

AKTIVITAS ANTIRADIKAL BEBAS EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI-FRAKSI BUAH MANGROVE (*Rhizophora mucronata*) DENGAN METODE DPPH

Riadatul Jannah, Handa Muliasari, Neneng Rachmalia Izzatul Mukhlisah

Mangrove plants in Indonesia are the largest of the world's mangrove population. *Rhizophora mucronata* is the species of mangrove that has the widest distribution and is dominant in the sampling location, in Teluk Sepi, West Lombok. *Rhizophora mucronata* shows some pharmacologic activities such as antidiabetic, anti-inflammatory, antiviral, antimicrobial and anticancer. Furthermore, these pharmacological activities are related to its antioxidant potential of mangrove. The antioxidant activity of *R. mucronata* fruit fraction has not been studied. This research aims to determine the antioxidant potential of ethanol extracts and fractions of mangrove fruit by DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. Mangrove fruit is extracted by sonication method with 96% ethanol. Concentrated extract then fractionated with water, ethyl acetate and n-hexane solvent. The result of the phytochemical screening showed *R. mucronata* fruit contain phenolic and flavonoid compounds. The IC₅₀ values of ethanol extract, water fraction, ethyl acetate fraction and n-hexane fraction were 13,92±0,055 ppm, 11,14±0,092 ppm, 13,86±0,089 ppm, and 38,18±0,26 ppm. The antioxidant activity of ethanol extract and fractions has a very strong antioxidant activity. The antioxidant ethanol extract with ethyl acetate fraction has not significantly different (p>0,05), while ethanol extract with water fraction, and n-hexane fraction has not significantly different (p<0,05). Based on this data *R. mucronata* fruit can be use as a natural antioxidant.

Keywords: *Rhizophora mucronata*, sonication, fractionation, antioxidant, DPPH.

Pendahuluan

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada kulit terluarnya, sehingga molekul radikal menjadi tidak stabil dan sangat reaktif (Yuslianti, 2018). Pengaruh radikal bebas yang sangat besar terhadap kesehatan manusia, menyebabkan tubuh memerlukan suatu asupan yang mengandung antioksidan untuk dapat menstabilkan radikal bebas. Penggunaan antioksidan sintetik telah dibatasi karena dapat bersifat toksik terhadap kesehatan manusia apabila melebihi dosis maksimum harian yaitu 1 mg/kgBB (Xu *et al.*,

2021). Antioksidan alami jika digunakan terbukti lebih aman dibandingkan antioksidan sintetik karena dapat menjadi alternatif dengan efek samping lebih rendah (Gonzales *et al.*, 2008).

Mangrove merupakan salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami. Populasi mangrove di Indonesia sekitar 75% dari seluruh populasi mangrove di Asia Tenggara, bahkan merupakan yang terluas di dunia yaitu sekitar 19% dari populasi mangrove dunia (Schaduw, 2015). *Rhizophora mucronata* merupakan jenis mangrove yang tercatat memiliki distribusi terluas dan paling dominan di Teluk Sepi, Lombok Barat (Andini dan Rahayu, 2019).

Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa buah *R. mucronata* mengandung antioksidan yang tinggi karena memiliki komponen bioaktif seperti flavonoid, saponin, tanin, tripertenoid dan steroid serta senyawa fenol hidroquinon (Mile *et al.*, 2021). Dari beberapa senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman, senyawa fenol dan flavonoid merupakan senyawa yang berpengaruh besar terhadap intensitas antioksidan dari tanaman (Asem *et al.*, 2019).

Penelitian oleh Purwaningsih *et al* (2013) melaporkan ekstrak etanol buah *R. mucronata* tua memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong sangat tinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 10,2571 ppm dengan metode DPPH. Penelitian sebelumnya hanya menguji aktivitas antioksidan ekstrak etanol buah *R. mucronata* saja. Oleh karena itu dibutuhkan tahap fraksinasi untuk menguji aktivitas antioksidan buah mangrove pada tingkat yang lebih spesifik, sehingga diperoleh komponen bioaktif yang lebih spesifik ditingkat fraksi. Tujuan dari penelitian ini yaitu menentukan kandungan metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol, fraksi-fraksi buah mangrove (*Rhizophora mucronata*).

Metode Penelitian

Alat dan bahan penelitian

Bahan-bahan yang akan digunakan dalam penelitian yaitu sampel buah mangrove *Rhizophora mucronata*, aquades, etanol 96%, etil asetat p.a (Merck), n-

heksana p.a (Merck), standar asam askorbat (Merck), reagen DPPH (*1,1-diphenyl,2-picrylhydrazyl*) (Merck), metanol p.a (Merck), FeCl₃ 5%, logam Mg, HCl pekat. Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari alat-alat gelas, sonikator, *rotary evaporator* (Heidolph), *waterbath* (Labnet), spektrofotometer UV-Vis (Specord 200 Plus), kuvet, timbangan analitik (Ohaus dan Kern), *vortex* (Labnet), oven, kertas saring, aluminium foil, pipet tetes, lampu UV 254 nm dan 366 nm, mikropipet (Labnet), vial.

Prosedur Penelitian

Pengumpulan Sampel dan Pembuatan Simplisia

Buah mangrove diperoleh di Pantai Teluk Sepi, Desa Buwun Mas, Kecamatan Sekotong, Kabupaten Lombok Barat, Provinsi Nusa Tenggara Barat. Sampel buah mangrove dikumpulkan sebanyak 3 kg. Buah yang dipetik adalah buah yang sudah tua. Kriteria yang harus dipenuhi dalam pengambilan sampel buah mangrove diantaranya yaitu buah tidak rusak, tidak terdapat bekas gigitan ulat, dan buah berwarna hijau tua.

Buah mangrove yang telah dikumpulkan disortasi basah yaitu dengan menghilangkan bagian tanaman yang tidak dibutuhkan, kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran-kotorannya hingga bersih. Sampel yang telah dicuci dilakukan perajangan dengan dipotong kecil-kecil, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C. Simplisia yang telah kering kemudian disortasi kembali untuk memastikan tidak ada pengotor, lalu dihaluskan dengan blender dan diayak menggunakan ayakan 40 mesh. Simplisia kemudian disimpan ditempat yang terlindung dari cahaya matahari.

Ekstraksi Buah Mangrove

Sebanyak 100 g simplisia ditimbang dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Pelarut etanol 96% ditambahkan sebanyak 500 mL dan erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil. Ekstraksi menggunakan alat *Sonicator* selama 30 menit dengan suhu 35°C dengan frekuensi 40 kHz. Hasil sonikasi disaring dengan kain saring untuk memisahkan filtrat dan residu. Proses sonikasi diulang sebanyak 2 kali.

Filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dan dipekatkan dengan *waterbath* pada suhu 40 °C untuk memperoleh ekstrak kental.

Fraksinasi

Metode fraksinasi yang dilakukan mengacu pada metode Madalena *et al*, (2010) dengan modifikasi. Fraksinasi ekstrak dilakukan secara partisi cair-cair menggunakan campuran pelarut dengan kepolaran yang berbeda, yakni air, etil asetat dan *n*-heksana. Sebanyak 5,0 gram ekstrak kental etanol buah mangrove dilarutkan dalam 50 mL air hangat. Larutan dipartisi dengan menambahkan 50 mL pelarut *n*-heksana ke dalam corong pisah. Lapisan air kemudian difraksinasi kembali dengan cara yang sama menggunakan pelarut etil asetat. Partisi dilakukan sebanyak tiga kali. Sehingga didapatkan fraksi air, etil asetat dan *n*-heksana. Fraksi-fraksi dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C kemudian dilanjutkan dengan *waterbath* pada suhu 40°C hingga seluruh pelarut teruapkan dan diperoleh fraksi-fraksi kental.

Identifikasi Metabolit Sekunder

a. Uji Fenolik

Uji fenolik dilakukan dengan cara memasukkan 2 mL ekstrak ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2–3 tetes larutan FeCl₃ 5%. Terbentuknya warna hijau, biru kehijauan atau biru kehitaman menunjukkan positif mengandung fenolik (Raaman, 2006).

b. Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan cara memasukkan 2 mL ekstrak ke dalam tabung reaksi, kemudian dipanaskan dan ditambahkan 2 mg serbuk Mg dan 2-3 tetes HCl pekat. Terbentuknya warna kuning, jingga atau merah pada larutan menunjukkan positif mengandung flavonoid (Harbone, 1987)

Penentuan Aktivitas Antioksidan metode DPPH

a. Pembuatan Larutan Induk DPPH 0,125 mM

Serbuk DPPH sejumlah 4,92 mg ditimbang dan dilarutkan dalam 100 mL etanol p.a menggunakan labu ukur 100 mL, kemudian dikocok hingga homogen sampai larutan berwarna violet sehingga diperoleh larutan DPPH konsentrasi 0,125 mM. Pengerjaan dilakukan di tempat terlindung cahaya, kemudian disimpan dalam vial dalam kondisi gelap.

b. Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

Larutan DPPH 0,125 mM diambil sebanyak 2 mL dan ditambahkan etanol p.a 2 mL, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex. Pengerjaan dilakukan pada wadah gelap agar terhindar dari cahaya matahari. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mendapatkan panjang gelombang maksimal DPPH antara 400- 800 nm (Molyneux, 2004).

c. Penentuan *Operating Time*

Larutan DPPH 0,125 Mm diambil sebanyak 2 mL, kemudian ditambahkan asam askorbat konsentrasi 4 ppm sebanyak 2 mL. Larutan dihomogenkan selama 1 menit menggunakan vortex dan diukur absorbansinya tiap 1 menit selama 1 jam, dimulai dari menit ke-0 sampai menit ke-60 pada Panjang gelombang maksimum DPPH yaitu 516 nm. Waktu peredaman radikal DPPH yang menghasilkan absorbansi paling stabil merupakan *operating time* (Hidayati *et al.*, 2017).

d. Pengukuran Absorbansi dengan Spektrofotometer UV-Vis

Ekstrak dan fraksi buah mangrove dalam berbagai konsentrasi masing-masing dipipet sebanyak 2 mL, kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0,125 mM dalam vial gelap. Larutan dihomogenkan dengan menggunakan vortex dan diinkubasi dalam ruangan gelap selama waktu *operating time* (Molyneux, 2004). Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum. Pengerjaan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Hasil dari absorbansi kemudian dilakukan perhitungan %inhibisi dan perhitungan nilai IC₅₀.

Nilai IC₅₀ dihitung dari persentase penghambat aktivitas radikal bebas (%inhibisi) yang diperoleh dari nilai absorbansi sampel. Persentase inhibisi dapat dihitung dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\% \text{ Inhibisi DPPH} = \frac{AB-AA}{AB} \times 100\%$$

Keterangan:

AB= absorbansi larutan kontrol DPPH

AA= absorbansi larutan sampel

Setelah didapatkan %inhibisi, kemudian dibuatkan plot antara konsentrasi sampel terhadap %inhibisi. Dari persamaan tersebut didapatkan persamaan regresi linear $y = a + bx$. Nilai IC₅₀ diperoleh dengan memasukkan $y = 50$, sehingga nilai x yang diperoleh dinyatakan sebagai nilai IC₅₀ sampel.

Analisis Data

Nilai IC₅₀ yang diperoleh dari pengujian antioksidan dianalisis dengan uji statistik *one way* ANOVA dengan uji lanjut tukey menggunakan *software* SPSS versi 25. Analisis statistik ini dilakukan untuk melihat adanya pengaruh dan perbedaan yang bermakna pada hasil penelitian dengan signifikansi yang digunakan $p < 0,05$.

Hasil dan Pembahasan

Koleksi sampel dilakukan pada pagi hari sekitar pukul 09.00-11.00 WITA. Pada pagi hari metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman akan meningkat, karena pada pagi hari intensitas cahaya matahari rendah dan kelembapan udara yang tinggi. Kelembapan udara yang tinggi akan memacu pembentukan metabolit sekunder sebagai mekanisme pertahanan secara fisiologis (Nurnasari & Djumadi, 2010). Buah yang dipilih adalah buah yang sudah matang, yaitu ditandai dengan buah berwarna hijau tua, kotiledon (permukaan yang berbintil-bintil) berwarna kuning yang keluar dari buah dan panjang sekitar 60-70 cm (Tala, 2020).

Simplisia segar yang digunakan pada penelitian yaitu sebanyak 3 kg. Sebelum proses pencucian sampel terlebih dahulu direndam menggunakan asam sitrat 5%. Hal ini bertujuan agar sampel yang dihasilkan memberikan efek *browning* yang rendah. Asam sitrat merupakan agen penurun pH sehingga dapat menurunkan kemungkinan terjadinya oksidasi pada bahan (Chaethong dan Pongsawatmanit, 2015). Selain itu, asam sitrat juga berfungsi sebagai pengawet agar tidak terjadi pertumbuhan mikroba pada sampel (Rosyida dan Sulandari, 2014).

Pengeringan simplisia dilakukan menggunakan oven untuk mempercepat proses pengeringan. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik pada simplisia sehingga simplisia yang didapatkan tidak mudah rusak dan dapat disimpan dalam waktu yang lama (Depkes RI, 1985). Pengeringan sampel yang terlalu lama di bawah sinar matahari dan pada udara yang terbuka dapat menyebabkan kerusakan enzimatik senyawa fitokimia. Bobot simplisia kering yang diperoleh yaitu sebesar 1,17 kg, sehingga dihasilkan rendemen simplisia sebesar 39%. Syarat umum rendemen suatu bahan baku adalah >10% (Ramdhini, 2023), oleh karena itu simplisia buah mangrove dapat dikatakan baik.

Hasil dari proses ekstraksi yaitu berupa ekstrak kental dengan bobot sebesar 57,713 gram. Serbuk simplisia yang digunakan pada ekstraksi sebesar 300 g, sehingga persentase rendemen ekstrak etanol buah mangrove yang didapatkan yaitu 19,23%. Rendemen dikatakan baik apabila persentase bernilai lebih besar dari 10% (Wardaningrum *et al.*, 2019), sehingga rendemen yang diperoleh pada penelitian ini dapat dikatakan baik. Jumlah rendemen yang tinggi menandakan jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam sampel juga tinggi (Hasnaeni *et al.*, 2019).

Fraksinasi ekstrak etanol buah mangrove dilakukan dengan partisi cair-cair dengan metode *funnel*. Pemisahan dengan metode *funnel* dilakukan dengan pengocokan dalam corong pisah dalam waktu beberapa menit. Jumlah rendemen yang dihasilkan paling tinggi pada fraksi air (56,74%) dibanding

fraksi etil asetat (2,23%) dan n-heksana (5,19%). Perbedaan jumlah rendemen pada masing-masing fraksi dikarenakan jenis senyawa yang terkandung dalam ekstrak. Menurut Harbone (1987) tingginya senyawa aktif yang terdapat pada suatu sampel ditunjukkan dengan tingginya jumlah rendemen yang dihasilkan. Sehingga dapat dikatakan senyawa yang terkandung pada ekstrak lebih banyak yang bersifat polar, karena ekstrak lebih tertarik pada pelarut yang bersifat polar (air).

Tabel 1 Hasil Rendemen Fraksi-fraksi

Sampel	Bobot	Rendemen
Fraksi n-heksana	0,779 g	5,19%
Fraksi etil asetat	0,335 g	2,23%
Fraksi air	8,512 g	56,74%

Identifikasi senyawa fenolik dilakukan dengan menambahkan beberapa tetes larutan FeCl_3 5% ke dalam ekstrak dan fraksi. Hasil uji tabung pada ekstrak etanol dan fraksi-fraksi buah mangrove positif mengandung senyawa fenolik. Adanya senyawa fenolik ditandai dengan terjadinya perubahan warna larutan sampel menjadi hijau-kehitaman (Alfian dan Susanti, 2012). Perubahan warna yang terjadi pada larutan ekstrak etanol dan fraksi-fraksi dikarenakan adanya senyawa fenol dalam larutan sampel yang mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} yang berwarna hijau kehitaman.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Senyawa Fenolik dan Flavonoid

Sampel	Fenolik	Flavonoid
Ekstrak Etanol	+	+
Fraksi Air	+	+
Fraksi Etil Asetat	+	+
Fraksi n-heksana	+	-

Keterangan:

(+) = mengandung senyawa flavonoid

(-) = tidak mengandung senyawa flavonoid

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan melarutkan ekstrak dan fraksi-fraksi dengan etanol, kemudian dipanaskan pada suhu 40°C . Pemanasan dilakukan dengan tujuan untuk melarutkan senyawa flavonoid,

karena sebagian besar senyawa golongan flavonoid dapat larut dalam air panas (Khafid *et al.*, 2023). Selanjutnya ditambahkan serbuk Mg dan beberapa tetes HCl pekat. Adanya flavonoid ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi warna jingga-kemerahan. Warna jingga pada larutan terbentuk karena reaksi antara senyawa flavonoid dalam sampel dengan HCl dan logam Mg.

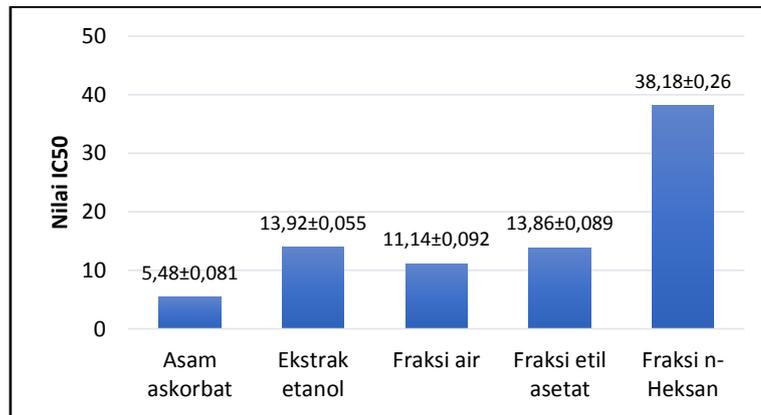
Tabel 3. Hasil IC₅₀ Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi Buah Mangrove

Sampel	IC ₅₀ ± SD	%CV
Asam askorbat	5,48±0,081 ^a	1,48%
Ekstrak etanol	13,92±0,055 ^b	0,39%
Fraksi air	11,14±0,092 ^c	0,83%
Fraksi etil asetat	13,86±0,089 ^b	0,64%
Fraksi n-Heksan	38,18±0,26 ^d	0,68%

Keterangan:

Huruf yang berbeda (a, b, c, d) pada nilai IC₅₀ menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$), sedangkan huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$).

Hasil pengujian aktivitas antioksidan larutan standar asam askorbat diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 5,48±0,081 ppm. Berdasarkan kategori aktivitas antioksidan pada menurut Molyneux (2004) maka aktivitas antioksidan standar asam askorbat tergolong sangat kuat (<50 ppm). Nilai IC₅₀ ekstrak etanol, fraksi air, etil asetat dan n-heksan buah mangrove *R. mucronata* berturut-turut 13,92±0,055 ppm, 11,14±0,092 ppm, 13,86±0,089 ppm, dan 38,18±0,26 ppm. Berdasarkan kategori aktivitas antioksidan fraksi-fraksi buah mangrove *R. mucronata* tergolong sangat kuat karena nilai IC₅₀ < 50 ppm.

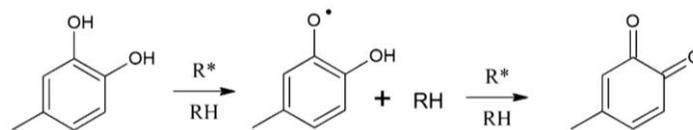


Gambar 4.9. Diagram Batang Nilai IC₅₀ Ekstrak dan Fraksi-fraksi Buah Mangrove

Berdasarkan **Gambar 4.9** dapat diketahui bahwa aktivitas antioksidan tertinggi sampel adalah pada fraksi air dengan nilai IC₅₀ sebesar 11,14 ppm. Perbedaan aktivitas antioksidan pada sampel dikarenakan adanya perbedaan polaritas dari masing-masing pelarut. Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang serupa dengan nilai IC₅₀ sebesar 13,92 dan 13,86 ppm. Hal ini dikarenakan pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat senyawa flavonoid masih terkonsentrasi pada kedua pelarut tersebut, sehingga aktivitas antioksidannya pada kedua sampel sama. Sedangkan aktivitas antioksidan terendah adalah pada fraksi n-heksan dengan nilai IC₅₀ sebesar 38,18 ppm. Hal ini disebabkan karena senyawa flavonoid sulit larut dalam pelarut nonpolar (Fessenden dan Fessenden, 1983).

Berdasarkan kategori aktivitas antioksidan menurut Molyneux (2004) aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi-fraksi buah mangrove *R. mucronata* tergolong sangat kuat (<50 ppm). Menurut Asem *et al* (2019) senyawa fenol dan flavonoid merupakan senyawa yang berpengaruh besar terhadap intensitas antioksidan dari tanaman. Fenolik merupakan antioksidan yang sangat kuat karena mengandung beberapa gugus hidroksil (-OH) dalam strukturnya yang mampu mendonorkan atom hidrogennya untuk menangkal radikal bebas. Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena flavonoid termasuk dalam golongan fenolik sehingga mampu menangkap radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogennya atau satu elektronnya

kepada senyawa radikal bebas (Kandaswami, 1997). Mekanisme penangkapan radikal bebas seperti *reactive oxygen species (ROS)* oleh senyawa fenolik dapat dilihat pada **Gambar 2**.



Gambar 4.10 Mekanisme Penangkapan Radikal Bebas Flavonoid (Wojtunik-Kulesza *et al.*, 2020)

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan buah mangrove *R. mucronata* dapat dijadikan alternatif sebagai sumber antioksidan alami, karena aktivitas antioksidannya tergolong sangat kuat sehingga dapat dimanfaatkan dan dikembangkan sebagai antioksidan alami. Antioksidan alami memiliki keunggulan dibandingkan antioksidan sintetis yaitu memiliki efek samping yang lebih rendah sehingga lebih aman untuk digunakan.

Kesimpulan

- Hasil skrining fitokimia menunjukkan buah mangrove *R. mucronata* positif mengandung senyawa fenolik dan flavonoid
- Nilai IC_{50} ekstrak etanol, fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan berturut-turut $13,92 \pm 0,055$ ppm, $11,14 \pm 0,092$ ppm, $13,86 \pm 0,089$ ppm, dan $38,18 \pm 0,26$ ppm

DAFTAR PUSTAKA

- Alfian, R. & Susanti, H. (2012). Penetapan kadar fenolik total ekstrak metanol kelopak bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dengan variasi tempat tumbuh secara spektrofotometri. *Pharmaciana*. 2(1): 73-80.
- Aliaj, Fisnik, Arlinda Bytyqi D., dan Naim Sylva. (2016). Density and Refractive Index Study of the Ternary System Benzene-Ethanol-Hexane. *International Physics Conference of the Balkan Physical Union*. 1722(),290015
- Aprilianti, N.M., Purgiyanti, dan Barlian, A. A. (2023). Penentuan Kadar Total Fenol Fraksi N-Heksan, Etil Asetat, dan Air Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 12 (1), 77- 85.
- Asem, N., Abdul Gapar, N. A., Abd Hapit, N. H., dan Omar, E. A. (2020). Correlation between total phenolic and flavonoid contents with antioxidant activity of Malaysian stingless bee propolis extract. *Journal of Apicultural Research*, 59, 4, 437–442.
- Chaethong, K., R. Pongsawatmanit. 2015. Influence of Sodium Metabisulfite and Citric Acid in Soaking Process After Blanching on Quality and Storage Stability of Dried Chili. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39 (6): 2161-2170.
- Dehpour, A. A., Ebrahimzadeh, M.A., Fazel, N.S., dan Mohammad, N. S. (2009). Antioxidant activity of methanol extract of *Ferula assafoetida* and essential oil composition. *Grass aceites*, 60 (4), 405-412.
- Fessenden, R.J. dan J.S. Fessenden. 1983. Kimia Organik. Edisi Kedua. Penerbit Erlangga, Jakarta
- Gandjar, G., dan Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Hanani, E. 2015. *Analisis Fitokimia*. EGC: Jakarta.
- Handayani, H., Feronika, H. S., dan Yuniarta. (2016). Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode *Ultrasonic Bath* (Kajian Rasio Bahan: Pelarut Dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1), 262-272.

- Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Edisi I* (Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Penerjemah). Bandung: ITB Press.
- Hartanti, A. I., Dewa, I., Mayun Permana, G., Kadek, dan G. A., Puspawati. (2021). Pengaruh Konsentrasi Etanol Pada Metode Ultrasonikasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Gonda (*Sphenoclea zeylanica*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 10(2), 2021–2163.
- Kandaswami, C., dan Middleton, E. (1997). *Flavonoids as antioxidant*, In F. Shahidi (Ed) *Natural Antioxidant Chemistry, Health Effects and Applications*. Champaign Illions: AOCS Press.
- Khafid, A., Dwijunianto W, M., Christyaji P, A., Khoirunnisa, N., Awalia, K, P., A., Widodo Agung Suedy, S., Nurchayati Y. 2023. Uji Kualitatif Metabolit Sekunder pada Beberapa Tanaman yang Berkhasiat sebagai Obat Tradisional. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 8 (1), 61-70.
- Marliana, E. (2005). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Andong (*Cordyline fruticosa* [L] A. Cheval). *Jurnal Mulawarman Scientifie*, 11(1), 71-82.
- Molyneux, P. (2004). The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science Technology*, 26(2), 211-216.
- Mulangstri, D. A. K., Budiarti, A., dan Saputri, E. N. (2017). Aktivitas Antioksidan Fraksi Dietileter Buah Mangga Arumanis (*Mangifera indica* L.) dengan Metode DPPH. *Jurnal Pharmascience*, 4(1), 85-93.
- Prakash, A., Rigelhof, F., dan Miller, E. (2001). Antioxidant Activity. *Medalliaon Laboratories Analytical Progress*, 10(2), 1-4.
- Procházková D, Bousová I, Wilhelmová N. (2011). Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*, 82(4), 513-523.
- Purwaningsih, S., Salamah, E., Yudha, A., Sukarno, P., dan Deskawati, E. 2013. Aktivitas Antioksidan Dari Buah Mangrove (*Rhizophora Mucronata* Lamk.) Pada Suhu Yang Berbeda. *JPHPI*, 16(3), 199-206.

- Rosyida, F., & Sulandari, L. (2014). Pengaruh Jumlah Gula dan Asam Sitrat terhadap Sifat Organoleptik, Kadar Air dan Jumlah Mikroba Manisan Kering Siwalan (*Borassus flabellifer*). *E-Journal Boga*, 03, 297–307.
- Setiabudi, D. & Tukiran. (2017). Uji skrining fitokimia ekstrak metanol kulit batang tumbuhan klampok watu (*Syzygium litorale*). *Unesa Journal of Chemistry*, 6(3), 155-160.
- Simanjuntak, Partomuan. (2003). Strategi pencarian senyawa bioaktif baru dari sumber bahan alami tumbuhan. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 1(2), 1-6.
- Suputri, Y. D., Ananto, A.D., dan Andayani, Y. (2021). Analisis kualitatif kandungan fenolik dalam fraksi etil asetat dan fraksi metanol dari ekstrak kulit jagung (*Zea mays* L.). *Lambung Farmasi; Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 2(1), 20-24.
- Tungmunnithum, D., Thongboonyou, A., Pholboon, A., and Yangsabai, A. 2018. Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects. *Medicines*, 5,(93), 1-16
- Waji RA & Sugrani A. 2009. *Makalah Kimia Organik Bahan. Alam Flavonoid (Quercetin)*. Makasar: Universitas. Hasanuddin
- Wardaningrum, R. Y., Jatmiko, S., dan Niken, D. (2019). Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Terpurifikasi Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) Dengan Vitamin E. *Jurnal Gizi dan Kesehatan*, 1(1), 1-9.
- Wojtunik-Kulesza, K., Oniszczyk, A., Oniszczyk, T., Combrzyński, Maciej., Nowakowska, D., and Matwijczuk, A. 2020. Influence of In Vitro Digestion on Composition, Bioaccessibility and Antioxidant Activity of Food Polyphenols—A Non-Systematic Review. *Nutrients*, 12(1401), 1-29.
- Yuslianti, E.R. 2018. *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Yogyakarta: Penerbit Deepublish.