

## IDENTIFIKASI KUALITATIF FENOLIK DAN PENAPISAN AKTIVITAS PEREDAMAN RADIKAL DPPH MENGGUNAKAN KLT PADA EKSTRAK BATANG *Pluchea indica* L.

(Qualitative Identification of Phenolics and Screening of DPPH Radical Scavenging Activity Using TLC on *Pluchea indica* L. Stem Extracts)

Ni Putu Ermi Hikmawanti<sup>1\*</sup>, Agustin Yumita<sup>1</sup>, Jihan Esa Siregar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Jakarta

Email: [ermy0907@uhamka.ac.id](mailto:ermy0907@uhamka.ac.id)

### ABSTRACT

#### Article Info:

Received: 2022-05-21

Review: 2022-09-23

Accepted: 2022-10-22

Available Online: 2022-12-01

#### Keywords:

Antioksidan; Beluntas; DPPH; Fenolik; KLT; *Pluchea indica*.

#### Corresponding Author:

Ni Putu Ermi Hikmawanti  
Departemen Biologi Farmasi,  
Fakultas Farmasi dan Sains,  
Universitas Muhammadiyah Prof.  
DR. HAMKA  
Jakarta  
Indonesia  
email: [ermy0907@uhamka.ac.id](mailto:ermy0907@uhamka.ac.id)

*Pluchea indica* L. (beluntas) from the Asteraceae is a plant known to be rich in phenolics. Studies on the phenolic content of *P. indica* stems have not been explored much. The purpose of this study is to qualitatively identify the presence of phenolic compounds and to screen for the radical scavenging ability of DPPH in *P. indica* stem extracts using the TLC method. Extraction was carried out with the ultrasonic directly and sequentially using 50% ethanol as solvent. Separation was carried out on a silica gel plate GF254 with ethyl acetate: water: formic acid: toluene (20:2:2:1) as the mobile phase. Gallic acid and chlorogenic acid were used as comparisons. Identification of the presence of phenolic using FeCl<sub>3</sub> 5% as a spray reagent, while screening for radical scavenging activity using DPPH 0.1 mM as a spray reagent. The results showed that the 50% ethanol extracts of *P. indica* stems, both obtained from direct and stratified extraction, indicated the presence of phenolic compounds as antioxidants. The phenolic compounds detected were identical to gallic acid and chlorogenic acid, respectively, at hRf values of 89.4 and 55.3. The development of phenolic utilization from *P. indica* stems as a source of antioxidants still needs to be studied.



Copyright © 2020 Journal As-Syifaa Farmasi by Faculty of Pharmacy, Muslim University. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License.

#### Published by:

Fakultas Farmasi  
Universitas Muslim Indonesia

#### Address:

Jl. Urip Sumoharjo Km. 5 (Kampus II UMI) Makassar, Sulawesi Selatan.

#### Email:

[jurnal.farmasi@umi.ac.id](mailto:jurnal.farmasi@umi.ac.id)

## ABSTRAK

*P. indica* L. (beluntas) dari keluarga Asteraceae merupakan tanaman yang diketahui kaya akan fenolik. Studi kandungan fenolik pada batang *P. indica* belum banyak dieksplorasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa fenolik secara kualitatif dan menapis kemampuan peredaman radikal DPPH pada ekstrak batang *P. indica* menggunakan metode KLT. Ekstraksi dilakukan dengan bantuan ultrasonik secara langsung dan bertingkat menggunakan pelarut etanol 50%. Pemisahan dilakukan pada plat silika gel GF254 dengan etil asetat: air: asam format: toluena (20:2:2:1) sebagai fase gerak. Asam galat dan asam klorogenat digunakan sebagai pembanding. Identifikasi keberadaan fenolik menggunakan  $\text{FeCl}_3$  5% sebagai reagen semprot, sedangkan penapisan aktivitas antioksidan menggunakan DPPH 0,1 mM sebagai reagen semprot. Hasil menunjukkan bahwa dalam ekstrak etanol 50% batang *P. indica* baik yang diperoleh dari ekstraksi langsung maupun bertingkat menunjukkan keberadaan senyawa fenolik sebagai antioksidan. Senyawa fenolik yang terdeteksi tersebut diantaranya identik dengan asam galat dan asam klorogenat, masing-masing secara berturut-turut pada nilai  $R_f$  89,4 dan 55,3. Pengembangan pemanfaatan fenolik dari batang *P. indica* sebagai sumber antioksidan masih perlu terus dipelajari..

**Kata kunci:** Aktivitas antibakteri; *Cayratia trifolia* L; Fungi endofit; Konsentrasi hambat minimum.

## PENDAHULUAN

*Pluchea indica* L. (beluntas) merupakan tanaman yang berasal dari keluarga Asteraceae.<sup>1</sup> Tanaman ini mudah ditemui di Indonesia dan secara tradisional telah digunakan untuk berbagai manfaat seperti mengatasi gejala tuberculosis (Alvin et al., 2014), perawatan pasca melahirkan<sup>3,4</sup>, nyeri haid, keram perut<sup>5</sup>, penghilang bau badan, mengatasi demam, diare dan batuk.<sup>6</sup> Studi melaporkan bahwa kandungan fenolik dari batang *P. indica* menduduki posisi kedua terbanyak setelah daun, diikuti dengan bunga dan akarnya.<sup>7</sup> Kandungan kimia fenolik utama dalam tanaman ini adalah asam kafeoilquinat yang banyak ditemukan pada bagian daun.<sup>8-10</sup> Salah satu asam kafeoilquinat yang penting adalah asam klorogenat.<sup>11</sup>

Asam klorogenat (asam 5-kafeoilquinat) merupakan salah satu senyawa dalam kelompok asam monokafooilquinat. Senyawa ini ditemukan pertama kali tahun 1920 dari biji kopi.<sup>12</sup> Senyawa ini banyak ditemukan pada buah dan sayuran.<sup>13</sup> Asam klorogenat larut dalam alkohol dan campuran alkohol-air. Senyawa ini memiliki banyak manfaat, antara lain sebagai antioksidan dan memiliki efek

proteksi peroksidasi lipid. Asam klorogenat juga memiliki aktivitas dalam melindungi saraf, kardiovaskular, saluran pencernaan, hati, dan efek antikarsinogenik.<sup>11</sup> Selain itu, asam galat sebagai suatu asam fenolat sederhana yang umum ditemukan pada tanaman juga memiliki peran penting sebagai suatu antioksidan. Senyawa ini seringkali digunakan sebagai pembanding dalam penentuan kadar fenolik total pada bahan tanaman.<sup>14</sup>

Sebelumnya, asam klorogenat terdeteksi dan terkuantifikasi menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi (KLT-KT) dari ekstrak etanol 50% daun *P. indica*.<sup>9</sup> Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan metode pemisahan yang dilakukan pada bidang datar (planar). Proses pemisahannya berdasarkan pada distribusi komponen kimia yang akan dipisahkan di antara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak.<sup>15</sup> Metode ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa fenolik dan menapis aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH.<sup>16</sup> Keunggulan dari metode ini adalah waktu analisis yang cepat, dengan mudah mendeteksi senyawa target, biaya yang relatif lebih murah, serta resolusi

yang tinggi sehingga memberikan hasil yang akurat.<sup>15</sup>

Pentingnya fenolik (terutama asam klorogenat dan asam galat) sebagai salah satu sumber antioksidan alami menarik untuk dipelajari pada batang *P. indica*. Penelusuran kualitatif asam klorogenat dan asam galat serta penapisan antioksidan dari batang *P. indica* dengan teknik KLT belum pernah dilaporkan. Melalui penelitian ini akan diperoleh data kualitatif kandungan asam klorogenat dan asam galat beserta penapisan senyawa antioksidan pada ekstrak batang *P. indica* yang dihasilkan dari ekstraksi langsung dan bertingkat dengan bantuan ultrasonik menggunakan pelarut etanol 50%.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain: *ultrasonic-bath* (Branson 5510), *vacuum rotary evaporator* (Eyela), *UV box* (Camag), dan alat-alat gelas lain yang umum digunakan dalam penelitian. Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain: etanol, etil asetat, *n*-heksana, dan aquades sebagai pelarut pengekstraksi yang diperoleh dari PT. Brataco. Asam klorogenat dan asam galat sebagai pembanding yang dibeli dari MarkHerb, Institut Teknologi Bandung (ITB), Bandung, Indonesia. Pereaksi FeCl<sub>3</sub> 5%, DPPH (Merck) 0,1 mM, Dragendorff, Mayer, Bouchardat, gelatin 10%, serbuk Mg, HCl 2 N, HCl pekat, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, kloroform (Merck), dan asam asetat glasial. Plat KLT GF<sub>254</sub> (Merck) sebagai fase diam. Etil asetat p.a, asam format p.a, dan toluena p.a (Merck) sebagai fase gerak.

### Pengumpulan Bahan Tanaman

Batang *P. indica* diperoleh dari Unit Konservasi Budidaya Biofarmaka (UKBB)

Pusat Studi Biofarmaka Tropika, LPPM IPB. Tanaman dideterminasi di tempat yang sama dengan nomor koleksi BMK0188092016. Batang dipanen pada bulan November tahun 2021. Batang dicuci bersih dengan air mengalir, kemudian dipotong-potong kecil dan selanjutnya dikering-anginkan. Simplisia batang yang telah kering kemudian diblender hingga menjadi serbuk. Serbuk diayak dengan ayakan mesh 40. Serbuk disimpan pada wadah kering tertutup rapat.

### Ekstraksi Langsung

Serbuk batang *P. indica* (5 g) diekstraksi secara langsung dengan pelarut etanol 50% (50 mL) menggunakan bantuan ultrasonik dengan frekuensi 40 KHz pada suhu 40 °C selama 15 menit mengikuti prosedur Kongkiatpaiboon et al. (2018). Filtrat disaring dari ampasnya menggunakan kertas saring. Ampas kemudian diekstraksi kembali dengan pelarut baru sebanyak 3 kali. Selanjutnya filtrat dikumpulkan dan dipekatkan hingga mencapai volume akhir 50 mL. Filtrat ini kemudian disebut sebagai ekstrak cair.

### Ekstraksi Bertingkat

Tahapan ekstraksi dilakukan sama seperti ekstraksi langsung. Namun, pelarut untuk ekstraksi digunakan secara berurutan sesuai tingkat polaritasnya pada simplisia. Ekstraksi bertingkat diawali dari pelarut dengan tingkat polaritas yang kurang polar hingga polar, yaitu: *n*-heksana (kurang polar), etil asetat (semipolar), dan etanol 50% (polar).

### Penapisan Kandungan Kimia

Penapisan fitokimia (fenolik, flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, steroid, dan terpenoid) ekstrak batang *P. indica* dianalisis dengan prosedur yang mengacu pada Farmakope Herbal Indonesia<sup>17</sup> dan Shaikh & Patil (2020).

### Analisis KLT

Fase diam yang digunakan adalah plat silika gel GF<sub>254</sub> yang telah diaktifkan di dalam oven suhu 110 °C selama 30 menit. Jarak rambat fase gerak sebesar 8,5 cm. Fase gerak yang digunakan adalah etil asetat: air: asam format: toluena (20:2:2:1). Asam klorogenat dan asam galat sebagai pembanding dibuat dalam konsentrasi 0,1%. Volume penotolan baik pembanding dan sampel ekstrak masing-masing secara berturut-turut adalah 5 µL dan 20 µL. Pengamatan dilakukan pada sinar UV 254 dan UV 366 di dalam UV box sebelum disemprot dengan reagen pendeteksi. Reagen pendeteksi yang digunakan adalah FeCl<sub>3</sub> 5% (deteksi fenolik) dan DPPH 0,1 mM (deteksi kemampuan peredaman radikal bebas). Setelah disemprot dengan reagen pendeteksi, pengamatan dilakukan pada sinar tampak. Bercak yang diperoleh kemudian dihitung nilai hRf-nya.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Tahapan awal dalam melakukan pemisahan senyawa alami dari bahan tanaman

disebut dengan ekstraksi. Teknik ekstraksi yang paling umum digunakan adalah ekstraksi dengan pelarut. Dengan demikian, pemilihan pelarut yang tepat akan secara selektif mengekstraksi senyawa yang dikehendaki dari tanaman.<sup>19</sup> Hasil penapisan kandungan kimia dari ekstrak batang *P. indica* disajikan pada Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1, senyawa fenolik hanya terdeteksi pada ekstrak etanol 50% batang *P. indica*, baik dari hasil ekstraksi langsung maupun bertingkat. Selain fenolik, kedua ekstrak etanol 50% batang *P. indica* juga mengandung flavonoid, tanin, dan alkaloid. Sementara itu, ekstrak etil asetat dan *n*-heksana hanya terdeteksi mengandung senyawa steroid. Proses ekstraksi bertingkat telah mengelompokkan kandungan kimia dari batang tersebut berdasarkan tingkat kepolaran pelarutnya. Etanol-air merupakan pelarut yang ideal untuk ekstraksi fenolik.<sup>20,21</sup> Jenis fenolik yang terekstraksi dan kuantitasnya sangat dipengaruhi oleh polaritas etanol yang digunakan sebagai pelarut.<sup>22</sup>

**Tabel 1.** Hasil penapisan kandungan kimia ekstrak batang *P. indica*

Senyawa yang diidentifikasi	Ekstrak etanol 50% (langsung)	Ekstrak etanol 50% (bertingkat)	Ekstrak etil asetat (bertingkat)	Ekstrak <i>n</i> -heksana (bertingkat)
Fenolik	+	+	-	-
Flavonoid	+	+	-	-
Tanin	+	+	-	-
Saponin	-	-	-	-
Alkaloid	+	+	-	-
Steroid	-	-	+	+
Triterpenoid	-	-	-	-

**Keterangan:** (+) = senyawa teridentifikasi; (-) = senyawa tidak teridentifikasi

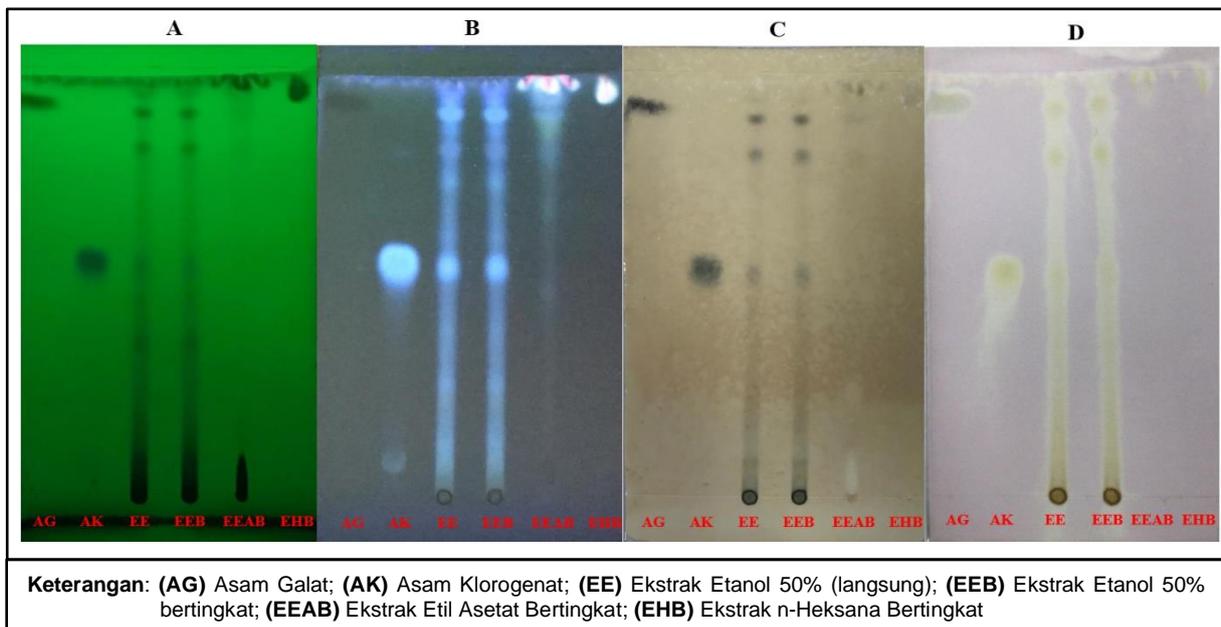
Selain itu, faktor lain yang mempengaruhi keberhasilan ekstraksi adalah waktu dan suhu.<sup>19</sup> Pemilihan metode ekstraksi yang tepat dalam pengaturan kedua parameter ini akan meningkatkan kelarutan senyawa dalam pelarut pengekstraksi. Penggunaan

teknik ekstraksi modern seperti ekstraksi yang dibantu dengan ultrasonik, *microwave*, enzim, dan lain sebagainya akan dapat memperpendek waktu ekstraksi fenolik dan menurunkan volume penggunaan pelarut.<sup>22</sup> Ekstraksi ini terbukti lebih unggul dalam hal

perolehan senyawa fenolik dibandingkan ekstraksi konvensional seperti maserasi ataupun refluks.<sup>23</sup>

Studi sebelumnya, ekstraksi asam klorogenat dari daun memberikan hasil terbaik menggunakan pelarut etanol 50% dengan metode ekstraksi yang dibantu ultrasonik.<sup>8</sup> Teknik ekstraksi yang dibantu ultrasonik terbukti pada banyak studi mampu mengurangi waktu ekstraksi dan penggunaan pelarut

pengekstraksi.<sup>24</sup> Hal ini dikarenakan adanya radiasi ultrasonik (dengan frekuensi >20 kHz) yang memfasilitasi ekstraksi metabolit dari matriks tanaman. Gelombang ultrasonik akan menghasilkan gelembung kavitasitas dekat dinding sel tanaman, yang selanjutnya akan merusak dinding sel tersebut dan membuat metabolit keluar dari dalam sel.<sup>22</sup> Dengan demikian, efisiensi ekstraksi senyawa kimia dari matriks tanaman juga meningkat<sup>24</sup>.



**Gambar 1.** Hasil Kromatogram KLT identifikasi keberadaan asam klorogenat serta aktivitas peredaman radikal DPPH secara kualitatif pada ekstrak batang *P. indica*; (A) Pengamatan pada sinar UV 254 nm; (B) Pengamatan pada sinar UV 366 nm; (C) Pengamatan pada sinar tampak setelah disemprot FeCl<sub>3</sub> 3%; (D) Pengamatan pada sinar tampak setelah disemprot DPPH.

Asam klorogenat tidak larut dalam benzena, kloroform, dan petroleum eter. Pelarut etanol 50% merupakan campuran air-etanol (1:1) yang baik untuk melarutkan senyawa fenolik, terutama asam klorogenat. Kepolaran asam klorogenat dan kelarutannya yang tinggi dalam pelarut polar berkaitan dengan banyaknya gugus hidroksil pada strukturnya.<sup>25</sup> Berdasarkan studi ini, jenis fenolik yang terdapat pada ekstrak etanol 50% (baik dari ekstraksi langsung maupun bertingkat) adalah identik (mirip) dilihat dari

pola kromatogram KLT (Gambar 1). Gambar 1 menunjukkan kromatogram KLT dari ekstrak batang *P. indica* beserta pembanding asam klorogenat dan asam galat. Tabel 2 menyajikan nilai hRf dari masing-masing bercak yang terdeteksi pada kromatogram KLT tersebut. Berdasarkan hasil KLT menunjukkan bahwa hanya ekstrak etanol 50% baik yang diperoleh dari ekstraksi langsung maupun bertingkat yang mengandung senyawa fenolik (berwarna biru kehitaman setelah disemprot FeCl<sub>3</sub>).

**Tabel 2.** Nilai hRf senyawa fenolik dan antioksidan batang *P. indica*

Jenis Sampel	Nilai hRf			
	UV254 (sebelum disemprot)	UV365 (sebelum disemprot)	Semprot FeCl <sub>3</sub> 5%	Semprot DPPH 0,1 M
Ekstrak etanol 50%- langsung	4 bercak berwarna gelap:	5 bercak berwarna biru:	3 bercak berwarna biru kehitaman:	3 bercak berwarna kuning:
	89,4	89,4	89,4	92,9
	80,0	85,8	80,0	80,0
	55,3	80,0	55,3	55,3
	35,3	74,1		
Ekstrak etanol 50%- bertingkat	4 bercak berwarna gelap:	5 bercak berwarna biru:	3 bercak berwarna biru kehitaman:	3 bercak berwarna kuning:
	89,4	89,4	89,4	92,9
	80,0	85,8	80,0	80,0
	55,3	80,0	55,3	55,3
	35,3	74,1		
Ekstrak etil asetat (bertingkat)	bercak samar	bercak samar	bercak samar	bercak samar
Ekstrak <i>n</i> -heksana (bertingkat)	-	-	-	-
Asam klorogenat	55,3	55,3	55,3	55,3
Asam galat	91,7	91,7	91,7	92,9

Keterangan: (-) Tidak terdeteksi adanya bercak; nilai hRf = nilai Rf x 100; bercak samar tidak dihitung nilai hRf-nya.

Asam klorogenat dan asam galat merupakan dua jenis fenolik yang terdeteksi secara kualitatif pada kedua ekstrak tersebut. Sementara itu, berdasarkan hasil KLT, kedua ekstrak etanol 50% juga menunjukkan kemampuan peredaman radikal DPPH yang ditandai dengan adanya bercak berwarna kuning pucat. Senyawa asam klorogenat dan asam galat terdeteksi pada kedua ekstrak tersebut dengan nilai hRf, masing-masing sebesar 55,3 dan 89,4. Sementara itu, pada ekstrak etil asetat terdapat bercak namun terlihat samar. Bercak ini diduga merupakan fenolik namun dalam kuantitas yang sangat rendah. Ekstrak *n*-heksana tidak terdeteksi fenolik dengan fase gerak yang digunakan. Penelusuran lebih lanjut dari jenis fenolik lain ataupun kadar asam galat dan asam klorogenat pada ekstrak etanol 50% batang *P. indica* masih perlu dilakukan dengan teknik kromatografi lain dengan tingkat sensitifitas

lebih tinggi misalnya kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT).

Analisis kualitatif menggunakan KLT dari semua jenis ekstrak dan kedua pembanding terhadap kemampuannya dalam meredam radikal DPPH juga dilakukan. Tujuannya adalah mengidentifikasi keberadaan senyawa dalam ekstrak yang berpotensi dalam meredam radikal bebas. Hasilnya, ekstrak etanol 50% batang *P. indica* (baik dari ekstraksi langsung maupun bertingkat) memiliki 3 bercak senyawa yang identik dan menunjukkan hasil positif (peredaman) terhadap radikal DPPH (Gambar 1). Metode uji DPPH merupakan metode yang menggambarkan donor elektron sekaligus hidrogen dari senyawa antioksidan untuk menetralkan radikal DPPH.<sup>26</sup> Penapisan aktivitas peredaman radikal DPPH ditunjukkan dengan bercak yang berwarna kuning dengan latar berwarna merah muda hingga ungu. Mekanisme kerja fenolik terhadap kondisi ini dikarenakan terjadinya donor elektron<sup>27</sup>

maupun donor hidrogen oleh fenolik kepada radikal DPPH.<sup>28</sup> Struktur fenolik ideal dalam meredam radikal bebas karena banyaknya gugus hidroksil didalamnya.<sup>14</sup> Penelusuran lebih lanjut mengenai total kapasitas antioksidan dari fenolik pada ekstrak etanol batang *P. indica* masih perlu dilakukan menggunakan teknik lain secara kuantitatif seperti *Trolox equivalent antioxidant capacity* (TEAC), *oxygen radical absorbance capacity* (ORAC), *total radical-trapping antioxidant parameter* (TRAP), *ferric ion reducing antioxidant power* (FRAP), *cupric ion reducing antioxidant capacity* (CUPRAC), dan sebagainya.

#### KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 50% batang *P. indica* baik yang diperoleh dari metode ekstraksi langsung maupun bertingkat mengandung asam klorogenat, asam galat dan beberapa senyawa fenolik lain yang belum teridentifikasi menggunakan metode KLT. Senyawa-senyawa fenolik pada batang *P. indica* berpotensi sebagai suatu antioksidan yang terbukti mampu meredam radikal DPPH melalui uji penapisan dengan metode KLT. Penelusuran lebih lanjut terhadap jenis fenolik lain dalam batang *P. indica* masih perlu dilakukan. Pemanfaatan batang *P. indica* sebagai bagian tanaman yang menjadi sumber asam klorogenat dan asam galat baru juga perlu dikembangkan.

#### UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengembangan (Lemlitbang), Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA yang telah mendanai penelitian dan publikasi ini dengan nomor hibah: 713/F.03.07/2021.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Direktorat Obat Asli Indonesia. *Taksonomi: Koleksi Tanaman Obat Kebun Tanaman Obat Citeureup*. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI). 2008
2. Alvin A, Miller KI, Neilan BA. Exploring the Potential of Endophytes from Medicinal Plants as Sources of Antimycobacterial Compounds. *Microbiol Res.* 2014; 169:483–495
3. Roosita K, Kusharto CM, Sekiyama M, Fachrurrozi Y, Ohtsuka R. Medicinal Plants Used by the Villagers of a Sundanese Community in West Java, Indonesia. *J Ethnopharmacol.* 2008; 115(1):72–81
4. Zumsteg IS, Weckerle CS. Bakera, a Herbal Steam Bath for Postnatal Care in Minahasa (Indonesia): Documentation of the Plants Used and Assessment of the Method. *J Ethnopharmacol.* 2007; 111(3):641–650
5. Yuniarti T. *Ensiklopedia Tanaman Obat Tradisional*. Yogyakarta: MedPress. 2008
6. Andarwulan N, Kurniasih D, Apriady RA Rahmat H, Roto AV, Bolling BW. Polyphenols, Carotenoids, and Ascorbic Acid in Underutilized Medicinal Vegetables. *J Funct Foods.* 2012; 4:339–347
7. Normala H, Suhaimi MI. Quantification of Total Phenolics in Different Parts of *Pluchea indica* (Less) Ethanolic and Water Extracts. *Pertanika J Sci Technol.* 2011; 19(1):19–24
8. Kongkiatpaiboon S, Chewchinda S, Vongsak B. Optimization of Extraction Method and HPLC Analysis of Six Caffeoylquinic Acids in *Pluchea indica* Leaves from Different Provenances in Thailand. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 2018; 28(2):145–150
9. Chewchinda S, Vongsak B. Simultaneous HPTLC Quantification of Three Caffeoylquinic Acids in *Pluchea indica* Leaves and Their Commercial Products in Thailand. *Rev Bras Farmacogn.* 2019; 29:177–181
10. Vongsak B, Kongkiatpaiboon S, Jaisamut S, Konsap K. Comparison of Active Constituents, Antioxidant Capacity, and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibition in *Pluchea indica*

- Leaf Extracts at Different Maturity Stages. *Food Bioscience* 2018; 25:68–73
11. Marković S, Tošović J. Comparative Study of the Antioxidative Activities of Caffeoylquinic and Caffeic Acids. *Food Chem.* 2016; 210:585–592
  12. Liu W, Li J, Zhang X, Zu Y, Yang Y, Liu W, Xu Z, Gao H, Sun X, Jiang X, Zhao Q. Current Advances in Naturally Occurring Caffeoylquinic Acids: Structure, Bioactivity, and Synthesis. *J Agric Food Chem.* 2020; 68(39):10489–10516
  13. Meinhart AD et al. Study of New Sources of Six Chlorogenic Acids and Caffeic Acid. *J Food Compos Anal.* 2019; 82(01):103244
  14. Dai J, Mumper RJ. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules.* 2010; 15:7313–7352
  15. Rafi M, Heryanto R, Septiningsih DA (eds). *Kromatografi Lapis Tipis Tumbuhan Obat Indonesia*. Vol. 1. Bogor: Penerbit IPB Press. 2017
  16. Irianti T, Murti YB, Kanistri DN, Pratiwi DR, Kuswandi, Kusumaningtyas RA. DPPH Radical Scavenging Activity of Aqueous Fraction from Ethanolic Extract of Talok Fruit (*Muntingia calabura* L.). *Tradit Med J.* 2016; 21(1):38–47
  17. Kementerian Kesehatan RI. *Farmakope Herbal Indonesia (FHI)*. 2nd ed. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI. 2017
  18. Shaikh JR, Patil M. Qualitative Tests for Preliminary Phytochemical Screening: An Overview. *Int J Chem Stud.* 2020; 8(2):603–608
  19. Zhang Q-W, Lin L-G, Ye W-C. Techniques for Extraction and Isolation of Natural Products: A Comprehensive Review. *Chin Med.*; 13(20). DOI: 10.1186/s13020-018-0177-x
  20. Tiwari P, Kaur M, Kaur H. Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *Int Pharm Sci.* 2011; 1(1):98–106
  21. Fatmawati S, Sjahid LR, Utami NM, Kartini K. Total Phenolic, Total Flavonoid Content and in Vitro Sun Protection Factor Test of *Arabica coffee* Leaves Extract (*Coffea arabica* L.). *J Sci Technol Res Pharm.* 2021; 1(2):57–66
  22. Khoddami A, Wilkes MA, Roberts TH. Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules.* 2013; 18(2):2328–2375
  23. Sjahid LR, Aqshari A, Sediarsa S. Penetapan Kadar Fenolik Dan Flavonoid Hasil Ultrasonic Assisted Extraction Daun Binahong (*Anredera cordifolia* [Ten] Steenis). *J Ris Kim.* 2020; 11(1):16–23
  24. Lu H, Tian Z, Cui Y, Liu Z, Ma X. Chlorogenic Acid: A Comprehensive Review of the Dietary Sources, Processing Effects, Bioavailability, Beneficial Properties, Mechanisms of Action, and Future Directions. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2020; :1–29
  25. Upadhyay R, Mohan Rao LJ. An Outlook on Chlorogenic Acids-Occurrence, Chemistry, Technology, and Biological Activities. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2013; 53(9):968–984
  26. Gulcin İ. Antioxidants and Antioxidant Methods: An Updated Overview. *Arch Toxicol.* 2020; 94(3):651–715
  27. Prastiwi R, Elya B, Sauriasari R, Hanafi M and Desmiaty Y. Arginase Inhibitory, Antioxidant Activity and Pharmacognosy Study of *Sterculia Macrophylla* Vent. Leaves. *Pharmacogn J.* 2018; 10(6):1109–1113
  28. Munteanu IG, Apetrei C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int J Mol Sci.*; 22(7). DOI: 10.3390/ijms22073380