

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kecubung Hutan (*Brugmansia Suaveolens* Bercht. & J. Presl) Dengan Menggunakan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

Effie Karlin Nathania^{1*}, Wilmar Maarisit¹, Nernie O. Potalangi², Yusuf Tapehe²

¹Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Kristen Indonesia Tomohon

²Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Kristen Indonesia Tomohon

*Penulis Korespondensi: effiesullu@gmail.com

Diterima tanggal : 24 Juli 2020; Disetujui tanggal : 30 Juli 2020

ABSTRAK

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan dalam orbital terluarnya sehingga sangat reaktif. Senyawa radikal bebas ini cenderung mengadakan reaksi berantai yang apabila terjadi di dalam tubuh maka dapat mengakibatkan kerusakan-kerusakan pada sel didalam tubuh yang kemudian berlangsung terus menerus. *B. suaveolens* mengandung beberapa senyawa kimia salah satunya yaitu senyawa fenol yang merupakan golongan utama antioksidan yang terdapat pada tumbuh-tumbuhan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak etanol daun *B. suaveolens* dan aktivitasnya sebagai antioksidan serta nilai antioksidannya yang dinyatakan dalam IC₅₀. Jenis dalam penelitian ini yaitu penelitian eksperimental di laboratorium menggunakan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan kandungan senyawa yang terkandung dalam daun *B. suaveolens* yaitu senyawa alkaloid, triterpenoid, tanin, flavonoid, saponin dan fenolik. Ekstrak etanol daun *B. suaveolens* memiliki aktivitas kuat sebagai antioksidan pada nilai IC₅₀ 56.6403 ppm.

Kata kunci: Antioksidan, Radikal Bebas, *B. suaveolens*, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

ABSTRACT

Free radicals are a molecule that has an unpaired electron in its outer orbital so it is highly reactive. This free radical compound tends to conduct a chain reaction that, when it occurs in the body, can cause damage to cells in the body which then lasts continuously. To resist the occurrence of this oxidation required antioxidant that serves to stabilize by supplementing the lack of electrons from free radicals so that the cells are protected from these reactive compounds. *B. Suaveolens* contain several chemical compounds one of which is a phenol compound that is the main group of antioxidants found in plants. The purpose of this study is to determine the chemical compounds contained in the *B. Suaveolens* ethanol extract and its activity as an antioxidant as well as its oxidant value expressed in IC₅₀. The type in this study is experimental research in the laboratory using the method DPPH. The results showed the compound content contained in the leaf *B. Suaveolens* are alkaloid compounds, triterpenoids, tannins, flavonoids, saponins and phenolic. *B. Suaveolens* Leaf ethanol extract has strong activity as an antioxidant at a value of IC₅₀ 56.6403 ppm.

Keywords: Antioxidant, Free Radicals, *B. suaveolens*, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan dalam orbital terluarnya sehingga sangat reaktif. Tubuh

manusia memiliki sistem pertahanan alami terhadap serangan radikal bebas terutama yang terjadi melalui peristiwa metabolisme sel normal dan peradangan yang disebut antioksidan

endogen. Jumlah radikal bebas dapat meningkat karena beberapa faktor yang menjadi penyebab seperti stress, radiasi, asap rokok dan polusi lingkungan [1].

Radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh dan menyerang sel-sel yang sehat kemudian terakumulasi dan dari kerusakan tersebut berkontribusi terhadap terjadinya penuaan dini, radikal bebas juga dapat menyebabkan penyakit lain seperti arteriosklerosis dan kanker yang disebabkan oleh kerusakan jaringan akibat reaksi oksidasi [2].

Antioksidan dapat berfungsi sebagai penangkal radikal bebas yang banyak terbentuk di dalam tubuh akibat lingkungan dan pola hidup yang tidak sehat [3]. Antioksidan berdasarkan sumbernya terbagi menjadi dua yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami merupakan antioksidan yang berasal dari tumbuhan dan hewan contohnya fenolik berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam organik polifungsional. Sedangkan antioksidan sintetik merupakan antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia contohnya seperti *butylated hydroxy anisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), dan profil galat [4].

Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa sejumlah tanaman mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat [5]. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai penangkal radikal bebas adalah tanaman kecubung hutan (*Brugmansia suaveolens* Bercht. & J.Presl). *B. suaveolens* mengandung beberapa senyawa kimia yang terkandung di dalamnya yaitu alkaloid skopolamin, glikosida flavonoida dan polifenol [6]. Senyawa polifenol merupakan bentuk kompleks dari senyawa fenol. Senyawa fenol sendiri merupakan golongan utama antioksidan yang terdapat pada tumbuh-tumbuhan [6].

METODE PENELITIAN

Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Kristen Indonesia Tomohon dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA

UNSRAT. Waktu Penelitian dilaksanakan pada bulan September-Oktober 2019.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan terdiri sarung tangan, masker, beker gelas, labu ukur, tisu kering, kertas saring, batang pengaduk, toples, timbangan analitik, tabung reaksi, Yamato RE-201 *rotary evaporator*, aluminium foil, buret, botol vial, gelas ukur, mikropipet, penggaris, gunting, corong kaca, pensil, label, kuvet, cawan petri, vortex, inkubator dan spektrofotometer UV-1800.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun *B. suaveolens*, etanol 95%, metanol, DPPH, dan vitamin C, pereaksi mayer, pereaksi dragendorff, pereaksi wagner, HCl pekat, Mg, FeCl₃ 1%, aquades, asam asetat glasial, asam sulfat pekat, FeCl₃ 5%.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Penentuan nilai aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai nilai IC₅₀ dilakukan pada ekstrak etanol daun *B. suaveolens* dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas pada DPPH. Pada penelitian ini untuk menentukan nilai aktivitas antioksidan dalam IC₅₀ dilakukan lima perlakuan, yaitu dengan konsentrasi ekstrak 25; 50; 75; 100; 125 ppm. Sedangkan sebagai pembanding digunakan vitamin C dengan variasi konsentrasi 2,5; 5; 7,5; 10 dan 12,5 ppm. Setiap perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

Prosedur Skrining Fitokimia [7]

Uji Alkaloid

Ekstrak sebanyak 50-100 mg ditambahkan kloroform secukupnya, selanjutnya ditambahkan 10 mL amoniak dan 10 mL kloroform. Kemudian larutan disaring ke dalam tabung reaksi dan filtrat ditambahkan 10 tetes H₂SO₄ 2N. Campuran dikocok dengan teratur, dibiarkan beberapa menit sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan atas dipindahkan ke dalam tiga tabung reaksi masing-masing sebanyak 1 mL. Kemudian masing-masing tabung tersebut ditambahkan beberapa tetes pereaksi mayer, wagner dan dragendorff. Jika setelah penambahan pereaksi mayer terbentuk

endapan putih, dan pereaksi wagner terbentuk endapan berwarna coklat serta pada penambahan pereaksi dragendorff menghasilkan endapan berwarna jingga maka sampel positif mengandung alkaloid.

Uji Triterpenoid dan Steroid

Ekstrak sebanyak 50-100 mg ditambahkan asam asetat glasial sampai semua sampel terendam, dibiarkan selama 15 menit kemudian 6 tetes larutan dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes asam sulfat pekat. Sampel dikatakan positif mengandung triterpenoid apabila terjadi perubahan warna menjadi merah, jingga atau ungu, sedangkan steroida akan berubah warna menjadi biru.

Uji Tanin

Ekstrak sebanyak 50 mg ditambah etanol sampai terendam semuanya. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Sampel positif mengandung senyawa tanin apabila terjadi perubahan warna menjadi hitam kebiruan atau hijau.

Uji Flavonoid

Sampel ekstrak sebanyak 50 mg diekstrak dengan 5 mL etanol dan dipanaskan selama lima menit di dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambah beberapa tetes HCL pekat. Kemudian ditambahkan 0,2 g bubuk Mg. Hasil positif jika selama 3 menit sampel menunjukkan warna merah tua.

Uji Saponin

Sampel ekstrak sebanyak 50 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan aquades hingga seluruh sampel terendam, dididihkan selama 2-3 menit dan kemudian didinginkan, lalu sampel dikocok kuat-kuat. Jika terbentuk buih yang stabil maka sampel positif mengandung saponin.

Uji Fenolik

Sebelum melakukan identifikasi senyawa fenolik perlu dilakukan ekstraksi secara terus-menerus menggunakan alat soxhlet dengan pelarut

eter untuk melarutkan lemak dan klorofil yang terdapat pada sample. Setelah diekstraksi menggunakan eter selanjutnya diekstraksi dengan metanol 90% kemudian dengan metanol 50% untuk mengikat komponen-komponen yang bersifat polar. 1 mL ekstrak metanol ditambah FeCl_3 5% jika terjadi perubahan warna dari kuning kecoklatan menjadi coklat orange maka sampel memiliki kandungan senyawa fenolik.

Prosedur Kerja Penyiapan Sampel dan Pembuatan Ekstrak

Pengambilan Sampel Daun *B. suaveolens*

Daun *B. suaveolens* yang diperoleh dari Talete 1 kecamatan Tomohon Tengah disortasi basah, kemudian dicuci dan dibersihkan menggunakan air mengalir setelah itu dipotong-potong.

Pembuatan Ekstrak Daun Beringin

Sampel yang telah ditimbang, diekstraksikan dengan metode maserasi, ekstraksi sampel ini menggunakan pelarut etanol 95 %. Dari proses maserasi selama 3 x 24 jam, dengan setiap 24 jam dilakukan perendaman kembali dan didapatkan filtrat untuk selanjutnya dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kemudian disimpan dalam botol vial sebelum digunakan untuk pengujian.

Pembuatan Larutan DPPH

Serbuk DPPH (BM 394,32) 0.39432 gram dilarutkan dengan etanol 10 ml. Larutan DPPH 0.1M dipipet 100 μ l dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml dicukupkan dengan metanol p.a sampai tanda batas (DPPH 0.1mM).

Optimasi Panjang Gelombang DPPH

Larutan DPPH 0.1mM sebanyak 2 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan metanol p.a 2 ml, divortex hingga homogen, diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit, lalu dituang ke dalam kuvet dan diukur pada panjang gelombang 400-800 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis [8] dan ditentukan panjang gelombangnya.

Persiapan Larutan Uji**Pembuatan Larutan Induk (konsentrasi 1000 ppm)**

Sebanyak 10 mg sampel dilarutkan dengan etanol p.a lalu dimasukkan ke dalam labu takar 10 ml, volume dicukupkan dengan etanol p.a sampai tanda batas.

Pembuatan Larutan Seri

Ekstrak etanol daun *B. suaveolens* dibuat konsentrasi 25; 50; 75; 100; dan 125 ppm. Masing-masing dipipet 0,125; 0,25; 0,375; 0,5; dan 0,625 ml dimasukkan ke dalam labu ukur masing-masing 5 mL dan dicukupkan volumenya dengan etanol hingga 10 mL.

Pembuatan Larutan Pembanding (Vitamin C)**Pembuatan Larutan Induk (konsentrasi 1000 ppm)**

Ditimbang vitamin C p.a sebanyak 50 mg, dilarutkan dengan metanol p.a lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, volume dicukupkan dengan metanol p.a sampai tanda batas.

Pembuatan Larutan Seri

Larutan induk vitamin C dibuat konsentrasi 2,5; 5; 7,5; 10; dan 12,5 ppm. Masing-masing dipipet 0.0125, 0.025, 0.0375, 0.05, dan 0.0625 (ml), dimasukkan ke dalam labu ukur masing-masing 5 mL, volume dicukupkan dengan etanol p.a sampai tanda batas.

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Sebanyak 2 ml masing-masing konsentrasi larutan uji dimasukkan ke dalam tabung rekasi, ditambahkan 2 ml larutan DPPH 0.1 mM, divortex hingga homogen, diinkubasi dalam ruang gelap dan pada menit ke 26 dan maksimal pada menit ke 30 diukur serapannya pada panjang gelombang 517 nm.

Penentuan Persen Inhibisi

Aktivitas penangkal radikal dinyatakan sebagai persen inhibisi yang dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100\% \quad (1)$$

Penentuan Nilai IC₅₀ (Inhibitory Concentration)

Dari % peredaman yang diperoleh tentukan IC₅₀ yaitu konsentrasi yang mampu menghambat 50% radikal bebas. Harga IC₅₀ ditentukan dengan rumus :

$$IC_{50} = \frac{50-a}{b} \quad (2)$$

Ket :

a: nilai x pada kurva linear

b: nilai y pada kurva linear

Analisis Data

Data antioksidan dianalisis dengan persamaan *regresi linear* menggunakan program *Microsoft Excel* untuk melihat hubungan variasi konsentrasi dengan persen inhibisi.

HASIL DAN PEMBAHASAN**Penyiapan Sampel**

Sampel daun *B. suaveolens* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Desa/Kelurahan Talete Satu, Kecamatan Tomohon Tengah, Provinsi Sulawesi Utara. Sampel yang digunakan yaitu daun yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua. Sampel yang telah diambil kemudian disortasi untuk memisahkan bagian daun yang tidak diinginkan, setelah itu sampel dicuci bersih dengan air mengalir dan dipotong-potong menjadi bagian-bagian kecil sebanyak 500 gr.

Pembuatan Ekstrak Daun *B. suaveolens*

Daun *B. suaveolens* ditimbang sebanyak 500 gram ditambahkan 1,5 L pelarut etanol 95% dan dimaserasi selama 24 jam, lalu filtrat dipisahkan. Sampel kemudian diremaserasi sebanyak 2 kali. Filtrat yang telah diperoleh dicampurkan dan kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C karena penggunaan suhu yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan atau penurunan kadar fenolik yang terkandung pada sampel [9]. Ekstrak kental yang dihasilkan ditimbang kemudian nilai % rendemen dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak kental}}{\text{Bobot simplisia yang diekstraksi}} \times 100\% \quad (3)$$

Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak Daun

Nama Simplisia	Bobot Simplisia (gr)	Bobot Ekstrak (gr)	Rendemen Ekstrak (%)
Ekstrak etanol	500	48,1	9,62

Skrining Fitokimia Ekstrak Daun *B. suaveolens*Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun *B. suaveolens*

Golongan Senyawa	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	Dragendorff	+
	Wagner	+
	Mayer	+
Flavonoid	HCl pekat dan Mg	+
Tanin	Etanol dan FeCl ₃ 1%	+
Saponin	Aquades	+
Steroid	Asam asetat glasial dan asam sulfat pekat	-
Triterpenoid	Asam asetat glasial dan asam sulfat pekat	+
Fenolik	FeCl ₃ 5%	+

Ket: (+) menunjukkan adanya senyawa yang diuji

(-) menunjukkan senyawa yang diuji tidak ada pada ekstrak etanol daun *B. suaveolens*

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun *B. suaveolens*

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun *B. suaveolens* dengan menggunakan metode DPPH. Pada penelitian yang telah dilakukan terdahulu cara ini paling sering dipakai untuk menguji aktivitas antioksidan sampel secara *in vitro* serta merupakan metode yang sederhana, membutuhkan waktu singkat dan juga bahan kimia dan sampel yang digunakan relatif sedikit [10]. Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk mengukur panjang gelombang dengan panjang gelombang optimum 517 nm. Nilai antioksidan dinyatakan dengan IC₅₀, yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas dari DPPH. Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan rumus persamaan regresi.

Prinsip dari metode DPPH adalah interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH akan menstabilkan senyawa radikal bebas dari DPPH.

Perubahan warna larutan berubah dari ungu menjadi kuning menjadi indikasi bahwa semua elektron pada radikal bebas telah berpasangan [10]. Pengukuran serapan dilakukan selama rentang waktu inkubasi memasuki menit ke-26 hingga menit ke-30 agar terjadi reaksi antara DPPH sebagai radikal bebas dengan sampel yang diuji secara maksimal. Karena *operating time* dengan serapan yang stabil meningkat pada senyawa antioksidan terjadi di menit ke 15 sampai menit ke 30 dan absorbansi maksimalnya terjadi pada menit ke 26 sampai 30 [11].

Data % inhibisi baik terhadap vitamin C dan ekstrak etanol daun *B. suaveolens* dapat dilihat selengkapnya pada Tabel 3 dan 4. Hasil uji antioksidan ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *B. suaveolens* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ yakni 56.6403 ppm. Sedangkan vitamin C yang digunakan sebagai pembanding memiliki IC₅₀ 3.5821 ppm.

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun *B. suaveolens*

Konsentrasi (ppm)	Ulangan			rata-rata	% inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
	U1	U2	U3			
25	0.575	0.564	0.566	0.568	33.80	56.6403
50	0.489	0.462	0.486	0.479	44.17	
75	0.312	0.326	0.318	0.319	62.82	
100	0.242	0.247	0.248	0.246	71.32	
125	0.122	0.106	0.125	0.114	86.71	
Kontrol DPPH	0.813	0.891	0.870	0.858	0	

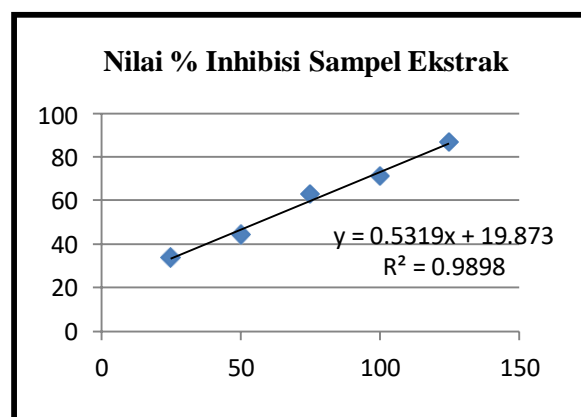
Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C Sebagai Pembanding

Konsentrasi (ppm)	Ulangan			rata-rata	% inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
	U1	U2	U3			
2.5	0.496	0.422	0.494	0.470	45.22	3.5825
5.0	0.385	0.367	0.386	0.379	55.83	
7.5	0.266	0.263	0.295	0.275	67.95	
10.0	0.197	0.192	0.185	0.191	77.73	
12.5	0.099	0.088	0.098	0.095	88.93	
Kontrol DPPH	0.813	0.891	0.870	0.858	0	

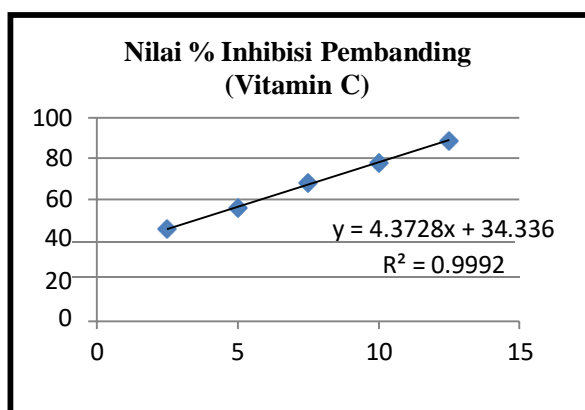
Pada penelitian ini, aktivitas antioksidan berdasarkan penangkapan radikal DPPH memiliki hubungan dengan kandungan senyawa fenol dan flavonoid yang terdapat pada tanaman. Berdasarkan penelitian terdahulu telah ditemukan bahwa senyawa-senyawa fenol mempunyai aktivitas antioksidan karena sifat yang dapat menyumbangkan elektronnya. Senyawa fenol bereaksi sebagai agen pereduksi, pendonor hidrogen, peredam oksigen singlet, dan juga sebagai pengelat logam yang potensial [12]. Berdasarkan penggolongan kekuatan aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam IC₅₀ pada penelitian ini termasuk dalam kategori kuat. Semakin rendah nilai IC₅₀ maka semakin besar kemampuan antioksidannya dikarenakan IC₅₀ menunjukkan besarnya konsentrasi suatu senyawa dalam menghambat radikal DPPH sebanyak 50% [13].

Gambar 1 dan 2 menunjukkan korelasi antara variasi konsentrasi sampel dengan %

inhibisi, dimana semakin tinggi konsentrasi maka nilai absorbansi akan semakin kecil akibat adanya senyawa antioksidan. Dari nilai absorbansi masing-masing konsentrasi maka dapat dihitung persen inhibisinya, yaitu kemampuan suatu senyawa untuk menghambat reaksi oksidasi yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan.



Gambar 1. Kurva % Inhibisi Ekstrak



Gambar 2. Kurva Nilai % Inhibisi Vit. C

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun *B. suaveolen* mengandung senyawa fitokimia jenis alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid, saponin, dan fenolik. Ekstrak etanol daun *B. suaveolens* juga memiliki aktivitas kuat sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} 56.6403 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Wahdaningsih S., Setyowati E. P., Wahyuono S. 2011. Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Dari Batang Pakis (*Alsophila Glauca* J. Sm). *Majalah Obat Tradisional*. 16(3): 156–160.
- [2]. Miryanti, Y. A., Sapei, L., Budiono, K., Indra, S. 2011. Ekstraksi antioksidan dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). Laporan Penelitian Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat. Bandung: Universitas Katolik Parahyangan.
- [3]. Sembiring Helmina BR., Sovia lenny., Lamek Marpaung. 2016. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoida dari Daun Benalu Kakao (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.). 3(4): 117-122.
- [4]. Isnindar. Wahyuono, S., Setyowati, E. P. 2011. Isolasi dan identifikasi senyawa antioksidan daun kesemek (*Diospyros kaki Thunb.*) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Majalah Obat Tradisional*. 16(3): 157-164.
- [5]. Mironczuk-Chodakowska I., Maria A., Witkowska ME zbieta Z. 2018. *Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body Iwona*. *Adv Med Sci J*. 63(1): 68–78
- [6] Marinova, D., Ribarova, F., Atanassova, M. 2005. *Total phenolics and total flavonoids in bulgarian fruits and vegetables*. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*. 40(3): 255-260.
- [7] Sangi, M., Runtuwene, M.R.J., Simbala, H.E.I., dan Makang, V.M.A. 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*. 1: 47-53.
- [8] Juwita, D. A., Muchtar, H., Putri, R. K. 2020. Uji Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah dan Daging Buah Menteng (*Baccaurea racemosa* (Blume) Mull. Arg.) dengan Metode DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl). *Scientia Jurnal Farmasi dan Kesehatan*. 10 (1): 56-62
- [9] Aryati, D. L., Rohadi., Pratiwi, E. 2020. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kelopak Bunga Rosela (*H. Sabdariffa* L.) Merah Pada Berbagai Suhu Pemanasan. *Universitas Semarang*. 15(1): 1-9.
- [10] Erawati. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Garcinia daedalanthera* Pierre Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) Dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Dari Fraksi Paling Aktif. Skripsi. Universitas Indonesia, Depok.
- [11] Widyowati, H., Ulfah, M., Sumantri. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Herba Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik*. 11(1): 25-33.
- [12] Rohman, A. S. Riyanto, dan N. K. Hidayati. 2007. Aktivitas Antioksidan, Kandungan

Fenolik Total, dan Flavonid Total Daun Mengkudu. *Jurnal Agritect*. 27(4): 147-151.

- [13] Syaifuddin, S. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Bayam Merah (*Alternanthera amoena voss.*) Segar dan Rebus dengan Metode DPPH. *Dissertation*, UIN Walisongo. Semarang.