

DYHYDROKAEMPFEROL-3-O-RAMNOSIDE FROM ETHYL ACETATE EXTRACT KI ENCOK (*Plumbago zeynalica* L.) LEAVES

Nani Suryani^{1*}, Euis Julaeha², Tati Herlina²

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

²Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Padjadjaran

E-mail: nanisuryani7688@gmail.com

Received: 07 September 2020. Accepted: 21 Januari 2021. Published: 30 Januari 2021

DOI: 10.30870/educhemia.v6i1.9025

Abstract: *Plumbago zeynalica* L. plant belongs to the Plumbaginaceae family, which is spread as a weed in all tropical and sub-tropical countries, and its abundance is very high in Asia and Africa. *P. zeynalica* L. plants are ethnopharmacologically used as antitumor, antioxidant, antimicrobial, anticancer, wound healed, and anti-inflammatory. This study aims to isolate secondary metabolites from the fraction of *P. zeynalica* L. leaf extracts with work stages that included isolation and determination of chemical structures by spectroscopy. Based on the results of the separation and purification of the ethyl acetate fraction obtained isolates in the form of a yellow oil suspected as a flavonoid. The chemical structure of the isolates was identified based on UV-Vis spectroscopy data giving maximum absorption at λ_{max} 339.60 nm and 278.80 nm, which are typical for dihydroflavonol. IR spectroscopy analysis of the isolates provided data information on the presence of aliphatic OH, C-H groups, carbonyl groups (C=O), C=C aromatic groups, and ether strain (C-O-C). NMR data showed that the isolate had the molecular formula of $C_{21}H_{22}O_{10}$, and its molecular weight confirmed by MS spectrometer was obtained m/z 434. Isolates from this ethyl acetate fraction were suspected as dyhydrokaempferol-3-O-ramnoside or engeletin.

Keywords: *Plumbago zeynalica*; flavonoid; dyhydrokaempferol-3-O-rhamnoside; engeletin

Abstrak: Tumbuhan *Plumbago zeynalica* L. termasuk ke dalam famili Plumbaginaceae yang tersebar sebagai gulma di seluruh negara-negara tropis dan sub tropis, dan kelimpahannya sangat tinggi di Asia dan Afrika. Tumbuhan *P. zeynalica* L. secara etnofarmakologi digunakan sebagai antitumor, antioksidan, antimikroba, antikanker, penyembuh luka dan antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi metabolit sekunder dari fraksi ekstrak daun *P. zeynalica* L. dengan tahapan kerja meliputi isolasi dan penentuan struktur kimia dengan spektroskopi. Berdasarkan hasil pemisahan dan pemurnian dari fraksi etil asetat diperoleh isolat berbentuk minyak berwarna kuning yang diduga sebagai flavonoid. Struktur kimia isolat diidentifikasi berdasarkan data spektroskopi UV-Vis memberikan serapan maksimum pada λ_{maks} 339,60 dan 278,80 nm yang menunjukkan serapan yang khas untuk dihidroflavonol, data IR diperoleh informasi keberadaan gugus OH, C-H alifatik, gugus karbonil (C=O), gugus aromatik C=C dan regang eter (C-O-C). Data NMR menunjukkan isolat memiliki rumus molekul $C_{21}H_{22}O_{10}$ dan dikonfirmasi berat molekulnya dengan spektrometer MS diperoleh m/z

434. Isolat dari fraksi etil asetat ini diduga sebagai dihidrokaemferol-3-*O*-ramnosida atau engeletin.

Kata kunci: *Plumbago zeynalica*; flavonoid; dihidrokaemferol-3-*O*-ramnosida; engeletin

PENDAHULUAN

Plumbago zeynalica termasuk ke dalam Famili Plumbaginaceae, dimana family ini memiliki 10 genus dan 280 jenis. Genus *Plumbago* mencakup 3 spesies, yaitu, yaitu *Plumbago indica* L. (*P. rosea* L.), *P. capensis* L. (*P. Auriculata* L.) dan *P. zeynalica* L (Kapare, et al., 2020). Di Asia Tenggara tiga spesies ini kelimpahannya sangat tinggi dan digunakan sebagai tanaman obat tradisional secara turun temurun (Cong et al., 2013). Tiga spesies tumbuhan ini dapat dibedakan dari warna bunganya. Bunga pada *P. indica* L. berwarna merah, *P. capensis* L. berwarna biru sedangkan *P. zeynalica* L. berwarna putih (Ganesan & Gani 2013).

Dalam pengobatan tradisional Ethiopia, daun *P.zeylanica* digunakan untuk pengobatan beberapa penyakit termasuk sakit usus, penyakit kulit, sebagai antitumor, antimikroba, dan antioksidan (Beyene, et al., 2020), untuk obat encok atau rematik, masuk angin, susah buang air kecil, dan sakit kepala. Akarnya secara empiris digunakan untuk mengobati kurap atau gatal-gatal. Selain

itu, tanaman ini juga dapat menghilangkan rasa sakit dan mampu mengobati penyakit kanker darah. Tanaman ini sudah lama populer di Asia dan Afrika sebagai obat untuk menyembuhkan penyakit kulit yang disebabkan oleh parasit (Syahid & Nova, 2016).

P. zeylanica mengandung berbagai metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, glikosida, saponin, steroid, tanin, triterpenoid, kumarin, senyawa fenolik, dan naftakuinon. Naftakuinon yang terkandung adalah plumbagin, citranon, 3-biplumbagin, kloroplumbagin, 5-metoksiseselin, santiletin, suberosin. Senyawa lainnya yang ada pada tanaman ini adalah asam plumbagin, β -sitosterol, 2,2-dimetil-5-hidroksi-6-asetilkromen, saponaretin, dan isoaffinetin. Diantara semua senyawa yang terkandung dalam tumbuhan ini, plumbagin adalah senyawa bioaktif yang paling tinggi (Roy & Bharadvaja 2017).

Tanaman *P.zeynalica* dikenal dengan senyawa bioaktifnya yaitu plumbagin. Senyawa ini dilaporkan memiliki aktivitas antikarsinogenik, antioksidan, cardio-protektif, antimalaria, antijamur, antiaterosklerotik, stimulasi sistem saraf

pusat, antihiperglikemik, dan anti-inflamasi (Dhalani *et al.*, 2020). Ekstrak etanolik daun *P. zeylanica* dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan *Ehrlich Ascites Carcinoma*, dan juga mengurangi tingkat peroksidasi lipid oleh terpenoid dan flavonoid (Kapare, *et al.*, 2020). Namun belum banyak informasi tentang metabolit sekunder dari bagian daun tumbuhan ini, sehingga perlu ditelusuri agar bisa dijadikan sebagai acuan atau *lead compound* yang bisa diaplikasikan dalam berbagai bidang, salah satunya adalah untuk kesehatan.

METODE

Alat

Alat-alat gelas laboratorium, *rotary evaporator*, kolom kromatografi berbagai ukuran, alat vakum, bejana kaca, lampu UV Vilbert Luomart (λ 254 dan 365 nm), spektrometer Infra Merah (Perkin Elmer spectrum-100 FTIR), spektroskopi massa (TQD-ESI-UPLC-MS/MS Waters), resonansi magnet inti (Spektrometer JEOL JNM ECA-500 ^1H NMR 500 MHz, ^{13}C -NMR 125 MHz, HMBC dan HMQC), dan UV-Vis (Shimadzu UV-1800).

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi daun ki encok (*P. zeylanica* L.) dari perkebunan Manoko, Lembang-Jawa Barat, pelarut *n*-heksana,

kloroform p.a, etil asetat, aseton, metanol, asam sulfat 10% dalam etanol dan alumunium klorida 5%, silika gel G60 (70-230 mesh), plat silika gel GF₂₅₄.

Cara Kerja

Daun *P. zeylanica* L. (3,2 kg) dikeringkan dan dihaluskan menghasilkan serbuk kering (2,7 kg), kemudian dimaserasi dengan metanol selama 3x24 jam dan diperoleh ekstrak pekat methanol (235,59 g). Ekstrak pekat metanol (200 g) kemudian dipartisi dengan air dan *n*-heksana (1:1), diperoleh fraksi *n*-heksana pekat (112,46 g) dan fraksi air. Fraksi air tersebut kemudian diekstraksi lagi dengan menggunakan etil asetat, dan diperoleh fraksi etil asetat pekat (15,21 g).

Fraksi etil asetat pekat dipilih untuk dilakukan pemisahan selanjutnya karena dari penelitian sebelumnya menunjukkan aktivitas antibakteri yang paling kuat. Fraksi etil asetat (15 g) dipisahkan dengan menggunakan metode kromatografi kolom vakum dengan fasa diam silika gel G60 dan fasa gerak pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan metanol yang dielusikan secara bertahap dengan gradien 10% (v/v), dan diperoleh 7 fraksi gabungan (EA.1-EA.7), yaitu EA.1 (225 mg); EA.2 (2,8 g); EA.3 (400 mg); EA.4 (3,65 g); EA.5 (2,4 g); EA.6 (1,02 g), dan EA7 (2,25 g).

Fraksi EA.6 menunjukkan noda berwarna kuning setelah disemprot

dengan H_2SO_4 10%, yang mengindikasikan adanya senyawa flavonoid. Dugaan tersebut diperkuat dengan analisis KLT menggunakan reagen penyemprot AlCl_3 5% menghasilkan warna kuning di bawah lampu UV λ 365 yang memperjelas dugaan senyawa flavonoid. Fraksi EA.6 (1 g) dipisahkan secara kromatografi kolom dengan fasa diam silika gel G60 (70-230 mesh), eluen kloroform : metanol dengan peningkatan kepolaran 5%, dan diperoleh lima fraksi gabungan (EA6.1-EA6.5). Fraksi EA6.3 (96 mg) dilakukan pemisahan kembali dengan kromatografi kolom dengan fasa diam yang sama menggunakan pelarut kloroform : metanol dengan peningkatan kepolaran 0,1% dan diperoleh lima fraksi gabungan (EA6.3.1-EA6.3.5). Pada fraksi EA6.3.3 dimurnikan dengan menggunakan KLT preparatif dengan eluen kloroform:metanol (7,5:2,5) diperoleh 1 isolat. Isolat tersebut berbentuk minyak/oily (16,3 mg) berwarna kuning dan menunjukkan pola noda tunggal pada kromatogram KLT dua dimensi dengan pelarut kloroform:metanol (7:3) dan etil asetat:metanol (8:2). Isolat murni ini dikarakterisasi dengan spektrofotometer UV-Vis, IR, NMR dan MS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

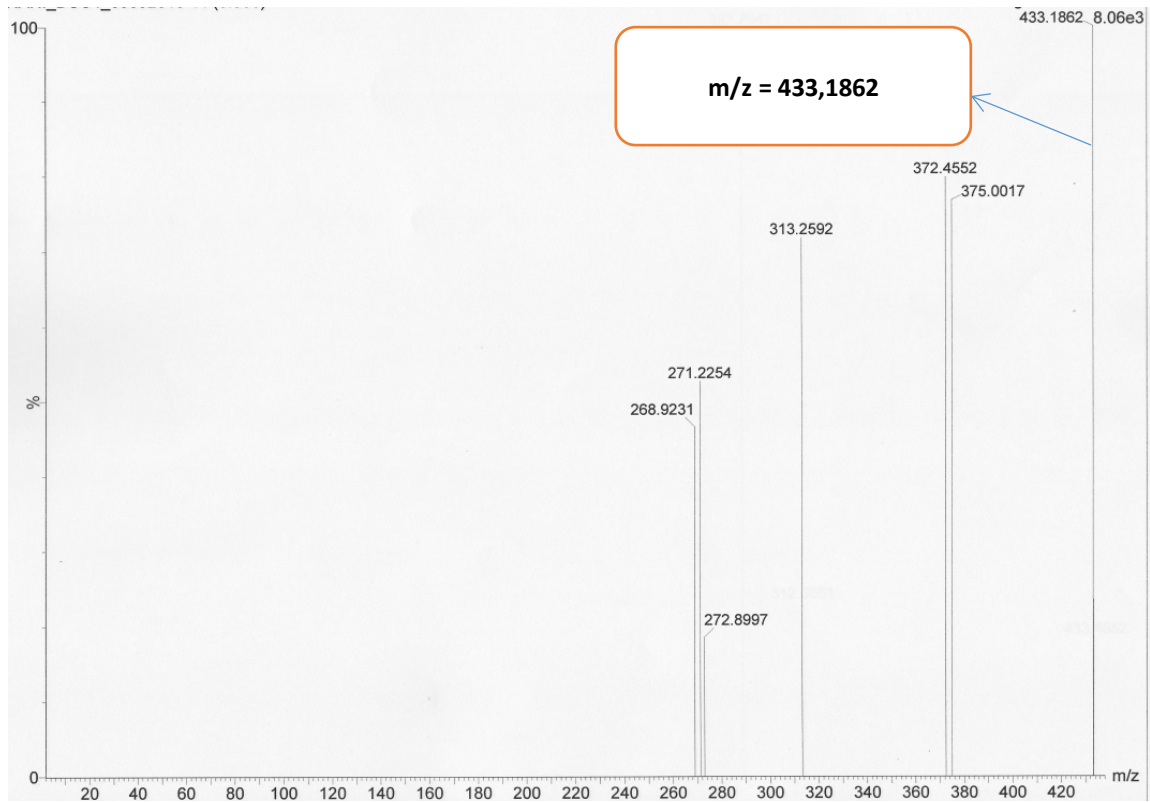
Penentuan struktur kimia isolat ekstrak etil asetat P. zeynalica L.

Senyawa murni yang diperoleh dari proses isolasi kemudian ditentukan struktur kimianya dengan mengidentifikasi data hasil pengukuran spektrometer ultra violet, spektrometer inframerah, spektrometer NMR (^1H -NMR, ^{13}C -NMR, HMBC, HMQC), dan spektrometer Massa. Isolat berupa minyak berwarna kuning. Rumus molekul ditetapkan sebagai $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$ berdasarkan hasil dari data spektrum massa dengan m/z 433,1862 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (mode ion negatif) (Gambar 1), sehingga m/z isolat berdasarkan perhitungan adalah 434,3863. Isolat memiliki 11 derajat ketidakjenuhan.

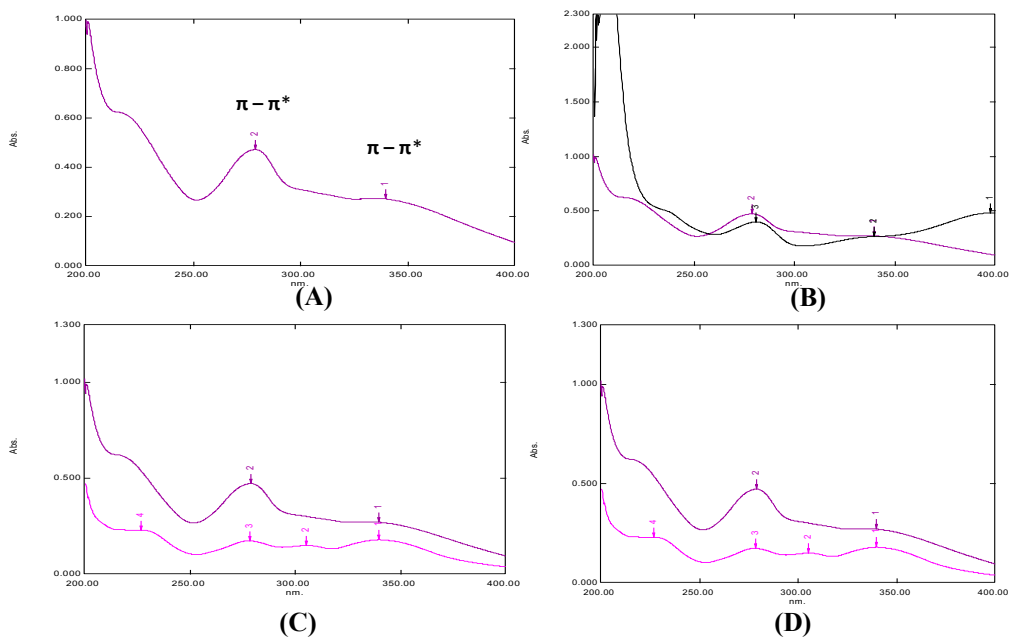
Berdasarkan data pengukuran serapan UV dari isolat dalam pelarut metanol (Gambar 2), isolat memberikan serapan maksimum pada λ_{maks} 339,60 (pita I) dan 278,80 nm (pita II) yang menunjukkan serapan yang khas untuk dihidroflavonol. Spektra dari flavon dan flavonol memperlihatkan dua puncak utama pada daerah 240-400 nm. flavonol menunjukkan dua pita serapan utama, dimana Pita I (320–385 nm) mewakili absorpsi oleh cincin B, sedangkan pita II (250-285 nm) berhubungan dengan absorpsi pada cincin A. Pita I

menunjukkan absorpsi yang sesuai untuk cincin B sinamoil, sedang pita II

berhubungan absorpsi cincin A benzoil (Kumar & Pandey 2013).



Gambar 1. Spektrum Massa Isolat



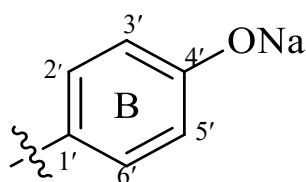
Gambar 2. Spektrum UV isolat dengan pelarut metanol (A), dengan penambahan pereaksi penggeser NaOH (B), AlCl₃ (C) dan AlCl₃ + HCl (D)

Puncak serapan UV untuk isolat mengalami pergeseran batokromik akibat penambahan pereaksi penggeser, salah satunya adalah NaOH. Isolat setelah penambahan NaOH mengalami pergeseran sebesar 57,8 nm (λ_{maks} 339 nm menjadi 397,40 nm) pada pita I (cincin B) (Tabel 1) yang merupakan pergeseran batokromik, pergeseran tersebut mengindikasikan adanya gugus hidroksil pada karbon 4' pada cincin B (Parveen & Ghalib 2012). Isolat dengan penambahan reagen penggeser AlCl_3 mengalami

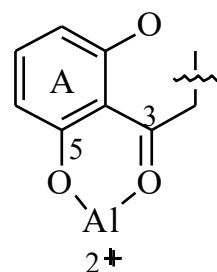
pergeseran batokromik pada pita II sebesar 26,2 dan dengan penambahan $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ juga mengalami pergeseran batokromik pada kedua pita serapannya sebesar 60,2 (pita I λ_{maks} 339 nm menjadi 342 nm dan pita II λ_{maks} 278,80 nm menjadi 339 nm). Reagen AlCl_3 selanjutnya mengkonfirmasi adanya gugus OH bebas pada C-5 dan C-3 yang diindikasikan dengan adanya pergeseran batokromik pada pita I (Parveen & Ghalib 2012).

Tabel 1. Spektrum Ultraviolet (UV) isolat

	λ_{maks} (nm)				ϵ
	Isolat	+ NaOH	+ AlCl_3	+ (AlCl_3 dan HCl)	
Pita I	339,60	397,40	339,60	342	1185
Pita II	278,80	339,80	305	339	2048



(a)

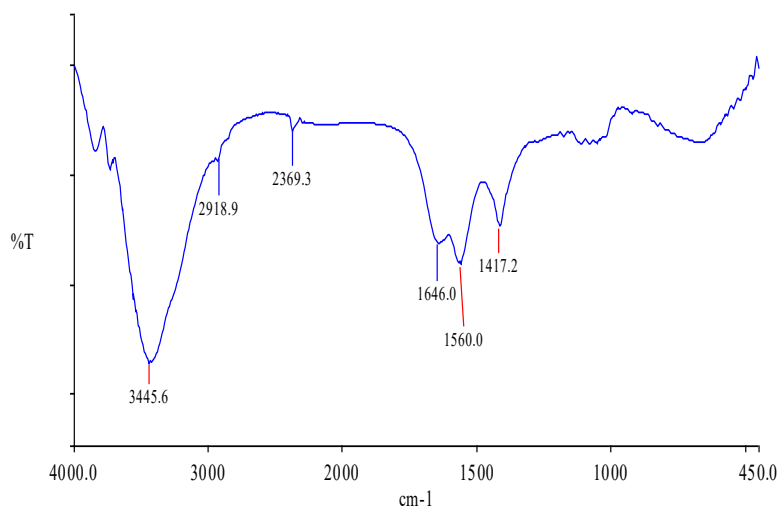


(b)

Gambar 3. Kompleks yang terbentuk antara isolat dengan NaOH (a) dan AlCl_3 (b)

Spektrum inframerah isolat (Gambar 4) diperoleh informasi pada bilangan gelombang 3445 cm^{-1} menunjukkan keberadaan gugus OH, 2918 cm^{-1} untuk

serapan C-H alifatik, 1646 cm^{-1} untuk lentur karbonil (C=O), $1560,7 \text{ cm}^{-1}$ untuk regang C=C dan pada 1417 cm^{-1} regang eter (C-O-C) (Tabel 2).



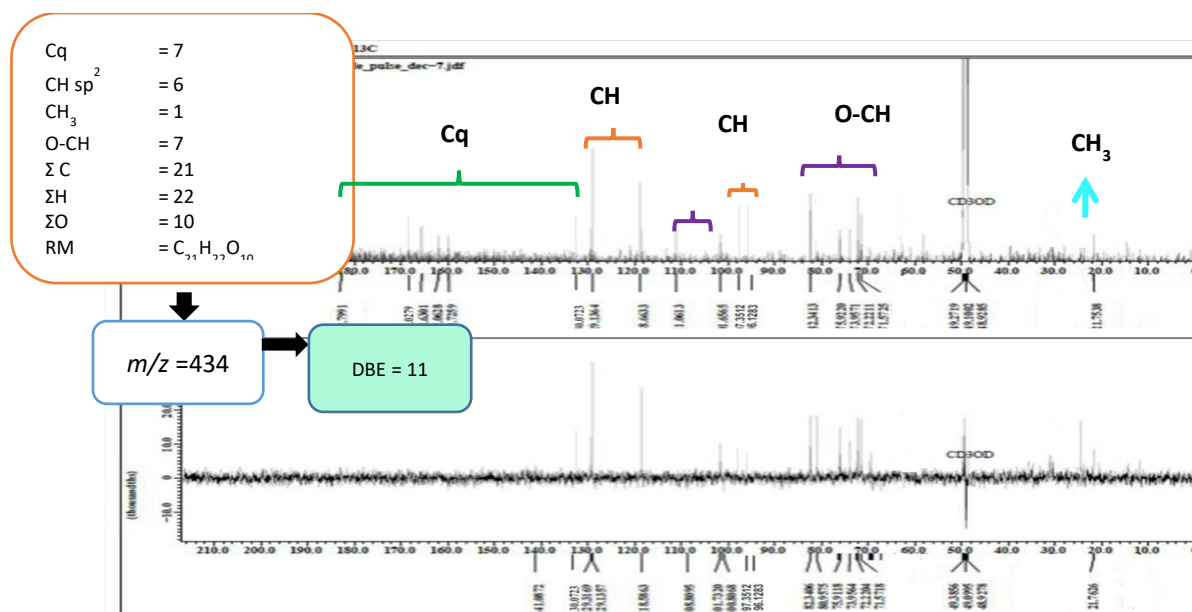
Gambar 4. Spektrum inframerah isolat (KBr)

Tabel 2. Spektrum inframerah isolat

Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Bentuk puncak	Intensitas	Dugaan gugus fungsi
3445	Lebar	Kuat	O-H
2918	Tajam	Lemah	C-H (alifatik)
1646	Lebar	Sedang	C=O
1560	Lebar	Sedang	C=C (aril)
1417	Lebar	Sedang	C-O-C

Analisis spektroskopi ¹³C-NMR dan DEPT menunjukkan bahwa isolat (Gambar 5) muncul 19 sinyal karbon, namun dari data spektrum HMQC menunjukkan bahwa pada masing-masing karbon pada δ_c 129,1 dan 118,6 ppm masing-masing mengikat 2H, sedangkan pada spektrum DEPT, karbon-karbon tersebut merupakan sinyal untuk CH, hal tersebut mengindikasikan bahwa dua sinyal proton tersebut dimiliki oleh dua karbon. Sehingga total karbon yang dimiliki oleh isolat adalah sebanyak 21

karbon, yang terdiri dari satu karbon sp^3 , tujuh karbon kuartener (satu diantaranya karbon karbonil), enam karbon sp^2 dan tujuh buah karbon metin sp^3 teroksidasi. Berdasarkan data spektroskopi ¹³C-NMR, DEPT dan didukung oleh data MS yang menyatakan bahwa rumus molekul isolat adalah C₂₁H₂₂O₁₀, sehingga diketahui bahwa DBE isolat adalah sebanyak 11, yang berasal dari enam C=C sp^2 , satu untuk ikatan rangkap dari karbonil, satu cincin rhamnosida dan tiga untuk kerangka flavontrisiklik.

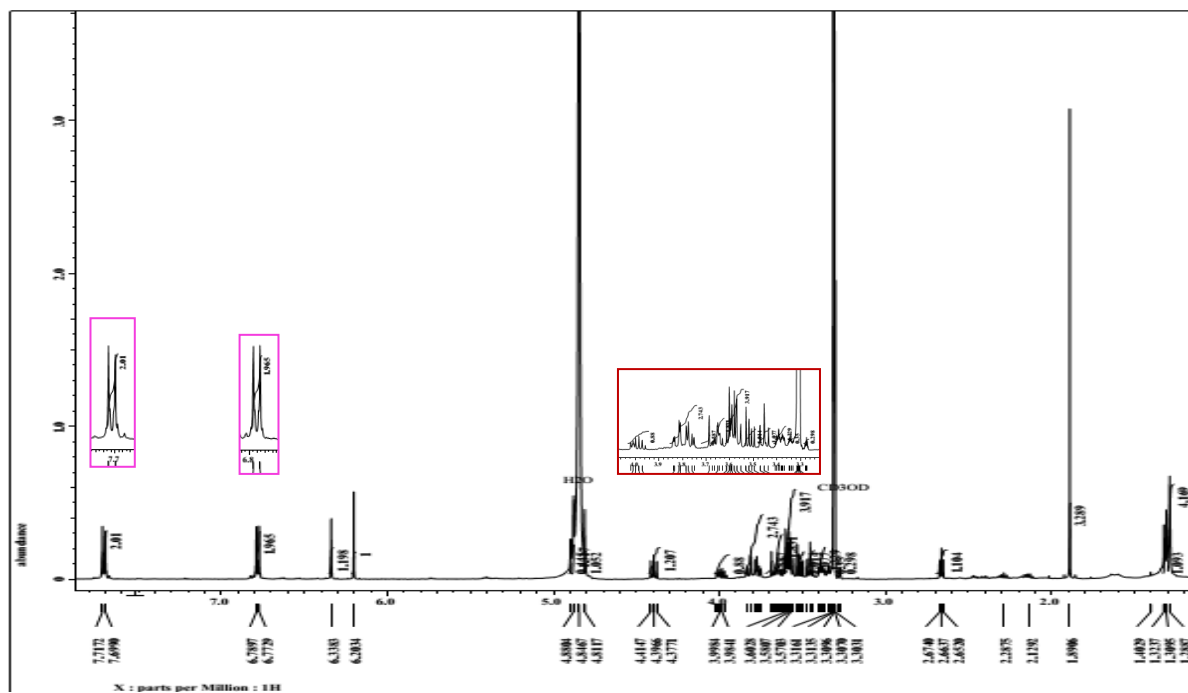


Gambar 5. Spektrum ¹³C-NMR dan DEPT isolat (CD₃OD, 125 MHz)

Spektrum ¹H-NMR (CD₃OD, 500 Hz) isolat (Gambar 6), menunjukkan sinyal proton pada δ_H 7,72 ppm (1H; *d*; $J = 9,1$ Hz; H-2' dan H-6') yang diduga terikat pada karbon nomor 2' (δ_C 129,1 ppm) dan proton dengan δ_H 6,79 ppm (1H, *d*, $J = 8,4$ Hz; H-3' dan H-5') diduga terikat pada karbon nomor 5' (δ_C 118,6 ppm) yang mengindikasikan proton yang terikat pada cincin aromatik dengan posisi *orto* (penjodohan *orto*) dengan posisi substituen berada pada posisi *para*. Proton H-2'; H-6'; H-3' dan H-5' dengan nilai *coupling constant* sama mengindikasikan empat proton aromatik pada cincin B yang merupakan

karakteristik 1', 4'-disubstitusi flavonol. Hal tersebut juga didukung dengan data UV, yang menunjukkan keberadaan gugus hidroksil bebas pada posisi karbon 4' di cincin B.

Analisis spektroskopi ¹H-NMR menunjukkan unit C – H dari karbohidrat biasanya menempati pergeseran δ_H 3–5,5 ppm (Brown *et al.*, 2018). Satu sinyal proton pada pergeseran 1,3 ppm mengindikasikan keberadaan gugus metil. Kehadiran sinyal proton anomerik δ_H 3,69 (1H, *s*, H-1'') dan empat sinyal proton metin teroksidasi yang terinduksi oleh metil merupakan khas dari keberadaan cincin ramnosida.

Gambar 6. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 500 Hz)Tabel 3. Data $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ dan 2D NMR Isolat

Posisi	δ_{C} (ppm)*	δ_{H} (ΣH ; m; $J=\text{Hz}$)*	DEPT*	HMBC*	COSY*	δ_{C} (ppm)**	δ_{H} (ΣH ; m; $J=\text{Hz}$)** Engeletin
2	82,0	3,45 (1H; <i>m</i>)	O-CH			83,8	5,13 (1H; <i>d</i> ; 10,8)
3	75,9	4,81 (1H; <i>d</i> ; 9,8)	O-CH			78,6	4,62(1H; <i>d</i> ; 10)
4	182,7	-	C			196,0	-
5	162,0	-	O-C	H-3		165,4	-
6	97,3	6,2(1H; <i>s</i>)	CH	H-2		97,3	5,92 (1H; <i>d</i> ; 1,6)
7	169,0	-	O-C			168,5	-
8	96,1	6,33 (1H; <i>s</i>)	CH	H-8		96,2	5,89 (1H; <i>d</i> ; 1,6)
9	165,6	-	O-C			164,1	-
10	101,4	-	C	H-8		102,2	-
1'	130,0	-	C			128,5	-
2'	129,1	7,72 (1H; <i>d</i> ; 9,1)	CH	H-3	H-3'	130,0	7,36 (1H; <i>d</i> ; 8,4)
3'	118,6	6,79 (1H; <i>d</i> ; 8,4)	CH		H-2'	116,4	6,85 (1H; <i>d</i> ; 8,4)
4'	159,7	-	C			159,4	-
5'	118,6	6,79 (1H; <i>d</i> ; 8,4)	CH	H-6		116,4	6,85 (1H; <i>d</i> ; 8,4)
6'	129,1	7,72(1H; <i>d</i> ; 9,1)	CH		H-2'; H-3'	130,0	7,36 (1H; <i>d</i> ; 8,4)
1''	101,5	3,69 (1H; <i>s</i>)	O-CH			102,4	3,99 (1H; <i>s</i>)
2''	72,2	4,39 ((1H; <i>t</i> ; 9,05)	O-CH			71,7	4,30 (1H; <i>m</i>)
3''	72,2	4,39 ((1H; <i>t</i> ; 9,05)	O-CH			72,1	3,67 (1H; <i>dd</i> ; 9,2 ; 2,8)
4''	73,9	3,9 (1H; <i>m</i>)	O-CH		H-5''	73,7	3,50 (1H; <i>m</i>)
5''	71,5	3,57 (1H; <i>m</i>)	O-CH		H-4''	70,5	3,34 (1H; <i>m</i>)
6''	21,7	1,31 (3H; <i>s</i>)	CH ₃			17,8	1,19 (3H; <i>d</i> ; 6,0)

* $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD), dan $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD)** $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD), dan $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) (Huang *et al.*, 2011)

Spektrum HMQC menunjukkan adanya korelasi antara karbon δ_C 129,1 dengan proton δ_H 7,72 ppm (1H; *d*; $J = 9,1$ Hz), δ_C 118,6 dengan δ_H 6,79 ppm (1H; *d*; $J = 8,4$ Hz). Pada spektrum 2D-NMR 1H - 1H COSY terpilih isolat, terlihat korelasi dari proton kerangka dasar δ_H 7,72 ppm (1H; *d*; $J = 9,1$ Hz) dengan δ_H 6,79 ppm (1H; *d*; $J = 8,4$ Hz), sehingga menguatkan dugaan bahwa kedua proton tersebut mengalami penjodohan secara *orto* ($J=8$). Selain itu, pada spektrum, terlihat adanya korelasi pada proton δ_H 3,9 ppm (1H; *m*), δ_H 3,57 ppm (1H; *m*).

Spektrum HMBC terpilih isolat, menunjukkan korelasi (3J) antara H-8 dengan C-7, H-8 dan H-10 terhadap C-9, H-3 dengan C-2 dan C-5, serta H-6'' dengan C-5''. Adanya korelasi antara H-6'' dengan karbon CH_3 (δ_C 21,7) menyarankan adanya substitusi gugus metil pada cincin gula yang berbentuk cincin ramnosida. Data 1H -NMR, ^{13}C -NMR dan 2D NMR (HMBC dan COSY) isolat (Tabel 3).

Dari hasil analisis spektrum UV-Vis, MS, 1H -NMR, ^{13}C NMR, DEPT dan 2D-NMR, isolat memiliki kemiripan yang

tinggi dengan Engeletin (Huang *et al.*, 2011) sehingga dapat disimpulkan bahwa isolat merupakan dihidrokaempferol-3-*O*-ramnosida (engeletin). Engeletin adalah senyawa flavonoid yang diisolasi dari banyak tanaman penting di Indonesia yang digunakan sebagai obat tradisional dan dilaporkan memiliki bioaktivitas sebagai antiinflamasi, aktivitas antioksidan, antiHIV-1 (Ruangnoo *et al.*, 2012), berperan dalam pencegahan kerusakan hepatosit imunologi dan efek antihiperurisemia dan nephoprotektif (Chen *et al.*, 2011), serta berperan sebagai antiplasmodial (Ali *et al.*, 2014).

KESIMPULAN

Senyawa dihidrokaempferol-3-*O*-ramnosida atau engeletin berhasil diisolasi dari fraksi etil asetat daun ki encok (*Plumbago zeynalica* L.) dengan massa 16,3 mg berbentuk minyak/*oily* berwarna kuning. Engeletin dilaporkan memiliki efek farmakologis sebagai antiinflamasi, antioksidan, antiHIV-1, berperan dalam pencegahan kerusakan hepatosit imunologi, antihiperurisemia, nephoprotektif dan antiplasmodial

DAFTAR RUJUKAN

- Ali, A. H., Hassan, N. M., Shukor, N. I., Embi, N., Latip, J., & Mohd Sidek, H. M. (2014). Anti-plasmodial activity of engeletin isolated from *Artocarpus scortechinii*. *Malaysian Applied Biology*, 43(1).
- Beyene, B. B., Alem, F. A., & Ayana, M. T. (2020). Determination of antioxidant and antibacterial activities of leaf extracts of *Plumbago zeylanica* (Amira) . *Cogent Chemistry*, 6(1), 1831715. <https://doi.org/10.1080/23312009.2020.1831715>
- Brown, G. D., Bauer, J., Osborn, H. M. I., & Kuemmerle, R. (2018). A Solution NMR Approach to Determine the Chemical Structures of Carbohydrates Using the Hydroxyl Groups as Starting Points. *ACS Omega*, 3(12), 17957–17975. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b02136>
- Chen, L., Yin, H., Lan, Z., Ma, S., Zhang, C., Yang, Z., Li, P., & Lin, B. (2011). Anti-hyperuricemic and nephroprotective effects of *Smilax china* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 135(2). <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.03.033>
- Cong, H. J., Zhang, S. W., Shen, Y., Zheng, Y., Huang, Y. J., Wang, W. Q., Leng, Y., & Xuan, L. J. (2013). Guanidine alkaloids from *Plumbago zeylanica*. *Journal of Natural Products*, 76(7), 1351–1357. <https://doi.org/10.1021/np400235s>
- Dhalani, J., Dubal, G., Rathod, C., & Nariya, P. (2020). Evaluation of Non-polar Composition in *Plumbago Zeylanica* Leaves by Gas Chromatography and Mass Spectrometry. *Folia Medica*, 62(2), 308–313. <https://doi.org/10.3897/folmed.62.e47647>
- Ganesan, K., & Gani, S. (2013). Ethnomedical and Pharmacological Potentials of *Plumbago zeylanica* LA. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, 1(3), 313–337. [http://www.ajpct.org/PA-400163-\[6\].pdf](http://www.ajpct.org/PA-400163-[6].pdf)
- Huang, H., Cheng, Z., Shi, H., Xin, W., Wang, T. T. Y., & Yu, L. (2011). Isolation and characterization of two flavonoids, engeletin and astilbin, from the leaves of *Engelhardia roxburghiana* and their potential anti-inflammatory properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,

- 59(9), 4562–4569.
<https://doi.org/10.1021/jf2002969>
- Kapare, H. S., Metkar, S. R., & Shirolkar, S. (2020). Anticancer Potential Of *Plumbago Zeylanica* Linn . And Its Isolated Constituent Plumbagin : A Review '. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 11(October).
[https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.11\(10\).4859-65](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.11(10).4859-65)
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *TheScientificWorldJournal*, 2013, 162750.
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3891543&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Parveen, M., & Ghalib, R. M. (2012). Flavonoids and antimicrobial activity of leaves of *Xylosma longifolium*. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 57(1), 989–991.
<https://doi.org/10.4067/S0717-97072012000100007>
- Roy, A., & Bharadvaja, N. (2017). A review on pharmaceutically important medical plant: *Plumbago zeylanica*. *Journal of Ayurvedic and Herbal Medicine*, 3(4), 225–228.
www.ayurvedjournal.com
- Ruangnoo, S., Jaiaree, N., Makchuchit, S., Panthong, S., Thongdeeying, P., & Itharat, A. (2012). An in vitro inhibitory effect on RAW 264.7 cells by antiinflammatory compounds from *Smilax corbularia* Kunth. *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology*, 30(4), 268–274.
- Syahid S.F & Nova K.N. (2016). Multiplikasi Tunas, Aklimatisasi Dan Analisis Mutu Simplisia Daun Encok (*Plumbago zeylanica* L.) Asal Kultur In Vitro Periode Panjang. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah Dan Obat*, 19(2), 117–128.
<https://doi.org/10.21082/bullitro.v19n2.2008.%p>