

POTENSI FRAKSI-FRAKSI DARI EKSTRAK TANAMAN YANG DIKENAL SEBAGAI ANTIOKSIDAN

**Hudan Taufiq^{1*}, Titiek Sumarawati², Qurrotul Aini¹, Riana Putri Rahmawati¹,
Yuliananda Arisa Pawestri¹, Nabilah Qarinah¹**

¹Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Indonesia

²Bagian Kimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Indonesia

Email: hudan.taufiq@unissula.ac.id

ABSTRAK

Beberapa tanaman telah dikenal memiliki fungsi sebagai antioksidan, namun fraksi senyawa yang menyumbang aktivitas antioksidannya belum pernah dilaporkan. Senyawa antioksidan seperti flavonoid, alkaloid, dan senyawa lain telah diidentifikasi terdapat pada daun kopi robusta (tanin), kulit buah nanas (vitamin C dan karotenoid), bunga turi putih (tanin), serta kulit batang belimbing wuluh (saponin). Senyawa tersebut bermanfaat untuk pencegahan penyakit degeneratif yang diakibatkan oleh radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan tanaman yang dikenal sebagai antioksidan dan fraksi senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitasnya. Semua bahan diekstrak menggunakan etanol melalui proses maserasi, kemudian dilakukan fraksinasi secara LLF (Liquid-liquid fractionation). Daya antioksidan ditentukan dengan uji penangkapan radikal DPPH secara kuantitatif (yang dinyatakan sebagai IC₅₀) menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 516,6 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata nilai IC₅₀ fraksi etil asetat dan etanol dari ekstrak etanolik daun kopi robusta, bunga turi putih, dan kulit batang belimbing wuluh secara berturut-turut adalah 1,53; 1,92; 143,47; 251,06; 29,85; dan 60,84 ppm. Adapun rata-rata nilai IC₅₀ fraksi etanol dan n-heksana dari ekstrak etanolik kulit buah nanas secara berturut-turut adalah 197,50 dan 489,89 ppm. Kesimpulan penelitian ini adalah fraksi etil asetat dan etanol dari ekstrak etanolik daun kopi robusta (*Coffea canephora* Peirre ex Froehner) memiliki aktifitas antioksidan sangat kuat dengan aktivitas antioksidan berturut-turut sebesar 3,12 dan 2,48 kali lebih besar dibandingkan Vitamin C

Kata Kunci: Antioksidan; Daun Kopi Robusta; Kulit Buah Nanas; Bunga Turi Putih; Batang Belimbing Wuluh.

Penulis korespondensi:

Hudan Taufiq,

Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung

Jl. Kaligawe KM.4 Semarang

Email: hudan.taufiq@unissula.ac.id

THE ACTIVITY OF FRACTIONS FROM EXTRACT PLANTS KNOWN AS ANTIOXIDANT

ABSTRACT

*Some plants have been known as antioxidants, but the fraction of the compounds that contribute to the antioxidant activity has not been reported. Antioxidant compounds such as flavonoids, alkaloids, and other compounds have been identified in Robusta coffee leaves (tannin), pineapple peel (vitamin C and carotenoid), white agathi flower (tannin), and bilimbi bark (saponin). These compounds were useful for the prevention of degenerative diseases caused by free radicals. This study was aim to determine the antioxidant activity of plants and the fraction of the compounds responsible for its activity. All ingredients were extracted using ethanol through a maceration process, then fractionated by LLF (Liquid-liquid fractionation). The antioxidant power was determined quantitatively by DPPH radical test (expressed as IC₅₀) using spectrophotometric wavelength 516.6 nm. The results show that the average value of IC₅₀ of ethyl acetate and ethanol fraction from ethanolic extract of robusta coffee leaf, white agathi flower, and bilimbi bark respectively are 1.53, 1.92, 143.47, 251.06, 29.85 and 60.84 ppm. The average value of IC₅₀ of ethanol and n-hexane fraction from ethanolic extract of pineapple pell respectively are 197.50 and 489.89 ppm. The conclusion of this study is the fraction of ethyl acetate and ethanol from ethanolic extract of robusta coffee leaves (*Coffea canephora* Peirre ex Froehner) has a very strong antioxidant activity of 3.12 and 2.48 times greater than Vitamin C.*

Keywords: Antioxidant; Robusta Coffee Leaves; Pineapple Peel; White Agathi Flower; Bilimbi Bark.

PENDAHULUAN

Kopi (*Coffea canephora* Peirre ex Froehner) merupakan tanaman perkebunan yang biasa dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengobati sakit kepala, asma, demam, migrain, dan vertigo (Vedamurthy,2014) Salah satu jenis kopi di Indonesia adalah kopi robusta. Sejauh ini, masyarakat memanfaatkan bagian tanaman kopi pada bijinya saja, sedangkan pada bagian tanaman lain seperti daun belum banyak dimanfaatkan, padahal manfaat dan kandungan daun kopi juga banyak. Ekstrak metanol daun kopi (yang terdiri dari asam fenol, flavonoid, dan tannin) dengan konsentrasi 10 µg/ml dapat menghambat radikal bebas sebesar 79,43% (Nayeem, *et al*,2011)

Kulit buah nanas (*Ananas comosus* L. Merr) selama ini dianggap masyarakat sebagai limbah dan dibuang begitu saja, padahal kulit buah nanas banyak mengandung karotenoid, vitamin C dan flavonoid (Erukairune, *et al*, 2010). Adanya aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah nanas dengan nilai IC₅₀ sebesar 1513,56 µg/mL. (Hatam, *et al*, 2013)

Bunga turi (*Sesbania grandiflora*) memiliki beberapa kandungan senyawa kimia seperti quersertin, tanin, polifenol, flavonoid, vitamin C, dan alkaloid (Arunabha, *et al* , 2014) Adapun kandungan senyawa yang terdapat pada kulit batang belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yaitu flavonoid, alkaloid, dan saponin (Kamrul *et al* , 2013)

Senyawa antioksidan tersebut dapat menghambat proses oksidatif sehingga dapat mencegah terjadinya penyakit kronis dan degeneratif, seperti aterosklerosis, hipertensi, kanker, stroke, dan penyakit jantung koroner Hatam, *et al*,2013), (Eveline, *et al* , 2014) Prevalensi penyakit degeneratif di Indonesia semakin meningkat tiap tahun hingga 7,2% untuk penyakit jantung koroner, 8,3% untuk

penyakit stroke, dan 31,7% untuk penyakit hipertensi (Nadimin, 2011).

Target utama dari radikal bebas yaitu asam lemak tak jenuh, lipoprotein, protein, serta unsur DNA termasuk karbohidrat. Diantara molekul target tersebut, asam lemak tak jenuh merupakan molekul yang paling rentan terkena serangan radikal bebas. Serangan radikal bebas dapat memungkinkan terjadinya berbagai gangguan dalam tubuh yaitu kerusakan struktur sel, gangguan fungsi sel, terbentuk molekul termodifikasi yang tidak dapat dikenali sistem imun, dan mutasi. Berbagai gangguan tersebut dapat memicu terjadinya penyakit yang menyerang tubuh seperti kardiovaskular, karsinogenik, dan penuaan dini (Winarsi2007). Adanya dampak radikal bebas tersebut, maka diperlukan upaya penanganan dan kesadaran untuk melakukan perlindungan diri yang salah satunya adalah dengan antioksidan.

Salah satu metode uji aktivitas antioksidan adalah dengan metode DPPH. Metode DPPH merupakan suatu metode pengukuran antioksidan yang cepat, sederhana. DPPH merupakan radikal bebas yang memiliki elektron tidak berpasangan dan memberikan warna ungu. Apabila seluruh elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan, maka warna larutan akan berubah menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang 517 nm akan hilang. Prinsip metode DPPH adalah terjadinya perubahan warna larutan dari ungu menjadi ungu pudar dan kuning dikarenakan adanya penurunan absorptivitas molar dari molekul DPPH. Perubahan warna terjadi karena adanya peningkatan kemampuan antioksidan dalam menangkap radikal bebas. Semakin besar aktivitas antioksidan, maka semakin pudar warna larutan dan absorbansinya semakin kecil (Putri,2012)

Kandungan senyawa aktif antioksidan memiliki karakteristik yang berbeda sehingga membutuhkan perlakuan yang berbeda. Asam fenol, flavonoid, saponin, vitamin C, dan

tanin merupakan senyawa yang bersifat polar dan akan larut dalam pelarut polar seperti etanol. Beberapa alkaloid bersifat semipolar dan dapat larut dengan senyawa semipolar seperti asetil asetat. Namun senyawa karotenoid bersifat non polar sehingga akan larut dalam pelarut non polar seperti n-heksana (Prasetyo, 2013)

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan fraksi-fraksi dari bahan yang berpotensi sebagai sumber antioksidan di masyarakat sehingga dapat digunakan sebagai landasan pengembangan sediaan obat lebih lanjut.

METODE

Ekstraksi. Setiap sampel dikeringkan kemudian dibuat menjadi serbuk dan dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:10 selama 3 hari. Ekstrak yang didapat dievaporasi menggunakan evaporator pada suhu 50°C dengan kecepatan 120 rpm sampai diperoleh ekstrak pekat.

Fraksinasi. Hasil evaporasi berupa ekstrak pekat ditambah air hangat kemudian dipartisi dengan etil asetat dengan perbandingan 1:1 v/v di dalam corong pisah. Fraksi etil asetat yang diperoleh berada pada bagian bawah kemudian dipisahkan. Fraksi yang tidak larut etil asetat ditambah kembali dengan etanol dalam sehingga didapatkan fraksi etanol. Adapun fraksi n-heksana dipartisi dari ekstrak etanol secara langsung. Masing-masing fraksi yang diperoleh dipisahkan, kemudian diuapkan hingga diperoleh fraksi kental.

Uji Flavonoid. Sebanyak 200 mg fraksi dilarutkan dengan 5 ml etanol dan dipanaskan selama 5 menit di dalam tabung reaksi. Ditambahkan HCl pekat, kemudian ditambahkan 0,2 g bubuk Mg. Hasil positif ditunjukkan dengan timbulnya warna merah tua (magenta) dalam waktu 3 menit.

Uji Saponin. Sebanyak 2 mg fraksi dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan air suling hingga seluruh cuplikan terendam, dididihkan selama 2-3 menit, selanjutnya didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuk buih putih yang stabil.

Uji Tanin. Sebanyak 20 mg fraksi dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah etanol sampai sampel terendam semuanya. Kemudian sebanyak 1 ml larutan dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau.

Uji Alkaloid. Setengah gram fraksi dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan HCl 1 mL 2N dan 9 mL aquades, dipanaskan selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat dibagi menjadi 3 bagian. Masing-masing diberi pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendorff. Hasil skrining dengan pereaksi terbukti positif apabila terbentuk endapan putih pada pereaksi Mayer, terbentuk warna coklat kemerahan pada penelitian Wagner, dan terbentuk warna jingga pada pereaksi Dragendorff.

Uji Aktivitas Antioksidan. Sampel sebanyak 1 mL ditambah 3,0 mL larutan DPPH 0,1 mM selanjutnya dihomogenkan dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 516,6 nm setelah disimpan 30 menit. Data yang diperoleh berupa nilai absorbansi kemudian dihitung persentase aktivitas penangkal radikal bebas dengan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \left(1 - \frac{\text{abs sampel}}{\text{abs kontrol}} \right) \times 100\%$$

setelah didapatkan persentase inhibisi dilanjutkan dengan perhitungan regresi linier antara konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) dan persentase aktivitas inhibisi (%). Nilai IC₅₀ didapatkan dari nilai x setelah mengganti y dengan 50.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Setiap simplisia disortasi dengan bahan pengotor lainnya seperti kulit yang telah busuk dan tanah yang menempel. Bahan pengotor seperti tanah mengandung bermacam-macam mikroba dalam jumlah yang tinggi, maka diperlukan pembersihan untuk mengurangi jumlah cemaran mikroba. Kemudian simplisia dikeringkan sampai memiliki kadar air < 10%. Proses pengeringan bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, dan dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama [13]. Kadar air dikontrol kurang dari 10% karena dapat mencegah pertumbuhan kapang dan menghambat aktivitas enzim sehingga bahan lebih awet dan kandungan zat aktifnya tidak berkurang (Katno, *et al*, 2008)

Hasil skrining fitokimia pada setiap sampel tersaji pada **Tabel 1**. Secara umum, senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid terdeteksi pada fraksi etil asetat atau etanol. Semua jenis metabolit sekunder tersebut terbagi menjadi 2 jenis, yakni yang bersifat polar (cenderung tertarik ke etanol) dan bersifat semi polar (cenderung tertarik ke etil asetat). Perbedaan sifat keduanya diakibatkan jenis dan jumlah rantai cabangnya yang berbeda, sehingga meskipun memiliki gugus utama yang sama, akan memiliki perbedaan sedikit dalam hal kepolaran. Begitu pula sebaliknya, karena n-heksana merupakan pelarut non polar maka tidak akan menarik metabolit sekunder yang bersifat polar. Diperkirakan senyawa yang tertarik ke dalam pelarut n-heksana adalah metabolit sekunder golongan terpenoid dan jenis vitamin non polar, misalnya vitamin A dan E (Fachriyah, *et al*, 2013)

Flavonoid bersifat polar karena memiliki ikatan dengan gugus gula (Sangi, *et al*, 2008) Saponin umumnya bersifat polar dalam bentuk glikosida yang mempunyai gugus hidrofob dan hidrofilik. Saponin merupakan senyawa aktif yang dapat

menimbulkan busa jika dikocok dalam air. Pada saat dikocok gugus hidrofil akan berikatan dengan air dan gugus hidrofob akan berikatan dengan udara sehingga membentuk busa (Kumalasari, 2011). Golongan tanin merupakan senyawa fenolik yang dapat larut dalam air atau bersifat polar. Pengujian tanin dilakukan dengan penambahan larutan FeCl_3 yang dapat bereaksi pada gugus hidroksil, sehingga penambahan larutan ini pada ekstrak uji dapat menghasilkan warna hijau kehitaman yang menunjukkan senyawa tanin terkondensasi (Sangi, *et al*, 2008). Adapun alkaloid tertarik pada etanol atau etil asetat karena mengandung substituen seperti gugus amina, amida, fenol, dan metoksi sehingga bersifat semi polar. Reaksi positif pada uji alkaloid dengan pereaksi dragendorff terdapat endapan jingga dan dengan pereaksi mayer terdapat endapan kuning, hal tersebut terjadi karena adanya reaksi penggantian ligan (Purba, 2011).

Hasil uji aktivitas antioksidan mulai dari yang terbesar sampai terkecil berdasarkan nilai IC_{50} berturut-turut (**Tabel 2**) adalah daun kopi robusta, kulit batang belimbing wuluh, bunga turi putih, dan kulit buah nanas. Nilai IC_{50} berbanding terbalik dengan kemampuan senyawa yang bersifat sebagai antioksidan. Bila nilai IC_{50} semakin kecil maka daya antioksidan semakin kuat (Molyneux, 2004) Hal ini dikarenakan absorbansi yang diukur adalah absorbansi larutan DPPH yang tidak bereaksi dengan senyawa antioksidan (Salamah, 2011)

Pengukuran metode DPPH dilakukan pada λ maksimal karena memiliki sensitivitas tinggi. Pada λ maksimal, perubahan serapan untuk setiap satuan konsentrasi merupakan yang paling besar sehingga akan diperoleh kepekaan analisa yang maksimal (Nurani, 2013). Pada penelitian ini didapatkan panjang gelombang maksimal 516,6 nm. Hal ini menunjukkan panjang gelombang pada penelitian ini telah memenuhi syarat karena

secara teoritis panjang gelombang maksimum untuk larutan DPPH dalam etanol adalah 515-517 nm (Salamah, 2015).

Mekanisme dari metode ini yaitu apabila DPPH dicampur dengan senyawa antioksidan yang dapat mendonorkan atom hidrogen, akan bereaksi membentuk 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (**Gambar 1**). Reaksi tersebut menyebabkan larutan DPPH akan berubah menjadi bentuk tereduksi dengan kehilangan warna ungu gelap. Warna kuning yang dihasilkan setelah reaksi merupakan residu pada senyawa DPPH. Semakin banyak jumlah senyawa DPPH yang dinetralkan maka semakin terjadi proses dekolorisasi menjadi warna ungu gelap. Perubahan warna tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 515-517 nm (Molyneux, 2004).

Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat apabila nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat 50-100 ppm, sedang 100-150 ppm, lemah 151-200 ppm, dan lebih dari 200 ppm merupakan antioksidan yang sangat lemah. Oleh karena itu, fraksi etanol dan etil asetat daun kopi robusta, serta fraksi etil asetat kulit batang belimbing wuluh memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dibandingkan yang lain sehingga sangat potensial untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai sediaan.

Apabila dibandingkan dengan penelitian Nayeem, *et al*, 2011, nilai IC_{50} fraksi-fraksi daun kopi robusta lebih kecil dibandingkan nilai IC_{50} ekstrak metanolik daun kopi robusta (6,294 ppm). Aktivitas antioksidan yang lebih baik tersebut menunjukkan bahwa fraksinasi dapat menghasilkan senyawa yang lebih murni sehingga meningkatkan aktivitasnya (Ningsih, *et al*, 2004)

Fraksi etil asetat dan fraksi etanol ekstrak etanolik daun kopi robusta memiliki nilai daya antioksidan lebih baik dibanding vitamin C (masing-masing sebesar 3,12 dan 2,48 kali vitamin C) (**Tabel 3**). Hasil uji

statistika antara IC_{50} fraksi etil asetat dan fraksi etanol daun kopi robusta tidak berbeda bermakna. Hasil yang tidak signifikan tersebut terjadi karena pelarut yang digunakan memiliki *polarity index* yang hampir sama yakni 5,2 (etanol) dan 4,4 (etil asetat). Kemungkinan aktivitas antioksidan juga disumbangkan oleh senyawa yang bersifat polar dan semipolar, sehingga fraksi etanol dan etil asetat ekstrak etanolik daun kopi robusta memiliki daya antioksidan yang tinggi. Kandungan metabolit sekunder pada daun kopi seperti tanin, flavonoid, saponin dan alkaloid banyak berperan untuk menghasilkan aktivitas antioksidan yang tinggi (Nayeem, *et al*, 2011).

Secara umum, metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan berfungsi sebagai reduktor yang dapat menyumbangkan elektron dan bereaksi dengan radikal bebas untuk mengkonversikannya ke produk yang lebih stabil dan menghentikan radikal bebas dengan reaksi berantai (Kumar, *et al*, 2010).

Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan bisa secara langsung maupun tidak langsung. Secara langsung, flavonoid mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menetralkan efek toksik dari radikal bebas. Secara tidak langsung, flavonoid meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui beberapa mekanisme, salah satunya adalah melalui aktivasi *nuclear factor erythroid 2 related factor 2* (Nrf2) sehingga gen yang berperan dalam sintesis enzim antioksidan endogen seperti gen SOD (*superoxide dismutase*) akan meningkat (Sumardika, 2012)

Senyawa polifenol dan tanin yang berfungsi sebagai antioksidan memiliki ikatan gugus hidroksil pada cincin aromatik, dan memiliki kemampuan dalam memberi donor hidrogen untuk menetralkan radikal bebas sehingga terbentuk radikal fenoksil yang relatif stabil (Mokgope, 2006). Senyawa alkaloid yang memiliki kemampuan untuk menghentikan reaksi radikal bebas antara lain

quinolon, kafein yang bertindak sebagai peredam radikal hidroksil, dan melatonin yang dapat menjaga sel dari pengaruh radiasi (Yuhernita,2011).

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Fraksi

Ekstrak	Fraksi	Flavonoid	Saponin	Tanin	Alkaloid		
					Dragendorff	Meyer	Bouchardat
Daun Kopi Robusta	Etil Asetat	-	-	+	+	-	+
	Etanol	+	+	+	+	-	+
Kulit Buah Nanas	n-heksana	-	-	-	-	-	-
	Etanol	+	+	+	+	+	-
Bunga Turi Putih	Etil Asetat	+	+	+	+	+	-
	Etanol	+	+	+	+	+	-
Kulit Batang	Etil Asetat	+	-	+	+	+	+
Belimbing Wuluh	Etanol	+	-	+	-	-	-

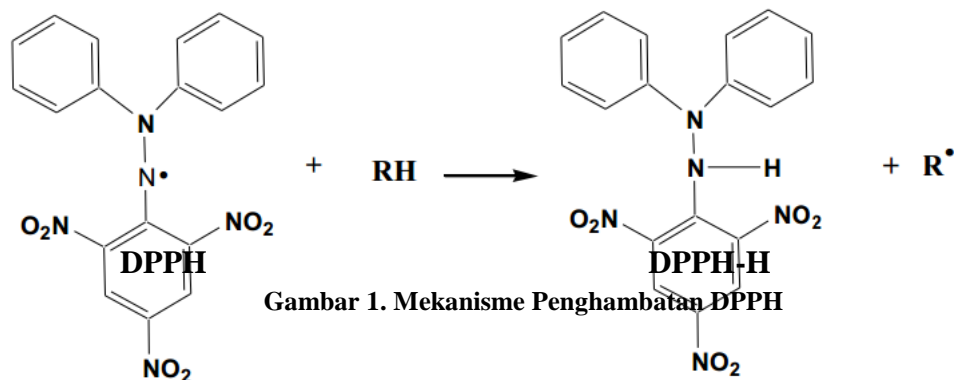
Tabel 2. Nilai IC₅₀ Fraksi (ppm)

Fraksi	Daun Kopi Robusta	Kulit Buah Nanas	Bunga Turi Putih	Kulit Batang Belimbing Wuluh
Etil Asetat	1,775		125,033	31,348
	1,489	-	158,431	29,029
	1,339		146,944	29,179
	1,53 ± 0,22*	N/A	143,469 ± 16,967	29,852 ± 1,059
Etanol	1,670	242,299	218,324	60,919
	1,926	169,527	261,647	60,929
	2,184	174,682	273,220	60,683
	1,92 ± 0,25*	197,503 ± 40,609	251,063 ± 28,937	60,843 ± 0,113
n-heksana		537,532		
	-	476,869	-	-
		455,280		
	N/A	489,891±42,644	N/A	N/A

*secara statistik tidak berbeda signifikan (p<0,05)

Tabel 3. Daya Antioksidan Fraksi Terhadap Vitamin C (IC₅₀ 4,73 ppm)

Fraksi	Persentase Daya Antioksidan Terhadap IC ₅₀ Vitamin C (%)			
	Daun Kopi Robusta	Kulit Buah Nanas	Bunga Turi Putih	Kulit Batang Belimbing Wuluh
Etil Asetat	312 ± 43		3,328 ± 0,410	15,864 ± 0,549
Etanol	248 ± 33	2,395	1,901 ± 0,232	7,773 ± 0,010
Heksana		0,966		



Gambar 1. Mekanisme Penghambatan DPPH

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Aktivitas antioksidan yang potensial untuk dikembangkan lebih lanjut adalah fraksi etil asetat dan fraksi etanol ekstrak etanolik daun kopi robusta (dihitung sebagai nilai IC₅₀) yang termasuk dalam aktivitas sangat kuat, dengan nilai masing-masing sebesar 1,53 ppm (3,12 kali dari vitamin C) dan 1,92 ppm (2,48 kali dari vitamin C).

Saran

Perlu dilakukan standarisasi dan isolasi senyawa metabolit sekunder yang memiliki efek antioksidan pada fraksi etil asetat dan etanol ekstrak etanolik daun kopi robusta.

DAFTAR PUSTAKA

- A. B. Vedamurthy, *et al.*, "In Vitro Antioxidant Activity of Coffea Arabica Unprocessed Bean Extracts", *International Journal of Pharmacological Screening Methods*, vol. 4, no. 3, pp. 145-149, 2014.
- A. Prakash, *et al.*, "Antioxidant Activity", *Medalliaon Laboratories Analytical Progress*, vol. 10, no. 2, 2001.
- E. Fachriyah, *et al.*, "Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktifitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis)", *Chem Info*, vol. 1, no.1, pp. 196-201, 2013.
- E. Kumalasari and N. Sulistyani, "Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Batang Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) Terhadap *Candida albicans* serta Skrining Fitokimia", *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, vol. 1, no. 2, pp. 51-62, 2011.
- E. Mardawati, "Kajian Aktivitas Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana*L) dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya", *Jurusan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Industri Pertanian Universitas Padjajaran*, 2008.
- H. Winarsi, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius, 2007.
- I. Kuncahyo and Sunardi, "Uji Aktifitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl (DPPH)", in *Seminar Nasional Teknologi*, 2007.
- I. S. Kamrul, *et al.*, "Phytochemical screenings, thrombolytic activity and antimicrobial properties of the bark extracts of *Averrhoa bilimbi*", *J App Pharm Sci.*, vol. 3, no. 03, pp. 094-096, 2013.
- I. W. Sumardika and I. M. Jawi, "Ekstrak Air Daun Ubi Jalar Ungu Memperbaiki Profil Lipid dan Meningkatkan Kadar SOD Darah Tikus yang diberi Makanan Tinggi Kolesterol", *Medicina*, vol. 43, no. 2, 2012.
- Katno, *et al.*, "Pengaruh Waktu Pengeringan terhadap Kadar Tanin Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.)", *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, vol. I, no I., 2008.
- L. B. Mokgope, "Cowpea Seed Coats and Their Extracts : Phenolic Composition and Use as Antioxidants in Sunflower Oil", Department of FoodScience University of Pretoria South Africa, 2006.
- L. H. Nurani, "Isolasi Dan Uji Penangkapan Radikal Bebas DPPH Oleh Isolat-1, Fraksi Etil Asetat, Dan Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack)", *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, vol. 3, no. 1, pp. 95-104, 2013.
- M. Arunabha, *et al.*, "Evaluation of Immunomodulatory Activity of Sesbania Grandiflora Flowers Extract In Mice", *Indonesian J. Pharm*, vol. 25, no.4, pp. 277 – 283, 2014
- M. Kumar, *et al.*, "Minerals, PUFAs and antioxidant properties of some tropical

- seaweeds from saurashtra coast of India”, *Journal of Applied Phycology*, vol. 23, pp. 797–810, 2010.
- M. S. Blois, “Antioxidant Determination by the use of a Stable Free Radical”, *Nature*, vol. 181, pp. 1199-1200, 1958.
- M. Sangi, *et al.*, “Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di kabupaten Minahasa Utara”, *Chem. Prog.*, vol. 1, no. 1, pp. 47-53, 2008.
- N. Salamah and E. Widyasari, “Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria Longan* (L) Steud.) Dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2’-Difenil-1-Pikrilhidrazil”, *Pharmaciana*, vol. 5, no. 1, pp. 25-34, 2015.
- Nadimin, “Pola Makan, Aktivitas Fisik Dan Status Gizi Pegawai Dinas Kesehatan Sulawesi Selatan”, *Media Gizi Pangan*, vol. XI, no. 1, pp. 1-6, 2011.
- Nayeem, *et al.*, “Comparative phytochemical analysis, antimicrobial and antioxidant activity of the methanolic extracts of the leaves of *Coffea Arabica* and *Coffea Robusta*”, *Der Pharmacia Lettre*, vol. 3, no. 1, pp. 292-297, 2011.
- Ningsih, *et al.*, “Fraksinasi Ekstrak Metanol Kulit Batang *Rhizophora mucronata* dan Uji Daya Hambatnya Terhadap Bakteri *Escherichia coli*”, *Molekul*, vol. 1, no. 1, 2006.
- O. L. Erukairune, *et al.*, “Protective effect of pineapple (*Ananas comosus*) peel extract on alcohol- induced oxidative stress in brain tissues of male albino rats”, *Asian Pac. J. Trop. Disease*, pp. 5- 9, 2010.
- P. Molyneux, “The use of the stable free radical diphenylpicril-hydrazil (DPPH) for estimating antioxidant activity”, *Songklanakar J. Sci. Technol*, pp. 211-219, 2004.
- Prasetyo and E. Inorah, *Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-Obatan (Bahan Siplisia)*. Bengkulu: Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB, 2013.
- R. D. Purba 2001, “Analisis Komposisi Alkaloid Daun Handeuleum (*Graptophyllum pictum* (Linn), Griff) yang Dibudidayakan dengan Taraf Nitrogen yang Berbeda”, *Skripsi*, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Institut Pertanian Bogor, 2001.
- R. N. A. Putri, “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil)”, *Skripsi*, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, 2012.
- S. Eveline, *et al.*, “Studi Aktivitas Antioksidan Pada Tomat (*Lycopersicon esculentum*) Konvensional Dan Organik Selama Penyimpanan”, in *Prosiding SNST ke-5 Fakultas Teknik Universitas Wahid Hasyim Semarang*, 2014, pp. 22-28.
- S. F. Hatam, *et al.*, “Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr)”, *Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*, vo. 2, no. 1, pp. 8-11, 2013.
- Y. Richa, “Uji aktivitas penangkap radikal dari ekstrak petroleumeter, etil asetat dan etanol rhizoma binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil)”, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, 2009.
- Yuhernita and Juniarti, “Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi sebagai Antioksidan”, *Makara Sains*, vol. 15, no. 1, pp. 48-52, 2011.

