

ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF N-HEXAN, ETHYL ACETATE, AND METHANOL EXTRACTS OF DEWANDARU LEAVES (*Eugenia uniflora* L.)

Isye Martiani, Ida Fatimah Azzahra, Farid Perdana

Fakultas MIPA-Universitas Garut, Jl.Jati No. 42B, Tarogong, Garut

Korenspondensi: Isye Martiani (isye.martiani66@gmail.com)

ARTICLE HISTORY

| Received: 27 Mei 2017

| Revised: 8 Juni 2017

| Accepted: 10 Juni 2017

Abstract

*Free radicals can cause a condition called oxidative stress, oxidative stress is what causes a variety of degenerative and chronic diseases. Antioxidant compound required to prevent it. Dewandaru leaves (*Eugenia uniflora* L.) is an alternative traditional medicine that potentially has antioxidant activity because it contains flavonoid compounds. The aim of this research to determine the antioxidant activity of dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) leaf extract using different polarity of solvents using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. Multilevel extraction carried out with n-hexane, ethyl acetate, and methanol using maceration method. The filtrate evaporated and obtained the n-hexane, ethyl acetate, and methanol extracts. Antioxidant activity of extracts compared with antioxidant activity of standard (vitamin C). The results showed n-hexane extract had weak antioxidant activity, with IC_{50} values 280.356 ppm, moderate category ethyl acetate extract with IC_{50} values 129.967 ppm, and very strong antioxidant activity in methanol extract with IC_{50} value of 22.329 ppm.*

Key words: dewandaru, *Eugenia uniflora* L, antioxidant, DPPH

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK N-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN METANOL DAUN DEWANDARU (*Eugenia uniflora* L.)

Abstrak

Radikal bebas dapat menyebabkan kondisi yang disebut stres oksidatif, stres oksidatif inilah yang menyebabkan berbagai penyakit degeneratif dan kronis. Senyawa antioksidan diperlukan untuk mencegahnya. Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) adalah obat tradisional alternatif yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan karena mengandung senyawa flavonoid. Tujuan dari penelitian ini untuk menentukan aktivitas antioksidan dari ekstrak daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) menggunakan polaritas pelarut yang berbeda menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Ekstraksi bertingkat dilakukan dengan n-heksana, etil asetat, dan metanol menggunakan metode maserasi. Filtrat diuapkan dan diperoleh ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol. Aktivitas antioksidan ekstrak dibandingkan dengan aktivitas antioksidan standar (vitamin C). Hasil penelitian menunjukkan ekstrak n-

heksana memiliki aktivitas antioksidan yang lemah, dengan nilai IC_{50} 280,356 ppm, ekstrak etil asetat kategori sedang dengan nilai IC_{50} 129,967 ppm, dan aktivitas antioksidan yang sangat kuat pada ekstrak metanol dengan nilai IC_{50} sebesar 22,329 ppm.

Kata Kunci : daun dewandaru, *Eugenia uniflora* L, antioksidan, DPPH

Pendahuluan

Salah satu negara dengan keanekaragaman hayati yang melimpah yaitu Indonesia. Segala jenis tumbuhan dapat hidup di dataran Indonesia. Sehingga dari zaman nenek moyang sudah banyak memanfaatkan sumber daya alam Indonesia dengan berbagai cara, seperti untuk pengobatan. Indonesia merupakan daerah tropis dimana menempati peringkat kedua setelah Brazil dalam hal keanekaragaman hayatinya. Lebih dari 20.000 jenis tumbuhan Indonesia tumbuh di Indonesia, tetapi hanya 1000 jenis saja yang sudah didata dan sekitar 300 jenis yang sudah bisa dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional.¹

Keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kesehatan manusia. Sumber antioksidan bisa dari berbagai sumber salah satunya asupan makanan. Sehingga kekurangan asupan antioksidan bisa menyebabkan ketidakseimbangan radikal bebas didalam tubuh sehingga menyebabkan beberapa penyakit degeneratif seperti diabetes melitus dan penuaan dini.²

Salah satu tumbuhan yang berpotensi memiliki aktivitas menangkal radikal bebas adalah dewandaru (*Eugenia uniflora* L.), karena diketahui mengandung senyawa golongan flavonoid, tannin dan saponin.³

Metode

Penelitian ini diawali dengan pengumpulan bahan daun dewandaru yang diperoleh dari Kadungora kabupaten Garut. Selanjutnya menetapkan kebenaran sampel tanaman dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) berdasarkan ciri-ciri morfologis yang ada pada daun dewandaru yang dilakukan di Herbarium Bandungense, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati ITB. Determinasi ini bertujuan untuk memastikan bahwa memang benar tanaman yang digunakan adalah dewandaru (*Eugenia uniflora* L.).

Selanjutnya dewandaru diolah menjadi simplisia kemudian dilakukan pemeriksaan meliputi karakteristik simplisia yang terdiri dari pemeriksaan kadar air, susut pengeringan, kadar abu total, kadar abu larut air, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, serta kadar sari larut etanol. Kemudian dilakukan penapisan fitokimia yang bertujuan mengetahui metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia, meliputi pengujian terhadap alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kuinon, fenol, dan steroid/triterpenoid.

Metode ekstraksi dilakukan dengan metode ekstraksi bertingkat dengan cara dingin yaitu maserasi dengan menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan metanol. Filtrat tersebut kemudian dikumpulkan dan ditampung. Larutan dipekatkan dengan menggunakan alat rotary evaporator, sehingga dihasilkan ekstrak kental. Kemudian pada masing-masing ekstrak dilakukan pengujian aktivitas antioksidan secara kualitatif dengan menggunakan KLT dan secara kuantitatif dengan analisis menggunakan spektrofotometer UV-Sinar Tampak dengan metode DPPH.

Prosedur Kerja

Penyiapan Bahan

Penyiapan bahan meliputi determinasi tumbuhan, pengumpulan bahan, dan pembuatan simplisia. Determinasi dilakukan di Herbarium Bandungense Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung. Kemudian bahan yang digunakan berasal dari Kadungora, Kabupaten Garut. Proses pembuatan simplisia meliputi proses sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering dan proses penghalusan yang selanjutnya disimpan di dalam wadah yang tertutup rapat.⁴

Karakterisasi Simplisia

Penentuan karakterisasi simplisia meliputi makroskopik, pemeriksaan kadar air, pemeriksaan susut pengeringan, pemeriksaan kadar sari larut air, pemeriksaan kadar sari larut etanol, pemeriksaan kadar abu total, dan pemeriksaan kadar abu tidak larut asam.⁵

Penapisan Fitokimia

Proses penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui metabolit yang terkandung dalam simplisia yaitu Alkaloid, Fenol, Flavonoid, Saponin, Kuinon, dan Steroid/Triterpenoid.^{6,7,8}

Ekstraksi

Terhadap serbuk simplisia 500 gram dilakukan ekstraksi bertingkat dengan metode maserasi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan metanol yang dilakukan masing-masing selama 3 x 24 jam dengan sesekali dilakukan pengadukan dan penggantian pelarut setiap 24 jam. Selanjutnya dilakukan penyaringan dan filtratnya ditampung dalam botol penampung. Filtratnya yang diperoleh kemudian diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental n-heksan, etil asetat, dan methanol.⁵

Pengujian Antioksidan dengan Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak sampel daun dewandaru dilakukan pengujian KLT dengan menotolkan ekstrak pada plat silika gel GF254. Penotolan dilakukan sebanyak 2-3 kali dan dibiarkan hingga mengering. Kemudian plat tersebut dikembangkan dengan fase gerak kloroform-metanol (7:3) untuk pemantauan KLT ekstrak n-heksan dan etil asetat serta n-heksan-etil asetat (7:3) untuk pemantauan KLT ekstrak metanol. Setelah dikembangkan sampai batas elusi kemudian dihentikan, lalu plat dibiarkan hingga kering. Plat KLT yang telah kering kemudian diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm, 366 nm dan sinar tampak. Setelah itu plat disemprot dengan menggunakan penampak bercak DPPH 0,2%

Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Proses pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH meliputi beberapa tahapan yaitu pembuatan larutan stok DPPH, pembuatan larutan stok vitamin C, pengukuran absorbansi blanko, pembuatan larutan uji vitamin C, pengukuran aktivitas antioksidan vitamin C, pembuatan larutan uji ekstrak dan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak.⁹

Pembuatan Larutan Stok DPPH

Sebanyak 10 mg DPPH dilarutkan dengan metanol pro analis dalam labu ukur 10 mL sehingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 1000 ppm. Kemudian dibuat larutan uji 50 ppm dengan melakukan pengenceran. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam vial coklat dan ditutup dengan aluminium foil agar terlindung dari cahaya.

Pembuatan Larutan Stok Vitamin C

Sebanyak 10 mg Vitamin C dilarutkan dengan metanol pro analis dalam labu ukur 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Kemudian dibuat larutan uji 50 ppm dengan melakukan pengenceran dan selanjutnya akan digunakan untuk membuat seri konsentrasi untuk pengukuran aktivitas antioksidan.

Pengukuran Absorban DPPH

Pengujian dilakukan dengan memipet 2 mL DPPH dan 1 mL metanol pro analis diinkubasi pada suhu 37 pada ruangan gelap. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 516 nm.

Pembuatan Larutan Uji Vitamin C

Dibuat larutan vitamin C sebanyak 50 ppm sebagai larutan induk kemudian diencerkan pada konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm.

Pengukuran Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Pengukuran aktivitas antioksidan pada pembanding yaitu vitamin C dilakukan dengan mengambil 1 mL larutan vitamin C dari berbagai konsentrasi yang telah dibuat sebelumnya. Selanjutnya setiap larutan ditambahkan sebanyak 2 mL larutan DPPH, dilakukan inkubasi pada kondisi terhindar dari cahaya selama 30 menit dengan suhu 37. Selanjutnya dilakukan pengukuran pada Panjang gelombang maksimumnya yaitu 516 nm.

Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

Penyiapan larutan sampel dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- i) Ekstrak n-heksan daun dewandaru
Disiapkan larutan induk dengan konsentrasi 2000 ppm, yang didapat dari 20 mg ekstrak n-heksan yang dilarutkan oleh metanol pro analis sampai volume 10 mL. Selanjutnya diencerkan pada konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm.
- ii) Ekstrak etil asetat daun dewandaru
Disiapkan larutan induk dengan konsentrasi 2000 ppm, yang didapat dari 20 mg ekstrak etil asetat yang dilarutkan oleh metanol pro analis sampai volume 10 mL. Selanjutnya diencerkan pada konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, dan 100 ppm.
- iii) Ekstrak metanol daun dewandaru
Disiapkan larutan induk dengan konsentrasi 2000 ppm, yang didapat dari 20 mg ekstrak metanol yang dilarutkan oleh metanol pro analis sampai volume 10 mL. Selanjutnya diencerkan pada konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm.

Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat, dan Metanol Daun Dewandaru

Untuk melakukan uji aktivitas antioksidan maka diambil masing-masing 1 mL dari sampel yaitu ekstrak n-heksan, etil asetat dan metanol daun dewandaru serta vitamin C sebagai pembanding dari konsentrasi yang telah dibuat sebelumnya kemudian ditambahkan sebanyak 2 mL larutan DPPH. dari berbagai konsentrasi masing-masing ditambahkan 2 mL DPPH. dilakukan inkubasi selama 30 menit pada kondisi terhindar dari cahaya dengan suhu 37. Selanjutnya dilakukan pengukuran pada Panjang gelombang maksimumnya yaitu 516 nm.

Analisis Data

Aktivitas antioksidan dapat diketahui dengan memperoleh data % inhibisi (persen peredaman radikal bebas) serta IC50 yang menyatakan konsentrasi yang dapat meredam radikal bebas sebesar 50%. Nilai % inhibisi dapat ditentukan dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorban Blanko} - \text{Absorban Sampel}}{\text{Absorban Blanko}} \times 100\%$$

Terdapat beberapa kategori penggolongan aktivitas antioksidan dari nilai IC50 yang dihasilkan yaitu : sangat kuat bila IC50 kurang dari 50 ppm, kuat apabila nilai IC50 50-100 ppm, sedang apabila nilai IC50 100-250 ppm, dan lemah apabila nilai IC50 250-500 ppm.

Hasil dan Pembahasan

Bahan yang digunakan yaitu daun dewandaru yang diperoleh dari Kadungora Kabupaten Garut, Jawa Barat. Berdasarkan hasil determinasi diketahui bahwa tumbuhan uji merupakan daun dewandaru dengan nama latin *Eugenia uniflora* L. Makroskopik daun dewandaru dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel 1.



Gambar 1. Makroskopik daun dewandaru

Tabel 1. Makroskopik daun dewandaru

No	Parameter	Hasil
1.	Bentuk	Lonjong dengan ujung runcing
2.	Ukuran	Panjang 7,2 cm Lebar 2,2 cm
3.	Warna	Hijau
4.	Rasa	Pahit

Kemudian hasil pemeriksaan karakterisasi simplisia daun dewandaru dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan karakterisasi simplisia daun dewandaru

No.	Pemeriksaan	Hasil (%b/b)
1.	Kadar Air	6,00*
2.	Susut Pengerinan	7,50
3.	Kadar Sari Larut Air	6,67
4.	Kadar Sari Larut Etanol	8,33
5.	Kadar Abu Total	8,67
6.	Kadar Abu Tidak Larut Asam	0,83

Keterangan : *%v/b

Karakterisasi simplisia dilakukan untuk memastikan bahwa bahan yang digunakan memenuhi standar mutu serta aman untuk dijadikan sebaga obat. Namun untuk daun dewandaru sendiri belum ditemukan adanya standar untuk karakterisasinya.

Berdasarkan hasil karakterisasi diperoleh kadar air sebesar 6%, dimana berdasarkan ketentuan umum bahwa kadar air minimal dari simplisia yang berasal dari daun adalah sebesar $\leq 10\%$ sehingga dapat diketahui jika simplisia yang digunakan telah memenuhi persyaratan. Tujuan ditentukannya kadar air karena air merupakan tempat tumbuhnya mikroba sehingga simplisia tidak dapat disimpan dalam waktu yang lama jika kadar airnya tidak memenuhi syarat.

Susut pengeringan menunjukkan kadar senyawa yang hilang pada proses pengeringan dengan suhu 105°C , sehingga senyawa yang dapat menguap adalah air dan senyawa-senyawa lain yang mudah menguap pada suhu tersebut. Hasil susut pengeringan daun dewandaru diketahui lebih besar dari kadar airnya, sehingga dapat disimpulkan di dalamnya terdapat senyawa lain yang mudah menguap seperti minyak atsiri.

Salah satu karakterisasi yang dilakukan yaitu penetapan kadar sari larut air dengan tujuan untuk mengetahui banyaknya senyawa yang terlarut dalam air. Penetapan kadar sari larut etanol bertujuan untuk mengetahui jumlah kandungan senyawa yang dapat terlarut dalam etanol.

Penetapan kadar abu total dilakukan dengan tujuan agar bisa memberikan gambaran terkait kandungan mineral dari faktor internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya simplisia. Penetapan kadar abu tidak larut asam dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui jumlah abu yang diperoleh dari faktor eksternal dari pengotor yang berasal dari pasir atau tanah silikat.

Selanjutnya dilakukan penapisan fitokimia untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam simplisia. Hasil penapisan fitokimia daun dewandaru dapat dilihat pada Tabel 3.

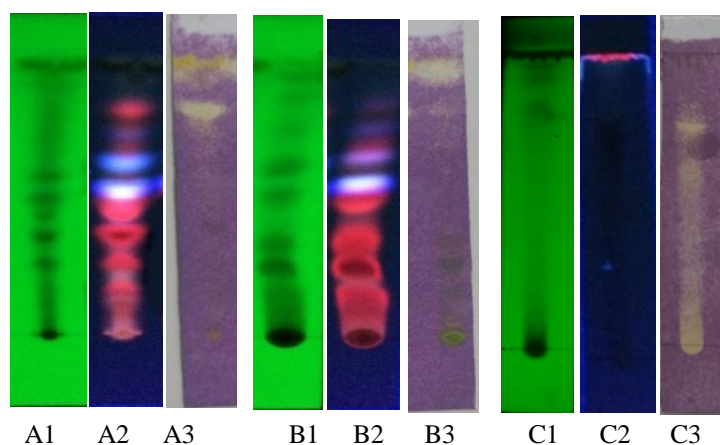
Tabel 3. Hasil penapisan fitokimia daun dewandaru

No.	Golongan Senyawa	Hasil Pengamatan			
		Simplisia	Ekstrak n-Heksan	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak Metanol
1.	Alkaloid	-	-	-	-
2.	Flavonoid	+	+	+	+
3.	Tanin	+	-	-	+
4.	Saponin	+	-	-	+
5.	Kuinon	+	+	+	+
6.	Fenol	+	-	+	+
7.	Steroid/Triterpenoid	+	+	+	+

Keterangan: [+] = Terdeteksi

[-] = Tidak Terdeteksi

Tabel di atas menunjukkan bahwa kandungan metabolit sekunder dalam simplisia dan ekstrak dapat berbeda tergantung pelarut yang digunakan untuk proses ekstraksinya. Setiap golongan senyawa dapat tertarik ke dalam pelarut berdasarkan kelarutan dan kepolarannya mengikuti prinsip like dissolve like. Golongan senyawa non-polar dapat tertarik dalam pelarut non-polar, golongan senyawa semi polar dapat tertarik dalam pelarut semi polar dan senyawa polar dapat larut dalam senyawa polar.



Keterangan : A) ekstrak n-heksan; B) ekstrak etil asetat; C) ekstrak metanol; 1) di bawah sinar UV254nm; 2) di bawah sinar UV 366nm; dan 3) di bawah sinar tampak setelah disemprot
Gambar 2. Hasil pemantauan KLT masing-masing ekstrak

Pengujian aktivitas antioksidan pada masing-masing sampel ekstrak daun Dewandaru (*Eugenia uniflora L.*) secara kualitatif dilakukan menggunakan KLT dengan menggunakan fase diam silika gel GF254 dan fase gerak kloroform-metanol (7:3) untuk pemantauan KLT ekstrak n-heksan dan etil asetat serta n-heksan-etil asetat (7:3) untuk pemantauan KLT ekstrak metanol penampak bercak DPPH 0.2%. Senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan akan ditandai dengan adanya bercak berwarna kuning-jingga dengan latar berwarna ungu. Hasil pola KLT dapat dilihat pada gambar 2.

Selanjutnya dilakukan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak dengan berbagai pelarut yaitu n-heksan, etil asetat dan metanol daun Dewandaru (*Eugenia uniflora L.*) secara kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometer UV-Sinar Tampak dengan metode DPPH. Pengukuran serapan maksimum yang didapatkan yaitu pada 516 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum dari hasil pengukuran DPPH pada konsentrasi 50 ppm. Alasan dipilihnya metode DPPH yaitu karena pengerjaannya sederhana, mudah, cepat, sensitif dan hanya memerlukan sedikit sampel. Selain itu DPPH juga merupakan radikal bebas yang stabil dibandingkan dengan penggunaan radikal bebas pada pengujian yang lainnya. Dilakukan inkubasi selama 30 menit bertujuan untuk memberikan waktu terjadinya reaksi pendonoran terhadap radikal bebas yang optimum. Penyimpanan pada tempat gelap bertujuan untuk menghindari terurainya larutan DPPH yang memiliki karakteristik mudah teroksidasi. Terjadinya proses pendonoran terhadap radikal bebas ditandai dengan perubahan warna pada larutan sampel yang telah dicampurkan dengan DPPH, hal ini terjadi karena adanya senyawa dalam sampel yang mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas DPPH sehingga berubah warna menjadi kekuningan. Hasil pengujian aktivitas antioksidan pada pembandingan vitamin C dapat dilihat pada Tabel 4, dan hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak n-heksan, etil asetat, dan metanol dapat dilihat pada Tabel 5, 6, dan 7.

Tabel 4. Hasil pengujian aktivitas antioksidan pada pembanding vitamin C Pembahasan

Absorban DPPH	Konsentrasi Vit. C (ppm)	\bar{x} Absorban	SD	% inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
0,781	2	0,635	0,001	18,694	11,090
	4	0,585	0,017	25,096	
	6	0,525	0,017	32,778	
	8	0,478	0,006	38,796	
	10	0,418	0,006	46,479	

Tabel 5. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak n-heksan

Absorban DPPH	Konsentrasi (ppm)	\bar{x} Absorban	SD	% inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
0,781	50	0,561	0,002	28,169	280,356
	100	0,537	0,001	31,242	
	150	0,489	0,002	37,388	
	200	0,454	0,002	41,869	
	250	0,411	0,002	47,375	

Tabel 6. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat

Absorban DPPH	Konsentrasi (ppm)	\bar{x} Absorban	SD	% inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
0,781	25	0,649	0,001	16,901	129,967
	50	0,575	0,001	26,376	
	75	0,519	0,002	33,547	
	100	0,456	0,001	41,613	
	125	0,410	0,001	47,503	

Tabel 7. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak methanol

Absorban DPPH	Konsentrasi (ppm)	\bar{x} Absorban	SD	% inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
0,781	5	0,652	0,001	16,517	22,329
	10	0,563	0,001	27,913	
	15	0,510	0,001	34,699	
	20	0,430	0,001	44,942	
	25	0,345	0,001	55,826	

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan daun dewandaru memiliki aktivitas antioksidan yang lemah, dengan nilai IC₅₀ 280,356 ppm, ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antioksidan sedang dengan nilai IC₅₀ 129,967 ppm, serta aktivitas antioksidan yang sangat kuat pada ekstrak metanol dengan nilai IC₅₀ 22,329 ppm.

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian daun dewandaru memiliki aktivitas antioksidan, dan aktivitas antioksidan terbaik ditunjukkan oleh ekstrak metanol. Sehingga tumbuhan ini kemungkinan dapat menjadi alternative sumber antioksidan alami.

Saran

Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut terhadap aktivitas antioksidan fraksi daun dewandaru serta harus dilakukan pengujian lain agar tumbuhan ini dapat dipastikan aman dikonsumsi oleh masyarakat.

Daftar Pustaka

1. Aksara, W., dkk. (2013). Identifikasi senyawa alkaloid dari ekstrak metanol kulit batang mangga (*Mangifera indica* L.). Jurnal Entropi. (8) 514-515p.
2. Rahmayani, I., dan Nurdianti, L. (2016). Aktivitas antioksidan ekstrak daun mangga (*Mangifera indica* L.), var gedong menggunakan metode DPPH. Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada. (16) 17-22p.
3. Hutapea, J.R. (1994). Investaris tanaman obat Indonesia. Jilid III. Departemen Kesehatan RI dan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 29-30p.
4. Ditjen POM. (1985). Cara pembuatan simplisia. Jakarta: Depkes RI 2-15p.
5. Depkes RI. (2013). Suplemen III farmakope herbal indonesia. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI. 99-102p.
6. Djamil R, Anelia R. (2009). Penapisan fitokimia, uji bslt, dan uji antioksidan ekstrak metanol beberapa spesies papilionacea. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia.7(2) 65-71p.
7. Pratiwi Dina. Sri Wahdaningsih, Isnindar. (2013). Uji aktivitas antioksidan daun bawang mekah (*Eleutherine Americana* Merr.) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-Pikrilhidrazil). Traditional Medicine Journal.18(1) 9-16p.
8. Muthoharoh, Ainun dan Zainab. (2015). Penapisan fitokimia, penetapan kadar naftokuinon total, dan aktivitas antifungsi fraksi tidak larut etil asetat ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) terhadap *Candida albicans* ATCC 10231. Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta. Pharmacia. 5 (2) 199-208p.
9. Rimawi FA, Rishmawi S, Ariqat SH, Khalis MF , Warad Ismail,Salah Z. (2016). Anticancer activity, antioxidant activity, and phenolic and flavonoid of wild *Tragopongan porrifolius* plant extract. Evid Based Complement Alternative Med.2-3p.