

EFEKTIVITAS PROPORSI PELARUT UNTUK EKSTRAKSI DAUN WANGON (*Olex psittacorum* (Wild.) Vahl.) DALAM MENGHASILKAN FITOKONSTITUEN YANG BERPOTENSI ANTIOKSIDAN

Reslely Harjanti^{1*}, Siti Aisiyah¹ dan Vivin Nopiyanti²

¹Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi
Jl. LetJend.Sutoyo Mojosongo, Solo 57127.

²Program Studi D-3 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi
Jl. LetJend.Sutoyo Mojosongo, Solo 57127.

*Email : reslely_nindy@gmail.com

Abstrak

Wangon (*Olex psittacorum* (Wild.) Vahl.) adalah jenis tumbuhan liar yang terdapat di daerah hutan jati dan banyak dimanfaatkan oleh masyarakat lokal sebagai bahan pangan terutama pada musim paceklik. Daun wangon mengandung senyawa polifenol diantaranya flavonoid yang mampu menghambat autooksidasi melalui mekanisme penangkapan radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mencari proporsi pelarut etanol yang food grade dan efektif mengekstraksi fitokonstituen antioksidan dalam daun wangon. Penelitian ini menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 50%, 70% dan 96%. Daun wangon dibuat serbuk kemudian diekstraksi dengan metode soxhletasi hingga diperoleh ekstrak kental yang siap diuji aktivitas antioksidannya. Setelah itu ekstrak diuji aktivitas antioksidannya dan diidentifikasi dan ditetapkan kadar senyawa yang diduga aktif sebagai senyawa antioksidan di antaranya flavonoid dan fenolik total. Hasil penelitian menunjukkan bahwa proporsi pelarut yang paling baik untuk mengekstraksi daun wangon supaya mempunyai aktivitas antioksidan terbesar adalah dengan pelarut etanol 96%. Hal ini dibuktikan bahwa ekstrak etanol 96% berpotensi sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 71,27 ppm lebih baik daripada ekstrak etanol 50% dan 70%. Ekstrak etanol 96% juga mempunyai kandungan flavonoid dan fenolik total terbesar yaitu $99,44 \pm 1,27$ mg QE/g sampel dan $121,66 \pm 1,39$ mg GAE/g sampel. Kandungan fitokonstituen flavonoid dan fenolik total dalam ekstrak mempunyai korelasi linier dan sangat terkait dengan aktivitas antioksidannya.

Kata kunci : antioksidan, daun wangon, DPPH, etanol, proporsi pelarut

1. PENDAHULUAN

Wangon (*Olex psittacorum* (Wild.) Vahl.) banyak tumbuh di daerah hutan jati di hampir sebagian besar wilayah Indonesia. Jaman dahulu bahkan sampai sekarang sebagian besar penduduk lokal memanfaatkan daunnya sebagai bahan pangan terutama pada saat musim paceklik. Daun wangon dikonsumsi dengan cara dibuat urapan atau lalapan. Menurut laporan hasil penelitian di India, daun wangon mengandung senyawa antara lain fenolik khususnya flavonoid serta tanin (Majumder dkk, 2015). Fitokonstituen tersebut umumnya dikaitkan dengan aktivitas antioksidan (Yalla dkk, 2010).

Antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat mencegah sel dari kerusakan yang disebabkan oleh molekul yang tidak stabil yang dikenal sebagai radikal bebas (Deena dkk, 2011). Radikal bebas dapat menyebabkan kondisi patologi yaitu menyebabkan kerusakan oksidasi pada lipid, protein, dan asam nukleat. Antioksidan sintetis seperti BHA, BHT, TBHQ dan propil galat dapat menyebabkan atau meningkatkan efek negatif bagi kesehatan (Pourmorad dkk, 2006; Karori dkk, 2007).

Senyawa fenolik adalah senyawa penyusun yang keberadaannya luas dalam tanaman dan telah dipercaya mempunyai kapasitas antioksidan dan menangkap radikal bebas yang tinggi (Kahkonen dkk, 2001). Flavonoid mampu menghambat autooksidasi melalui mekanisme penangkapan radikal bebas (*radical scavenging*) dengan cara menyumbangkan satu elektron dari elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas sehingga banyaknya radikal bebas berkurang (Pokorny dkk, 2001).

Aktivitas antioksidan senyawa dapat diukur dari kemampuannya menangkap radikal bebas. Senyawa-senyawa yang tergabung dalam antioksidan ini akan menyerahkan satu atau lebih elektronnya kepada radikal bebas sehingga menjadi bentuk molekul yang normal kembali dan menghentikan berbagai kerusakan yang ditimbulkan (Caroline, 2005). Salah satu uji untuk

menentukan aktivitas antioksidan penangkap radikal adalah metode DPPH (2,2- difenil-2-pikrilhidrazil). Senyawa DPPH adalah radikal yang distabilkan oleh delokalisasi elektron bebas secara menyeluruh dan menyebabkan DPPH tidak mudah membentuk dimer. Pencampuran radikal DPPH dengan substansi yang mampu menyumbangkan sebuah atom hidrogen akan memunculkan bentuk tereduksi yang ditunjukkan oleh perubahan warna ungu menjadi kuning. Perubahan ini dapat diukur secara spektrofotometri (Molyneux, 2004).

Saat ini perhatian banyak ditingkatkan dalam pencarian untuk mendapatkan sumber antioksidan alami yang lebih aman dan diharapkan dapat menjadi alternatif pengganti bagi antioksidan sintetis. Sehingga penggalan informasi terkait kandungan fitokonstituen daun wangon serta kajian ilmiahnya diharapkan mampu menambah koleksi sumber antioksidan alami di Indonesia.

Kandungan fitokonstituen dalam daun wangon yang potensial sebagai antioksidan berdasarkan penelitian Majumder (2015) diperoleh dengan ekstraksi (penyarian) menggunakan pelarut metanol yang toksik. Sehingga dalam pengembangannya akan sulit untuk diaplikasikan menjadi berbagai produk baik terkait dengan bahan pangan maupun sediaan farmasi. Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi fitokonstituen antioksidan dengan pelarut yang *food grade* sehingga menjamin keamanannya. Selain itu diperlukan juga penelitian dengan tujuan untuk mencari efektivitas proporsi pelarut karena selain metode ekstraksi, pelarut dan proporsinya juga menentukan kualitas dan kuantitas ekstrak yang diperoleh.

2. METODOLOGI

2.1. Determinasi Tanaman Wangon

Determinasi dilakukan di Universitas Sebelas Maret Surakarta. Determinasi harus dilaksanakan karena bertujuan untuk menetapkan kebenaran yang berkaitan dengan ciri-ciri makroskopis berdasarkan pustaka.

2.2. Pengambilan Sampel dan Pembuatan Serbuk Daun Wangon

Daun wangon diambil dari wilayah hutan daerah Ngawi dan sekitarnya, dengan ciri-ciri seperti yang didapatkan dari hasil determinasi. Daun yang dipetik adalah daun yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua dan masih segar dan bebas dari penyakit.

Daun dicuci dengan air untuk menghilangkan kotoran dan cemaran, dikeringkan dengan oven pada suhu 40° C. Pembuatan serbuk menggunakan alat penyerbuk lalu diayak dengan ayakan ukuran 60 Mesh. Hasil penyerbukan yang berupa serbuk kering disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat yang selanjutnya digunakan untuk penelitian.

2.3. Pembuatan ekstrak daun wangon dengan metode soxhletasi

Serbuk kering daun wangon diekstraksi dengan cara soxhletasi dengan menggunakan pelarut etanol 50%, 70% dan 96%. Filtrat yang diperoleh kemudian disaring dan dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator*, sehingga didapatkan ekstrak pekat.

2.4. Identifikasi Kandungan kimia ekstrak daun wangon

Identifikasi dilakukan terhadap kandungan flavonoid, fenolik, saponin dan tanin dalam masing-masing ekstrak dengan reaksi kimia.

2.5. Penyiapan larutan untuk uji aktivitas antioksidan

2.5.1. Larutan DPPH. Larutan pereaksi adalah larutan DPPH 0,4 mM dalam pelarut etanol. Dibuat dengan menimbang 0,0158 gram serbuk DPPH kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL, ditambahkan ke dalamnya etanol sampai tanda batas, sehingga didapatkan konsentrasi 0,4 mM yang dihitung terhadap BM DPPH sebesar 394,32 g/mol.

2.5.2. Larutan uji. Ekstrak etanol ditimbang 50 mg, dimasukkan ke dalam labu takar 50 mL dan ditambahkan etanol sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm, selanjutnya disebut sebagai larutan induk. Konsentrasi larutan uji dibuat dengan memipet larutan induk untuk mendapat 5 seri konsentrasi. Sebelum dilakukan pengujian terlebih dahulu ditetapkan *operating time* dari masing-masing larutan uji untuk mengetahui reaksi terhadap DPPH sudah berjalan stabil pada waktu yang diharapkan.

2.6. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 50%, 70% dan 96% daun wangen dapat diidentifikasi dengan uji Kromatografi lapis tipis (KLT). Sampel ditotolkan di atas plat KLT silika gel GF 254 kemudian dieluasi dengan fase gerak n-heksana:etil asetat = 1:4. Setelah itu plat dikeringkan dan disemprot dengan larutan DPPH 0,2%. Kemampuan ekstrak dalam meredam radikal DPPH ditunjukkan dengan bercak warna kuning dan latar belakang ungu. Analisis kuantitatif antioksidan pengujian aktivitas antioksidan dimulai dengan tahapan penetapan kondisi analisis yaitu dengan penentuan panjang gelombang (λ) maksimum dan penetapan *operating time*. Selanjutnya aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol 50%, 70% dan 96% hasil ekstraksi soxhletasi ditentukan dengan metode DPPH yaitu sebanyak 1,0 mL ekstrak dengan berbagai konsentrasi ditambah dengan 1,0 mL DPPH 0,4 mM. Campuran divorteks dan dibiarkan selama 30 menit. Larutan diukur serapannya pada panjang gelombangnya terhadap blanko ekstrak dan pelarut etanol p.a. Pengukuran serapan terhadap kontrol terdiri dari 1,0 mL DPPH dan 4,0 mL pelarut etanol p.a. Sebagai pembanding digunakan kuersetin yang dibuat dengan berbagai konsentrasi.

Pengujian dilakukan dengan tiga kali pengulangan. Serapan yang diperoleh selanjutnya digunakan pada pengukuran aktivitas penangkap radikal bebas dari berbagai konsentrasi uji. Nilai IC_{50} diperoleh dari suatu persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak uji dengan persen penangkapan radikal bebas.

2.7. Penetapan kadar flavonoid total

2.7.1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum. Larutan kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 mL, ditambah dengan 1 mL $AlCl_3$ 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Dilakukan pembacaan dengan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 350-450 nm (Das dkk, 2013).

2.7.2. Penentuan *Operating Time*. Larutan kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 1 mL $AlCl_3$ 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Larutan tersebut diukur serapannya pada panjang gelombang yang telah diperoleh dengan interval pada waktu 2 menit sampai diperoleh serapan yang stabil.

2.7.3. Penentuan Kurva Baku Kuersetin. Larutan standar dibuat dengan menggunakan kuersetin sebagai baku standar dan dibuat 5 seri konsentrasi. Sebanyak 1 mL larutan seri kadar dari masing-masing konsentrasi dimasukkan, direaksikan dengan 1 mL $AlCl_3$ 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Didiamkan selama 16 menit pembacaan serapan seri konsentrasi dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

2.7.4. Penentuan Flavonoid Total. Kandungan flavonoid total merujuk pada prosedur Chang et al., (2002) yang dimodifikasi dengan beberapa konsentrasi menggunakan kuersetin sebagai standar. Ditimbang ekstrak daun wangen sebanyak 25 mg dan dilarutkan dalam 25 mL etanol. Dari larutan stok dipipet sebanyak 1 mL dan dicukupkan volumenya sampai 100 mL dengan etanol. Kemudian dipipet 1 mL dan ditambahkan 3 mL etanol, 0,2 mL $AlCl_3$, 0,2 mL kalium asetat 1 M, dan 5,6 mL aquabidestillata. Setelah itu diinkubasi selama *operating time* pada suhu kamar dan diukur serapannya pada panjang gelombang maksimal dengan spektrofotometer UV-Visible

2.8. Penetapan kadar fenolik total

2.8.1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal. Larutan asam galat 100 ppm diambil sebanyak 1,0 mL kemudian ditambah dengan reagen Folin-Ciocalteu sebanyak 2 mL, selanjutnya ditambahkan dengan 4 mL natrium karbonat 1 M. Kemudian serapannya dibaca pada panjang gelombang 600-800 nm.

2.8.2. Penentuan *Operating Time*. Larutan asam galat 100 ppm diambil sebanyak 1,0 mL ditambahkan dengan reagen Folin-Ciocalteu sebanyak 2 mL, selanjutnya ditambahkan dengan 4 mL natrium karbonat 1 M. Kemudian dibaca serapan larutan setiap 5 menit dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang maksimal selama 60 menit.

2.8.3. Penentuan Kurva Baku Asam Galat. Larutan asam galat dibuat 5 seri konsentrasi kemudian diambil masing-masing sebanyak 1,0 mL ditambahkan dengan reagen Folin Ciocalteu sebanyak 2 mL, selanjutnya ditambahkan dengan 4 mL natrium karbonat 1 M.

Diamkan selama *operating time* kemudian dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimal.

2.8.4. Penentuan Fenolik Total. Sampel ekstrak ditimbang 100 mg kemudian ditambah dengan 1,0 mL etanol dan 2,5 mL aquadestillata serta 2,5 mL reagen Folin Ciocalteu 50%. Campuran didiamkan selama 5 menit kemudian ditambah dengan 2 mL Na₂CO₃ 7,5% dan divorteks selanjutnya diinkubasi selama *operating time* pada suhu 45°C. Kemudian dibuat regresi linier kurva kalibrasi standar dan kadar fenolik total dapat dihitung dengan memploting dalam persamaan regresi linier dan dihitung dengan menggunakan rumus :

$$TPC = \frac{C.V.f_p}{w} \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan :

- TPC = kadar fenolik total
 C = konsentrasi fenolik (nilai x dari hasil regresi)
 V = Volume ekstrak (mL)
 Fp = faktor pengenceran
 W = berat sampel (g)

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil determinasi yang telah dilakukan menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan untuk penelitian adalah (*Oxalys psittacorum* (Wild.) Vahl.). Diperoleh hasil rendemen ekstrak etanol 50% daun wangon adalah 24,35% sedangkan rendemen ekstrak 70% adalah 24,04% dan ekstrak etanol 96% adalah 33,28%. Rendemen ekstrak yang diperoleh menunjukkan efektivitas penyarian. Tetapi tidak selalu berkorelasi positif terhadap kualitas kandungan senyawa aktif yang tersari dalam ekstrak tersebut.

Identifikasi terhadap kandungan senyawa yang terdapat dalam ekstrak daun wangon bertujuan untuk mengetahui fitokonstituen yang berpotensi sebagai antioksidan. Pada tabel 1 berikut disajikan senyawa kimia yang positif terdapat di dalam ekstrak etanol 50%, 70% maupun 96%.

Tabel 1. Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol 50%, 70% dan 96% daun wangon

Kandungan Kimia	Hasil Ekstrak 50%	Hasil Ekstrak 70%	Hasil Ekstrak 96%	Interpretasi Hasil	Pustaka
Flavonoid	Warna jingga pada lapisan amil alkohol	Warna jingga pada lapisan amil alkohol	Warna jingga pada lapisan amil alkohol	Positif	Warna jingga pada lapisan amil alkohol
Saponin	Buih tinggi 1-10 cm	Buih tinggi 1-10 cm	Buih tinggi 1-10 cm	Positif	Buih tinggi 1-10 cm
Fenolik	Warna hijau tua	Warna hijau tua	Warna hijau tua	Positif	Warna hijau tua atau biru
Tanin	Warna hijau violet	Warna hijau violet	Warna hijau violet	Positif	Warna hijau violet

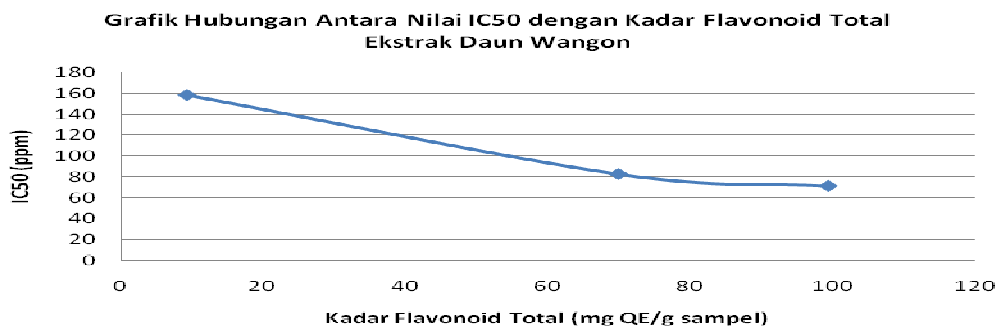
Kemampuan kualitatif ekstrak daun wangon dalam meredam radikal DPPH ditunjukkan dengan bercak warna kuning dan latar belakang ungu pada plat KLT. Sedangkan uji kuantitatif seberapa besar kemampuan masing-masing ekstrak dalam meredam radikal DPPH digunakan metode spektrofotometri UV-Visibel. Setelah diperoleh persen aktivitas peredaman ekstrak dan standar kuersetin terhadap DPPH kemudian ditentukan aktivitas antioksidannya dengan cara menentukan nilai IC₅₀ masing-masing. Dibuat persamaan regresi linier dari seri konsentrasi masing-masing larutan standar kuersetin dan sampel dengan aktivitas antioksidannya.

Tabel 2. Nilai IC₅₀ ekstrak etanol 50%, 70%, 96% daun wangon dan standar kuersetin

	IC ₅₀ (ppm)
Ekstrak etanol 50% daun wangon	158,48
Ekstrak etanol 70% daun wangon	82,77
Ekstrak etanol 96% daun wangon	71,27
Kuersetin	12,19

Aktivitas antioksidan dalam beberapa penelitian sebelumnya dilaporkan terkait dengan beberapa kandungan senyawa kimia di antaranya adalah flavonoid dan fenolik. Sehingga dalam penelitian ini ditentukan juga kadar flavonoid total dan fenolik totalnya yang dapat dikorelasikan dengan kemampuan dalam meredam aktivitas radikal DPPH.

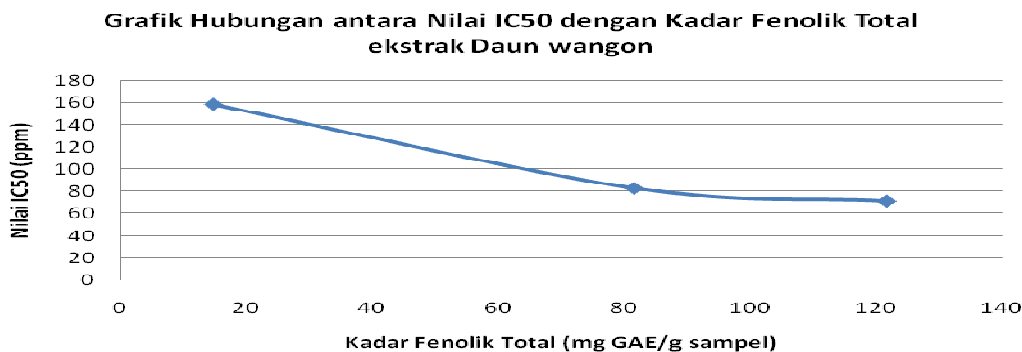
Penentuan konsentrasi flavonoid dari ekstrak etanol 50%, 70% dan 96% daun wangen dilakukan dengan metode kolorimetri $AlCl_3$. Metode ini dapat digunakan untuk menentukan jumlah flavonoid golongan flavon dan flavonol. Prinsip penetapan flavonoid dengan metode kolorimetri $AlCl_3$ adalah terbentuknya kompleks antara $AlCl_3$ dengan gugus keto pada atom C-4 dan juga dengan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-4 yang bertetangga dari flavon dan flavonol. Pada pembuatan kurva kalibrasi digunakan kuersetin sebagai pembanding di mana kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol. Kadar flavonoid total ekstrak etanol 50% adalah $9,38 \pm 0,30$ mg QE/g sampel sedangkan dalam ekstrak 70% adalah $69,95 \pm 0,90$ mg QE/g sampel dan pada ekstrak etanol 96% adalah $99,44 \pm 1,27$ mg QE/g sampel. Jika dikorelasikan antara aktivitas antioksidan dengan kadar flavonoid total menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan berbanding lurus dengan kadar flavonoid total dalam ekstrak tersebut dengan nilai korelasi sebesar 97,90%.



Gambar 1. Grafik Hubungan antara Nilai IC50 dengan Kadar Flavonoid Total ekstrak Daun wangen

Kadar fenolik total dalam ekstrak etanol 50% daun wangen adalah $14,73 \pm 1,28$ mg GAE/g sampel untuk ekstrak 70% daun wangen adalah $81,67 \pm 1,05$ mg GAE/g sampel dan ekstrak etanol 96% daun wangen adalah $121,66 \pm 1,39$ mg GAE/g sampel. Kandungan total fenolik ekuivalen dengan asam galat sebagai standarnya dan disebut *Gallic Acid Equivalent* (GAE). Menurut Mongkolsilp (2004), GAE adalah acuan umum untuk menentukan berapa banyak senyawa fenolik yang terdapat di dalam suatu bahan. Dari perhitungan diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol 96% mempunyai GAE yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanol 70% dan 50%.

Jika dikorelasikan antara aktivitas antioksidan antara kedua ekstrak etanol daun wangen, menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan berkaitan dengan kadar fenolik total yang terkandung dalam ekstrak tersebut dengan nilai korelasi sebesar 96,70%..



Gambar 2. Grafik Hubungan antara Nilai IC50 dengan Kadar Fenolik Total ekstrak Daun wangen

4. KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa proporsi pelarut yang paling baik untuk mengekstraksi daun wangon supaya mempunyai aktivitas antioksidan terbesar adalah dengan etanol 96%. Hal ini dibuktikan bahwa ekstrak etanol 96% menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 71,27 ppm, sedangkan ekstrak 70% mempunyai nilai IC_{50} 82,77 ppm dan ekstrak 50% nilai IC_{50} 158,48 ppm. Semakin kecil nilai IC_{50} menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin besar.

Ekstrak etanol 96% juga mempunyai kandungan flavonoid dan fenolik total terbesar jika dibandingkan dengan ekstrak etanol 50% dan 70%, di mana fitokonstituen tersebut disinyalir berperan kuat dalam aktivitas antioksidan ekstrak daun wangon. Kadar flavonoid total ekstrak etanol 50% adalah $9,38 \pm 0,30$ mg QE/g sampel sedangkan dalam ekstrak 70% adalah $69,95 \pm 0,90$ mg QE/g sampel dan pada ekstrak etanol 96% adalah $99,44 \pm 1,27$ mg QE/g sampel. Sedangkan kadar fenolik total dalam ekstrak etanol 50% daun wangon adalah $14,73 \pm 1,28$ mg GAE/g sampel untuk ekstrak 70% daun wangon adalah $81,67 \pm 1,05$ mg GAE/g sampel dan ekstrak etanol 96% daun wangon adalah $121,66 \pm 1,39$ mg GAE/g sampel. Kadar flavonoid dan fenolik total dalam ekstrak daun wangon mempunyai korelasi linier (berbanding lurus) dan kuat terhadap aktivitas antioksidannya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih peneliti sampaikan kepada Universitas Setia Budi yang telah membiayai penelitian ini pada skema Penelitian Dasar tahun pendanaan 2017.

DAFTAR PUSTAKA

- Caroline, (2005), Uji Aktivitas Antioksidan Antiradikal Bebas dan Penentuan IC_{50} dari Daun Cincin Hijau (*Cycla barbata* Miers), *Jurnal Obat Bahan Alam*, Vol 4, 11, 12, 14.
- Das, N., Md. E. Islam., N. Jahan., M. S. Islam., A. Khan, Md. R. Islam, and Mst. S. Parvin, (2014), Antioxidant Activities of Ethanol Extracts and Fractions of *Crescentia cujete* Leaves and Stembark and The Involvement of Phenolic Compounds. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 14-45
- Deena D.M., Lakshmi M.S., Kumar.S.A., Kumar.A.G., Basha.J.D., and Naganjaneyulu.R., (2011), Antioxidant Activity of *Sophora interrupta* Bedd, *International Journal of Phytopharmacology*, 43-47.
- Kahkonen, M. P., Hopia, A. I., Vuoreia, H. J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., and Heinonen M., (2001), Antioxidant Activity of Extract Containing Phenolic Compounds, *J. Agric.FoodChem.*, 47, 3954-3962.
- Karori, S.M., Wachira. F.N., Wanyoko, J.K., and Ngunjiri, R.M., (2007), Antioxidant Capacity of *Orthosiphon stamineus* Benth from Different Geographical Origin, *Journal of Sustainability Science and Management*, Vol. 1(2): 14-20.
- Majumder, R. Dhara, M., Adhikari, L. (2015), Comparative Study of Leaves and Stem Methanolic Extract on Antioxidant and Antimicrobial Activity through Quantitative Evaluation of Phytoconstituents, *International Journal of Engineering Technology, Management and Applied Sciences*. Vol.3, 208-216.
- Molyneux, P., (2004), The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakar Journal of Science Technology*, 2004, 26 (2) : 211-219.
- Pokorny, J., Yanishelvia, N., and Gordon, M., (2001), *Antioxidant in Food, Practical Applications*, CRC Press, New York, 1-73, 87-119, 147-155.
- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J., and Shahabimajid, N., (2006), Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Content some Selected Iranian Medicinal Plants, *African Journal of Biotechnology*, Vol. 5 (11), pp. 1142-1145.
- Mongkolsilp, S., Pongbupakit, I., Sae-lee, N., Sithithaworn, W., (2004). Radical Scavenging activity and total phenolic content of medical plants used in primary health care. *Jurnal of Pharmacy and Science*. 9(1) :32-35
- Yalla, R. K., Kumar S., Lakshmi M., and Angothu S., (2010), Antioxidant Properties of Methanolic Extract Of *Oxalis Corniculata*, *International Journal of Phytopharmacology*, 43-46.