

PENETAPAN KADAR DIOSGENIN DALAM EKSTRAK AIR *Costus speciosus* SECARA HPLC

By HARI SUSANTI

PENETAPAN KADAR DIOSGENIN DALAM EKSTRAK AIR *Costus speciosus* SECARA HPLC

6

DIOGENIN DETERMINATION OF *Costus speciosus* WATER EXTRACT USING HPLC METHOD

Hari Susanti¹, Subagus Wahyuono², Ratna Asmah Susidarti², Ika Puspita Sari²

¹ Faculty of Pharmacy, Ahmad Dahlan University, Yogyakarta

² Faculty of Pharmacy, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRACT

Costus speciosus has been reported to have biological activity among antidiabetic, antihyperlipidemia, antioxidants. One of the chemical constituents that is responsible for some of the biological activity is diosgenin. This study aimed to determine diosgenin content of *Costus speciosus* water extract (CS). Water extract of CS was obtained with infusion method. The extract was dried using freeze dryer. The assay of diosgenin was performed by HPLC method. HPLC system used: LiChrospher® 100 RP-18 endcapped (5 µm) column length 25cm, column id 4 mm as stationary phase, acetonitrile-water (9: 1 v/v) as mobile phase, flow rate 2mL/min and UV detection at 205 nm. HPLC method developed was linear in the range 20-200 µg/mL with $R = 0.9999$; slope = 6423.7; and intercept = -4280.5; LOD = 2.14 µg/mL and LOQ = 6.50 µg/mL; and recovery 100.63 %. Diosgenin levels in CS was 0.279 %. The developed HPLC method is relatively simple, rapid, sensitive, and accurate to determine the content of diosgenin in water extracts of *Costus speciosus*.

Keywords : water extract, *Costus speciosus*, HPLC, diosgenin

ABSTRAK

Tanaman pacing telah dilaporkan memiliki beberapa aktivitas biologi antara lain antidiabetes, antihiperlipidemi, antioksidan. Salah satu kandungan kimia yang diduga bertanggung jawab atas beberapa aktivitas biologi tersebut adalah diosgenin. Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan kadar diosgenin dalam ekstrak air *Costus speciosus* (CS). Ekstrak CS diperoleh dengan metode infus. Untuk mengeringkan ekstrak digunakan freeze dryer. Penetapan kadar diosgenin dilakukan dengan metode HPLC. Sistem HPLC yang digunakan adalah : Fase diam LiChrospher® 100 RP-18 endcapped (5µm) panjang 25 cm, diameter dalam 4 mm, fase gerak adalah asetonitril-air (9:1v/v) , laju alir 2mL/menit dan deteksi pada UV 205 nm. Metode HPLC yang dikembangkan menunjukkan linearitas pada rentang 20-200µg/mL dengan $R = 0,9999$ slope = 6423,7 dan intersep = -4280,5; LOD = 2,14 µg/mL dan LOQ = 6,50 µg/mL; recovery 100,63%. Kadar diosgenin dalam ekstrak CS adalah sebesar 0,279 %. Metode HPLC yang dikembangkan relatif sederhana cepat, sensitif, akurat untuk menetapkan kadar diosgenin dalam ekstrak *Costus speciosus*.

Kata kunci : ekstrak air, *Costus speciosus*, diosgenin, HPLC

PENDAHULUAN

Tanaman pacing (*Costus speciosus*) Koen dikenal masyarakat Jawa dengan sebutan pakan ulu (makanan ular), selama ini belum banyak dimanfaatkan. Pacing tumbuh sebagai tanaman liar di pekarangan ataupun di kebun. Pacing telah dilaporkan²³ memiliki aktivitas antihyperglukemik (Joshi *et al.*, 2013) hipolipidemik, (Eliza *et al.*, 2009) ⁵patoprotektif, antioksidan (Eliza *et al.*, 2010), dan antifungi. Secara tradisional, tanaman ini juga diketahui memiliki peranan untuk Mengobati rheumatik, asma bronkial, dan lepra.

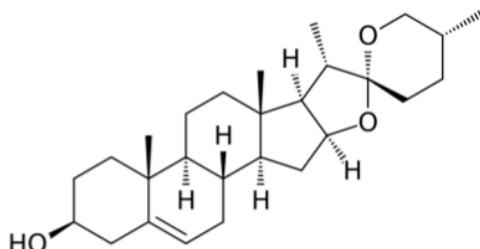
Ekstrak air dari herba pacing juga telah dilaporkan memiliki efek antihiperkolesterol (Susanti, 2015).



Gambar 1. Tanaman *Costus speciosus*

Corresponding author : Hari Susanti
Email: susantihari@gmail.com

Pacing mengandung steroid, tanin, dan fenolik (Devi & Urooj, 2010) Enam senyawa yang diisolasi dari rimpang *C. speciosus* dan dijelaskan sebagai diosgenin(1), prosapogenin B dioscin(2), diosgenone(3), cycloartanol(4), 25-en-cycloartenol(5) dan asam octacosanoic(6) (Qiao et al., 2002).



Gambar 2. Struktur kimia diosgenin

Diosgenin (Gambar 2) adalah konstituen bioaktif yang sangat penting dalam herba pacing. Diosgenin berperan penting dalam aktivitas farmakologi seperti antihiperlipidemi (Son et al., 2007), antidiabetes (Ghosh et al., 2014), anti kanker (Selim and Al Jouni, 2015). Oleh karena itu, ada kebutuhan mendesak untuk mengembangkan metode sederhana untuk estimasi senyawa ini menggunakan instrumen canggih seperti kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC). Beberapa metode analisis telah dikembangkan untuk analisis diosgenin hingga saat ini, antara lain: spektrofotometri HPLC, HPTLC, dan TLC (Chapagain and Wiesman, 2005; Amir et al., 2010, Abdelkarim et al., 2015). Baik metode spektrofotometri maupun metode HPTLC relatif kompleks karena sedikitnya kromofor yang terdapat pada struktur diosgenin, sehingga harus dilakukan derivatisasi. Metode spektrofotometri dirasa kurang selektif, terutama untuk sampel ekstrak yang memiliki kandungan kimia beragam. Metode HPLC yang sudah ada memerlukan waktu yang relatif lama dengan t_R 18,064 menit (Li, et al., 2012). Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan pengembangan metode HPLC untuk menetapkan kadar diosgenin dalam ekstrak herba pacing agar diperoleh metode yang sensitif, akurat dan cepat.

METODOLOGI

Bahan dan Alat

Herba pacing (*Costus speciosus*) akuades (diperoleh dari distributor lokal), asetonitril (HPLC grade, E Merck), metanol pa. (E Merck) diosgenin dengan kemurnian > 93 % (Sigma), akuabides (Otsuka). Alat yang digunakan adalah :

panci infus, alat gelas, *freeze dryer*, HPLC Shimadzu LC 20 AT, kolom LiChrospher® 100 RP-18 endcapped (5 μ m) panjang 25 cm, diameter dalam 4 mm (E. Merck)

Tahapan Penelitian

Pengumpulan Bahan Tanaman

Herba pacing (*Costus speciosus*) diperoleh dari daerah Berbah, Kalimantan Selatan DIY pada bulan Oktober 2014. Bagian tanaman yang digunakan adalah seluruh bagian tanaman yang ada di atas tanah.

Pembuatan Serbuk

Simplisia yang sudah dikeringkan dalam oven suhu 40° C kemudian dihaluskan dengan mesin blender kering hingga diperoleh serbuk. Setelah menjadi serbuk, simplisia diayak dengan ayakan mesh 20. Penyerbukan bertujuan untuk memperluas kontak serbuk dengan cairan penyari pada proses penyarian sehingga berlangsung optimal.

Pembuatan Ekstrak Air

Ekstrak air disiapkan dengan cara infusasi sesuai standar (Anonim, 2008). Cairan infusa yang dieroleh kemudian dipekatkan dengan cara dipanaskan di atas *waterbath* pada suhu 50° C sampai agak kental volume tinggal sepertiga dari volume infusa sebelum dipekatkan). Infusa kental tersebut selanjutnya dikeringkan menggunakan *freeze dryer*. Selanjutnya disebut ekstrak CS.

Penetapan Kadar Diosgenin secara HPLC

Penetapan kadar diosgenin dalam ekstrak CS dilakukan secara HPLC dengan fase diam kolom LiChrospher® 100 RP-18 endcapped (5 μ m) panjang 25cm, diameter dalam 4 mm, fase gerak Asetonitril-air (9:1 v/v) , laju alir 2 mL/menit, detektor UV 205 nm.

Uji Kesesuaian Sistem

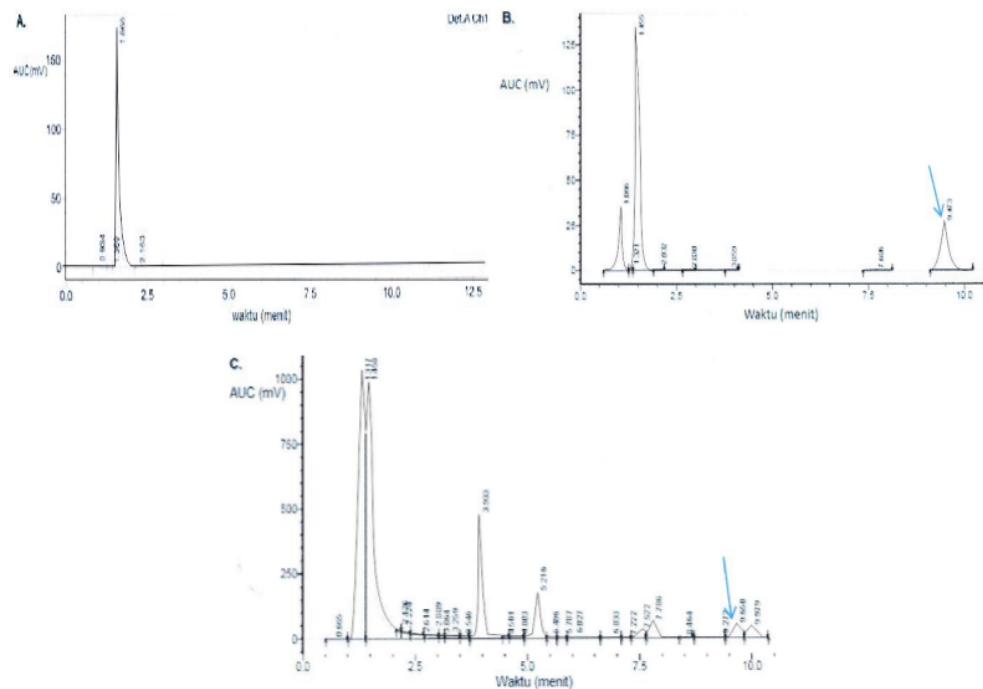
Dibuat larutan diosgenin dengan konsentrasi 60 μ g/mL. Diinjeksikan dengan volume 20 μ L. Diluangi sebanyak 6 kali. Dihitung RSD dari t_R dan AUC, jumlah lempeng teoritis dan *tailing factor*. Suatu uji kesesuaian sistem menurut Synder et al., (2010) dikatakan memenuhi persyaratan apabila memiliki nilai $k' > 2$, $Rs > 2$, $TF \leq 2$, $N > 2000$ dan RSD waktu retensi dan luas puncak $\leq 1\%$.

Uji Linearitas

Dibuat larutan diosgenin dengan konsentrasi 20-200 μ g/mL dengan cara: menimbang 10,0 mg diosgenin, dilarutkan dengan metanol hingga 10,0 mL. Diambil masing-masing

Tabel I. Hasil uji kesesuaian system

No	tR (menit)	AUC	N	TF	k
1	9,502	380814	14647	1,475	8,078
2	9,473	387003	14407	1,474	7,891
3	9,355	386611	14597	1,469	7,657
4	9,363	386912	14517	1,466	7,743
5	9,305	386861	14539	1,465	7,718
6	9,526	383818	14737	1,472	8,084
Rata-rata	9,420	385336,5	14574	1,470	7,861
SD	0,091	2528,506	113,83	0,004	0,186
RSD (%)	0,966	0,656181	0,78	0,283	2,370



Gambar 2. Kromatogram pelarut metanol (A), standar diosgenin (B) dan ekstrak CS (C); kondisi kromatografi: FD= LiChrospher® 100 RP-18 endcapped (5µm) panjang 25 cm diameter dalam 4 mm, FG=asetonitril-air(9:1v/v), laju alir 2 mL/menit, deteksi UV 205 nm

20, 40, 60, 80, 100 dan 200 µL dimasukkan ke dalam abu takar 10 mL. Ditambah metanol hingga tanda. Masing-masing larutan diinjeksikan ke dalam sistem HPLC di atas dengan volume injeksi 20µL. Dicatat tR dan AUC masing-masing. Dibuat kurva hubungan antara konsentrasi diosgenin dengan AUC. Ditentukan juga persamaan regresi linernya. Linieritas

dikatakan baik jika nilai $r \geq 0,999$ (Ahuja and Dong, 2005).

Uji Presisi

Dibuat larutan standar diosgenin dalam metanol konsentrasi 60 µg/mL. Injeksikan ke dalam sistem HPLC. Dicatat tR dan AUC. Replikasi dilakukan 6x. Dihitung RSD. Presisi

metode dinyatakan baik jika % RSD < 5,3 (AOAC, 2012).

Uji Akurasi serta penetapan kadar disogenin dalam ekstrak

Sebanyak 1 g ekstrak CS dihidrolisis dengan 80mL HCl 3N selama 1jam. Hidrolisat dingin selanjutnya diekstraksi dengan eter @50mL sebanyak 3 kali. Lapisan eter dikumpulkan dan diuapkan hingga kering di lemari asam. Residu dilarutkan dalam metanol hingga 10,0 mL kemudian disaring dengan milipore ukuran 0,2 µm (disebut larutan induk sampel). Untuk menetapkan kadar diosgenin dalam sampel, diambil 2,0 mL larutan induk sampel, ditambah metanol hingga 5,0 mL.

Untuk melihat akurasi, diambil 2,0 mL larutan induk sampel, ditambahkan 100 µL standar diosgenin konsentrasi 1mg/mL (=100µg diosgenin) ditambahkan metanol hingga 5,0 mL. Diinjeksi ke dalam sistem HPLC. Dihitung % recovery dengan rumus :

$$\% \text{recovery} = \frac{\text{standar ditentukan}}{\text{Standar ditambahkan}} \times 100$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak yang diperoleh berupa ekstrak kering seperti serbuk berwarna hijau kecoklatan dengan bau khas. Hasil standarisasi non spesifik meliputi kadar air dan kadar abu yang ditentukan secara gravimetri diperoleh kadar air sebesar 5 % dan kadar abu total sebesar 5,9 %. Hasil ini memenuhi syarat dari Farmakope Herbal Indonesia yakni kurang dari 10 %.

Penentuan Kadar Diosgenin secara HPLC

Hasil Uji Kesesuaian Sistem

Tujuan uji kesesuaian sistem (UKS) adalah menjamin bahwa sistem yang digunakan untuk analisis dapat memberikan performa yang sesuai dan memadai. UKS dilakukan sebelum atau selama alat digunakan untuk pengujian sampel. Profil kromatogram yang dihasilkan kemudian dianalisis nilai resolusi (Rs), tailing factor (TF), faktor retensi (k'), jumlah pelat teoritis (N), RSD waktu retensi dan RSD luas puncak.

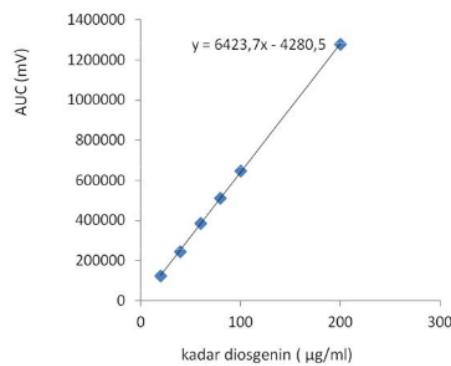
Berdasarkan hasil penelitian diperoleh waktu retensi sekitar 9,4 menit untuk standar diosgenin dan 9,5 untuk disogenin dalam sampel (Gambar 2). Hasil uji kesesuaian sistem diperoleh sebagai berikut : RSD tR 0,967 %; RSD AUC, 0,656 % rata-rata TF 1,470; rata-rata jumlah lempeng teoritis (N) 14574; k' sebesar 7,861 (Tabel I)

Suatu uji kesesuaian sistem menurut Synder *et al*, (2010) dikatakan memenuhi persyaratan apabila memiliki nilai k' > 2, Rs > 2,

TF ≤ 2, N > 2000 dan RSD waktu retensi dan luas puncak ≤ 1 %. Data tersebut menunjukkan bahwa system HPLC yang digunakan memenuhi persyaratan.

Uji Linearitas

Larutan diosgenin dengan konsentrasi 20-200ug/ml. Menunjukkan korelasi yang linear terhadap AUC dengan R sebesar 0,9999 ($p < 0,01$) (gambar 3). Diperoleh regresi linear dengan $R=0,9999$ slope= 6423,7 dan intersep = -4280,5; LOD = 2,14 µg/ml dan LOQ = 6,50 µg/ml. Data ini menunjukkan bahwa metode yang digunakan cukup sensitif untuk menentukan kadar diosgenin dalam jumlah kecil.



Gambar 3. Kurva hubungan antara konsentrasi standar diosgenin dan luas area

Uji Presisi

Hasil uji presisi tersaji pada tabel 2. Berdasar data pada tabel 2. tersebut terlihat bahwa metode yang digunakan memenuhi syarat presisi yaitu % RSD tR maupun AUC < 5,3%.

Tabel II. Hasil uji presisi

No	tR (menit)	AUC
1	9,502	380814
2	9,473	387003
3	9,355	386611
4	9,363	386912
5	9,305	386861
6	9,526	383818
Rata-rata	9,421	385336,5
SD	0,091	2528,51
RSD (%)	0,966665	0,656181

Uji Akurasi serta Penentapan Kadar Disogenin dalam Ekstrak

Akurasi dapat dilakukan dengan membandingkan terhadap standar, menambahkan zat aktif dalam rentang tertentu pada eksipien

Tabel III. Hasil uji akurasi dengan metode spiking

A	B	Standar ditemukan (µg)	standar ditambahkan (µg)	%recovery
566,41	658,06	91,65	100	91,65
558,06	663,49	105,43	100	105,42
548,58	653,39	104,81	100	104,82
Rata-rata				100,63
SD				6,35
CV				6,32

A: µg diosgenin dalam sampel sebelum ditambah standar; B: µg diosgenin dalam sampel setelah ditambah standar

Tabel 4. Hasil penetapan kadar diosgenin dalam ekstrak CS

replikasi	tR (menit)	X (µg/mL)	Kadar %
1	9,73	113,28	0,28
2	9,65	111,61	0,28
3	9,58	109,72	0,27
rata-rata			0,28
SD			0,00
CV			1,60

Ket:

$$\% \text{kadar} = \frac{X \cdot \text{fp. Volume}}{\text{Berat sampel}} \times 100$$

Fp= 5 mL/2mL=2,5; Volume= 10 mL; Berat sampel = 1,000g. Perhitungan LOD dan LOQ Menggunakan data regresi linear (Snyder *et al.*,2010)

atau dengan menambahkan secara kuantitaif zat aktif pada produk obat (metode *spiking*). Akurasi dihitung sebagai persen p₄lehan kembali (*recovery*) dengan menetapkan jumlah analit yang ditambahkan ke dalam sampel, atau selisih antara rata-rata hasil pengujian dan nilai sebenarnya yang diterima (Anonim, 2009; Snyder *et al.*, 2010). Dalam penelitian ini, uji akurasi ditentukan dengan menambahkan ejumlah standar diosgenin kedalam sampel (ekstrak CS).

Hasil uji akurasi menunjukkan bahwa metode yang digunakan akurat dengan *recovery* > 90% (Tabel 3). Berdasarkan data uji kesesuaian sistem, uji linearitas, uji presisi, dan uji akurasi terlihat bahwa metode HPLC yang dikembangkan relatif cepat, teliti dan akurat untuk menetapkan kadar diosgenin dalam ekstrak.

Kadar diosgenin dalam ekstrak air herba pacing diperoleh sebesar 0,28 % (Tabel 4). Peneliti lain menyebutkan bahwa kandungan diosgenin terdapat pada rimpang Pacing sebesar 0,2 % sedangkan pada daun 0,37 %, pada batang 0,65 % dan yang terbanyak ada pada bunga sebesar 1,21 % (Adnan and Pagarra, 2000). Perbedaan ini dikarenakan bagian tanaman yang diuji pada penelitian ini adalah herba, semua bagian tanaman yang di atas tanah, sedang Adnan

and Pagarra menguji per bagian tanaman. Kemungkinan lain adalah karena perbedaan tempat tumbuh dari herba pacing.

KESIMPULAN

Metode HPLC yang dikembangkan linear pada rentang 20-200 µg/mL dengan R = 0,9999 slope = 6423,7 dan intersep = -4280,5; LOD = 2,14 µg/mL dan LOQ = 6,50 µg/mL. Metode HPLC yang dikembangkan relatif sederhana, cepat, sensitif dan akurat untuk menetapkan kadar diosgenin dalam ekstrak pacing. Kadar diosgenin dalam ekstrak air herba pacing adalah sebesar 0,28 %.

21

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapan kepada LPP UAD yang telah meberikan dana penelitian dalam skim Hibah Fundamental Internal

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelkarim A.S., Ali, B., Ali M., 2015, HPTLC determination of bioactive diosgenin for Sudanese and Indian fenugreek (*Trigonellafoenum-graecum* L.) seeds, *International Journal of Advances in Pharmacy Medicine Bioallied Sciences*, Vol 2, Issue 3:165-168.

- Adnan and Pagarra, B., 2000, Effect of Rhizome Extract from Pacing (*Costus speciosus*, J.E Smith) on spermatogenesis mice (*Mus musculus*) ICR male, *Research Report*, Department of Biological Science, State University of Makassar.
- 1** Ahuja, S., Dong, M.W., 2005. *Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC*, New York : Elsevier Academic Press. 6: 201-203.
- Amir, M., Mujeeb M., Sabih , A., Ahmad, S., Ahmad, A., Siddiqui, WA., 2010, Validation of HPTLC Method for Estimation of Diosgenin in Callus and Rhizome of *Dioscorea deltoidea*, *Planta Medica*; 76 :35.
- Anonim, 2008, *Farmakope Herbal edisi 1*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Anonim, 2009. *The United State Pharmacopoeia : 32th Edition*. USA : Pharmacopoeial Conven[10].
- AOAC, 2012. *Official Methods of Analysis 2012 : Guidelines for Standard Method Performance Requirements*. Appendix F, .9.
- 20** Chapagain , B., and Wiesman, Z., 2005, Variation in diosgenin level in seed kernels among different provenances of *Balanites aegyptiaca* Del (Zygophyllaceae) and its correlationwith oil content. *African J. Biotech.* Vol. 4(191): 1209-1213.
- Devi dan Urooj, 2010, Nutrient Profile and antioxidant component of *Co. 16 speciosus*, *Natural Product Resources*, 1(1): 116-118
- 2** Eliza J., Daisy, P., Ignacimuthu, S., Duaripadiyan, V., 2009, Antidiabetic and Antilipidemic Effect of Eremanthin from *Costus speciosus* (koen)Sm. In STZ-induced diabetic rat, *Chemico-Biological Interaction*, 182 : 67-72.
- Eliza J., Daisy, P., Ignacimuthu, S., 2010, Antioxidant activity of costunolide and eremanthin isolated from *Costus speciosus* (Koen ex. Retz) Sm., *Chemico-Biological Interaction*, 188: 467-472.
- 11** Ghosh S, More P, Derle A, Patil AB, Markad P, et al. 2014, Diosgenin from *Dioscorea bulbifera*: Novel Hit for Treatment of Type II Diabetes Mellitus with Inhibitory Activity against α-Amylase and α-Glucosidase. *PLoS ONE* 9(9): e106039 open access.
- 18** Joshi, B.N., Munat,H., Harkidar, M., Kulkarni, A.A., 2013,Orally Active Hypoglycemic protein from *Costus igneus* NE Br: An in vitro and in vivo Study, Biochemical and *Biophysical Research Communication*, 436:278-282.
- 3** Li, P., Mou Y, Lu, S., Sun , W., Lou, J., Yin, C., and Zhou,L., 2012, Paper Quantitative determination of diosgenin in *Dioscorea zingiberensis* cell cultures by microplatespectrophotometry and high performance liquid chromatography, *Af. J.Phy[15]acy Pharm.* Vol. 6(15):1186 – 1193.
- Qiao CF¹, Li QW, Dong H, Xu LS, Wang ZT, 2002, Studies on Chemical Constituents of Two Plants from *Costus*, *Zhongguo zhong Yao Zhi*, 27(2):123-5.
- 7** Selim, S. dan Al Jouni, S., 2015, Anticancer and apoptotic effects on cell proliferation of diosgenin isolated from *Costus speciosus* (Koen.) Sm. *International Society for Complementary Medicine Research* 15:301, DOI: 10.1186/s12906-015-0836-8, open access
- Snyder, L.R., Kirkland, J.J., Dolan J.W., 2010. *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, 3th Ed., USA:John Wiley & So[7], Inc. Publication.
- Son, IS.,Kim, J.H., Sohn, H.Y., Son, K.H., 2007, Antioxidative and Hypolipidemic Effect of Diosgenin, a Steroidal Saponin of Yam (*Dioscorea* spp) on High-Cholesterol Fed Rats, *Biosci Biotechnol. Biochem.* 71 (12) : 3063-3071.
- Susanti H, 2015, Potensi Pacing Sebagai antihiperkolesterol, *Laporan Penelitian*, UAD, Yogyakarta.

PENETAPAN KADAR DIOSGENIN DALAM EKSTRAK AIR *Costus speciosus* SECARA HPLC

ORIGINALITY REPORT

12%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	www.authorstream.com Internet	46 words — 2%
2	bjbas.springeropen.com Internet	26 words — 1%
3	air.unimi.it Internet	25 words — 1%
4	journal.uad.ac.id Internet	17 words — 1%
5	ejurnal.stikes-bth.ac.id Internet	17 words — 1%
6	www.neliti.com Internet	16 words — 1%
7	biomedpharmajournal.org Internet	15 words — 1%
8	pesquisa.bvsalud.org Internet	15 words — 1%
9	GÜNGÖR, Selma Ş Uras, İLÇİM, Ahmet and KÖKDİL, Gamze. "A Comparison of Diosgenin, Phenolics, Fatty Acid Profiles and Mineral Contents with Free Radical Scavenging Activity of <i>Trigonella L.</i> Species From Section <i>Cylindricae</i> ", ACG Publications, 2017. Publications	14 words — < 1%

- | | | |
|----|---|-----------------|
| 10 | www.eoma.aoac.org
Internet | 13 words — < 1% |
| 11 | pdfs.semanticscholar.org
Internet | 12 words — < 1% |
| 12 | www.nitte.edu.in
Internet | 12 words — < 1% |
| 13 | docplayer.info
Internet | 12 words — < 1% |
| 14 | repository.wima.ac.id
Internet | 10 words — < 1% |
| 15 | academicjournals.org
Internet | 9 words — < 1% |
| 16 | Baiaan H. AlSaadi, Shoaa H. AlHarbi, Sabrin R. M. Ibrahim, Amal A. El-Kholy, Dina S. El-Agamy, Gamal A. Mohamed. "HEPATOPROTECTIVE ACTIVITY OF COSTUS SPECIOSUS (KOEN. EX. RETZ.) AGAINST PARACETAMOL-INDUCED LIVER INJURY IN MICE", African Journal of Traditional, Complementary and Alternative medicines, 2018
<small>Crossref</small> | 9 words — < 1% |
| 17 | online-journal.unja.ac.id
Internet | 9 words — < 1% |
| 18 | www.scribd.com
Internet | 8 words — < 1% |
| 19 | www.ijifr.com
Internet | 8 words — < 1% |
| 20 | Mahesh Kumar Saini, Paras Sharma, Jagdish Prasad, S.L. Kothari, Vinod Singh Gour. "Quality assessment of oil and biodiesel derived from <i>Balanites aegyptiaca</i> collected from different regions of Rajasthan", Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2019
<small>Crossref</small> | 8 words — < 1% |

21	judyhusin.blogspot.com Internet	8 words — < 1%
22	eprints.umm.ac.id Internet	8 words — < 1%
23	Advances in Experimental Medicine and Biology, 2014. Crossref	8 words — < 1%
24	mafiadoc.com Internet	8 words — < 1%

EXCLUDE QUOTES

ON

EXCLUDE MATCHES

OFF

EXCLUDE

BIBLIOGRAPHY

ON