

IDENTIFIKASI METABOLIT SEKUNDER EKO ENZIM LIMBAH BUAH DAN SAYUR

Edward Melfin Bawanda¹, Umarudin Umarudin², Syukrianto³, Galuh Gondo Kusumo⁴, Ramadhan Renaisansa⁵, Widya Dara Anindya⁶, Silvi Ayu Wulansari⁷, Vika Ayu Devianti⁸

Akademi Farmasi Surabaya¹⁻⁸
Email¹: umarsains54@gmail.com

ABSTRAK

Limbah organik berupa kulit buah dan sayuran asal Ketintang Kota Surabaya Jawa Timur dapat diolah menjadi eko enzim melalui fermentasi menggunakan campuran gula dan air selama 30 hari. Dalam proses ini, glukosa terurai menjadi asam piruvat yang kemudian, dalam kondisi anaerob, mengalami dekarboksilasi menjadi etanol dan karbon dioksida. Tujuan penelitian ini adalah identifikasi metabolit sekunder eko enzim limbah buah dan sayur. Metode penelitian ini secara true experimental dan amati perubahan warna pada uji (flavonoid, dan tannin), adanya buih uji saponin, dan adanya cincin pada uji (steroid dan terpenoid) dan adanya endapan pada uji alkaloid. Hasil analisis menunjukkan eko enzim limbah buah dan sayur adanya senyawa golongan flavonoid, tanin, dan saponin (positif), sementara alkaloid, terpenoid, dan steroid tidak terdeteksi (negatif).

Kata Kunci: Eko enzim, Identifikasi, Limbah buah dan sayur, Metabolit sekunder

ABSTRACT

Organic waste, in the form of fruit and vegetable peels from Ketintang, Surabaya City, East Java, can be processed into an eco enzyme through fermentation using a mixture of sugar and water over a period of 30 days. During this process, glucose is broken down into pyruvic acid, which, under anaerobic conditions, undergoes decarboxylation to form ethanol and carbon dioxide. This study aims to identify the secondary metabolites present in eco enzymes derived from fruit and vegetable waste. This research employed an accurate experimental method, observing colour changes in the tests for flavonoids and tannins, the presence of froth in the saponin test, the formation of rings in the steroid and terpenoid tests, and the appearance of precipitate in the alkaloid test. The analysis results indicated that the eco-enzyme from fruit and vegetable waste tested positive for flavonoids, tannins, and saponins, while alkaloids, terpenoids, and steroids were not detected (negative).

Keywords: Eco enzyme, Identification, Fruit and vegetable waste, Secondary metabolites

PENDAHULUAN

Menurut data dari Badan Pusat Statistik (BPS) tahun 2022, limbah buah dan sayur menyumbang sekitar 44% dari total limbah domestik di Indonesia, sehingga menjadi sumber utama pencemaran organik (1). Jumlah limbah yang sangat besar ini berpotensi menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan, khususnya

pencemaran tanah dan air, apabila tidak dikelola dengan baik. Oleh karena itu, pengelolaan limbah organik secara optimal menjadi sangat penting untuk mendukung pencapaian *Sustainable Development Goals* (SDGs), khususnya target ke-12 mengenai konsumsi dan produksi yang berkelanjutan serta target ke-3 tentang kesehatan dan kesejahteraan masyarakat (2).

Kulit buah dan sayuran yang menjadi limbah dapat diolah melalui fermentasi anaerobik selama 30 hari dengan menggunakan campuran gula dan air sebagai substrat. Pada tahap awal fermentasi, glukosa mengalami proses glikolisis yang menghasilkan asam piruvat, kemudian dalam kondisi tanpa oksigen asam piruvat ini mengalami dekarboksilasi menjadi asetaldehida dan karbon dioksida. Selanjutnya, bakteri *Acetobacter* mengoksidasi asetaldehida menjadi asam asetat melalui jalur metabolik yang merupakan modifikasi dari siklus Krebs (3). Hasil fermentasi ini berupa cairan dengan pH sekitar 3 hingga 4 yang kaya akan berbagai senyawa bioaktif.

Eko enzim mengandung berbagai enzim hidrolitik seperti amilase, lipase, dan protease, serta metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, dan kuinon (4). Senyawa-senyawa ini memiliki aktivitas antibakteri yang efektif, mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan zona hambat lebih dari 20 mm (5). Selain itu, analisis menggunakan GC-MS mengidentifikasi adanya senyawa antiinflamasi seperti asam heksadekanoat dan asetaldehida etil cis-3-hexenil asetat yang berperan dalam mempercepat proses epitelisasi jaringan dengan cara menghambat enzim siklooksigenase (6).

Senyawa kardio glikosida dan terpenoid yang terkandung dalam eko-enzim berfungsi sebagai astringen yang membantu mengecilkan jaringan serta mengurangi keluarnya cairan luka, sekaligus memperbaiki struktur kulit. Flavonoid juga berperan dalam menekan produksi mediator inflamasi seperti TNF- α dan IL-6 melalui jalur sinyal NF- κ B, sehingga mengurangi infiltrasi sel radang (7). Kombinasi efek antimikroba dan antioksidan dari senyawa ini menciptakan kondisi yang mendukung proliferasi fibroblas dan pembentukan pembuluh darah baru, yang telah dibuktikan melalui uji *scratch assay* pada kultur fibroblas manusia (8). Melihat potensi farmakologis yang dimiliki, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi profil metabolit sekunder yang terkandung dalam eko enzim hasil

fermentasi limbah buah dan sayur dari Ketintang, Surabaya.

METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah *beaker glass* (herma), pH meter, erlenmeyer (*pyrex*), pipet tetes, timbangan analitik, tabung reaksi (*pyrex*), rak tabung reaksi, panci, kompor, spatula, kaca arloji, sendok tanduk. Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah limbah buah dan sayur, akuades (pelarut), gula jawa, reagen fitokimia (larutan FeCl_3 1%, H_2SO_4 Pekat, serbuk Mg, HCl pekat), reagen Mayer ($\text{HgCl}_2 + \text{KI} + \text{akuades}$), reagen Wagner (Iodium + kalium iodida + akuades), reagen Dragendorff ($\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 + \text{Asam tartarat} + \text{KI}$), *tissue*, kertas label.

2.2 Prosedur Kerja

Limbah buah dan sayur yang dikumpulkan dari Ketintang, Surabaya. Limbah tersebut dibersihkan dan dilakukan proses fermentasi selama 30 hari dengan perbandingan campuran gula jawa, limbah buah dan sayur (3:1:10) (9)

Pembuatan pereaksi Mayer dibuat dengan melarutkan 1,36 gram HgCl_2 dalam 60 ml air suling, kemudian mencampurkan 5 gram KI yang dilarutkan dalam 10 ml air suling, dan melarutkan campuran tersebut hingga volume total mencapai 100 ml dengan air suling. Larutan ini disimpan dalam wadah gelap agar terlindungi dari cahaya (7;10).

Pereaksi Wagner disiapkan dengan mencampurkan 1,27 gram iodium dan 2 gram KI dalam 5 ml air suling, lalu diencerkan hingga volume 100 ml dengan air suling. Endapan yang terbentuk disaring, dan filtrat disimpan dalam botol gelap terlindung dari cahaya (7; 10).

Pereaksi Dragendorff dibuat dengan mencampurkan 8 gram KI dalam 20 ml air suling dan 0,85 gram bismuth subnitrat dengan asam asetat serta 40 ml air suling. Larutan ini disimpan dalam botol gelap dan sebelum digunakan diencerkan dengan campuran asam asetat dan air suling sesuai proporsi tertentu (7; 10). Identifikasi metabolit sekunder diantaranya:

1. Uji flavonoid dilakukan dengan mengambil 9 ml ekstrak, kemudian ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium dan 2-3 tetes asam klorida pekat. Munculnya warna merah, kuning, atau jingga menandakan keberadaan

- flavonoid, dan uji ini dilakukan sebanyak tiga kali (10).
2. Uji tanin dilakukan dengan mencampurkan 9 ml eko enzim dengan 2 ml air suling dan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Warna coklat kehijauan, biru kehijauan, atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin, dengan replikasi tiga kali (10).
 3. Uji saponin dilakukan dengan memasukkan 9 ml eko enzim ke dalam tabung reaksi, ditambah 10 ml air panas, dikocok, dan didiamkan selama 1-10 menit. Terbentuknya busa stabil setinggi 1-10 cm menunjukkan hasil positif, dengan tiga kali pengulangan (10).
 4. Uji alkaloid dilakukan dengan mencampurkan 9 ml eko enzim dengan 1 ml kloroform dan 1 ml amonia, kemudian dikocok dan ditambah 3 tetes H_2SO_4 2N, lalu dikocok kembali. Larutan tersebut dibagi ke dalam tiga tabung reaksi masing-masing 2 ml. Tabung pertama diberi 3 tetes pereaksi Mayer, tabung kedua 3 tetes pereaksi Wagner, dan tabung ketiga 3 tetes pereaksi Dragendorff. Terbentuknya endapan berwarna putih, coklat, dan jingga pada masing-masing tabung menandakan keberadaan alkaloid, dengan replikasi tiga kali (10).
 5. Uji terpenoid dilakukan dengan mengambil 9 ml eko enzim, kemudian menambahkan 2 ml kloroform dan 3 ml asam sulfat pekat secara perlahan melalui dinding tabung reaksi agar terbentuk cincin. Munculnya cincin berwarna kecoklatan pada batas larutan menandakan adanya terpenoid, dengan tiga kali ulangan (10).
 6. Uji steroid dilakukan dengan mencampurkan 9 ml eko enzim dengan 2 ml asam asetat dan 2 ml asam sulfat pekat. Terbentuknya cincin atau perubahan warna menjadi biru kehijauan menunjukkan keberadaan steroid, dengan tiga kali pengulangan (10).

2.3 Analisa Data

Hasil yang telah diperoleh disesuaikan dengan acuan (10-11). Hasil tersebut kemudian di analisis secara deskriptif kualitatif yaitu ditandai (+) adanya senyawa dan (-) tidak adanya senyawa.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Eko enzim adalah cairan yang diperoleh dari fermentasi limbah organik, yaitu limbah buah dan sayur (12). Proses fermentasi ini berlangsung selama 90 hari

dengan reaksi kimia sebagai berikut:



Hasil dari reaksi (1) menghasilkan eko enzim berupa cairan berwarna cokelat tua dengan aroma asam yang kuat dan segar. Bau asam tersebut berasal dari kandungan asam asetat yang terdapat dalam eko enzim limbah buah dan sayur. Setelah proses panen, eko enzim kemudian diuji melalui identifikasi metabolit sekunder. Identifikasi metabolit sekunder dipilih karena sifatnya yang sederhana, cepat, dan sangat selektif dalam mengidentifikasi kelompok senyawa serta mendeteksi keberadaan senyawa bioaktif yang tersebar dalam jaringan tanaman (13). Hasil skrining fitokimia pada eko enzim limbah buah dan sayur menunjukkan adanya kandungan tanin, flavonoid, dan saponin secara positif, sedangkan alkaloid, steroid, dan terpenoid tidak terdeteksi, sebagaimana tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil identifikasi metabolit sekunder limbah buah dan sayur

Gol. Senyawa	Pereaksi	Literatur (Harborne, 1987) (11)	Hasil Pengamatan	Replikasi		
				1	2	3
Tanin	10 ml akuades + 2-3 tetes FeCl ₃ 1%	Terbentuk warna coklat kehijauan/ biru kehijauan/ hitam kehijauan	Terjadi perubahan warna yaitu warna kehijauan	+	+	+
Flavonoid	(+) 0,1 g Serbuk Mg (+) 2-3 tetes HCl pekat	Terbentuk warna merah/ kuning/ jingga	Terjadi perubahan warna yaitu warna merah	+	+	+
Steroid	2 ml CH ₃ COOH + 2 ml H ₂ SO ₄ pekat	Terbentuknya cincin atau perubahan warna biru kehijauan	Terbentuk endapan warna putih	-	-	-
Saponin	10 ml air panas	Terbentuk buih selama 1-10 menit	Terbentuk buih selama 10 menit	+	+	+
Terpenoid	2 ml kloroform + 3 ml H ₂ SO ₄ pekat	Terbentuk cincin kecoklatan pada batas larutan	Terbentuk endapan warna putih	-	-	-

Keterangan Hasil Uji

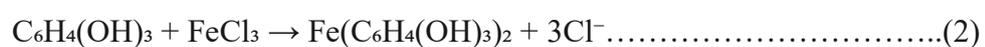
Positif: Terjadi perubahan warna, terbentuk endapan, cincin, atau busa.

Negatif: Tidak ada perubahan warna, endapan, cincin, maupun busa yang terbentuk.

Hasil pengujian flavonoid pada sampel ekoenzim dari limbah buah dan sayur menunjukkan hasil positif, dimana setelah dilakukan tiga kali replikasi terjadi perubahan warna menjadi merah kekuningan. Warna ini merupakan indikasi terbentuknya garam flavilium yang muncul akibat reaksi antara asam klorida pekat dan serbuk magnesium. Larutan HCl dan magnesium berinteraksi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid (10). Pada penelitian ini lebih baik dibandingkan penelitian yang dilakukan oleh Abdullah (2015) bahwa ekoenzim limbah sayur negatif mengandung flavonoid (14).

Flavonoid merupakan kelompok metabolit sekunder yang diproduksi oleh tanaman, memiliki struktur kerangka karbon C6-C3-C6. Senyawa ini memainkan peran penting secara biologis, tidak hanya dalam pembentukan pigmen tanaman dan respons terhadap tekanan biotik maupun abiotik, tetapi juga dalam bidang pengobatan (15). Selain itu juga flavonoid juga berfungsi sebagai senyawa bioaktif yang penting dalam mengatur berbagai proses fisiologis pada hewan. Berbagai bukti menunjukkan bahwa flavonoid mampu secara efektif menekan rangkaian reaksi inflamasi tahap awal (16), sehingga memiliki efek antiinflamasi yang kuat. Selain itu, flavonoid memiliki kemampuan tinggi dalam menangkal radikal bebas (17), sehingga memberikan perlindungan yang efektif pada tingkat sel terhadap kerusakan akibat oksidasi. Penelitian lebih lanjut mengungkapkan bahwa senyawa flavonoid memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan dan dapat melawan infeksi bakteri melalui beberapa mekanisme, seperti menghambat sintesis dinding sel bakteri, merusak membran sel, memicu stres oksidatif, menekan produksi protein, serta mengganggu proses replikasi dan transkripsi DNA bakteri (14; 18).

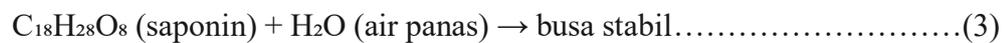
Hasil skrining metabolit sekunder pada ekoenzim limbah buah dan sayur menunjukkan adanya kandungan tanin, yang ditandai dengan munculnya warna kehijauan. Warna ini sesuai dengan temuan Harborne (1987), yang menyatakan bahwa tanin memberikan perubahan warna khas berupa hijau saat diuji (11). Reaksi tersebut terjadi ketika larutan FeCl₃ 1% berinteraksi dengan senyawa fenolik dalam tanin, membentuk kompleks warna tertentu yang menandakan keberadaan gugus fenol (OH) dalam molekul tanin (19). Secara kimia, reaksi ini dapat dituliskan sebagai:



Senyawa $C_6H_4(OH)_3$ merupakan fenol yang merupakan bagian dari struktur tanin, seperti galat, ellagat, atau tanin hidrolisat. $FeCl_3$ bertindak sebagai pereaksi ion Fe^{3+} dalam uji fitokimia ini. Kompleks $Fe(C_6H_4(OH)_3)_2$ yang terbentuk berwarna kehijauan merupakan hasil ikatan antara ion Fe^{3+} dengan dua gugus hidroksil fenolik pada tanin (10). Penelitian ini menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan studi Abdullah (2015), yang melaporkan bahwa ekoenzim dari limbah sayur tidak mengandung tanin (14). Tanin memiliki kemampuan antioksidan yang tinggi, senyawa ini berperan dalam menjaga kestabilan polimer yang dapat terdegradasi secara hayati selama proses daur ulang dengan mengurangi kerusakan oksidatif (19). Tanin dikenal sebagai antioksidan yang kuat, efektif dalam menetralkan radikal bebas, mengurangi stres oksidatif, serta menghambat proses peroksidasi lipid (20). Aktivitas antioksidan ini juga melibatkan interaksi tanin dengan protein makanan, yang berdampak pada tingkat pencernaan dan ketersediaan nutrisi secara hayati (21). Selain itu, tanin mampu mengikat ion logam seperti besi dan tembaga yang berperan sebagai katalis dalam reaksi oksidatif. Dengan mengurangi ketersediaan ion logam tersebut, tanin membantu melindungi sistem biologis dari kerusakan oksidatif.

Tanin juga memiliki sifat antimikroba yang meliputi gangguan pada dinding sel mikroorganisme, penghambatan enzim, serta menghambat kemampuan mikroba untuk melekat pada permukaan (22). Sifat ini sangat berguna dalam pengawetan makanan dan pengobatan infeksi. Selain itu, tanin dapat menghambat aktivitas enzim pencernaan seperti amilase, protease, dan lipase (23), yang menunjukkan potensinya dalam aplikasi terapeutik, misalnya dalam pengendalian kadar gula darah pada penderita diabetes. Tanin juga berperan dalam pengaturan berat badan dengan memengaruhi metabolisme lemak dan nafsu makan, melalui penghambatan lipase pankreas dan pengurangan penyerapan lemak. Interaksinya dengan hormon di saluran pencernaan dapat mengatur sensasi lapar dan kenyang. Tanin juga berinteraksi dengan mikrobiota usus, memodifikasi komposisi dan fungsinya untuk mendukung pertumbuhan bakteri baik seperti *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* (24), sekaligus menghambat pertumbuhan mikroba patogen. Selain itu, tanin meningkatkan kekuatan penghalang usus dan mengurangi peradangan, yang secara keseluruhan mendukung kesehatan saluran pencernaan (25).

Hasil skrining metabolit sekunder pada eko enzim limbah buah dan sayur menunjukkan hasil positif untuk kandungan saponin, yang ditandai dengan terbentuknya busa. Temuan ini sejalan dengan penelitian Harborne (1987) yang menyatakan bahwa keberadaan saponin dapat dikenali melalui pembentukan busa tersebut (11). Saponin merupakan senyawa glikosida yang memiliki gugus hidroksil (OH) pada bagian aglikonnya serta gugus gula yang melekat pada molekulnya (10). Saat saponin dilarutkan dalam air panas, molekulnya akan terdisosiasi dan menghasilkan busa yang stabil, mencerminkan sifat amfipatiknya, yaitu bagian yang larut dalam air (gula) dan bagian yang larut dalam lemak (aglikon) (14). Reaksi kimia yang terjadi dapat dituliskan sebagai:



Dalam proses ini, saponin ($C_{18}H_{28}O_8$) yang larut dalam air panas berinteraksi melalui gugus hidroksil (-OH) pada aglikon dengan molekul air, sehingga membentuk busa yang stabil (11). Secara umum, struktur saponin terdiri dari bagian glikosidik yang bersifat hidrofilik dan bagian aglikon yang non-polar serta larut dalam lemak (11).

Uji alkaloid menggunakan tiga jenis pereaksi, yaitu Dragendorff, Wagner, dan Mayer, menunjukkan hasil negatif pada eko enzim limbah buah dan sayur. Uji terpenoid yang menggunakan kloroform dan asam sulfat pekat juga menunjukkan hasil negatif, ditandai dengan terbentuknya endapan putih yang tidak sesuai dengan hasil penelitian Harborne (1987) yang melaporkan terbentuknya cincin coklat pada batas larutan (11). Selain itu, uji steroid dengan asam asetat dan asam sulfat pekat juga menghasilkan endapan putih yang berbeda dengan hasil Harborne (1987) yang menunjukkan terbentuknya cincin atau perubahan warna biru kehijauan (11). Temuan ini menyoroti profil kimiawi dan sifat biologis yang berbeda dari masing-masing limbah buah dan sayur yang digunakkan, serta menegaskan potensi eko enzim tersebut untuk aplikasi di bidang farmasi.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa eko enzim yang diperoleh dari limbah buah dan sayur di Ketintang Surabaya mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan saponin secara positif, sedangkan alkaloid, steroid, dan terpenoid tidak

terdeteksi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Diberikan kepada Akademi Farmasi Surabaya yang telah memberikan fasilitas selama berjalanya penelitian berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

1. Statistik BP. *Statistik Lingkungan Hidup Indonesia. (2022). Vols. 0216–6224. 2022. 201 p.*
2. Supriyani, Astuti, P. A., Maharani, W. T. E. (2020). Pengaruh variasi gula terhadap produksi ekoenzim menggunakan limbah buah dan sayur. *Seminar Nasional Edusaintek. 470–9.*
3. Vama, L., Cherekar, N. M. (2020). Production, extraction and uses of eco-enzyme using citrus fruit waste: wealth from waste. *Asian J Microbiol Biotech Env Sci. 22(2):346–51.* Available from: <http://www.envirobotechjournals.com/AJMBES/>
4. Khotimah, N. S. A. M. (2016). Review artikel: Beberapa tumbuhan yang mengandung senyawa aktif antiinflamasi. *Farmaka Suplemen.14(2):28–40.*
5. Fatisa, Y. (2013). Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak kulit dan biji buah pulasan (*Nepehelium mutabile*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara *in vitro*.10(1):31–8.
6. Ramadani, A. H, Ningrum, R. S (2022). Antibacterial Activity of Pineapple Peel (*Ananas comosus*) Eco-enzyme Against Acne Bacterias (*Staphylococcus aureus* and *Prapionibacterium acnes*) *Indonesian Journal of Chemical Research. 9:201–7*
7. Sangi, M., Runtuwene, M. R. J., Simbala, H. E. I., Makang, V. M. A. (2008). Analisis fitokimia tumbuhan obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chem Prog.1(1):47–53.*
8. Ratnawati, B., Komarudin, N. A., Hidiya M, Pitaloka, D., Johana, K. (2022) Processing food waste into eco-enzymes to maintain. 1(1):1–6.
9. Umarudin, U., Syukrianto., Anidnya, W. D., Wulansari, S. A., & Aryanti, E. (2024). Edukasi Eco Enzyme Dari Limbah Buah Dan Sayur Menjadi Sabun Cair Cuci Tangan Sebagai Upaya Menciptakan Ekonomi Masyarakat Produktif Dalam Mendukung *Sustainable Development Goals* (SDGS) Di Kelurahan Ketintang 4 Surabaya. *Jurnal Abdi Insani, 11(2), 1816-1824.* <https://doi.org/10.29303/abdiinsani.v11i2.1593>
10. Widayati, Y dan Umarudin, U.(2022). Skrining Senyawa Metabolit Sekunder pada Ekstrak Aseton Biji Gayam (*Inocarpus fagifer*). *Jurnal Biologi dan Pendidikan Biologi.104–11*
11. Harbone, J. (1998). *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis.* 3rd ed. *Publication Dordrecht Springer.* XIV, 302 p.
12. Larasati, D., Astuti, A. P., Maharani, E. T. (2020). Uji Organoleptik Produk Eco-Enzyme Dari Limbah Kulit Buah (Studi Kasus Di Kota Semarang). 278–83.
13. Ayu, P., Surbakti, A., Queljoe, E, De., Boddhi, W. (2018). Skrining Fitokimia

- Dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Andredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Jurnal Ilmu Farmasi*.7(3):22–31
14. Abdullah, N. O., Zubair, A., Mangarengi, N. A. P, Rachman, R. M., Tumpu M, Djamaluddin, D. (2023). Identification of eco enzyme characteristics from organic waste. *Jurnal IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 1268(1).23-27p.
 15. Mao, Y., Luo, J., & Cai, Z. (2025). Biosynthesis and Regulatory Mechanisms of Plant Flavonoids: A Review. *Plants*, 14(12), 1847. <https://doi.org/10.3390/plants14121847>
 16. Panche, A.N.; Diwan, A.D.; Chandra, S.R. Flavonoids (2016). An overview. *J. Nutr. Sci.* 5, e47
 17. Procházková, D. Boušová, I. Wilhelmová, N. (2011). Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*. 82, 513–523.
 18. Hu, L.Luo, Y. Yang, J. Cheng, C. (2025). Botanical Flavonoids: Efficacy, Absorption, Metabolism and Advanced Pharmaceutical Technology for Improving Bioavailability. *Molecules*. 30, 1184.
 19. Siregar, B. L., Siallagan, R. S., Butar Butar, S., Mahmudi, B., Pujiastuti, E. S. (2024). The nutrient content of eco-enzymes from mixture of various fruit peels. *Agro Bali Agric J*. 7(2):475–87.
 20. Santulli, C., Gabrielli, S., & Roselli, G. (2025). Use and Roles of Tannins in Polysaccharide-Based Bioplastics and Biocomposites. *Organics*, 6(2), 19. <https://doi.org/10.3390/org6020019>
 21. Umarudin, R., Susanti, A., & Yuniastuti. (2012). Efektivitas Ekstrak Tanin Seledri Terhadap Profil Lipid Tikus Putih Hiperkolesterolemi. *Unnes Journal of Life*, 1(2), 78–85.
 22. Truong, V.L. Jeong, W.S. (2021). Cellular Defensive Mechanisms of Tea Polyphenols: Structure-Activity Relationship. *Int. J. Mol. Sci*. 22, 9109.
 23. Farha, A.K., Yang, Q.-Q., Kim, G., Li, H.-B., Zhu, F., Liu, H.Y., Gan, R.-Y., Cork, H. (2020).Tannins as an alternative to antibiotics. *Food Biosci*. 38, 10075
 24. Gowd, V. Karim, N., Shishir, M.R.I., Xie, L., Chen, W. (2019). Dietary polyphenols to combat the metabolic diseases via altering gut microbiota. *Trends Food Sci. Technol*. 93, 81–93.
 25. Liu, C.Y., Li, X.Y., Shen, L. (2020). Modulation effect of tea consumption on gut microbiota. *Appl. Microbiol. Biotechnol*.104, 981–987.