measuring antioxidant activity of proteins. *MethodsX.* 2014;1:233– 8.
- Obat BP. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinis secara In Vivo. Jakarta: BPOM. 2014.
- Pang Y, Wang D, Fan Z, et al. *Blumea balsamifera*—A Phytochemical and Pharmacological Review. *Molecules.* 2014;19(7):9453-9477. doi:10.3390/molecules19079453
- Petersen KS, Smith C. Ageing-Associated Oxidative Stress and Inflammation Are Alleviated by Products from Grapes. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2016 Feb (cited 2017 Sept 4); 2016
- ROS in Biology and Human Health 2016. Edited by SHAMIM I. AHMAD. Nottingham Trent University. United Kingdom.
- Sherwood L. *Fisiologi Manusia: Dari Sel ke Sistem.* 8th ed. Ong HO, Mahode AA, Ramadhani D, editors. Jakarta: EGC; 2013.
- Sonia K, Beddi B.S, Dr.K.S.Lakshmi. HPTLC Method Development and Validation: An Overview. ISSN: 0975-1459. *Jurnal Pharmaceutical Sciences and Reserch.* Vol. 9(5), 2017,652-657.
- Villamena FA. *Molecular basis of oxidative stress: chemistry, mechanisms, and disease pathogenesis.* John Wiley & Sons; 2013 Jun 6.
- Velavan S. *Phytochemical Techniques - A Review.* *World Journal of Science and Research.* 2015;1(2):80–91.
- Zimatur Rahmi, Tika Afriani, Linda Hevira, Wike Widiawati. Uji Aktivitas Antioksidan dan Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC). *Unand.ac.id.* Published 2022. Accessed May 31, 2022.