

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 96% DAUN TIMBA TASIK (*Clerodendrum serratum*) MENGGUNAKAN METODE DPPH

Devi Novia¹, Yuska Noviyanty², Tessa Yolanda Putri³

^{1,2,3}Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu

Jl. Indragiri Gg. Tiga Serangkai Padang Harapan Kota Bengkulu

devinoviaakfar@gmail.com

ABSTRAK

Indonesia memiliki kekayaan hayati yang berpotensi sebagai bahan obat. Salah satu kekayaan itu adalah daun Timba Tasik (*clerodendrum serratum*) mengandung serat, vitamin, mineral, alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, steroid dan saponin yang mempunyai aktivitas antioksidan yang dapat menghambat radikal bebas didalam tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan fitokimia dan aktivitas antioksidan (IC₅₀) daun timba tasik dengan metode DPPH.

Daun Timba Tasik diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Kemudian dilakukan uji skrining fitokimia secara kualitatif. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dengan konsentrasi ekstrak etanol 100ppm, 200ppm 300ppm, 400 ppm dan 500 ppm. Pengukuran aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

Ekstrak etanol 96% daun Timba Tasik mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, steroid, saponin dan pada uji kuantitatif menunjukan bahwa ekstrak daun Timba Tasik (*clerodendrum serratum*) memiliki antioksidan (IC₅₀) sebesar 124,800 ppm.

Kata Kunci : Daun Timba Tasik, Ekstrak Etanol, DPPH

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki kekayaan hayati yang berpotensi sebagai bahan obat. Salah satu kekayaan itu adalah daun Timba Tasik (*clerodendrum serratum*). Daun Timba Tasik mengandung banyak flavonoid seperti quercetin, katekin, karoten asam askorbat. Selain itu juga mengandung alkaloid, fenol, tanin, steroid dan saponin yang mempunyai aktivitas

antioksidan yang dapat menghambat radikal bebas didalam tubuh. Secara tradisional daun timba tasik digunakan untuk mengobati ruam pada kulit, sebagai antiseptik, antikanker, dan antimikroba. Radikal Bebas merupakan molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan sehingga dia akan stabil jika bereaksi dengan molekul lainnya. Senyawa

radikal bebas ini cenderung mengadakan reaksi berantai yang apabila terjadi didalam tubuh maka dapat menyerang jaringan tubuh seperti protein dan DNA sehingga dapat menyebabkan pemicu penyakit seperti kanker, penuaan dini dan penyakit degeneratif lainnya (Mohamed, 2016)

Salah satu senyawa yang dapat digunakan untuk mengurangi resiko terjadinya penyakit tersebut adalah Antioksidan. Antioksidan adalah substansi yang dalam konsentrasi rendah jika dibandingkan dengan substrat yang akan teroksidasi dapat memperlambat atau menghambat oksidasi substrat (Sen *et al.*, 2010), berperan penting dalam melindungi sel-sel dari kerusakan dengan kemampuan memblokir proses kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas (Hartanto, 2012)

Komponen kimia yang berperan sebagai antioksidan adalah senyawa fenolik dan polifenol. Senyawa-senyawa golongan tersebut banyak terdapat di alam, yang memiliki kemampuan menangkap radikal bebas. Radikal bebas yang biasa digunakan sebagai model dalam mengukur daya penangkapan radikal bebas ialah 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). DPPH

merupakan senyawa radikal bebas yang dapat direduksi dengan menerima atom hidrogen dari antosianin, sehingga menyebabkan perubahan warna dari ungu tua menjadi kuning pucat (Mohamed, 2016), perubahan warna tersebut menunjukkan bahwa sampel yang diuji memiliki aktivitas antioksidan (Sayuti, 2015)

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dan menguji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun Timbasik (*Clerodendrum serratum*).

METODE PENELITIAN

Verifikasi Tanaman

Verifikasi dilakukan di laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Bengkulu.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas seperti tabung reaksi (pyrex), beaker gelas (pyrex), erlenmeyer (pyrex), pipet tetes (pyrex), gelas ukur (pyrex), labu ukur (pyrex), kuvet, mikropipet (ohaus), cawan penguap, batang pengaduk, aluminium foil, oven, timbangan analitik (shimadzu), waterbath (mamert), spatel, hot plate

(ohaus), Rotary Evaporator (biobase), kaca arloji, krus, dan seperangkat alat spektrofotometri UV-Vis (shimadzu).

Bahan yang digunakan adalah daun timba tasik (*Clerodendrum serratum*), Aquadest, etanol 96%, etanol p.a, HCl (P), NaOH 10%, Mg, FeCl₃, kloroform (Merck), metanol (Merck), dan H₂SO₄ (Merck), DPPH (1-1-Difenil-2-pikrihidrazil) (Merck).

Prosedur Kerja.

Penyiapan Sampel

Pada umumnya simplisia melewati proses pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering dan penyimpanan.

Proses Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi sebanyak 700 gr simplisia daun timba tasik (*clerodendrum serratum*) direndam kedalam pelarut etanol 96% dalam botol gelap yang tertutup selama 5-7 hari dengan sesekali dilakukan pengocokan, kemudian ekstrak cair yang didapat diuapkan dengan rotary evaporator sehingga didapatkan ekstrak kental.

Evaluasi Ekstrak

a. Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui sifat fisik

berupa bau, warna, konsistensi dari ekstrak daun timba tasik (*Clerodendrum serratum*). Pemeriksaan ini dilakukan secara visual dengan mengamati bentuk, warna, dan bau (Depkes, 2000).

b. Rendemen

Tujuan rendemen untuk mengetahui perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal (Depkes, 2000).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat simplisia yang diperoleh}} \times 100\%$$

c. Uji Skrining Fitokimia

1. Uji Alkaloid

Sampel 0,5 gram sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambah 1 mL HCl 2 N dan 9 mL aquadest, kemudian dipanaskan di atas *waterbath* dalam waktu 2-3 menit. Dinginkan larutan sampel kemudian saring filtrate. Hasil filtrate ditampung pada tiga tabung rekasi berbeda. Filtrat ditambahkan larutan Mayer, larutan Bouchrat, dan larutan Dragendrof. Positif alkaloid setelah penambahan larutan Mayer, Bouchard, dan Dragendrof secara berturut-turut adalah terbentuk endapan putih dan merah bata (Kumoro, 2015).

2. Uji Flavonoid

Sampel 0,5 gram dimasukkan ke

dalam tabung reaksi. Dimasukkan 2 mL methanol P. tambahkan 0,5 gram serbuk Mg dan 2 mL HCl 2 N. Tabung dikocok secara vertical kemudian diamkan selama 1 menit. Sampel positif flavonoid apabila terjadi perubahan warna merah tua (Abd.Malik, 2014).

3. Uji Fenol

Sampel 1 gram ditambahkan dengan 2 tetes larutan FeCl₃ 5%. Perubahan warna biru tua atau hijau tua menandakan sampel positif fenol (Syafitri, 2014).

4. Uji Steroid/Triterpenoid

Sampel 50 mg ekstrak dilarutkan dalam kloroform. Ditambahkan 0,5 mL larutan asam asetat anhidrida dan 2 mL H₂SO₄. Hasil positif terpenoid dan steroid adalah warna merah tua dan warna hijau kebiruan (Syafitri, 2014).

5. Uji Tanin

Ekstrak sebanyak 1 gram ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1 %. Apabila terjadi perubahan warna hijau kehitaman atau biru tinta maka sampel tersebut mengandung tannin, dengan penambahan larutan gelatin 1% jika timbul endapan putih berarti sampel mengandung tanin (herborne, 1987).

6. Uji Saponin

Pada uji saponin, parameter yang dilihat adalah terjadinya pembentukan

busa pada sampel setelah penambahan aquadest panas dan busa tetap dalam keadaan stabil setelah penambahan 1 tetes HCl 2 N (Syafitri, 2014).

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Timba Tasik Dengan Metode DPPH

a. Pembuatan Larutan DPPH

Larutan *stock* DPPH dibuat dengan menimbang 5 mg padatan DPPH kemudian dilarutkan dalam 100 mL metanol p.a sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 50 ppm (Tristantini *et al.*, 2016).

b. Pembuatan Larutan Uji Sampel

Pertama dibuat larutan induk yaitu dari 50 mg ekstrak daun timba tasik dalam 50 mL metanol p.a, sehingga diperoleh kadar 1000 ppm. Dari kadar 1000 ppm dibuat konsentrasi sebesar 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm dan 500 ppm. Masing-masing konsentrasi, dibuat sebanyak 25 ml dalam pelarut metanol p.a.

c. Pengukuran Absorban Blanko

Larutan blanko terdiri dari 2 mL DPPH 50 ppm dan 2 mL metanol p.a. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit di tempat gelap. Kemudian di uji nilai absorbansinya menggunakan

Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

d. Pembuatan Larutan Pembanding (Vitamin C)

Vitamin C ditimbang sebanyak 5 mg dilarutkan dalam metanol p.a lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, volume dicukupkan menggunakan methanol p.a sampai tanda batas. Dari kadar ini dibuat seri konsentrasi sebesar 5, 10, 20, dan 40 ppm

Penentuan Aktivitas Antioksidan

Masing-masing konsentrasi larutan uji dipipet sebanyak 2 mL dengan pipet volume masukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH 50 ppm. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit di tempat gelap. Kemudian diukur nilai absorbansinya menggunakan Spektrofotometri UV-VIS pada panjang gelombang 517 nm.

Analisis Data

Penentuan aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase (%) inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus (Molyneux, 2004).

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi Blangko} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Blangko}} \times 100\%$$

Absorban Serapan radikal DPPH pada

blanko : panjang gelombang (517 nm)

Absorban Serapan sampel dalam sampel : radikal DPPH pada panjang gelombang (517 nm)

Nilai IC_{50} dari ekstrak etanol daun timba tasik dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier. Konsentrasi ekstrak etanol daun timba tasik sebagai sumbu X dan nilai % inhibisi sebagai sumbu Y. Dari persamaan:

$$Y = a + bx$$

Penentuan nilai IC_{50} dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

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

Keterangan:

Y = % inhibisi (50)

a = *Intercept* (perpotongan garis di sumbu Y)

b = *Slope* (Kemiringan)

X = Konsentrasi

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun timba tasik merupakan tumbuhan lokal yang sering digunakan secara turun temurun yang diambil dari daerah semidang alas maras selumma. Pembuatan simplisia dilakukan sesuai dengan prosedur dimana pembuatan dimulai dengan sortasi basah untuk memisahkan zat pengotor dari sampel.

Setelah itu dilakukan sortasi kering dengan cara diangin-anginkan di suhu ruangan dengan tujuan agar tidak merubah kandungan kimia yang terdapat pada sampel. Setelah itu sampel dihaluskan agar memudahkan proses ekstraksi. proses Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% setelah itu didapat ekstrak kental. Ekstraksi simplisia ekstrak daun timba tasik dengan menggunakan metoda maserasi didapatkan nilai rendemen pada tabel I.

Tabel I. Rendemen Ekstrak Daun Timba Tasik

Sampel yang digunakan	Berat simplisia kering (Gram)	Pelarut Etanol 96% (ml)	Berat ekstrak kental (gram)	Rendemen
Daun timba tasik	700 gram	7000 ml	120 gr	17,14%

Hasil rendemen dari suatu sampel sangat diperlukan karena untuk mengetahui banyaknya ekstrak yang diperoleh selama proses ekstraksi. Selain itu, data hasil rendemen tersebut ada hubungannya dengan senyawa aktif yang terkandung dalam sampel juga semakin banyak. Sebagaimana yang telah dilaporkan (Harbone, 1987) bahwa tingginya senyawa aktif yang terdapat pada suatu sampel ditunjukkan dengan tingginya jumlah rendemen yang

dihasilkan.

Tabel II. Uji Organoleptis

Sampel	Organoleptis		
	Bau	Warna	Konsentrasi
Ekstrak daun timba tasik	Khas bau daun timba tasik	Hijau kehitaman	Cairan Kental (semi padat)

Uji Skrining Fitokimia

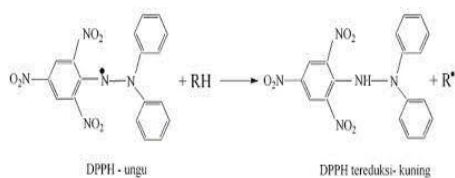
Skrining fitokimia ekstrak dilakukan dengan menggunakan uji tabung yaitu mereaksikan sampel dengan larutan pereaksi spesifik untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder. Berikut merupakan tabel dari hasil skrining fitokimia ekstrak daun timba tasik.

Tabel III. Hasil Skrining Fitokimia

Metabolit Sekunder	pereaksi	Hasil pengamatan	Ket
alkaloid	Mayer & dragendorf	Terbentuk endapan putih dan merah bata	+
flavonoid	Hcl dan Mg	Merah tua	+
Fenol	FeCl ₃	biru tua atau hijau tua	+
Triterpenoid	Lieberment-buchard	Merah tua	+
tanin	FeCl ₃ dan gelatin	Terbentuk endapan	+
saponin	Aquadest	Terbentuk busa	+

Berdasarkan hasil pemeriksaan skrining fitokimia diketahui bahwa ekstrak etanol daun timba tasik memiliki kandungan metabolit skunder yaitu alkaloid, flavonoid, fenol, triterpenoid, tanin dan saponin.

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH Secara Spektrofotometri



Gambar 1. Reaksi Terbentuknya Warna Kuning Karena Adanya Antioksidan

Pengurangan intensitas warna larutan DPPH tersebut dihasilkan oleh bereaksinya molekul radikal DPPH dengan satu atom hidrogen yang dilepaskan komponen bahan uji sehingga terbentuk senyawa 1,1 difenil-2-pikrilhidrazin yang berwarna kuning. Pengurangan intensitas warna ungu larutan DPPH karena adanya penambahan senyawa penangkap radikal bebas dapat dihitung secara kuantitatif dari berkurangnya absorbansi larutan tersebut. Pada prinsipnya absorbansi yang diukur adalah absorbansi larutan DPPH yang tidak bereaksi dengan bahan uji atau DPPH yang masih tersisa dalam larutan, sehingga dengan bertambahnya konsentrasi senyawa penangkap radikal bebas dalam larutan, maka absorbansi larutan akan berkurang. Hal ini berarti bahwa aktivitas penangkapan radikal

bebasnya semakin meningkat. Menurut metode ini, aktivitas antioksidan dari senyawa uji dinyatakan dengan IC_{50} . Nilai IC_{50} diperoleh dari persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi senyawa uji dengan persen penangkapan radikal yang dimilikinya. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin aktif suatu fraksi/ekstrak tanaman sebagai antioksidan (Moleniux, 2004).

Uji aktivitas antioksidan daun timba tasik dilakukan yang pertama membuat larutan baku DPPH dengan menimbang 5 mg dpph kemudian dilarutkan dalam 100 ml metanol p.a sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 50 ppm kemudian membuat larutan uji sampel dengan menimbang 50mg sampel add 50 ml metanol pa dalam labu ukur 50 ml. Pengenceran dari larutan uji tersebut dibuatlah berbagai konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300ppm, 400 ppm, dan 500 ppm. Yaitu konsentarsi 100 ppm diambil sebanyak 20 ml, 200 ppm diambil 20 ml, 300 ppm diambil 20 ml, 400 ppm diambil 20 ml, dan 500 ppm diambil 20 ml. Pada masing-masing konsentrasi, ditambahkan metanol pa sampai tanda batas (25 mL). Dari masing-masing konsentrasi tersebut

diambil sebanyak 0,5 ml ditambahkan 3,5 ml DPPH masukan ke dalam tabung reaksi yang sudah di lapisi aluminium foil. Diinkubasi pada tempat gelap, operating time selama 30 menit (Yanuarto dkk, 2019) dari masing-masing sampel. Setelah diinkubasi terjadilah perubahan warna, apabila terdapat senyawa antioksidan pada sampel tersebut maka akan berubah menjadi kuning (Moleniux, 2004). Lalu membuat larutan pembanding vitamin c (asam askorbat) yaitu dengan menimbang vitamin c sebanyak 5 mg kemudian dilarutkan dengan metanol p.a lalu dimasukan ke dalam labu ukur 50 ml volume dicukupkan dengan metanol sampai tanda batas dari kadar dibuat seri konsentrasi sebesar 5,10,20, dan 40 ppm.

Setelah itu larutan tersebut diambil dan dimasukan ke dalam kuvet lalu diukur nilai absorbansinya di Spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang 517 nm. Berikut hasil uji perubahan warna yang terjadi pada sampel daun timba tasik. Perubahan Warna Larutan DPPH dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 2. Sebelum Operating Time

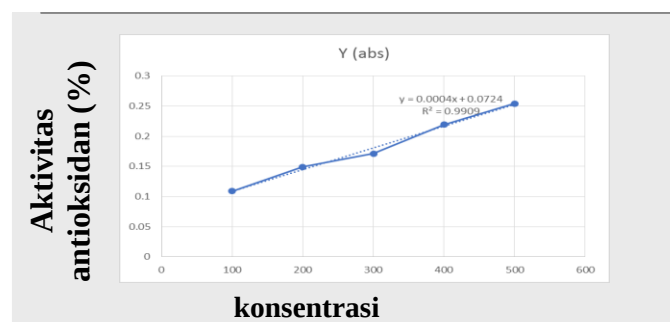


Gambar 3. Sesudah Operating Time

Penentuan Aktivitas Antioksidan

Tabel IV. Daun Timba Tasik Absorbansi dan % Antioksidan

Konsentrasi	Absorbansi	% Antioksidan
100	0.109	83,10 %
200	0.149	76,89%
300	0.171	73.48%
400	0.219	66.04%
500	0.254	60.62%



Gambar 4. Kurva regresi linier daun timba tasik dengan % antioksidan dengan metode DPPH

Linearitas suatu metode didasarkan pada nilai koefisien korelasi (r) yang dihasilkan dari suatu persamaan regresi linier. Semakin nilai r mendekati ± 1 maka linearitasnya semakin baik. Daun Timba Tasik $r = 0,990$ sedangkan untuk baku pembandingnya menurut jurnal (Konda dkk, 2019) Vitamin C = 0,9824 Data linearitas dapat diterima jika memenuhi nilai $r > 0,9$. Dari hasil tersebut, persamaan kurva baku untuk larutan vitamin c memenuhi persyaratan linieritas yang baik sedangkan untuk larutan uji daun timba tasik juga memenuhi persyaratan linieritas yang baik (Indraningsih, 2020)

IC_{50} merupakan konsentrasi antioksidan yang diperlakukan untuk menangkap 50% radikal DPPH. Nilai IC_{50} diperoleh dari persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan konsentrasi senyawa uji (x) dengan Aktivitas antioksidan yang di hasilkan (y). Semakin kecil nilai IC_{50} , maka sampel uji mempunyai keefektifan sebagai antioksidan yang lebih baik. Dari hasil perhitungan IC_{50} untuk daun timba tasik mempunyai nilai antioksidan karena larutan uji daun timba tasik mengalami perubahan warna. Untuk daun timba tasik nilai IC_{50} nya 124,800 ppm dan Vitamin C

nilai IC_{50} 26,24 ppm (Konda dkk, 2019). Dari nilai tersebut dapat di ketahui bahwa daun timba tasik memiliki aktivitas antioksidan yang sedang karena dilihat dari nilai $IC_{50} > 150$ ppm sedangkan Vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat nilai $IC_{50} < 50$ ppm, Hal ini menunjukkan bahwa daya aktivitas antioksidan sampel vitamin C lebih besar di banding daun timba tasik dengan menggunakan metode DPPH, karena semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antioksidan (Tristantini dkk, 2016).

Tabel V. Tingkat Kekuatan Antioksidan dengan Metode DPPH Intensitas

Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH Intensitas	Nilai IC_{50} (μ /m)
Sangat kuat	< 50
Kuat	50-100
Sedang	101-150
Lemah	>150

Tabel VI. Nilai IC_{50} Daun Timba Tasik dan Vitamin C

Sampel Dan Baku pembanding	IC_{50} (μ /m)	Tingkat aktivitas antioksidan (IC_{50}) dengan metode penangkapan radikal bebas DPPH		
		Sangat kuat (<50)	Sedang (101-150)	Lemah (>150)
Sampel Daun Timba Tasik	124,800		√	
Vitamin C	26,24	√		

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan ekstrak etanol daun timba tasik (*clerodendrum serratum*) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, terpenoid, tanin dan saponin

Terdapat kandungan antioksidan didalam ekstrak daun Timba Tasik (*clerodendrum serratum*) dengan pengujian menggunakan metode DPPH.

Pada ekstrak daun timba tasik terdapat nilai IC₅₀ sebesar 124,800 ppm yang kategori sedang dalam aktivitas antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd.Malik F, Waris R. *Flavonoid Total Ekstrak Metanolik Herba. J Fitofarmaka Indonesia*. 2014;1(1):1–5. 53.
- Hanani, E, 2014, *Analisis Fitokima*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta
- Hartanto, Hondi. 2012. *Identifikasi Potensi Antioksidan Minuman Cokelat dari Kakao Lindak (Theobroma Cacao L.) dengan Berbagai Cara Preparasi: Metode Radikal Bebas 1,1 Diphenyl-2-Picrylhydrazil (Dpph)*. Skripsi S-1 Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Surabaya.
- Harborne JB., 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Bandung: ITB
- Kartikasari, Dian, Nurkhasanah, Pramono, suwijoyo. 2014, *Karakterisasi Simplisia Dan Ekstrak Etanol daun Bertoni (Stevia Rebaudiana) dari Tiga Tempat Tumbuh*, Jurnal Farmasi.
- Kesuma, Dharma dkk. 2015 *Kajian Teori Antioksidan dan Praktik di Sekolah*.Bandung: PT Remaja Rosdakarya
- Kumoro, A. C. 2015, *Teknologi Ekstraksi Senyawa Bahan Aktif Dari Tanaman Obat*.Plantaxia, Yogyakarta.
- Marliana SD, Suryanti V, Suyono. *Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechium edule Jacq . Swartz .) dalam Ekstrak Etanol*. Biofarmasi. 2005;3(1):26–31. 54
- Molyneux P. 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 26(2): 211-219.
- Marjoni, R. 2016, *Dasar-Dasar Fitokimia*. CV. Trans Info Media: Jakarta Timur.
- Putranti, Ristyana Ika. 2013. *Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut Sargassum duplicatum dan Turbinaria ornata dari Jepara*.Tesis.Universitas Diponegoro. Semarang
- Robins. 2007. *Buku ajar patologi*. Vol 1, Edisi 7. Jakarta: penerbit buku

kedokteran EGC.

Syafitri NE, Bintang M, Falah S. Current Biochemistry Current Biochemistry Kandungan Fitokimia, Total Fenol, dan Total Flavonoid Ekstrak Buah Harendong (*Melastoma affine* D. Don). Curr Biochem. 2014;1(3):105–15.

Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., & Gabriel, J., 2016. Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L). *Universitas Indonesia*, 2.