

ABSTRAK

Ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans Wurmb.*) diketahui memiliki kandungan senyawa flavonoid, glikosida, saponin, tanin, dan steroid/triterpenoid yang berfungsi sebagai langkah awal dalam penelitian antioksidan. Fraksi yang dibuat adalah fraksi etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat. Penelitian ini bertujuan mengetahui metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan fraksi etanol, fraksi n-heksana, dan fraksi etil asetat daun nipah (*Nypa fruticans Wurmb.*). Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi cair-cair menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat. Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode *DPPH* (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), dengan parameter IC_{50} sebagai indikator potensi aktivitas. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa fraksi etanol mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, dan triterpenoid/steroid; fraksi n-heksana mengandung alkaloid, fenol, dan triterpenoid/steroid; sedangkan fraksi etil asetat mengandung alkaloid, fenol, dan triterpenoid/steroid. Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa Nilai IC_{50} yang dimiliki fraksi etanol sebesar 27,78 μ g/ml, fraksi n-heksana 72,19 μ g/ml, dan fraksi etil asetat sebesar 28,13 μ g/ml. Sehingga disimpulkan fraksi etanol daun nipah memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong sangat kuat.

Kata kunci : Daun Nipah, Fraksi, Metabolit Sekunder, Antioksidan.

ABSTRACT

Nipah leaf extract (Nypa fruticans Wurmb.) is known to contain flavonoids, glycosides, saponins, tannins, and steroids/triterpenoids, which serve as a starting point for antioxidant research. The fractions prepared were ethanol fraction, n-hexane fraction, and ethyl acetate fraction. This study aims to identify the secondary metabolites and antioxidant activity of the ethanol fraction, n-hexane fraction, and ethyl acetate fraction of nipah leaves (Nypa fruticans Wurmb.). The extraction process was carried out using the maceration method with 96% ethanol as the solvent, followed by liquid-liquid fractionation using n-hexane and ethyl acetate as solvents. Antioxidant activity was tested using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method, with the IC_{50} parameter as an indicator of activity potential. The phytochemical screening results showed that the ethanol fraction contained alkaloids, flavonoids, saponins, phenols, and triterpenoids/steroids; the n-hexane fraction contained alkaloids, flavonoids, saponins, phenols, and triterpenoids/steroids; the n-hexane fraction contained alkaloids, phenols, and triterpenoids/steroids; while the ethyl acetate fraction contained alkaloids, phenols, and triterpenoids/steroids. The antioxidant activity test results showed that the IC_{50} value of the ethanol fraction was 27.78 $\mu\text{g/ml}$, the n-hexane fraction was 72.19 $\mu\text{g/ml}$, and the ethyl acetate fraction was 28.13 $\mu\text{g/ml}$. Thus, it was concluded that the ethanol fraction of nipah leaves has very strong antioxidant activity.

Key words : Nipah leaves, Fractions, Secondary Metabolite, Antioxidant.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu Negara Asia yang memiliki berbagai macam ragam potensi kekayaan flora yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman pangan maupun obat, khususnya di Kalimantan barat merupakan daerah yang kekayaan hutannya masih terjaga, salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai pangan lokal adalah buah nipah (*Nypa fruticans Wurmb.*) yang banyak tumbuh didaerah Pantai di muara sungai yang berair payau tanaman ini tumbuh subur di daerah hilir sungai yang terdapat banyak endapan tanah dan lumpur. Luas hutan nipah yang ada di Indonesia mencapai 4.237.000 Ha yang persebarannya di wilayah Kalimantan, Sumatera, Sulawesi dan Papua (Retno, dkk, 2020). Kehadiran tanaman nipah sebagian hanya dimanfaatkan buahnya untuk dikonsumsi dan lidinya untuk dijadikan sebagai sapu lidi. Namun, daun nipah hanya dijadikan limbah padahal yang dianggap limbah ini memiliki nilai yang tinggi serta dapat dimanfaatkan daunnya. Ekstrak daun nipah (*Nypa fruticans Wurmb.*) diketahui memiliki kandungan senyawa flavonoid, glikosida, saponin, tanin, dan steroid/triterpenoid yang berfungsi sebagai langkah awal dalam penelitian antioksidan (Anggraini, dkk, 2018).

Ekstrak daun nipah setelah diuji nilai antioksidannya menunjukkan bahwa menunjukkan bahwa ekstrak kasar daun nipah memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat karena memiliki nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$ yaitu 43,59 $\mu\text{g/mL}$ pada daun nipah tua dan 29,04 $\mu\text{g/mL}$ pada daun nipah muda (Retno, dkk, 2020). Apabila nilai

IC₅₀ suatu ekstrak kurang dari 50 µg/mL maka aktivitas antioksidannya tergolong sangat kuat (Molyneux, 2004). Penelitian sebelumnya menunjukkan aktivitas antioksidan yang signifikan dari ekstrak daun nipah, yang memiliki potensi untuk penelitian lanjutan dengan pemisahan fraksi yang diperoleh dengan pelarut etanol yang merupakan pelarut semi-polar, pelarut n-heksana yang merupakan pelarut non-polar, dan pelarut etil asetat yang merupakan pelarut semi-polar (Yosina dkk, 2015).

Fraksi adalah hasil pemisahan beberapa tahap dari ekstrak berdasarkan sifat fisika dan kimia yang mengandung campuran komponen bahan utama aktif yang belum mengalami kristalisasi, tidak mengandung senyawa aktif tunggal dominan, kecuali secara alamiah mengandung senyawa aktif yang sangat tinggi. Fraksi didapatkan dari proses fraksinasi yang merupakan memisahkan senyawa kimia berdasarkan tingkat kepolarannya (Hasanah dkk, 2027).

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron pada radikal bebas sehingga menjadi stabil, senyawa antioksidan dapat menahan reaksi radikal bebas yang bersifat tidak stabil. Antioksidan memiliki peran penting untuk kesehatan tubuh salah satunya merupakan senyawa yang menanggulangi radikal bebas terutama dapat meregenerasi kulit dan menghilangkan kerutan akibat penuaan dini (Rasydy dkk, 2021).

Dengan demikian berdasarkan latar belakang tersebut akan melakukan uji antioksidan dari fraksi etanol, fraksi n-heksana, dan fraksi etil asetat. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pelarut yang paling kuat nilai antioksidannya.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah golongan komponen metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi etanol, fraksi n-heksana, dan fraksi etil asetat ?
2. Berapakah nilai IC_{50} yang dimiliki fraksi etanol, fraksi n-heksana, dan fraksi etil asetat?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui golongan metabolit sekunder yang tertarik selama proses fraksinasi dari fraksi etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat pada daun nipah (*Nypa fruticans Wurmb.*).
2. Untuk mengetahui nilai IC_{50} yang dimiliki fraksi etanol, fraksi n-heksana, dan fraksi etil asetat pada daun nipah (*Nypa fruticans Wurmb.*).

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan dan ilmu pengetahuan tentang aktivitas antioksidan yang terdapat pada fraksi etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat pada daun nipah (*Nypa fruticans Wurmb.*)

2. Bagi Ilmu Pengetahuan

Sebagai sumber acuan yang dapat digunakan untuk penelitian selanjutnya bagi perkembangan ilmu pengetahuan. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi baru.

3. Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan kepada masyarakat bahwa fraksi daun nipah memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Tanaman Nipah

Indonesia merupakan negara yang memiliki hutan nipah terluas yang ada di dunia luas hutan nipah yang ada di Indonesia mencapai 4.237.000 Ha yang persebarannya di wilayah Kalimantan, Sumatera, Sulawesi dan Papua (Retno, dkk, 2020). Daun nipah (*Nypa fruticans Wurmb.*) diketahui memiliki kandungan senyawa flavonoid, polifenol dan saponin yang berfungsi sebagai antioksidan kategori sangat kuat (Anggraini dkk., 2018).

2.1.1 Morfologi Tanaman Nipah

Tanaman nipah (*Nypa fruticans Wurmb*) memiliki substrat hidup yang beragam dengan kadar air pada tanah tidak terlalu tinggi, salinitas rendah dan jauh dari pantai, serta dapat hidup di pesisir pantai yang mempunyai kadar air pada tanah yang sangat tinggi dengan salinitas yang tinggi. Batang nipah menjalar di tanah membentuk rimpang yang terendam oleh lumpur. Hanya daunnya yang muncul di atas tanah, sehingga nipah nampak seolah-olah tak berbatang. Akarnya serabut yang panjangnya bisa mencapai belasan meter. Dari rimpangnya tumbuh daun majemuk (seperti pada jenis palem lainnya) hingga setinggi 9 meter dengan tangkai daun sekitar 1-1,5 meter. Daun nipah yang mudah berwarna kuning sedangkan yang tua berwarna hijau. Daunnya seperti susunan daun kelapa dan panjang gagang atau batang pohon sepanjang 1-2 meter.

2.1.2 Klasifikasi Tanaman Nipah



Gambar 2.1 Tanaman Nipah (*Nypa fruticans* Wurmb.)

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Tracheophyta</i>
Kelas	: <i>Lilliopsida</i> (monocots)
Ordo	: <i>Arecales</i>
Famili	: <i>Arecaceae</i>
Genus	: <i>Nypa</i>
Spesies	: <i>Nypa fruticans</i> Wurmb

2.1.3 Kandungan dan Manfaat Tanaman Nipah

Tanaman Nipah (*Nypa fruticans* Wurmb) merupakan tanaman yang memiliki banyak manfaat untuk kesehatan , misalnya untuk obat sakit perut, diabetes dan obat penurun panas, arang dari akar nipah bisa digunakan sebagai obat sakit gigi dan sakit kepala (Irmayeni,2010). Selain sebagai obat tradisional nipah (*Nypa fruticans* Wurmb) mengandung ekstrak aktif yang bermanfaat untuk menghambat penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas di dalam tubuh. Hal ini menunjukkan bahwa adanya senyawa kimia tertentu dalam tumbuhan tersebut yang berpotensi sebagai antioksidan (Putri dkk, 2013).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, daun nipah (*Nypa fruticans wurmb*) memiliki kadar air sebesar 5,64%, kadar sari larut air sebesar 19,27%, kadar sari larut etanol sebesar 16,20%, kadar abu total 6,36%, dan kadar abu tidak larut asam 1,59%. Daun nipah (*Nypa fruticans Wurmb*) juga memiliki kandungan kimia seperti flavonoid, glikosida, saponin, tannin, dan steroid/triterpenoid (Anggraini dkk, 2018).

2.2 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron pada radikal bebas sehingga menjadi stabil, senyawa antioksidan dapat meredam reaksi radikal bebas yang bersifat tidak stabil. Antioksidan memiliki peran penting untuk kesehatan tubuh. Salah satu peran antioksidan yaitu merupakan senyawa yang menanggulangi radikal bebas terutama dapat meregenerasi kulit dan menghilangkan kerutan akibat penuaan dini (Rasydy dkk, 2021).

Antioksidan sintesis dan antioksidan alami adalah dua kategori antioksidan. Menurut penelitian, senyawa antioksidan sintesis BHT dan BHA dapat menyebabkan kerusakan hati dan kanker pada hewan uji. Akibatnya, penggunaan antioksidan sintesis ini telah dibatasi. Antioksidan alami, di sisi lain, adalah antioksidan yang berasal dari sumber alami, seperti buah-buahan. Pisang adalah salah satu buah dengan potensi antioksidan tinggi karena dapat meningkatkan jumlah antioksidan yang hilang dalam tubuh dengan melawan radikal bebas (Rahmi dkk, 2022). Berikut merupakan sifat antioksidan berdasarkan nilai IC₅₀

Tabel 1. Sifat Antioksidan berdasarkan nilai IC₅₀

Nilai IC ₅₀	Sifat Antioksidan
50 ppm<	Sangat kuat
50 ppm-100 ppm	Kuat
100 ppm-150 ppm	Sedang
150 ppm-200 ppm	Lemah

(Sumber. Molyneux, 2004)

2.3 Radikal Bebas

Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai molekul atau fragmen molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya (Halliwell dan Gutteridge, 2007). Radikal bebas dapat terbentuk melalui peristiwa metabolisme sel normal, kekurangan gizi dan akibat respons terhadap pengaruh dari luar tubuh seperti polusi dan sinar ultraviolet. Radikal bebas berperan dalam terjadinya berbagai penyakit degeneratif karena radikal bebas dapat merusak makromolekul lipid membran sel, DNA, dan protein (Valko dkk, 2006).

2.4 Simplisia

Menurut Farmakope Herbal Indonesia Simplisia merupakan bahan baku proses pembuatan ekstrak, baik sebagai bahan obat atau sebagai produk. Ekstrak tumbuhan obat dapat berfungsi sebagai bahan baku obat tradisional atau sebagai produk yang dibuat dari simplisia (Depkes RI, 1979). Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain simplisia dikeringkan Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelican atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa bagian tanaman atau eksudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan atau

zat-zat yang berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Depkes RI, 1995).

2.5 Ekstrak

Definisi ekstrak adalah produk dari penarikan bahan aktif dari simplisia nabati maupun hewani dengan proses ekstraksi menggunakan pelarut, dimana Pelarut diuapkan kembali hingga zatnya pekat bentuk ekstraknya yang diekstraksi dapat berupa ekstrak kental maupun ekstrak kering tergantung pada jumlah pelarut yang menguap. Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia menggunakan pelarut dengan menyesuaikan dari tingkat kepolaran metabolit sekunder, serta mudah menguap (Depkes RI, 1995).

2.5.1 Maserasi

Meserasi yaitu proses seluruh atau sebagian serbuk simplisia tumbuhan herbal dimasukan dalam wadah gelap tertutup rapat yang telah berisi pelarut dan di diamkan selama beberapa hari sesuai dengan ketentuan pada setiap tumbuhan herbal tersebut, paling sedikit selama tiga hari sambil diaduk. Hasil meserasi yaitu adalah hasil setelah dilakukannya penyaringan 3 x 24 jam (Depkes RI, 2017).

2.5.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode yang paling umum digunakan untuk mendapatkan sari atau kandungan senyawa aktif pada suatu tanaman biasanya dilakukan dengan teknik memisahkan kandungan bahan alam. Zat-zat aktif tersebut terdapat didalam sel seperti daun, batang, bunga, buah mengambil senyawa aktif yang terkandung

dalam tanaman tersebut dilakukan pencampuran tanaman dengan pelarut yang sifatnya sama. Tujuan ekstraksi adalah menggunakan pelarut organik tertentu untuk mengekstraksi dan memisahkan berbagai senyawa yang larut dalam pelarut yang berbeda, proses ekstraksi ini mengandalkan kemampuan pelarut organik untuk menembus dinding sel untuk mendapatkan komponen kimia yang terkandung dalam tanaman tersebut. Salah satu metode ekstraksi yang digunakan dalam tanaman yaitu maserasi (Diana, 2022).

2.5.3 Fraksinasi

Fraksinasi adalah proses pembuatan fraksi yang merupakan teknik pemisahan ekstrak hasil maserasi yang telah diuapkan sehingga diperoleh ekstrak kental. Fraksinasi adalah teknik pemisahan menggunakan 2 macam pelarut atau lebih namun dilakukan secara bertahap yang tidak saling bercampur dan memiliki Tingkat kepolaran yang berbeda. Fraksinasi dilakukan untuk mengetahui sifat kepolaran dari senyawa yang terpisah (Handayani, 2019).

2.6 Uraian Pelarut

2.6.1 Etanol

Etanol adalah campuran etilalkohol dan air. Mengandung tidak kurang dari 97,4 % v/v atau 92,0% dan tidak lebih dari 95,2% v/v atau 92,7 C₂H₆O. Memiliki pemerian cairan tidak berwarna , jernih, mudah menguap dan mudah bergerak; bau has; rasa panas. Mudah terbakar dengan memberikan nyala biru yang tidak berasap. Memiliki kelarutan sangat mudah larut dalam air, dalam kloroform P dan dalam eter P. Khasiat dan penggunaan sebagai zat tambahan (Depkes RI, 1979).

2.6.2 n-Heksana

n-Heksana adalah senyawa organik dengan nama lain Heksan dengan rumus C_6H_{12} . Pemerian hablur menguap, tidak berwarna atau serbuk hablur putih tidak berbau, rasa memmbakar, lama kemudian agak pahit, dengan kelarutan ; larut dalam 1,5 bagian air,dalam 12,5 mL etanol p dan dalam lebih kurang 10 bagian kloroform, dengan kegunaan sebagai eluen (Depkes RI, 1995).

2.6.3 Etil Asetat

Etil asetat adalah senyawa organik dengan rumus $CH_3CO.O.C_2H_5$. mengandung tidak kurang dari 98,0% $C_4H_8O_2$. Pemerian cairan, tidak berwarna; bau khas. Kelarutan larut dalam 15 bagian air; dapat bercampur dengan etanol (95%) P dan dengan eter P. Jarak didih tidak kurang dari 95% tersuling pada suhu antara 76° dan 78° (Depkes RI, 1979).

2.7 Skrining Fitokimia

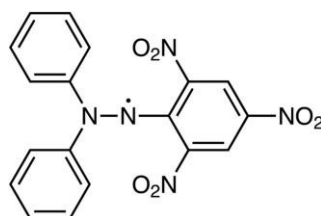
Fitokimia merupakan kajian ilmu yang mempelajari sifat dan interaksi senyawaan kimia metabolit sekunder dalam tumbuhan. Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi golongan kimia dari suatu tanaman obat. Skrining fitokimia merupakan metode yang digunakan untuk mempelajari komponen senyawa aktif yang terdapat pada sampel, yaitu mengenai struktur kimianya, biosintesisnya, penyebarannya secara alamiah dan fungsi biologisnya, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari bermacam-macam jenis tanaman (Julianto, 2019).

2.8 Vitamin C

Vitamin C atau yang juga dikenal sebagai asam askorbat, adalah antioksidan yang umum digunakan. Vitamin ini larut dalam air dan dapat ditemukan dalam berbagai makanan. Dengan dosis yang tepat, vitamin C berfungsi efektif sebagai antioksidan yang menghambat radikal bebas dalam tubuh. Secara kimia, vitamin C dapat bereaksi dengan sebagian besar radikal bebas dan oksidan. Asupan harian yang direkomendasikan adalah 75 mg untuk wanita dewasa dan 90 mg untuk pria dewasa. Pemberian suplemen vitamin C setelah aktivitas fisik berat disarankan sebagai perlindungan dan antioksidan terhadap stres oksidatif (Yimcharoen dkk, 2019).

Vitamin C dipilih sebagai kontrol positif karena beberapa alasan. Sebagai antioksidan sekunder, vitamin C sangat efektif dalam menangkap radikal bebas dan mencegah reaksi berantai yang merusak. Selain itu, vitamin C mudah didapatkan dan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi. Struktur kimianya yang lebih polar dibandingkan vitamin lain, ditambah dengan adanya gugus hidroksi bebas, menjadikannya penangkap radikal bebas yang efisien.

2.9 Metode DPPH



Gambar 2.2 Struktur Kimia 1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazyl

(Sumber. Molyneux, 2004)

Metode DPPH merupakan metode yang digunakan untuk mengetahui kemampuan aktivitas antioksidan dalam menangkap radikal bebas dengan mentransfer atom hidrogen pada senyawa DPPH, sehingga DPPH yang diukur pada panjang gelombang mengalami reduksi yang menyebabkan perubahan warna yang semula berwarna ungu pekat menjadi warna kuning (Riskiana dan Vifta, 2021).

Metode DPPH memiliki kelebihan dibandingkan metode lainnya karena senyawa radikal yang digunakan bersifat lebih stabil sehingga penerapannya lebih mudah. Prinsip kerja metode DPPH adalah adanya atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang berikatan dengan elektron bebas pada senyawa radikal sehingga menyebabkan perubahan dari radikal bebas (diphenylpicrylhydrazyl) menjadi senyawa non-radikal (diphenylpicrylhydrazine). Hal ini ditandai dengan perubahan warna dari ungu menjadi kuning (senyawa radikal bebas tereduksi oleh adanya antioksidan) Pada penetapan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH digunakan parameter IC₅₀ yaitu konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menangkap radikal DPPH (Finna dkk, 2018).

2.10 Spektrofotometri UV-Vis

Alat yang digunakan untuk mengukur panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan Cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel disebut spektrofotometer UV-Vis. Spektrofotometri adalah teknik analisis yang menggunakan monokromator prisma atau kisi difraksi dengan detektor fototube untuk mengukur serapan sinar monokromatis oleh lajur larutan berwarna pada panjang gelombang tertentu. Secara sederhana, spektrofotometri adalah teknik untuk mengukur seberapa banyak energi cahaya yang diserap oleh suatu sistem kimia melalui panjang gelombang dan radiasi. Spektrofotometer UV-Vis yang

digunakan untuk mengukur transmitansi atau absorbansi sampel berdasarkan panjang gelombangnya (UV: 185–400 nm; Vis: 400–760 nm) (Yudoyono, 2017).

2.11 Hukum Beer-Lambert

Hukum Beer-Lambert adalah hubungan linear antara konsentrasi dan absorbansi, koefisien optik dan koefisien penyerapan molar suatu larutan. Lebih jauh, hukum Beer-Lambert menyatakan bahwa terdapat hubungan linear antara absorbansi dan konsentrasi larutan. Lebih jauh lagi, hubungan ini memungkinkan perhitungan konsentrasi larutan dengan mengukur absorbansinya. Hukum Beer-Lambert menjadi dasar aspek kuantitatif spektrofotometri dimana konsentrasi dapat dihitung berdasarkan rumus di atas. Absorbtivitas (ϵ) merupakan konstanta yang tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel. (Day dan Underwood, 1986).

Rumus ; $A = \epsilon \cdot b \cdot c$
--

Keterangan :

A = absorbansi (serapan)

ϵ = absorbtivitas molar (L/mol cm)

b = lebar kuvet (cm)

c = konsentrasi larutan (mol/cm)

Dimana A adalah absorbansi; ϵ adalah absorptivitas spesifik yang merupakan suatu konstanta dan tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet, dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel melainkan tergantung pada suhu, pelarut, struktur molekul, dan panjang gelombang radiasi; jika c yang merupakan konsentrasi dinyatakan dalam bentuk molar, nilai ϵ disebut absorptivitas molar yang disimbolkan dengan ϵ . Tebal kuvet (cm) adalah b ; dan c adalah konsentrasi. Dapat dikatakan bahwa absorbansi adalah parameter yang sangat penting dalam analisis

kuantitatif karena meningkat secara linier dengan konsentrasi. Hukum Lambert Beer menyatakan bahwa intensitas yang diteruskan oleh larutan zat penyerap berbanding lurus dengan tebal kuvet dan konsentrasi larutan (Rohman dkk, 2023).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *dry cabinet*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *Rotary evaporator*, botol vial gelap, aluminium foil, piknometer, timbangan analitik (*Wiggen Hauser*), oven, pipet tetes, gelas ukur, erlemmeyer, corong, mikropipet, termometer, *vortex*, *beaker glass*, sendok tanduk, batang pengaduk, kurvet, Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu).

3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun nipah muda (*Nypa fruticans Wurmb.*) sebagai sampel, etanol 96%, enanol p.a, Etil Asetat, n-Heksana, Kloroform, aseton, serbuk DPPH, amoniak 10%, petroleum eter, FeCl_3 1%, HCl 1%, HCl 10%, HCl pekat, amoniak 25%, Asam nitrat (HNO_3) pekat, NaOH 5%, H_2SO_4 pekat, H_2SO_4 encer, H_2SO_4 10N, asam asetat encer, asam perklorat, petroleum eter, pereaksi meyer, lempengan Mg.

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia dan Laboratorium Mikrobiologi Akademi Farmasi Yarsi Pontianak pada bulan Agustus 2024.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pengambilan Bahan

Pengambilan sampel daun nipah (*Nypa fruticans Wurmb.*) dilakukan di daerah Jeruju Besar Desa Sungai Kupah, Kecamatan Sungai Kakap, Kabupaten Kubu raya, Kalimantan Barat.

3.4.2 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Fakultas Matematika dan Ilmu Alam, Universitas Tanjungpura Pontianak.

3.4.3 Pembuatan Simplisia Daun Nipah

Bahan baku yang sudah terkumpul selanjutnya dibuat simplisia. Penyiapan simplisia daun nipah muda (*Nypa fruticans Wurmb.*) dilakukan dengan cara sortasi basah untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya dari simplisia. Kemudian dicuci bersih menggunakan air mengalir, ditiriskan, dan dilakukan perajangan. Kemudian dikeringkan dengan bantuan *dry cabinet* sehingga diperoleh simplisia yang kering. Setelah itu, dilakukan sortasi kering untuk memisahkan benda benda asing pada saat pengeringan dan dihaluskan simplisia menggunakan blender sehingga diperoleh serbuk simplisia. Kemudian, disimpan serbuk simplisia ke dalam wadah yang tertutup rapat dan dihitung rasio simplisia pengeringan (Depkes RI, 1995).

$$\text{Rasio susut pengeringan} = \frac{\text{Berat basah} - \text{Berat kering}}{\text{Berat basah}} \times 100\%$$

3.4.4 Ekstraksi Etanol Daun Nipah

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara dimasukkan serbuk simplisia daun nipah yang telah ditimbang ke dalam bejana maserasi dan ditambahkan etanol 96% sehingga volumenya $\pm$ 3-5 cm diatas permukaan serbuk simplisia. Kemudian ditutup, dan dibiarkan selama 3×24 jam sambil sesekali diaduk. Setiap 1×24 jam, pelarut etanol 96% diganti dan disaring sehingga diperoleh ekstrak cair. Ekstrak cair kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan bila perlu dilanjutkan penguapan menggunakan *waterbath* sampai diperoleh ekstrak kental daun nipah. Setelah didapatkan ekstrak kental etanol daun nipah, dilakukan perhitungan % rendemen (Depkes RI, 1995).

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

3.4.5 Fraksinasi Daun Nipah

Ekstrak kental yang diperoleh kemudian difraksinasi dengan metode cair- cair menggunakan corong pisah. Fraksinasi dilakukan dengan cara menimbang 10 gram ekstrak kental daun nipah kemudian dilarutkan dengan etanol 96% sebanyak 100 mL dan ditambah 100 mL n-heksana, lalu dikocok perlahan hingga tercampur dan didiamkan sehingga membentuk dua lapisan, yakni lapisan n-heksana dan lapisan etanol, kedua lapisan tersebut dipisahkan. Kemudian fraksi etanol dipartisi dengan pelarut etil asetat sebanyak 100 mL, lalu dikocok secara perlahan hingga tercampur dan didiamkan hingga membentuk dua lapisan, yakni lapisan etil asetat dan lapisan etanol. Kedua lapisan tersebut kemudian dipisahkan. fraksi etil asetat kemudian

dipekatkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh fraksi kental (Monica dkk, 2021)

$$\% \text{ Rendemen fraksi} = \frac{\text{Bobot fraksi kental}}{\text{Bobot ekstrakkental}} \times 100\%$$

3.5 Skrining Fitokimia

1) Uji Alkaloid

a. Reaksi Mayer

Sebanyak 1 mL sampel ditambahkan pereaksi mayer. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan warna putih (Meriam, 2022).

b. Reaksi Dragendorff

Sebanyak 1 mL sampel ditambahkan asam klorida atau asam sulfat kemudian ditambahkan pereaksi dragendroff. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan oranye kecoklatan (Meriam, 2022).

c. Reaksi Wagner

Sebanyak 1 mL sampel, ditambahkan pereaksi Wagner adanya endapan coklat menunjukkan keberadaan senyawa alkaloid (Meriam, 2022).

2) Uji Flavonoid

a. Shinoda Test

Sebanyak 1 mL sampel, ditambahkan pita Mg dan 3 tetes asam klorida pekat (HCl pekat). Adanya senyawa flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna oranye (flavon), merah muda (flavanol) dan ungu (xanthone) (Meriam, 2022).

b. Test H_2SO_4 (Asam Sulfat)

Sebanyak 1 mL sampel, ditambahkan 3 tetes asam sulfat (H_2SO_4) pekat, menghasilkan larutan kuning tua, larutan merah kebiruan (khalkon, auron), oranye-merah (flavonon) menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Meriam, 2022).

3) Uji Triterpenoid/Steroid

a. Salkowski

Sebanyak 1 mL sampel ditambahkan 1 mL kloroform dan 1 mL asam sulfat (H_2SO_4) pekat, adanya steroid ditandai dengan terbentuknya 2 lapisan, ada lapisan warna merah atau oranye atau hijau-biru (Meriam, 2022).

4) Uji Saponin

Sebanyak 0,5 g sampel ke dalam tabung reaksi, tambahkan 10 mL air panas, dinginkan dan kemudian kocok kuat-kuat selama 10 detik. Terbentuk buih yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1 cm sampai 10 cm. Pada penambahan 1 tetes HCl 2 N, buih tidak hilang (Meriam, 2022).

5) Uji Polifenol

Larutan sampel fraksi daun nipah sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 2 tetes $FeCl_3$. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam (Meriam, 2022).

6) Uji Tanin

Sampel dilarutkan dalam aquades panas kemudian didinginkan. Setelah itu ditambahkan 5 tetes NaCl 10% dan disaring. Filtrat dibagi 3

bagian A, B, dan C. Filtrat A digunakan sebagai blangko, ke dalam filtrat B ditambahkan Ditambahkan NaCl 1% dan Gelatin 5%, dan ke dalam filtrat C ditambahkan FeCl 5%. Kemudian amati perubahan yang terjadi. Hasil positif ditentukan jika pada tabung B menghasilkan endapan putih dan tabung C terjadi warna biru kehitaman (Meriam, 2022).

3.6 Penentuan Nilai Antioksidan Fraksi

Penentuan nilai antioksidan dilakukan dengan metode DPPH yang dimodifikasi dari penelitian Puspitasari dan Ririn (2017).

3.6.1 Penentuan Larutan DPPH

Larutan DPPH dibuat dengan menimbang serbuk sebanyak 10 mg, kemudian dimasukan kedalam labu ukur 100 mL, ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas dan diperoleh konsentrasi 100 ppm. DPPH diencerkan hingga dapat memberi konsentrasi 0,2-0,8 (Susilowati dan Wulandari, 2019).

3.6.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH diambil sebanyak 4 mL dan dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian diukur panjang gelombang menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Susiloningrum dan Erliana, 2021).

3.6.3 Pembuatan Larutan Blangko

Larutan DPPH diambil sebanyak 2 mL, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan etanol p.a sebanyak 2 ml (Susiloningrum dan Erliana, 2021).

3.6.4 Pengukuran Absorbansi Vitamin C

Larutan vitamin C dibuat dengan menimbang vitamin C sebanyak 10 mg, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100,00 mL dan tambahkan etanol p.a sampai tanda batas sehingga menghasilkan konsentrasi 100 ppm yang kemudian diencerkan menjadi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm (Susiloningrum dan Erliana, 2021).

3.6.5 Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi

Ditimbang fraksi sebanyak 10 mg kemudian di masukkan ke dalam labu takar 100,00 mL, lalu dilarutkan etanol p.a sampai tanda batas hingga menghasilkan konsentrasi 100 ppm. Dipipet 1 mL larutan fraksi 100 ppm dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL (10 ppm). Dipipet 2 mL larutan fraksi 100 ppm dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL (20 ppm). Dipipet 3 mL larutan fraksi 100 ppm dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL (30 ppm). Dipipet 4 mL larutan fraksi 100 ppm dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL (40 ppm) . Dipipet 5 mL larutan fraksi 100 ppm dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL (50 ppm). Disiapkan 2 mL sampel masing-masing konsentrasi (10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm) ke dalam tabung reaksi. Dicampurkan dengan 2 mL larutan DPPH, campuran sampel di homogenkan dengan *vortex*. Didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansi larutan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum.

3.6.6 Penentuan % Inhibisi dan nilai IC₅₀

Dihitung nilai IC₅₀ menggunakan rumus berdasarkan persamaan linier antara persen inhibisi dengan konsentrasi.

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

Kemudian dibuat kurva dari nilai persen penghambatan yang diperoleh terhadap konsentrasi larutan uji, selanjutnya dari kurva dibuat regresi linear sehingga diperoleh persamaan :

$$y = ax + b$$

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

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

Keterangan :

y = variabel terikat

x = variabel bebas (konsentrasi larutan uji)

a = *slope* (koefisien dari variabel x)

b = *intercept* (titik potong sumbu y)

3.7 Pengolahan Data

Data hasil penelitian ini akan dilakukan analisis data berupa analisis antioksidan dari fraksi etanol, fraksi n-heksana, dan fraksi etil asetat daun nipah dengan metode *DPPH*. Didapatkan nilai absorbansi dari tiap-tiap konsentrasi maka dapat dihitung nilai antioksidan dari fraksi etanol, fraksi n-heksana, dan fraksi etil asetat daun nipah dengan nilai kategori antioksidan dibuat dalam bentuk tabel. Nilai antioksidan tersebut akan dilihat pada nilai IC_{50} pada masing-masing fraksi kemudian ditentukan nilai antioksidan tertinggi dari masing-masing fraksi tersebut.

Parameter yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan adalah IC_{50} didefinisikan sebagai konsentrasi efektif (ppm) zat antioksidan yang mampu menghambat aktivitas suatu radikal bebas sebesar 50%. Nilai IC_{50} dapat dihitung dengan mengetahui persen penghambatan dari pengujian yang dilakukan. Persen penghambatan dapat dihitung dengan rumus (Tjandra dkk, 2011). Suatu senyawa dikatakan memiliki antioksidan sangat kuat bila nilai IC_{50} -nya <50 ppm, kuat bila

nilai IC_{50} -nya antara 50-100 ppm, sedang jika nilai IC_{50} -nya 101-250 ppm, lemah bila nilai IC_{50} -nya 250-500 ppm, dan sangat lemah bila nilai IC_{50} -nya >500 ppm (Putri dan Hidajati, 2015).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengujian yang dilakukan terhadap fraksi etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dapat disimpulkan bahwa :

1. Fraksi etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat daun nipah (*Nypa fruticans Wurmb.*) diketahui bahwa melalui skrining fitokimia fraksi etanol memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, dan terpenoid/steroid. Fraksi n-heksana memiliki kandungan senyawa alkaloid, fenol, dan terpenoid/steroid. Fraksi etil asetat memiliki senyawa alkaloid, fenol, dan terpenoid/steroid.
2. Nilai IC_{50} yang dimiliki fraksi etanol sebesar 27,78 μ g/ml dengan kategori sangat kuat, fraksi n-heksana 72,19 μ g/ml dengan kategori kuat, dan fraksi etil asetat sebesar 28,13 μ g/ml dengan kategori sangat kuat.

5.2 Saran

Pengujian skrining fitokimia yang telah diteliti memiliki kandungan positif senyawa metabolit sekunder dan pengujian aktivitas antioksidan ini menghasilkan nilai kategori yang tinggi dan kuat sehingga dapat mengembangkan penelitian dengan memformulasikan fraksi etanol daun nipah (*Nypa fruticans Wurmb.*).

DAFTAR PUSTAKA

- Aderiyanti, R. (2022). Studi Perbandingan Metode Pengukuran Antioksidan. Universitas Islam Negeri Raden Intan.Lampung.
- Agustina Wulan , Nurhamidah, Dewi Handayani. (2017). Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi Dari Kulit Batang Jarak (*Ricinus communis L.*). Pendidikan Kimia, Jurusan PMIPA FKIP, Univeristas Bengkulu. ALOTROP Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia. 2017 :1(2) : 117-122.
- Anggraini Riza Silvia, Sudarmia, Herawaty Ginting. (2018). *Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstak Etanol Daun Nipah (Nypa fruticans Wurmb.) dengan Metode DPPH*. Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia. Talenta Publisher Conference Series: Agricultural & Natural Resources (ANR).
- Anjaswati, D, Pratimasari, D, Nirwana, A. P. (2021). Perbandingan Rendemen Ekstrak Etanol , Fraksi n-Heksana , Etil Asetat , dan Air Daun Bit (*Beta vulgaris L*) Menggunakan Fraksinasi Bertingkat. Jurnal Farmasi. 2(1), 32–37.
- Ansel, H.C. (1989). Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi. Universitas Indonesia. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Ashari Diana Nurrah, Tiara Ajeng L, Danang Raharjo. (2024). *Aktivitas Penghambatan Enzim α -Amilase Ekstrak Etanol dan Fraksi Buah Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.)*. Universitas Duta Bangsa Surakarta, Indonesia. Jurnal Riset Ilmu Farmasi dan Kesehatan Vol. 2.
- DepKes RI. (1979). Farmakope Indonesia, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- DepKes RI. (1995). Farmakope Indonesia, Edisi IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

- DepKes RI. (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- DepKes RI. (2017). Farmakope Herbal Indonesia. Edisi II. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Hasnaeni, Wisdawati, Suriati Usman. (2019). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara Blanco*). Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, Indonesia, 90231
- Julianto Tatang Shabur. (2019). Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia. Universitas Islam Indonesia. Yogyakarta.
- Kemenkes RI. (1985). *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Kementerian Kesehatan RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Klau Maria Happy Christian, Rosa Juwita Hesturini. (2021). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans (Burm F) Lindau*) Terhadap Daya Analgesik Dan Gambaran Makroskopis Lambung Mencit. *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*. Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri
- Marliana Soerya Dewi, Venty Suryanti, Suyono. (2005). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule Jacq. Swartz.*) dalam Ekstrak Etanol. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126.
- Maulida Julva, Supran Hidayat Sihotang, Syarifah Nadia. (2024). Skrining Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus Altilis*) Dengan Metode Frap (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Fakultas Farmasi, Universitas Tjut Nyak Dhien, Medan, Indonesia. Forte Jurnal
- Meriam G.G. Wowor, Josua Tampara, Snigid P. Saogo, Edi Suryanto¹), Lidya I. Momuat. (2022). *Skrining Fitokimia dan Uji Antibakteri Masker Peel-Off*

- Ekstrak Etanol Daun Kalu Burung (Barleria prionitis L.)*. Universitas Sam Ratulangi, Manado, Indonesia, Jl. Kampus Unsrat Manado, 95115.
- Mukti Retno Cahya, Mohamad Amin, Melia Intan Sari . (2020). *Kandungan Nutrisi dan Aktivitas Antioksidan Daun Nipah (Nypa Fruticans Wurmb) Sebagai Bahan Pakan Ikan*. Universitas Sriwijaya. Media Akuatika : Jurnal Ilmiah Jurusan Budidaya Perairan. 2020. 5(3): 106–114.
- Munadi Rahmin, Jasmiadi, Ega Rossalinda Ruslan. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan Hasil Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Ilalang (*Imperata cylindrica Linn.*) Dengan Metode DPPH. Universitas Islam Makassar, Jl. Perintis Kemerdekaan Km 9 No. 29 Makassar. Cokroaminoto Journal of Chemical Science Volume 6 Nomor 2 Halaman 1-4.
- Nisfi Ramdhini Rizki. (2023). Standardisasi Mutu Simplisia Dan Ekstrak Etanol. Jakarta. Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*). Program Studi D3 Farmasi Cendikia Farma Husada
- Putri Ika Juniawati, Fauziyah, dan Elfita. (2013). Aktivitas Antioksidan Daun dan Biji Buah Nipah (*Nypa fruticans*) Asal Pesisir Banyuasin Sumatera Selatan Dengan Metode DPPH. Jurusan Kimia Universitas Sriwijaya. Maspari Journal, 2013, 5 (1), 16-21.
- Rahmi, A, Hardi, N, Hevira, L. (2022). *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Pisang Kepok, Pisang Mas Dan Pisang Nangka Menggunakan Metode DPPH*. Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik 18, 77–84.
- Rezky Ahmad, Sabanniah Indjar Gama, Angga Cipta Narsa. (2023). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Nipah (Nypa fruticans Wurmb.) dan Pembuatan Formulasi Basis Krim*. Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia. Jurnal Sains dan Kesehatan (J. Sains Kes.).
- Riskiana, N. P. Y. C., & Vifta, R. L. (2021). *Kajian Pengaruh Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Alga Coklat Genus Sargassum dengan Metode DPPH*. Journal of Holistics and Health Sciences, 3(2).

- Rohman, A., Irnawati, dan Riswanto, F. D. O. (2023). *Analisis Farmasi Dengan Spektroskopi dan Kemometrika*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Rohman, A., Irnawati, dan Riswanto, F. D. O. (2023).
- Sandy Monica, Tatiana Siska Wardani, Anita Dwi Septiarini. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak, Fraksi N-Heksan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air Daun Pegagan (*Centella Asiatica (L.) Urb*) Terhadap *Escherichia Coli* Atcc 25922. Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Duta Bangsa Surakarta. Media Farmasi Indonesia Vol 16 No 2
- Sanjaya, I.K.N., Giantari, N.K.M., Widyastuti, M.D., & Laksmi, N.P.L. (2020). *Ekstraksi katekin dari biji alpukat dengan variasi pelarut menggunakan metode maserasi*. Jurnal Kimia, 4(1), 1-4.
- Setiawan Finna, Oeke Yunita dan Ade Kurniawan. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP. Fakultas Farmasi Universitas Surabaya, Surabaya
- Suhaenah Asriani, Siska Nuryanti, Zainal Abidin, Hexatrianto Fatul Rahman. (2023). Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Karet Kebo (*Ficus Elastica*) Dengan Menggunakan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH (2,2-Diphenyl-1- Picrylhydrazil). Laboratorium Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar.
- Susiloningrum Dwi, Dessy Erliani Mugita Sari.(2021). Uji Aktivitas Antioksidan Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Temu Mangga (*Curcuma mangga* Valeton & Zijp) Dengan Variasi Konsentrasi Pelarut. Cendekia Journal of Pharmacy. STIKES Cendekia Utama Kudus.
- Tjandra, O., T. Rusliati dan Zulhipri. 2011. *Uji Aktivitas Antioksidan dan Profil Fitokimia Kulit Rambutan Rapih*. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta, Jakarta, 1-12 hlm.

- Tristantini Dewi, Alifah Ismawati, Bhayangkara Tegar Pradana, Jason Gabriel Jonathan. (2016). *Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (Mimusops elengi L)*. Program Studi Teknik Kimia, FT, Universitas Indonesia, Depok Jawa Barat 16424 2Program Studi Teknologi Bioproses, FT, Universitas Indonesia, Depok Jawa Barat 164.
- Underwood, A.. & R.A Day, 1986. *Analisa Kimia Kuantitatif*, Jakarta: Erlangga.
- Wardaningrum Yulia, Riski, Susilo, Jatmiko, Dyahariesti, Niken (2020) Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Terpurifikasi Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas .L*) Dengan Vitamin E. S1 thesis dipublikasi, Universitas Ngudi Walyo.
- Yimcharoen, M., Kittikunnathum, S., Suknikorn, C., Nak-On, W., Yeethong, P., Anthony, T. G., & Bunpo, P. (2019). *Effects of ascorbic acid supplementation on oxidative stress markers in healthy women following a single bout of exercise. Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 16(1), 1-9.
- Yosina M. Huliselan, Max R.J. Runtuwene, Defny S. Wewengkang. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etil Asetat, Dan N-Heksan Dari Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum Vahl.*). FMIPA UNSRAT. PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi.
- Yudoyono, B. (2017). *Spektrometri. Simetri*. Palembang.