

Standardisasi Ekstrak Buah Ceremai (*Phyllanthus Acidus* L. Skeels) dan Aktivitas Inhibisi Enzim Elastase

Standardization of Ceremai Fruit Extract (Phyllanthus acidus L. Skeels) and Elastase Enzyme Inhibition Activity

Eneng Elda Ernawati^{1*}, Nani Suryani², Sifa Nuramalia¹, Anisah¹, Rd. Widya Yustika¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Sains, Farmasi dan Kesehatan, Universitas Mathla'ul Anwar Banten, Indonesia

²Program Studi Kimia, Fakultas Sains, Farmasi dan Kesehatan, Universitas Mathla'ul Anwar Banten, Indonesia

*E-mail: eldaernawati090291@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.26874/jkk.v6i2.225>

Received: 29 Oct 2023, Revised: 20 Jan 2024, Accepted: 20 Jan 2024, Online: 28 Jan 2024

Abstrak

Salah satu cara agar khasiat dan kualitas terjamin, maka perlu dipenuhi suatu standar mutu produk/bahan obat dengan melakukan standardisasi ekstrak. Ekstrak distandardisasi dengan dua parameter yaitu parameter spesifik dan non spesifik. Buah ceremai (*Phyllanthus acidus*) diperkirakan mempunyai aktivitas inhibitor enzim elastase karena mengandung vitamin C dan flavonoid. Enzim elastase berfungsi dalam elastisitas kulit. Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan standardisasi ekstrak buah ceremai (*P. acidus*) dan aktivitas inhibisi enzim elastase. Sampel diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut 70%. Parameter dalam penentuan standardisasi ekstrak adalah parameter spesifik dan non spesifik. Aktivitas inhibisi enzim elastase dianalisis dengan metode ELISA menggunakan kontrol positif retinol. Hasil penentuan standardisasi ekstrak parameter spesifik kadar sari larut air 65,57%, kadar sari larut etanol 27,875%. Parameter non spesifik penetapan kadar air 9,17%, penetapan kadar abu total 5,68%, penetapan kadar abu yang tidak larut asam 1,5%, penetapan sisa pelarut 0,01%, penetapan cemaran mikroba ALT dan AKK 10⁻¹, pemeriksaan logam berat dengan hasil tidak terdeteksi. Hasil skrining fitokimia ekstrak buah ceremai (EBC) positif mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, steroid dan fenolik. Aktivitas inhibisi enzim elastase ekstrak buah ceremai (EBC) menghasilkan rata-rata nilai IC₅₀ sebesar 281,09 ± 11,3 µg/mL dan retinol sebagai kontrol positif dengan rata-rata nilai IC₅₀ 23,81 ± 0,4 µg/mL. Simpulan penelitian ini ialah berdasarkan pengujian standardisasi parameter spesifik dan non-spesifik, ekstrak buah ceremai (EBC) memenuhi standar kualitas bahan baku dan ekstrak buah ceremai (EBC) memiliki aktivitas inhibisi enzim elastase kategori lemah.

Kata kunci: elastase, *Phyllanthus acidus*, standardisasi ekstrak

Abstract

One way to ensure that efficacy and quality are guaranteed is that a product/medicinal ingredient quality standard needs to be met by standardizing the extract. Ceremai fruit (*Phyllanthus acidus*) is thought to have elastase enzyme inhibitor activity because it contains vitamin C and flavonoids. The elastase enzyme functions in skin elasticity. This research aims to determine the standardization of ceremai fruit extract (*P. acidus*) and the inhibitory activity of the elastase enzyme. The sample was extracted using the maceration method using 70% solvent. Parameters in determining extract standardization are specific and non-specific. The inhibitory activity of the elastase enzyme was analyzed using the ELISA method. The results of determining the standardization of extract-specific parameters, the water-soluble essence content was 65.57%, and the ethanol-soluble essence content was 27.875%. Non-specific parameters for determining water content 9.17%, determining total ash content 5.68%, determining acid insoluble ash content 1.5%, determining residual solvent 0.01%, determining microbial contamination ALT and AKK 10⁻¹, heavy metal examination with undetectable results. Ceremai fruit extract (EBC) is positive for containing flavonoids, tannins, saponins, alkaloids, steroids, and phenolic compounds. The elastase enzyme inhibitory activity of

ceremai fruit extract (EBC) resulted in an average IC_{50} value of $281.09 \pm 11,3 \mu\text{g/mL}$ and retinol with an average IC_{50} value of $23.81 \pm 0,4 \mu\text{g/mL}$. This research concludes that based on standardization testing of specific and non-specific parameters, ceremai fruit extract meets raw material quality standards and ceremai fruit extract (EBC) has weak category elastase enzyme inhibitory activity.

Keywords: elastase, *Phyllanthus acidus*, standardization of extracts

1 Pendahuluan

Indonesia merupakan negara kaya akan sumber daya hayati yang beraneka ragam dan bermanfaat. Sumber kekayaan alam di antaranya berasal dari tumbuh-tumbuhan yang bisa dimanfaatkan untuk kesehatan dan juga kecantikan [1]. Penggunaan produk herbal berupa obat, suplemen maupun kosmetika telah meningkat baik di negara berkembang maupun negara maju, sehingga potensi dan peluang penggunaan produk herbal masih sangat luas [2]. Salah satu cara agar khasiat dan kualitas terjamin, maka perlu dipenuhi suatu standar mutu produk/bahan obat dengan melakukan standarisasi ekstrak [3]. Ekstrak distandarisasi dengan dua parameter yaitu parameter spesifik dan non spesifik [4]. Agar khasiat dan kualitas ekstrak buah ceremai (*Phyllanthus acidus*) ini dapat terjamin, maka perlu dipenuhi suatu standar mutu produk/bahan ekstrak dengan melakukan standarisasi ekstrak.

Ceremai adalah tumbuhan termasuk genus *Phyllanthus* yang merupakan genus terbesar dari Phyllanthaceae, dengan 1270 spesies [5]. Secara farmakologis *P. acidus* digunakan sebagai antimikroba [6], antibakteri [7], antiinflamasi, antikanker [8], antidiabetes [9], dan antioksidan [10–12]. Ekstrak etanol buah *P. acidus* ditemukan kandungan total fenolik dan total flavonoid setara dengan 3,19 mg *gallic acid equivalent* (GAE/g) dan 2,58 mg setara dengan *quercetin equivalent* (QE/g) dan kandungan vitamin C 102,58 μg AAE/g [13]. Nilai IC_{50} berdasarkan pada penghambatan DPPH yaitu IC_{50} $28,26 \pm 0,39 \mu\text{g/mL}$ [9]. Ekstrak metanol buah *P. acidus* mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} 5,96 $\mu\text{g/mL}$ [14]. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan ekstrak buah ceremai memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 76,75 $\mu\text{g/mL}$ (kategori kuat) [15]. Radiasi UV dapat menyebabkan kerusakan DNA dan menginduksi stres oksidatif. Faktor ini meningkatkan sintesis dan aktivitas protease yang menurunkan *Extra Cellular Matrix* (ECM), yang terdiri dari kolagen dan serat elastin [16]. Faktor *Reactive Oxygen Species* (ROS) ataupun paparan sinar UV yang berlebihan akan mempercepat proses aktivasi enzim elastase yang merupakan

satu-satunya enzim yang mampu mendegradasi elastin. ROS mampu menyebabkan penuaan dini dengan cara menghilangkan elastisitas kulit sehingga kulit menjadi keriput, kendur, dan mengalami pigmentasi. Enzim elastase berfungsi dalam elastisitas kulit. Selama proses *aging*, elastisitas kulit berkurang oleh enzim elastase yang menyebabkan kulit kendur [17]. Buah *P. acidus* diperkirakan mempunyai aktivitas inhibitor enzim elastase karena mengandung vitamin C dan flavonoid seperti dihidrokuersetin, kuersetin dan mirisetin [18]. Vitamin C banyak dilaporkan sebagai antioksidan dan agen pencerah. Senyawa fenolik dan flavonoid adalah golongan metabolit sekunder yang populer digunakan sebagai antioksidan [19], di mana antioksidan ini dapat mengurangi atau memperlambat proses *aging*. Sumber antioksidan yang terdapat di alam di antaranya terdapat pada buah ceremai (*P. acidus*). Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan standarisasi ekstrak buah ceremai (*P. acidus*) dan aktivitas inhibisi enzim elastase dengan menggunakan ELISA.

2 Metode Penelitian

2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah alat gelas laboratorium, neraca analitik, *rotary evaporator* (IKA RV 10, Germany), dehidrator (Kriss), multiwell plate reader (ELISA) (Bio-Rad).

2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah ceremai (*P. acidus*) berdasarkan hasil determinasi dengan Nomor B-1194/IPH.3./KS/X/2020, akuades, etanol 70%, DMSO, buffer HEPES, NaCl, Tween, Enzim Neutrophil elastase, substrat (MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val- pNA, 100 μM).

2.3 Prosedur Kerja

2.3.1 Ekstraksi

Sejumlah 1000 g serbuk simpilisa diekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 1000 mL selama 3 x 24 jam. Maserat yang terkumpul dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C .



2.3.1 Pemeriksaan parameter mutu ekstrak [1]

a. Parameter Spesifik

1) Organoleptik

Pemeriksaan organoleptik terhadap ekstrak dilakukan menggunakan panca indera dengan mengamati bentuk, konsistensi, bau, rasa dan warna dari ekstrak.

2) Penetapan kadar senyawa terlarut dalam etanol

Sebanyak 5 g ekstrak dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mL etanol 96%, kocok selama 6 jam pertama dan didiamkan 18 jam berikutnya. Saring secara cepat, untuk menghindari penguapan etanol, kemudian uapkan 20 mL filtrat hingga kering dalam cawan dangkal. Panaskan residu pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Hitung kadar dalam persen.

3) Penetapan kadar senyawa terlarut dalam air

Sebanyak 5 g ekstrak dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mL air - kloroform, dikocok selama 6 jam pertama dan didiamkan 18 jam berikutnya. Kemudian ekstrak disaring, uapkan 20 mL filtrat hingga kering dalam cawan, panaskan residu pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Hitung kadar dalam persen.

b. Parameter non spesifik

1) Penetapan kadar air

Sebanyak 50 mg ekstrak ditetapkan kadar airnya dengan menggunakan metode titrimeter Karl Fischer. Prinsip penetapannya yaitu sampel dititrasi dengan larutan iodin dalam metanol. Konsentrasi air dalam contoh dapat ditetapkan secara elektrometrik.

2) Penetapan kadar abu total

Abu dididihkan dengan 25 mL asam sulfat encer selama 5 menit, kumpulkan bagian yang tidak larut dalam asam, saring menggunakan kertas saring bebas abu, cuci dengan air panas, pijarkan hingga bobot tetap, kemudian timbang dan hitung.

3) Penetapan sisa pelarut

Percobaan ini ditetapkan menggunakan metode kromatografi Gas-Cair. Alat dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala dan kolom kaca 1,8 m x 4 mm berisi fase diam dengan ukuran partikel 100 mesh hingga 120 mesh yang dialirkan TR-wax.

4) Penetapan kadar abu yang tidak larut asam
Abu yang sebelumnya diperoleh pada penetapan kadar abu total, dididihkan dengan 25 mL asam sulfat encer selama 5 menit, kumpulkan bagian yang tidak larut dalam asam, saring menggunakan krus kertas saring bebas abu, cuci dengan air panas, pijarkan hingga bobot tetap, kemudian timbang.

5) Penetapan cemaran mikroba

Percobaan dilakukan dengan metode media agar padat (Angka Lempeng Total dan Angka Kapang Khamir).

6) Uji logam berat

Sebanyak 0,5 g ekstrak dimasukkan ke dalam labu Erlemmeyer, lalu ditambahkan HNO₃ P dan H₂O₂ 30 %. Kemudian destruksi dan diamkan pada suhu kamar, pindahkan ke dalam labu ukur 50 mL dan tambahkan akuades sampai tanda batas. Standar jika larutan keruh, kemudian masukan ke dalam tabung reaksi. Lakukan pengukuran larutan uji menggunakan ICP-OES hitung kadar Pb, Cd dan Hg.

2.3.2 Skrining Fitokimia [2]

1) Uji senyawa Flavonoid

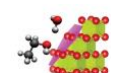
Sebanyak 0,1 gram ekstrak ditambahkan 10 ml air panas kemudian disaring. Sebanyak 10 ml filtrat ditambahkan 0,5 g serbuk Mg, 1 ml HCl pekat, dan 1 ml amil alkohol. Uji positif terhadap flavonoid ditandai dengan munculnya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.

2) Senyawa saponin

Sebanyak 0,5 g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 mL aquadest hangat kemudian digojog kuat selama ± 1 menit. Terdapatnya saponin ditandai dengan terbentuknya buih yang mantap setinggi 1 hingga 10 cm. Pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N buih tidak hilang.

3) Uji senyawa tanin

Sebanyak 0,5 g ekstrak ditimbang dan dimasukkan ke dalam gelas kimia, lalu ditambahkan 50 mL air panas kemudian aduk dan saring. Filtrat dibagi ke dalam 3 tabung reaksi dan masing-masing ditambahkan 10 tetes FeCl₃ 1%. Apabila terbentuk warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin.



- 4) Uji steroid dan terpenoid
Sampel disari dengan eter, kemudian sari eter diuapkan hingga kering. Pada residu ditetesi larutan pereaksi Lieberman-Burchard. Terbentuknya warna ungu menunjukkan senyawa kelompok triterpenoid, bila terbentuk warna hijau-biru menunjukkan adanya senyawa kelompok steroid.
- 5) Uji senyawa fenolik
Sebanyak 1 gram sampel diekstrak dengan 20 mL etanol 70%. Ekstrak sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan 2 tetes larutan FeCl₃ 5%. Pembentukan warna hijau atau hijau biru menunjukkan senyawa fenol dalam bahan.
- 6) Uji senyawa alkaloid
Sebanyak 0,5 g ekstrak, ditambahkan 2 mL HCl 2N dan 18 mL akuades, panaskan selama 2 menit, dinginkan, lalu saring. Kemudian filtratnya dibagi ke dalam 6 tabung reaksi, tiga tabung tambahkan pereaksi Mayer 20 tetes dan tiga tabung lainnya ditambahkan pereaksi Wagner sebanyak 10 tetes. Apabila terbentuk endapan maka sampel tersebut mengandung alkaloid, dengan pereaksi Mayer terbentuk endapan putih atau kuning dan dengan pereaksi Wagner terbentuk endapan warna coklat

2.3.4 Uji Inhibisi Enzim Elastase

Pengujian elastase mengikuti metode Desmiaty dkk [20] dan Nur dkk [21] dengan modifikasi. Untuk pengujian inhibisi elastase, sampel ditimbang sebanyak 1 g dilarutkan dalam DMSO 100 mL, larutan stok ekstrak 10.000 ppm, kemudian 20 µL larutan sampel diencerkan dengan 65 µL larutan buffer (10 mM HEPES, 50 mM NaCl dan 0,05 % Tween 20 dalam DMSO) dalam mikrolate 96 well. Sampel diuji dari konsentration 31,25-2000 ppm. 85 µL larutan buffer sebagai blanko (kontrol negatif). Enzim Neutrophil elastase (2,2 µU/µL) ditambahkan ke dalam larutan sampel, larutan kontrol negatif dan inhibitor kontrol sebanyak 10 µL. Diinkubasi selama 10 menit pada suhu 25°C dan selanjutnya ditambahkan 5 µL substrat (MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-pNA, 100 µM) pada setiap well kemudian diinkubasi kembali pada suhu 25°C selama 20 menit. Densitas optikal lubang 96-well

micro plate diukur pada panjang gelombang 401 nm dengan menggunakan *multi-well plate reader* (ELISA). Persentase aktivitas penghambatan elastase (A) dari setiap sampel dihitung dari selisih nilai *optical density* (OD) ekstrak dan blanko menggunakan persamaan 1.

$$A (\%) = \frac{OD_{blanko} - OD_{ekstrak}}{OD_{blanko}} \times 100\%$$

3 Hasil dan Diskusi

3.1 Hasil ekstraksi buah ceremai

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Buah Ceremai

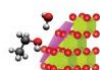
Berat sampel (g)	Pelarut (%)	Bobot Ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
17,600	Etanol 70 %	299,9	29,99

Ekstraksi buah cermai menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 1000 mL dan simplisia 1000 g. Metode maserasi dipilih karena digunakan untuk mengekstrak sampel yang relatif tidak tahan panas, menggunakan etanol 70% karena sifatnya lebih polar sehingga diharapkan dapat menarik semua senyawa yang bersifat polar [22]. Pemekatan dilakukan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C dengan putaran 60 rpm, tujuannya adalah agar golongan senyawa yang ada pada sampel tidak mudah rusak [23]. Hasil dari pembuatan ekstrak kental dapat dilihat pada (Tabel 1). Persen rendemen yang didapatkan EBC sebesar 29,99 %. Senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada EBC lebih banyak tersari dalam pelarut. Berdasarkan penelitian, ekstrak etanol 96% buah ceremai menghasilkan persen rendemen sebesar 7,717% [24].

3.2 Hasil standardisasi ekstrak buah ceremai (EBC)

a. Parameter spesifik

Pemeriksaan organoleptik merupakan identifikasi awal dari parameter spesifik dengan menggunakan panca indera untuk menentukan bau, rasa, warna dan bentuk dari ekstrak buah cermai. Hasil pemeriksaan ekstrak secara organoleptis ditunjukkan pada Tabel 2 Hasil pemeriksaan menunjukkan ekstrak buah ceremai memiliki bentuk yang kental, aroma khas asam ceremai, berwarna coklat.



Tabel 2. Hasil Uji Parameter Spesifik

No	Parameter uji	Hasil
1	Organoleptis	
	Bentuk	Kental
	Warna	Coklat
	Bau	Khas asam
	Rasa	Asam
2	Kadar sari larut air	65,57%
3	Kadar sari larut etanol	27,87%

b. Parameter non spesifik

Penetapan kadar sari larut dalam air bertujuan untuk memberikan gambaran awal jumlah kandungan senyawa kimia bersifat polar yang dapat diekstraksi. Prinsip kerja pada penetapan ini adalah melarutkan ekstrak dengan pelarut air untuk ditentukan jumlah senyawa kandungan dengan metode gravimetri yang didasarkan pada pengukuran berat pada endapan ekstrak yang dihasilkan. Hasil rata-rata yang diperoleh dalam

ekstrak buah cermai sebesar 65,57%. Penetapan kadar sari larut etanol bertujuan untuk mengetahui kadar senyawa yang larut dalam etanol. Banyaknya senyawa aktif pada ekstrak yang larut dalam etanol disebabkan sifat dari ikatan pada etanol yang dapat menyari senyawa aktif dengan berbagai perbedaan kepolaran. Hasil rata-rata yang diperoleh dari ekstrak buah cermai adalah 27,87%.

Pengujian kadar air digunakan untuk mengukur kandungan air yang berada di dalam ekstrak dengan tujuan memberikan batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air dalam suatu ekstrak [25]. Berdasarkan hasil pengujian kadar air yang diperoleh EBC sebesar 9,17% dimana syarat mutu dari kadar air ini yaitu $\leq 10\%$. Dari hasil pengujian kadar air telah memenuhi persyaratan. Jika kandungan air tinggi akan menyebabkan pertumbuhan kapang dan jamur pada ekstrak.

Tabel 3. Hasil Uji Parameter Non Spesifik

No	Parameter uji	Hasil	Persyaratan
1	Penetapan kadar air	9,17%	($\leq 10\%$) [26]
2	Penetapan kadar abu total	4,68%	($\leq 10\%$) [27]
3	Penetapan kadar abu yang tidak larut asam	1,5%	($\leq 10\%$) [27]
4	Penetapan sisa pelarut	0,01%	($\leq 1\%$) [28]
	Penetapan cemaran mikroba		
5	ALT	10 ⁻¹	$\leq 106\text{cfu/g}$ [26]
	AKK	10 ⁻¹	$\leq 104\text{cfu/g}$ [26]
6	Pemeriksaan logam berat		
	Arsen (As)	TD	$\leq 5\text{ mg/kg}$ [26]
	Timbal (Pb)	TD	$\leq 10\text{ mg/kg}$ [26]
	Kadmium (Cd)	TD	$\leq 0,3\text{ mg/kg}$ [26]

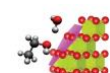
Keterangan :

TD : Tidak terdeteksi

Pengukuran kadar abu total dimaksudkan untuk mengukur semua abu yang terbentuk setelah proses perabuan. Abu yang terbentuk terdiri dari abu fisiologi yang merupakan abu yang berasal dari jaringan tanaman yang dianalisis dan abu nonfisiologi yang berasal dari residu eksternal, misalnya pasir, tanah, atau debu yang melekat pada permukaan tanaman [29]. Penetapan kadar abu total dilakukan untuk menentukan persentase kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses pembentukan simplisia sampai terbentuknya ekstrak kental. Semakin tinggi kadar abu total maka kandungan mineral di dalam ekstrak semakin banyak. Kandungan mineral dalam suatu bahan dapat berupa garam-garam organik dari asetat, oksalat, pektat, asam malat dan garam-garam anorganik dari logam alkali, klorida,

karbonat, fosfat dan sulfat nitrat. Mineral juga dapat berasal dari garam kompleks yang bersifat organik [30].

Hasil yang diperoleh dari uji kadar abu yaitu EBC sebesar 4,86%. Dari hasil menunjukkan bahwa EBC telah memenuhi persyaratan dari standar kadar abu total. Abu tidak larut asam merupakan residu abu yang diperoleh setelah total abu dididihkan dengan asam klorida, sehingga menghasilkan bagian yang tidak larut [29]. Kadar abu tidak larut asam dapat mengevaluasi ekstrak terhadap kontaminasi mineral eksternal yang berasal dari luar seperti tanah dan pasir. Kadar abu dari suatu bahan menunjukkan kadar mineral, kemurnian serta tingkat kebersihan dalam proses pengolahan suatu produk [31]. Semakin tinggi kadar abu tidak larut asam menunjukkan adanya



kandungan mineral baik organik/anorganik, serta kandungan silikat yang berasal dari tanah atau pasir, bahkan unsur logam perak, timbal maupun merkuri akibat kontaminan lingkungan sekitar yang diperlukan uji lebih lanjut untuk mengetahuinya [32].

Hasil data pengujian kadar abu yang tidak larut asam pada EBC diperoleh 1,59%. Pengujian sisa pelarut bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa selama proses tidak meninggalkan sisa pelarut yang seharusnya tidak boleh ada atau menunjukkan jumlah pelarut etanol sesuai dengan persyaratan, dan nilai yang dihasilkan menunjukkan tingkat kemurnian suatu sampel [33]. Dari hasil penetapan kadar etanol dalam ekstrak diperoleh kadar etanol 0,01% pada EBC hasil pemeriksaan tersebut memenuhi persyaratan batas maksimum sisa pelarut dalam etanol, yaitu $\leq 1\%$. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak yang diperoleh dapat digunakan sebagai bahan baku sediaan karena mengandung kadar etanol yang rendah [34].

Pengujian cemaran mikroba termasuk salah satu uji untuk syarat kemurnian ekstrak. Uji ini mencakup penentuan jumlah mikroorganisme yang diperbolehkan dan untuk menunjukkan tidak adanya bakteri tertentu dalam ekstrak [35]. Uji angka lempeng total merupakan metode kuantitatif yang digunakan untuk mengetahui jumlah mikroba pada suatu sampel [36]. Data hasil pengamatan uji ALT dan AKK dapat dilihat pada (Tabel 3) EBC menunjukkan tidak terdapat koloni pada cawan pengenceran terendah yaitu 10^{-1} cfu/g. Hasil tersebut memenuhi persyaratan untuk cemaran mikroba angka lempeng total $<10^6$ cfu/g, dan angka kapang khamir $<10^4$ cfu/g.

Logam berat adalah logam-logam yang memiliki densitas spesifik lebih dari 5 g/cm^3 . Cemaran logam berat seperti timbal, arsen, dan merkuri pada bahan baku ekstrak sangat berbahaya karena dapat menyebabkan keracunan di dalam tubuh bila melebihi batas yang ditentukan. Hasil pemeriksaan cemaran logam berat ditunjukkan pada Tabel 3. Hasil data cemaran logam pada EBC tidak terdeteksi artinya memenuhi persyaratan kadar logam berat. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak aman digunakan sebagai bahan baku [31]. Penentuan kandungan logam timbal (Pb) dan kadmium (Cd) pada ekstrak berguna untuk dapat menjamin bahwa ekstrak tidak mengandung Pb dan Cd melebihi batas yang ditetapkan karena dapat bersifat toksik terhadap tubuh.

3.3 Hasil Uji Skrining Fitokimia

Tabel 4. Data Hasil Uji Skrining Fitokimia

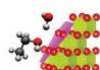
Pengujian	Pereaksi	Pengamatan	Hasil
Flavonoid	Lempeng	Lapisan warna	++
	Mg+HCl+ Amil alkohol	jingga pada amil alkohol	
Tanin	FeCl ₃	Hitam kehijauan	++
Saponin	H ₂ O + HCl	Timbul buih	+
Alkaloid	Mayer	Endapan putih	+
	Wagner	Endapan merah	+
Steroid	Asetat	Larutan	++
	anhidrat+ H ₂ SO ₄	berwarna hijau pekat	
Fenolik	FeCl ₃	Hijau biru	++

Keterangan :

+ Hasil menunjukkan positif

++ Hasil menunjukkan positif sangat kuat

Berdasarkan hasil pengamatan bahwa EBC mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, steroid dan fenolik. Hasil uji flavonoid menunjukkan positif karena pengujian warna jingga pada lapisan amil alkohol. Penambahan Mg dan HCl pekat dalam metode identifikasi flavonoid berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terjadi pembentukan garam flavilium [37]. EBC menunjukkan hasil positif tanin karena menghasilkan warna hijau kehitaman. Terbentuknya warna hijau kehitaman pada sampel setelah dilakukan penambahan FeCl₃ kemungkinan senyawa tanin akan membentuk kompleks ion Fe³⁺ [38]. Kandungan saponin pada EBC menunjukkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya buih yang stabil. Timbulnya busa pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya. Penambahan HCl 2 N bertujuan untuk menambah kepolaran sehingga gugus hidrofil akan berikatan lebih stabil dan buih yang terbentuk menjadi stabil [39]. ekstrak menggunakan HCl pekat dan potongan pita magnesium menghasilkan warna jingga pada lapisan amil alkohol. Penambahan Mg dan HCl pekat dalam metode identifikasi flavonoid berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terjadi pembentukan garam flavilium 35 [35]. EBC menunjukkan hasil positif tanin karena menghasilkan warna hijau kehitaman. Terbentuknya warna hijau kehitaman pada sampel setelah dilakukan penambahan FeCl₃ kemungkinan senyawa tanin akan membentuk kompleks ion Fe³⁺ [38]. Kandungan saponin pada



EBC menunjukkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya buih yang stabil. Timbulnya busa pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya. Penambahan HCl 2 N bertujuan untuk menambah kepolaran sehingga gugus hidrofil akan berikatan lebih stabil dan buih yang terbentuk menjadi stabil [39].

Pada uji alkaloid EBC menggunakan dua jenis pereaksi yaitu pereaksi Mayer dan Wagner. Alkaloid merupakan senyawa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen yang biasanya dalam bentuk gabungan, sebagian adalah bagian dari sistem siklik. Hasil pengujian EBC menunjukkan positif alkaloid, ada endapan yang terbentuk pada pereaksi Mayer merupakan kalium-alkaloid, karena senyawa alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam. Nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomercurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap [40]. Hasil positif alkaloid pada uji Wagner ditandai dengan terbentuknya endapan coklat. Diperkirakan endapan tersebut adalah kalium alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Wagner, iodin bereaksi dengan ion I^- dari kalium iodida menghasilkan ion I_3^- yang berwarna coklat. Pada uji Wagner, ion logam K^+ membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid membentuk kompleks kalium alkaloid yang mengendap [41]. Identifikasi senyawa triterpenoid dan steroid pada EBC didasarkan pada kemampuan senyawa triterpenoid membentuk warna oleh H_2SO_4 dalam pelarut asam asetat anhidrid. Pada uji steroid/triterpenoid diperoleh hasil yang positif steroid pada EBC, dengan terbentuknya larutan yang berwarna hijau pekat. Warna yang terbentuk disebabkan gugus OH pada steroid bereaksi dengan pereaksi Liebermann-Burchard dan meningkatkan ketidakjenuhan dalam batas penyatuan cincin [41]. Identifikasi senyawa fenolik dilakukan dengan mereaksikan EBC dengan $FeCl_3$ sehingga menimbulkan warna hijau kehitaman yang merupakan senyawa kompleks polifenol dengan atom pusatnya yaitu Fe.

3.4 Hasil uji enzim elastase

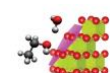
Pada pengujian inhibisi enzim elastase metode yang digunakan adalah dengan mengamati reaksi yang terjadi antara enzim elastase dan substrat (MeOSuc-AAPV-pNA). Terjadinya

perubahan warna kuning merupakan indikator terjadinya reaksi inhibisi enzim elastase [30]. Semakin tinggi kemampuan sampel untuk menghambat aktivitas elastase maka MeOSuc-AAPV-pNA yang terbentuk akan semakin rendah terlihat pada warna yang dihasilkan yaitu warna yang agak kuning / bening [42]. Mekanisme penghambatan enzim elastase oleh sampel diamati dengan mengukur serapan pada panjang gelombang 401 nm menggunakan ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) [20].

Tabel 5. Data Hasil Inhibisi Enzim Elastase

Sampel	Pengujian	Nilai IC_{50}	Rataan Nilai IC_{50} ($\mu g/mL$)
Retinol	1	23,68	23,81 \pm 0,4
	2	23,27	
	3	24,50	
EBC	1	269,68	281,09 \pm 11,3
	2	281,23	
	3	292,38	

Retinol digunakan sebagai kontrol positif karena memiliki efek antioksidan dan digunakan sebagai senyawa *anti aging* [43]. Retinol merangsang aktivitas fibroblas untuk mensintesis serat kolagen, memperbaiki elastisitas kulit dengan menghilangkan serat elastin yang terdegenerasi. Retinol dikenal sebagai molekul yang memperbaiki tekstur kulit, dispigmentasi, kekeringan, dan garis-garis halus. Konsentrasi retinol dalam produk kosmetik adalah antara 0,0015% dan 0,3%. Efek iritasi retinol dan ketidakstabilannya adalah faktor pembatas penggunaannya dalam produk kosmetik [44]. Pada Tabel 4 EBC menunjukkan penghambatan elastase yang menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 281,09 $\mu g/mL$. Hal ini diduga karena di dalam EBC memiliki senyawa seperti fenolik, vitamin C, alkaloid, tanin, seskuiterpen dan flavonoid yang dapat bekerja sinergis menghambat aktivitas enzim elastase [13]. Buah *P. acidus* juga dilaporkan mengandung senyawa asam glikolat dan asam sitrat yang termasuk ke dalam golongan senyawa AHA (*Alpha Hydroxy Acid*) [45]. AHA dapat mengurangi proses penuaan dengan cara meningkatkan sintesis glikosaminoglikan dan sebagai *exfoliator* yang berfungsi untuk mengangkat tumpukan sel kulit mati pada permukaan kulit. Dengan demikian jika dibandingkan dengan kontrol positif (retinol) dengan nilai IC_{50} yang dihasilkan sebesar 23,81 $\mu g/mL$ dapat disimpulkan bahwa EBC memiliki



aktivitas penghambatan elastase yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif.

4 Kesimpulan

Penentuan standardisasi ekstrak parameter spesifik kadar sari larut air 65,57%, kadar sari larut etanol 27,875. Parameter non spesifik penetapan kadar air 9,17%, penetapan kadar abu total 5,68%, penetapan kadar abu yang tidak larut asam 1,5%, penetapan sisa pelarut 0,01%, penetapan cemaran mikroba ALT dan AKK 10-1 pemeriksaan logam berat dengan hasil tidak terdeteksi. Hasil skrining fitokimia ekstrak buah ceremai (EBC) positif mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, steroid dan fenolik. Aktivitas inhibisi enzim elastase ekstrak buah ceremai (EBC) menghasilkan rata-rata nilai IC_{50} sebesar $281,09 \pm 11,3 \mu\text{g/mL}$ dan retinol sebagai kontrol positif dengan rata-rata nilai IC_{50} $23,81 \pm 0,4 \mu\text{g/mL}$. Simpulan penelitian ini ialah berdasarkan pengujian standardisasi parameter spesifik dan non-spesifik, ekstrak buah ceremai (EBC) memenuhi standar kualitas bahan baku dan ekstrak buah ceremai (EBC) memiliki aktivitas inhibisi enzim elastase kategori lemah.

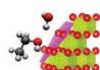
Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada Kementerian, Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi (KEMENDIKBUDRISTEK) atas bantuan dana penelitian dengan Nomor 015/SP2H/PPM/B2/LL4/2023 sehingga penelitian ini bisa terlaksana.

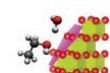
Daftar Pustaka

- [1] Setyani, I.K., Wahyono, W. and Sulaiman, T.N.S. 2021. Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Buah Kemukus (*Piper cubeba* Lf.) Sebagai Bahan Baku Sediaan Kapsul Jamu Sesak Nafas. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, Universitas Sebelas Maret. 6 (3) 238. 10.20961/jpscr.v6i3.50372
- [2] Djoko, W., Taurhesia, S., Djamil, R. and Simanjuntak, P. dkk. 2020. Standardisasi Ekstrak Etanol Herba Pegagan (*Centella asiatica*). *Sainstech Farma*, 13 (2) 118–23.
- [3] Ulfah, M., Salsabilla, D. and Sukawati, E. 2019. STANDARISASI NON SPESIFIK EKSTRAK ETANOL DAUN KECAPI (*Sandoricum koetjape* Merr.) DAN EKSTRAK ETANOL DAUN KELUWIH (*Artocarpus communis*). *JIFFK: Jurnal*

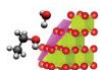
- Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik*, Universitas Wahid Hasyim Semarang. 16 (02) 20. 10.31942/jiffk.v16i02.3123
- [4] Yuliana, C., Ceriana, R. and Shafriyani, R. 2022. Standardisasi Mutu Ekstrak Etanol Bunga Soka (*Ixora coccinea* L.). *Journal of Pharmaceutical and Health Research*, Forum Kerjasama Pendidikan Tinggi (FKPT). 3 (1) 1–5. 10.47065/jharma.v3i1.1322
- [5] Tan, S.-P., Tan, E.N.-Y., Lim, Q.-Y. and Nafiah, M.A. 2020. *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels: A review of its traditional uses, phytochemistry, and pharmacological properties. *Journal of Ethnopharmacology*, Elsevier BV. 253 112610. 10.1016/j.jep.2020.112610
- [6] Angamuthu, J., Ganapathy, M. and Evanjelene, V.K. 2016. Evaluation of Antioxidant Activity of *Phyllanthus Acidus*. *WwwWjppsCom*, 5 (10) 1011. 10.20959/wjpps201610-7838
- [7] Habib, Md.R., Rahman, M., Mannan, A., Md. Zulfiker, A.H., Uddin, M.E. and Sayeed, M.A. 2011. Evaluation of antioxidant, cytotoxic, antibacterial potential and phytochemical screening of chloroform extract of *Phyllanthus acidus*. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 2 420–7.
- [8] Priya, N.P. and Poonguzhali, T. V. 2014. In vitro anti inflammatory and anticancer potential from the acetone extract of fruit of *Phyllanthus acidus*.L. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 3 (9) 1313–36.
- [9] Chigurupati, S. 2020. Antioxidant and antidiabetic properties of *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels ethanolic seed extract. *International Food Research Journal*, 27 (4) 775–82.
- [10] Andrianto, D., Widiarti, W. and Bintang, M. 2017. Antioxidant and Cytotoxic Activity of *Phyllanthus acidus* Fruit Extracts. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, IOP Publishing. 58 12022. 10.1088/1755-1315/58/1/012022
- [11] K, P.C., Channarayapatna-Ramesh, S., Kujur, S., L, B.G., C, M.M. and Udayashankar, A.C. 2018. Evaluation of in Vitro Antioxidant Potential of *Phyllanthus*



- Acidus Fruit. 4 (30) 30–41. 10.26479/2018.0406.03
- [12] Rahman, M., Habib, Md.R., Hasan, R., Sayeed, M.A. and Rana, M. 2011. Antibacterial, cytotoxic and antioxidant potential of methanolic extract of *phyllanthus acidus* L. *International Journal of Drug Development and Research*, 3 154–61.
- [13] Sulaiman, S.F. and Ooi, K.L. 2014. Antioxidant and α -Glucosidase Inhibitory Activities of 40 Tropical Juices from Malaysia and Identification of Phenolics from the Bioactive Fruit Juices of *Barringtonia racemosa* and *Phyllanthus acidus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, American Chemical Society (ACS). 62 (39) 9576–85. 10.1021/jf502912t
- [14] Foyzun, T., Aktar, K. and Ashraf Uddin, M. 2016. Evaluation of Antioxidant, Cytotoxic and Antimicrobial Activity of *Phyllanthus acidus*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8 1751–8.
- [15] Ernawati, E.E., Farida, Y. and Taurhesia, S. 2021. Formulasi Serum Antioksidan Kombinasi Ekstrak Buah Ceremai dan Kulit Buah Semangka. *Majalah Farmasetika*, Universitas Padjadjaran. 6 (5) 398. 10.24198/mfarmasetika.v6i5.36080
- [16] Rinnerthaler, M., Bischof, J., Streubel, M.K., Trost, A. and Richter, K. 2015. Oxidative stress in aging human skin. *Biomolecules*, Switzerland. 5 (2) 545–89. 10.3390/biom5020545
- [17] Azmi, N., Hashim, P., Hashim, D.M., Halimoon, N. and Majid, N.M.N. 2014. Anti-elastase, anti-tyrosinase and matrix metalloproteinase-1 inhibitory activity of earthworm extracts as potential new anti-aging agent. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, China. 4 (Suppl 1) S348–52. 10.12980/APJTB.4.2014C1166
- [18] Abd Ghafar, S.Z., Mediani, A., Maulidiani, Ramli, N.S. and Abas, F. 2018. Antioxidant, α -glucosidase, and nitric oxide inhibitory activities of *Phyllanthus acidus* and LC–MS/MS profile of the active extract. *Food Bioscience*, Elsevier BV. 25 134–40. 10.1016/j.fbio.2018.08.009
- [19] Dixit, D. and Reddy, C.R.K. 2017. Non-Targeted Secondary Metabolite Profile Study for Deciphering the Cosmeceutical Potential of Red Marine Macro Alga *Jania rubens*—An LCMS-Based Approach. *Cosmetics*, MDPI AG. 4 (4) 45. 10.3390/cosmetics4040045
- [20] Desmiaty, Y., Saputri, F.C., Hanafi, M., Prastiwi, R. and Elya, B. 2020. Anti-Elastase, Anti-Tyrosinase and Anti-Oxidant of *Rubus Fraxinifolius* Stem Methanolic Extract. *Pharmacognosy Journal*, EManuscript Technologies. 12 (2) 271–5. 10.5530/pj.2020.12.42
- [21] Nur, S., Rumiayati, R. and Lukitaningsih, E. 2017. SCREENING OF ANTIOXIDANTS, ANTI-AGING AND TYROSINASE INHIBITORY ACTIVITIES OF ETHANOLIC AND ETHYL ACETATE EXTRACTS OF FRUIT FLESH AND FRUIT PEEL LANGSAT (*Lansium domesticum* Corr) IN VITRO. *Majalah Obat Tradisional*, Universitas Gadjah Mada. 22 (1) 63. 10.22146/tradmedj.24342
- [22] Mutmainnah, N., Chadijah, S. and Qaddafi, M. 2018. PENENTUAN SUHU DAN WAKTU OPTIMUM PENYEDUHAN BATANG TEH HIJAU (*Camelia Sinensis* L.) TERHADAP KANDUNGAN ANTIOKSIDAN KAFEIN, TANIN DAN KATEKIN. *Lantanida Journal*, Universitas Islam Negeri Ar-Raniry. 6 (1) 1. 10.22373/lj.v6i1.1984
- [23] Sari, A.K. and Ayati, R. 2018. PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* D.C) DENGAN METODE DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). *JCPS (Journal of Current Pharmaceutical Sciences)*; Vol 1 No 2 (2018): March 2018,.
- [24] Junita, M., Purwanti, L. and Syafnir, L. 2019. Uji Aktivitas Tabir Surya Ekstrak Etanol dan Fraksi Buah Cereme (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) dengan



- Metode Spektrofotometri UV-Sinar Tampak. *Prosiding Farmasi*, 5 (2).
- [25] Purwoko, M.L.Y., Syamsudin and Simanjutak, P. 2020. Standardisasi Parameter Spesifik dan Nonspesifik Ekstrak Etanol Daun Kelor (Moringa oleifera) Asal Kabupaten Blora. *Sainstech Farma Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 13 (2) 1–15.
- [26] Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2014. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional. Jakarta.
- [27] Departemen Kesehatan RI. 2017. Farmakope Herbal Indonesia. Depaetemen Kesehatan RI, Jakarta.
- [28] Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2019. Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 32 Tahun 2019 tentang Persyaratan Keamanan dan Mutu Obat Tradisional. Jakarta.
- [29] Purwantini, SI. 2021. Standarisasi Obat Herbal. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- [30] Marpaung, M.P. and Septiyani, A. 2020. Penentuan Parameter Spesifik dan NonSpesifik Ekstrak Kental Etanol Batang Akar Kuning (Fibraurea chloroleuca Miers). *Penentuan Parameter ... Journal of Pharmacopolium*, 3 (2) 58–67.
- [31] Ulfah, M., Kurniawan, R.C. and Erny, M. 2021. STANDARDISASI PARAMETER NON SPESIFIK DAN SPESIFIK EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBLANG (*Syzygium cumini* (L.) Skeels). *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik*, Universitas Wahid Hasyim Semarang. 17 (2) 35. 10.31942/jiffk.v17i2.4066
- [32] Evifania, R.D., Apridamayanti, P. and Sari, R. 2020. Uji parameter spesifik dan nonspesifik simplisia daun senggani (*Melastoma malabathricum* L.). *Jurnal Cerebellum*, Tanjungpura University. 5 (4A) 17. 10.26418/jc.v6i1.43348
- [33] Natanael, G. ias, Simorangkir, G.F., Purba, N.P., br. Tambunan, M.P., Nasution, A.N. and Amansyah, A. 2021. Potensi Antioksidan dan Anti-elastase Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera*) terhadap Antiaging. *Jurnal Keperawatan Priority*, 4 (1) 69–76. 10.34012/jukep.v4i1.1432
- [34] Gangga, E., Purwati, R., Farida, Y. and Kartiningsih, K. 2017. Determination of Quality Parameters and Antioxidant Activity of Cincau Hijau Leaves (*Cyclea barbata* L.Miers.). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, Universitas Pancasila. 15 (2) 236. 10.35814/jifi.v15i2.525
- [35] Pine, T.A.D., Alam, G. and Attamimi, F. 2015. Standardisasi Mutu Ekstrak Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) dan Uji Efek Antioksidan dengan Metode DPPH. *JK FIK Unam*, 3 (3).
- [36] Yuliasuti, F., Lutfiyati, H., Dianita, P.S., Hapsari, W.S. and Putri, M. 2017. Identifikasi Kandungan Fitokimia dan Angka Lempeng Total (ALT) Ekstrak Daun Landep (*Barleria prioritis* L.). *University Research Colloquium*, 389–96.
- [37] Tandj, J., Melinda, B., Purwantari, A. and Widodo, A. 2020. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, Fakultas MIPA Universitas Tadulako Palu. 6 (1) 74–80. 10.22487/kovalen.2020.v6.i1.15044
- [38] Nuraeni, Y. and Darwiati, W. 2021. Utilization of plant secondary metabolites as botanical pesticides in forest plant pests. *Jurnal Galam*, Research, Development and Innovation Agency, Ministry of Environment and Forestry. 2 (1) 1–15. 10.20886/glm.2021.2.1.1-15
- [39] Simaremare, E.S. and Souisa, W.V. 2021. Uji Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd) Asal Papua. *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*, Universitas Halu Oleo. 7 (1) 21. 10.33772/pharmauho.v7i1.14966
- [40] Nugrahani, R., Andayani, Y. and Hakim, A. 2016. SKRINING FITOKIMIA DARI EKSTRAK BUAH BUNCIS (*Phaseolus vulgaris* L) DALAM SEDIAAN SERBUK. *Jurnal Penelitian Pendidikan*



- IPA, Universitas Mataram. 2 (1). 10.29303/jppipa.v2i1.38
- [41] Adhariani, M., Maslahat, M. and Sutamihardja, R.T.M. 2018. KANDUNGAN FITOKIMIA DAN SENYAWA KATINON PADA DAUN KHAT MERAH (*Catha edulis*). *Jurnal Sains Natural*, Universitas Nusa Bangsa. 8 (1) 35. 10.31938/jsn.v8i1.113
- [42] Juliana, C., Lister, I.N.E., Girsang, E., Nasution, A.N. and Widowati, W. 2020. Antioxidant and Elastase Inhibitor from Black Soybean (*Glycine max L.*) and Its Compound (Daidzein). *Journal of Biomedicine and Translational Research*, Institute of Research and Community Services Diponegoro University (LPPM UNDIP). 6 (1) 11–4. 10.14710/jbtr.v6i1.5540
- [43] Puspita Sari, W., Nisa Berawi, K. and Karima, N. 2019. Managemen Topikal Anti-Aging pada Kulit. *Medula*, 9 (1) 237–43.
- [44] Zasada, M. and Budzisz, E. 2019. Retinoids: active molecules influencing skin structure formation in cosmetic and dermatological treatments. *Postepy Dermatologii i Alergologii*, 2019/08/30. Poland. 36 (4) 392–7. 10.5114/ada.2019.87443
- [45] Indriatmoko, D., Suryani, N., Rudiana, T. and Kurniah, M. 2021. Formulation and physical evaluation of facial cream preparations from Ceremai fruit juice (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels). *Pharmacy Education*, International Pharmaceutical Federation (FIP). 21 (2) 87–92. 10.46542/pe.2021.212.8792

