

Studi Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Daun Benalu (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq) Pada Tanaman Pala

Cecilia S. M. Besin¹, Jabes W. Kanter^{1*}, Wilmar Maarisit¹, Silvana L. Tumbel¹,
Douglas N. Pareta¹, Friska M. Montolalu¹

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

*Penulis Korespondensi; jabeskanter@gmail.com

Diterima: 5 April 2024; Disetujui : 26 April 2024

ABSTRAK

Antioksidan merupakan zat yang menghambat atau mencegah kerusakan sel akibat oksidasi dari radikal bebas. Salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai alternatif pengobatan tradisional dan berpotensi sebagai antioksidan adalah benalu pala. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah benalu pala memiliki aktivitas antioksidan dengan melakukan uji skrining fitokimia dan Spektrofotometer UV-Vis. Metode penelitian ini menggunakan benalu pada tanaman pala dan diekstraksi dengan etanol 95% dengan metode maserasi kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C untuk mencegah dekomposisi senyawa yang terdapat didalamnya. Setelah itu, dilakukan uji skrining fitokimia yang bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit yang ada pada sampel. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan metode DPPH pada panjang gelombang 517 nm dan pembanding vitamin C menggunakan Spektrofotometer UV-Vis, sedangkan uji skrining fitokimia secara kuantitatif dengan uji tabung reaksi untuk mengetahui senyawa-senyawa metabot yang ada seperti alkaloid, flavonoid, saponin, taniin, triterpenoid, dan steroid. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan pada uji skrining fitokimia, menunjukkan bahwa sampel memiliki senyawa metabolit seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid. Sedangkan untuk hasil uji antioksidan nilai IC₅₀ yang diperoleh dari hasil persamaan regresi linier ialah 4,644 untuk ekstrak kasar dan nilai IC₅₀ vitamin C sebagai pembanding 0,169. Berdasarkan hasil uji analisis yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa daya antioksidan yang didapatkan tergolong sangat kuat dan berpotensi menangkal radikal bebas DPPH.

Kata kunci : *Antioksidan, Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq., Radikal Bebas.

ABSTRACT

Antioxidants are substances that inhibit or prevent cell damage due to oxidation of free radicals. One plant that is efficacious as an alternative to traditional medicine and has the potential as an antioxidant is nutmeg. This study aims to determine whether nutmeg has antioxidant activity by conducting phytochemical screening tests and UV-Vis Spectrophotometers. This research method uses benalu on nutmeg plants and extracted with 95% ethanol by maceration method then concentrated with a rotary evaporator at 40 ° C to prevent decomposition of the compounds contained in it. After that, phytochemical screening tests are carried out which aim to determine the content of metabolite compounds in the sample. Antioxidant activity testing was carried out qualitatively using the DPPH method at a wavelength of 517 nm and vitamin C comparison using a UV-Vis Spectrophotometer, while quantitative phytochemical screening tests with test tube tests to determine existing metabot compounds such as alkaloids, flavonoids, saponins, taniins, triterpenoids, and steroids. Based on the results of research conducted on phytochemical screening tests, it showed that the samples had metabolite compounds such as alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, and triterpenoids. As for the results of the antioxidant test, the IC₅₀ value obtained from the results of the linear regression equation is 4.644 for crude extracts and the IC₅₀ value of vitamin C as a comparison of 0.169. Based on the results of the analysis tests conducted, it can be concluded

that the antioxidant power obtained is very strong and has the potential to ward off DPPH free radicals.

Keywords : Antioxidant, *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq., Free Radical.

1. PENDAHULUAN

Obat tradisional saat ini semakin marak digunakan dalam pengobatan karena dinilai memiliki efek samping yang lebih rendah dibanding obat sintesis atau kimia. Di Indonesia hampir sebagian masyarakat masih menggunakan obat tradisional sebagai Pengobatan alternatif pula menjadi sumber daya yang dipercaya dapat bermanfaat bagi manusia untuk menjaga kesehatan dan mengobati penyakit¹.

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai tumbuhan obat ialah benalu pala (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq) yang dipercaya oleh masyarakat, terutama masyarakat di Desa Moronge Kecamatan Moronge, Kabupaten Talaud yang menggunakan benalu pala untuk mengobati penyakit kanker payudara dan kanker tiroid dapat menyembuhkan berbagai penyakit.

Benalu merupakan tanaman yang hanya mampu hidup menempel pada inang dan memanfaatkan nutrisi dari inangnya untuk bertahan hidup. Berdasarkan penelitian terdahulu, ekstrak benalu yang diperoleh dari inang cengkik juga diketahui memiliki kandungan fenol dan flavonoid sebagai antioksidan².

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) yang bisa menurunkan kadar radikal bebas dengan membantu mengurangi ataupun mencegah dampak stress oksidatif akibat radikal bebas. Prinsip kerja dari antioksidan yaitu dengan menyumbangkan satu elektronnya ke senyawa yang bersifat oksidan, sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat³.

Berdasarkan latar belakang diatas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian ekstrak daun benalu (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq) pada tanaman pala yang berpotensi sebagai antioksidan.

2. METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan adalah etanol 95% dan sampel pada penelitian ini adalah daun benalu pala. Bahan untuk uji antioksidan adalah

DPPH 0.1 mM, Vitamin C (sebagai control positif) 100 mL, HCL pekat, Mg, FeCl₃ 1%, kloroform, H₂SO₄ 2N, Larutan Mayer, Wagner, Dragendroff, akuades.

Pembuatan Ekstrak Daun Benalu Pala

Pada awalnya, sampel dibersihkan dari kotoran-kotoran maupun bahan-bahan asing lainnya yang masih menempel pada sampel dengan menggunakan air mengalir sampai bersih, kemudian daun benalu pala yang belum diikering anginkan ditimbang. Lalu sampel dipotong-potong menjadi kecil-kecil. Setelah dipotong-potong direndam dengan 6 liter etanol 95% selama 3 x 24 jam dan kemudian diganti dengan pelarut baru dengan volume yang sama.

Penggantian pelarut dilakukan sebanyak 3 kali maserasi dengan 1 kali filtrat. Hasil maserasi diperoleh dari ekstrak dikumpulkan dan kemudian diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator, pada suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak kental kemudian dimasukkan ke dalam botol vial.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia ekstrak dilakukan dengan menggunakan uji tabung reaksi yaitu mereaksi sampel dengan larutan pereaksi spesifik untuk mengidentifikasi kandungan metabolit- metabolit sekunder yang ada pada sampel, antara lain flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, triterpenoid, steroid, dan fenolik.

Uji Antioksidan

a. Pembuatan Larutan DPPH (0.1 mM)

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

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Larutan DPPH 0.1mM sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan dengan Etanol p.a 2 ml, divortex hingga homogen lalu dituang ke dalam kuvet dan diukur pada panjang

gelombang 400-600 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum 517 nm⁴.

c. Pembuatan Larutan blanko

Larutan DPPH 0.15mM sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan metanol p.a 2 ml, *divortex* hingga homogen, diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit, selanjutnya serapan diukur pada panjang gelombang 517 nm.

d. Pembuatan Larutan Perbandingan (Vitamin C) 1000 ppm

Larutan dibuat dengan menimbang 100 mg vitamin c dan dilarutkan dengan etanol lalu dicukupkan volumenya hingga 100 mL. Selanjutnya dibuat variasi larutan dengan konsentrasi 2,5 ppm, 5 ppm, 7,5 ppm, 10 ppm, dan 12,5 ppm.

e. Pengukuran Serapan Larutan Sampel dan Larutan Perbandingan Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Pengujian dilakukan dengan memipet masing-masing konsentrasi larutan sampel dan larutan perbandingan (2,5 ppm, 5 ppm, 7,5 ppm, 10 ppm, dan 12,5 ppm). Masing-masing ditambahkan dengan etanol hingga 5 mL lalu tambahkan 1 mL larutan DPPH 0.1 mM di masing-masing konsentrasi, *divortex* hingga homogen dan diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Selanjutnya diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm⁵.

f. Penentuan Persen Inhibisi

Menurut penelitian uji aktivitas antioksidan kuantitatif dilakukan sebelumnya dengan cara mencampurkan larutan DPPH menggunakan methanol dan ekstrak yang telah dilarutkan dalam methanol. Konsentrasi ekstrak *Dendrophthoe Pentandra (L.)* Miq yang digunakan adalah 2,5 ppm, 5 ppm, 7,5 ppm, 10 ppm, dan 12,5 ppm⁶.

Larutan DPPH yang telah dicampur dengan methanol dan ekstrak kemudian setelah itu dilakukan pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombangnya 517 nm. Aktivitas penangkal radikal bebas diekspresikan sebagai % inhibisi yang dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi DPPH} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi tahan uji}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan :

Ab : absorbansi blanko = Nilai absorbansi DPPH

As : Absorbansi sampel = Nilai absorbansi sampel

g. Penentuan Nilai IC₅₀ (Inhibitory Concentration)

Konsentrasi sampel dan persen inhibisinya masing-masing ditetapkan pada sumbu x dan y sesuai persamaan regresi linear. Persamaan regresi tersebut digunakan untuk dapat menentukan IC₅₀ dari masing-masing sampel yang dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC₅₀⁷. Dari pendalaman yang diperoleh penentuan IC₅₀ dari konsentrasi yang digunakan mampu menghambat 50 % radikal bebas. Harga IC₅₀ ditentukan dengan rumus :

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b}$$

Keterangan :

a : nilai x pada kurva linear

b : nilai y pada kurva linear

Senyawa yang dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm, kuat apabila nilai IC₅₀ antara 50-100 ppm, apabila nilai IC₅₀ berkisar antara 100-150 ppm, dan lemah apabila IC₅₀ berkisar antara 150-200 ppm. Semakin kecil nilai IC₅₀ suatu senyawa maka semakin kuat pula aktivitas antioksidan senyawa tersebut karena dengan konsentrasi yang kecil mampu menghambat radikal bebas DPPH dengan baik⁸.

Analisis Data

Analisis data antioksidan dengan persamaan *regresi linear* menggunakan program *Microsoft Excel* atau *SPSS* untuk melihat hubungan variasi konsentrasi dengan persen inhibisi serta ditampilkan dalam bentuk grafik dan tabel.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari proses maserasi berupa maserat yang diperoleh maserat sebanyak 13,45 gram yang didapatkan melalui proses perendaman selama 3 x 24 jam menggunakan etanol 95% sebanyak 6 liter. Pergantian pelarut dilakukan sebanyak 3 kali remaserasi dengan 1 kali filtrat. Kemudian hasil maserasi disaring untuk untuk memisahkan filtrate dan ampasnya. Hasil akhir dari maserasi yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Hasil ekstrak

pekat yang diperoleh kemudian dilakukan pengujian skrining fitokimia untuk mengetahui senyawa-senyawa metabolit yang ada pada sampel.

Hasil Uji Skrining Fitokimia

Pengujian skrining fitokimia memerlukan 0,1 gram ekstrak kental dan dari hasil uji ini menunjukkan bahwa ekstrak daun benalu pala

Dendrophthoe pentandra (L.) Miq memiliki senyawa aktif didalamnya. Adapun pada penelitian ini, senyawa-senyawa metabolit yang sudah diuji skrining fitokimia yaitu senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, dan tidak memiliki senyawa steroid. Hal ini dapat terjadi dikarenakan pada saat pengujian senyawa steroid, menunjukkan hasil negatif karena tidak ada perubahan warna.

Tabel. 1 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Benalu (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq

Golongan Senyawa (1)	Pereaksi (2)	Hasil (3)	Perubahan Warna (4)
Alkaloid	<i>Dragendorff</i>	+	Terbentuk endapan kuning kecoklatan
	<i>Wagner</i>	+	Terbentuk endapan coklat
	<i>Mayer</i>	+	Terbentuk endapan merah jingga
Flavonoid	HCL Pekat dan Mg	+	Terbentuk endapan merah kecoklatan
Tanin	FeCl ₃ dan Etanol	+	Terbentuk warna hitam kebiruan
Saponin	Aquades	+	Terbentuk gelembung/buih
Steroid	Asam asetat glasial dan Asam sulfat pekat	-	Tidak terbentuk warna
Triterpenoid	glasial dan asam sulfat pekat	+	Terbentuk warna ungu
Fenolik	FeCl ₃ 5%	+	Terbentuk warna hijau kehitaman

Hasil Uji Antioksidan

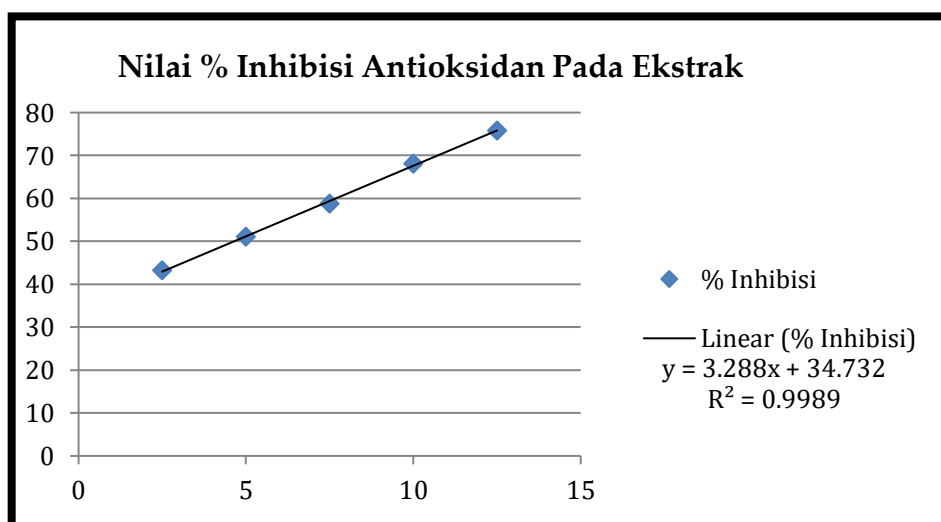
Pada pengujian antioksidan digunakan 0,01 gram ekstrak pekat dari hasil sampel yang sudah dikentalkan, dengan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 40° dan setelah itu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun benalu pala dengan menggunakan metode DPPH.

Menurut beberapa penelitian yang telah dilakukan, metode DPPH merupakan cara 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. Untuk melihat zona hambat dari proses pengujian aktivitas antioksidan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis untuk mengukur panjang gelombang pada panjang gelombang 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.

Tabel 2. Hasil Uji Antioksidan Ekstrak Kasar

Konsentrasi (ppm)	Ulangan			Rata-rata (Absorbansi)	%Inhibisi	IC ₅₀ µg/mL
	U1	U2	U3			
2.5 ppm	0.489	0.489	0.495	0.491	43.24	4.644
5 ppm	0.437	0.419	0.414	0.423	51.06	
7.5 ppm	0.365	0.371	0.335	0.357	58.73	
10 ppm	0.277	0.272	0.279	0.276	68.09	
12.5 ppm	0.213	0.213	0.202	0.209	75.80	
Kontrol DPPH	0.859	0.862	0.874	0.865	-	-



Gambar 1. Kurva Nilai % Inhibisi Ekstrak Kasar

Berdasarkan hasil pengujian yang ada pada tabel dan kurva di atas, sampel yang digunakan memiliki daya antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ 4,644. Itu berarti semakin rendah nilai IC₅₀ maka semakin besar juga kemampuan antioksidannya, hal ini dapat dilihat dari nilai IC₅₀ yang menunjukkan besarnya konsentrasi suatu senyawa dalam menghambat radikal DPPH sebanyak 50%.

Pada pengukuran serapan daun benalu pala *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq terjadi rentang waktu inkubasi pada menit ke-25 sampai menit ke-29, yang mana perubahan warna ungu ini disebabkan oleh adanya peredaman radikal bebas yang dihasilkan oleh bereaksinya molekul DPPH dengan atom hidrogen lalu, dilepaskan oleh molekul senyawa sampel sehingga terbentuklah senyawa difenil pikrihidrazil yang

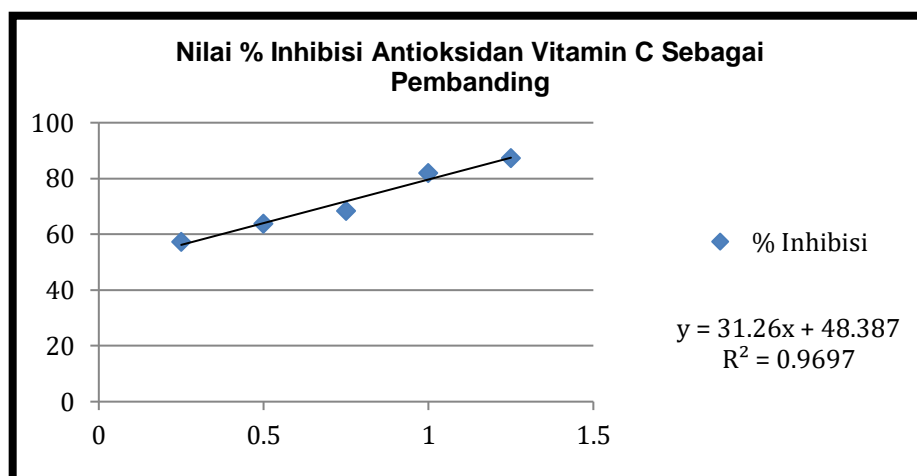
menyebabkan terjadinya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning.

Namun nilai IC₅₀ dari ekstrak daun benalu pala *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq lebih tinggi dibandingkan nilai IC₅₀ dari vitamin C. Pada penelitian ini, aktivitas antioksidan berdasarkan radikal DPPH memiliki kaitannya dengan kandungan senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak tanaman.

Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang terdapat pada daun benalu *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq pada tanaman pala, yang dilakukan berdasarkan hasil uji skrining fitokimia. Kerja dari flavonoid sendiri yaitu dengan mendonorkan hidrogen atau elektronnya kepada senyawa radikal sehingga flavonoid bertugas untuk menstabilkan senyawa radikal yang terdapat pada ekstrak.

Tabel 3. Hasil Uji Antioksidan Pada Vitamin C Sebagai Pembanding

Konsentrasi (ppm)	Ulangan			Rata-rata (Absorbansi)	%Inhibisi	IC ₅₀ µg/mL
	U1	U2	U3			
0.25 ppm	0.361	0.365	0.377	0.368	57.45	0.169
0.5 ppm	0.312	0.306	0.322	0.313	63.81	
0.75 ppm	0.271	0.274	0.273	0.273	68.43	
1 ppm	0.138	0.167	0.161	0.155	82.08	
1.25 ppm	0.108	0.112	0.106	0.109	87.39	
Kontrol DPPH	0.859	0.862	0.874	0.865	-	



Gambar 2. Kurva Nilai % Inhibisi Pada Vitamin C Sebagai Pemanding

Berdasarkan Tabel dan Kurva diatas bisa dilihat bahwa konsentrasi yang digunakan berbeda dengan konsentrasi pada ekstrak, dikarenakan vitamin C merupakan bahan obat yang memiliki kadar vitamin C yang tinggi, sehingga konsentrasi yang digunakan perlu diturunkan atau diencerkan agar dapat membandingkan hasil antioksidan pada sampel dan vitamin C.

Vitamin C adalah makanan terpenting yang dibutuhkan oleh antioksidan, yang secara signifikan dapat mengurangi efek buruk dari spesies reaktif, seperti spesies oksigen reaktif, yang dapat menyebabkan kerusakan melalui reaksi oksidasi pada makromolekul seperti lipid, DNA serta protein, yang dalam hal ini berhubungan juga dengan penyakit kronis saraf termasuk penyakit neurodegeneratif^{9,10}.

Vitamin C sendiri sering digunakan sebagai senyawa pembanding untuk uji aktivitas antioksidan. Hal ini dapat didukung juga, karena senyawa antioksidan alami relatif aman dan tidak menimbulkan toksisitas. Nilai IC₅₀ ekstrak daun benalu pala dan vitamin C

diperoleh dari hasil perhitungan persamaan regresi linier pada kedua tabel diatas, yang merupakan persamaan regresi dari ekstrak kasar yang terdapat pada tabel diatas dimana $y = 3.288x + 34.732$ dan $r = 0,9989$ serta persamaan regresi pada vitamin C yaitu $y = 31.26x + 48.387$ dan $r = 0.9697$. Pada koefisien y pada persamaan ini adalah sebagai IC₅₀, sedangkan koefisien x pada persamaan regresi diatas adalah konsentrasi dari ekstrak kasar dan vitamin C yang akan dicari nilainya, dimana nilai x yang didapat merupakan besarnya konsentrasi yang diperlukan untuk dapat meredam radikal bebas yang dalam hal ini adalah DPPH dan nilai R yang mendekati 1 bernilai positif, maka nilai R memiliki nilai maksimum 1 dan tidak pernah lebih dari 1.

Hasil ini berarti jika suatu senyawa dapat dikategorikan sebagai antioksidan yang sangat kuat apabila nilai IC₅₀ yang digunakan kurang dari 50 ppm, kuat nilainya diantara 50 – 100 ppm, sedang apabila nilainya diantara 100 – 150 ppm dan lemah jika nilainya antara 150 – 200 ppm.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun benalu pala (*Dendrophthoe pentandra* (L. Miq) memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder jenis alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid, dan fenolik. Ekstrak daun benalu *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq memiliki aktivitas yang kuat sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} ekstrak kasar 4,644 dan nilai IC_{50} 0,169.

5. DAFTAR PUSTAKA

1. WHO. *Global Tuberculosis Report*. Vol 4. World Health Organization; 2022.
2. Anita A, Khotimah S, Yanti AH. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Benalu Jambu Air (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq) Terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhi*. *Jl Prof Dr H Hadari Nawawi*. 2014;3(2):268-272.
3. Sayuti K, Yenrina Ri. *Antioksidan Alami Dan Sintetik*. 1st ed. Andalas University Press; 2015.
4. Musfiroh E, Syarief SH. Uji Aktivitas Peredaman Radikal Bebas Nanopartikel Emas Dengan Berbagai Konsentrasi Sebagai Material Antiaging Dalam Kosmetik. *UNESA J Chem*. 2012;1(2):18-25. doi:<https://doi.org/10.26740/ujc.v1n2.p%25p>
5. Gusungi DE, Maarisit W, Hariyadi H, Potalangi NO. Studi Aktivitas Antioksidan Dan Antikanker Payudara (MCF-7) Ekstrak Etanol Daun Benalu Langsung *Dendrophthoe pentandra*. *Biofarmasetikal Trop*. 2020;3(1):166-174. doi:10.55724/j.biofar.trop.v3i1.274
6. Mandal P, Ghosal M. Antioxidant Activities Of Different Parts Of Tree Tomato Fruit. *Int J Pharm Sci Rev Res*. 2012;13(2):39-47.
7. Nurjanah, Izzati L, Abdullah A. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kerang Pisau (*Solen spp*). *Ilmu Kelaut*. 2011;16(3):119-124. doi:10.14710/ik.ijms.16.3.119-124
8. Syaifuddin S. Uji Aktivitas Antioksidan Bayam Merah (*Alternanthera amoena* voss.) Segar dan Rebus dengan Metode DPPH. *UIN Walisongo Semarang*. Published online 2015.
9. Halliwell B, Gutteridge KMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. (Fifth, ed.). Oxford University Press; 2015.
10. Packer M, Fowler MB, Roecker EB, et al. Effect of carvedilol on the morbidity of patients with severe chronic heart failure: Results of the carvedilol prospective randomized cumulative survival (COPERNICUS) study. *Circulation*. 2002;106(17):2194-2199. doi:10.1161/01.CIR.0000035653.72855.BF