

Original Research Paper

Determination of Antioxidants by DPPH Scavenging Activity of Ashitaba Herb (*Angelica keiskei*) Methanol Extract

Handa Muliasari¹, Nisa Isneni Hanifa¹, Wahida Hajrin¹, Mahacita Andanalusia¹, Agriana Rosmalina Hidayati^{1*}

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram, Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia;

Article History

Received : August 18th, 2023

Revised : August 28th, 2023

Accepted : September 18th, 2023

*Corresponding Author:

Agriana Rosmalina Hidayati,
Program Studi Farmasi Fakultas
Kedokteran Universitas
Mataram, Mataram, Nusa
Tenggara Barat, Indonesia;
Email: agriana.rh@unram.ac.id

Abstract: Ashitaba (*Angelica keiskei*) is one of the plants cultivated in the Sembalun region, Lombok, NTB, which has the potential to be developed as a source of antioxidants. This study aims to determine the antioxidant activity of the methanol extract of ashitaba herb by measuring the inhibition against DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radicals using a UV-Vis spectrophotometer. Ashitaba herb samples were collected in Jorong Hamlet, Sembalun Bumbung Village, Sembalun District, East Lombok Regency at coordinates 8°23'5.273" LAT - 116°32'12.016" EAST. The sample was then processed into simplisia with a simplisia yield of 14.75%. The simplisia was dechlorinated with n-hexane solvent and then extracted with 80% methanol solvent using the sonic method, giving a methanol extract of ashitaba herb yielding 20.30%. DPPH radical inhibitory activity was measured at a maximum wavelength of 516 nm and an operating time (OT) of 30 minutes. The methanol extract of ashitaba herb has an IC₅₀ value of 129.40 ± 7.36 ppm, which shows moderate antioxidant activity, with a standard compound comparison of ascorbic acid with an IC₅₀ value of 2.37 ± 0.06 ppm, which is classified as very potent.

Keywords: Ashitaba, DPPH radical, UV-Vis spectrophotometer, IC₅₀.

Pendahuluan

Tanaman obat telah digunakan sejak dahulu oleh masyarakat untuk menerapkan pola hidup sehat dengan memanfaatkan bahan alami untuk menghindari efek samping dari obat-obatan sintetis (Yuliana, 2017). Indonesia memiliki lebih dari 940 spesies tanaman berkhasiat obat yang mewakili 90% dari jumlah seluruh tanaman obat di Asia (Badan Pengkajian dan Pengembangan Perdagangan, 2017). Pada tahun 2017, Riset Tumbuhan Obat dan Jamu (RISTOJA) berhasil melakukan identifikasi tanaman obat sebanyak 9.516 (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2017).

Angelica keiskei, yang biasa dikenal dengan nama Jepang “Ashitaba” merupakan tanaman sejenis seledri yang banyak bermanfaat bagi kesehatan. Ashitaba berasal dari keluarga Apiaceae, yang merupakan genus besar yang

terdiri dari lebih dari 60 spesies (Caesar & Cech, 2016). Ashitaba telah terbukti memiliki aktivitas antidiabetes, antiobesitas, antioksidan, antiinflamasi, antitrombotik, antihipertensi, dan anti-mikroba (Kim *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2012; Luo *et al.*, 2012).

Tanaman ashitaba telah dibudidayakan di Gunung Rinjani, Lombok, Nusa Tenggara Barat, Indonesia. Daunnya banyak dimanfaatkan oleh masyarakat setempat sebagai tanaman pelengkap pangan dan getahnya digunakan untuk mempercepat penyembuhan luka pada tubuh (Affandy *et al.*, 2021). Beberapa senyawa kalkon yang berhasil diisolasi dari ashitaba antara lain adalah xanthoangelol dan isobavakalkon (Akihisa *et al.* 2011) yang secara lanjut diteliti mempunyai aktivitas sebagai penghambat radikal bebas (Luo *et al.*, 2012), antibakteri dan dapat menginduksi apoptosis pada neuroblastoma serta sel leukemia (Caesar &

Cech, 2016). Selain itu, golongan senyawa alkaloid, triterpenoid, saponin, steroid dan glikosida juga terdeteksi pada batang dan daun ashitaba (Sembiring & Manoi, 2011). Namun demikian, informasi terkait aktivitas antiradikal bebas herba ashitaba masih terbatas, sehingga dilakukan penelitian yang bertujuan untuk menentukan aktivitas penghambatan ekstrak metanol herba ashitaba terhadap radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Hasil penelitian ini sangat penting sebagai dasar pemanfaatan herba ashitaba sebagai produk **herbal dan agar semua bagian tanaman ashitaba dapat termanfaatkan dengan maksimal.**

Bahan dan Metode

Pengambilan sampel dan determinasi

Herba ashitaba sebanyak 8,5 kg dikoleksi di Desa Sembalun Bumbung, Kecamatan Sembalun, Kabupaten Lombok Timur, NTB. Sampel ashitaba dideterminasi di Laboratorium Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mataram.

Pembuatan simplisia

Herba ashitaba segar yang telah dikoleksi ditimbang, lalu disortasi basah dan dicuci dengan air mengalir sambil sesekali disikat. Setelah itu, sampel dirajang dan dikeringkan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari menggunakan kain hitam. Sampel yang sudah kering kemudian disortasi kering dan dihaluskan dengan blender. Sampel yang telah halus diayak dengan ayakan mesh 70. Selanjutnya sampel disimpan dalam wadah plastik tertutup dan diberi silika gel.

Proses ekstraksi

Serbuk simplisia diekstraksi dengan metode sonifikasi. Sebanyak 500 g sampel ditimbang dan ditambahkan dengan 5 L pelarut n-heksana (1:10) untuk proses deklorofilasi. Residu diekstraksi kembali menggunakan metanol 80% untuk mendapatkan ekstrak metanol herba ashitaba. Setelah ekstraksi, filtrat dipisahkan dari residu menggunakan kain mori dan kertas saring. Seluruh pelarut metanol ditarik dari filtrat menggunakan rotary evaporator (40°C), lalu kandungan air diuapkan dengan waterbath (40°C).

Uji aktivitas antiradikal DPPH

Pembuatan larutan DPPH (1 mM)

Sejumlah 19,7 mg serbuk DPPH ditimbang dan dicukupkan volumenya hingga 50 mL dengan metanol p.a. Larutan DPPH 1 mM disimpan dalam wadah tertutup dan diinkubasi pada suhu 40°C selama 30 menit (Utami, 2020).

Pembuatan larutan kontrol

Sejumlah 0,30 mL larutan DPPH 1 mM ditambahkan dengan metanol p.a hingga 5 mL. Larutan tersebut diinkubasi pada suhu 25°C selama *operating time* pada wadah gelap dan kondisi terhindar dari cahaya (Ipandi *et al.*, 2016).

Pembuatan larutan standar asam askorbat

Larutan induk 500 ppm dibuat dengan melarutkan 5 mg asam askorbat dengan metanol p.a hingga 10 mL kemudian dikocok hingga homogen (Sari, 2020). Larutan induk asam askorbat dibuat seri konsentrasi sebesar 1 ppm, 1,75 ppm, 2,5 ppm, 3,25 ppm, dan 3,5 ppm. Tiap konsentrasi dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 10 mL kemudian dihomogenkan (Utami, 2020).

Pembuatan larutan uji ekstrak herba ashitaba

Larutan induk uji 1000 ppm dibuat dengan menimbang dan melarutkan 25 mg ekstrak herba ashitaba dalam 25 mL metanol p.a. kemudian dikocok hingga homogen. Ekstrak metanol ashitaba dibuat seri konsentrasi sebesar 20, 60, 100, 140, dan 180 ppm. Masing-masing larutan uji dicukupkan volumenya dengan metanol p.a. hingga 10 mL kemudian dihomogenkan (Sari *et al.*, 2020; Susiloningrum & Sari, 2021).

Penentuan *operating time* (OT)

Sejumlah 4,70 mL larutan asam askorbat 1 ppm ditambahkan 0,30 mL larutan DPPH 1 mM. Absorbansi larutan diukur tiap 5 menit selama 1 jam pada panjang gelombang maksimum teoritis 517 nm. Blanko pembacaan dibuat dari 4,70 mL larutan asam askorbat 1 ppm dan 0,30 mL metanol p.a. (Utami, 2020).

Penentuan panjang gelombang maksimum

Sejumlah 0,30 mL larutan DPPH 1 mM dimasukkan ke dalam labu takar 5 mL, kemudian ditambahkan metanol p.a hingga tanda batas. Larutan diinkubasi selama *operating time* dalam

kondisi gelap. Absorbansi larutan diukur pada rentang panjang gelombang 400-600 nm terhadap blanko metanol p.a (Ipandi *et al.*, 2016; Utami, 2020).

Pengukuran absorbansi larutan kontrol

Absorbansi larutan kontrol dibaca pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh terhadap blanko metanol p.a dalam kondisi terhindar cahaya (Sari, 2020).

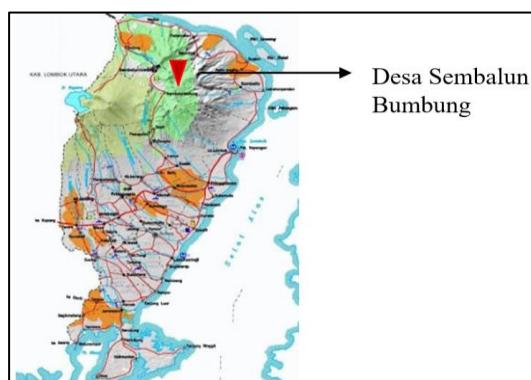
Pengukuran absorbansi larutan standar dan uji

Tiap variasi konsentrasi larutan standar dan uji dipipet sebanyak 4,70 mL ke dan ditambahkan 0,30 mL DPPH 1 mM. Larutan tersebut dikocok hingga homogen dan diinkubasi pada suhu 25°C selama *operating time*. Absorbansi larutan standar dan uji diukur pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh. Blanko pembacaan dibuat dari 4,70 mL larutan standar dan uji masing-masing konsentrasi dan 0,30 mL metanol p.a. (Utami, 2020)

Hasil dan Pembahasan

Sampel herba ashitaba

Pengumpulan sampel herba ashitaba dilakukan pada tanggal 23 Juli 2022 pukul 09.32 WITA di Dusun Jorong, Desa Sembalun Bumbung, Kecamatan Sembalun, Kabupaten Lombok Timur di titik koordinat $8^{\circ}23'5.273''$ LS - $116^{\circ}32'12.016''$ BT yang ditunjukkan pada **Gambar 1**. Daerah dengan ketinggian 800-1200 mdpl ini menyediakan kondisi tanah dan udara yang sesuai untuk budidaya ashitaba (Pusat Studi Biofarmaka IPB, 2014). Tanaman ashitaba yang telah dikoleksi dapat dilihat pada **Gambar 2**.



Gambar 1. Lokasi Desa Sembalun Bumbung (Portal Kab. Lombok Timur, 2023)



Gambar 2. Tanaman ashitaba (*Angelica keiskei*) di Sembalun (Dokumentasi Penulis, 2022)

Berdasarkan surat keterangan identifikasi nomor 15/UN18.7/LBL/2022, sampel yang digunakan benar adalah ashitaba (*Angelica keiskei*). Dari data berat basah herba sebesar 8,5 kg dan berat kering simplisia simplisia sebesar 1,254 kg, diperoleh rendemen simplisia sebesar 14,75%. Rendemen simplisia yang rendah dapat dipengaruhi oleh kadar air yang tinggi pada tanaman sehingga berat penyusutan yang diperoleh besar. Simplisia ashitaba yang telah dibuat memiliki mutu yang baik karena simplisia tersebut telah sesuai dengan persyaratan umum simplisia yang tertulis dalam buku Farmakope Herbal Indonesia Edisi I (2008) yaitu setelah diamati secara organoleptis simplisia tidak berjamur, tidak mengandung lendir, tidak berubah warna dan bau, tidak ditumbuhi kapang, serta tidak terserang serangga.



Gambar 3. Hasil Simplisia Serbuk Herba Ashitaba (Dokumentasi Penulis, 2022)

Ekstrak metanol herba ashitaba

Pembuatan ekstrak herba ashitaba diawali dengan proses deklorofilasi. Deklorofilasi merupakan salah satu metode pemurnian ekstrak dari senyawa *ballast* seperti lemak, klorofil, dan zat warna dengan menggunakan pelarut non polar untuk menghilangkan zat pengganggu dan

mengoptimalkan aktivitas senyawa dalam ekstrak (Nugroho *et al.*, 2013). Pelarut n-heksan dipilih untuk deklorofilasi dikarenakan memiliki sifat non polar sehingga dapat menarik klorofil yang bersifat non polar juga sesuai dengan prinsip *like dissolve like* (Sutomo *et al.*, 2021). Senyawa non polar lain yang dapat ditarik selain klorofil yaitu terpenoid, alkaloid, dan asam lemak (Rosyidah, 2018).

Proses deklorofilasi, rendemen sampel diekstraksi dengan pelarut metanol 80% untuk menarik senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada herba ashitaba. Metanol merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa polar dan nonpolar. Hal tersebut berkaitan dengan struktur metanol (CH_3OH) yang mengandung gugus hidrofil dan lipofil (Wardoyo *et al.*, 2021). Campuran air dan pelarut organik atau disebut juga pelarut biner dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi dibandingkan pelarut absolut (Saifullah *et al.*, 2020). Metanol 80% merupakan salah satu pelarut biner yang umum digunakan untuk mengekstraksi senyawa antioksidan alami secara efektif (Anwar *et al.*, 2010). Selain itu metanol juga dapat mengekstraksi sampel lebih baik dan rendemen yang dihasilkan juga optimal (Cikita *et al.*, 2016).

Hasil ekstrak metanol herba ashitaba (**Gambar 4**) yang diperoleh berwarna hijau pekat sebanyak 94 g dari 463 g residu hasil deklorofilasi, sehingga persentase ekstrak metanol sebesar 20,30%. Hasil ini mendekati hasil yang diperoleh pada penelitianan Affandy *et al* (2020) yaitu sebesar 18,96 % dengan pelarut dan metode yang sama.



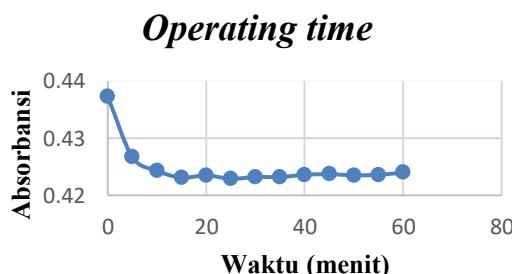
Gambar 4. Ekstrak kental herba ashitaba
(Dokumentasi penulis, 2022)

Aktivitas antioksidan ekstrak metanol herba ashitaba

Aktivitas antiradikal ekstrak metanol herba ashitaba diuji menggunakan metode

penghambatan radikal *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH). Prinsip pengujian ini didasarkan pada pengukuran kemampuan senyawa antioksidan dalam menghambat radikal DPPH dengan bantuan instrumen Spektrofotometer UV-Vis (Kedare & Singh, 2011). Metode sederhana, cepat, dan akurat ini dapat digunakan untuk menguji antioksidan lipofilik dan hidrofilik. Akibat reaktivitasnya yang rendah, metode DPPH memungkinkan pengukuran senyawa dengan aktivitas antioksidan lemah maupun kuat (Gulcin, 2020; Kedare & Singh, 2011).

Pengukuran diawali dengan penentuan *Operating time* (OT) dan panjang gelombang maksimum. OT merupakan waktu yang diperlukan senyawa antioksidan untuk bereaksi secara sempurna dengan radikal bebas. Pembacaan absorbansi sampel pada OT akan menjaga kestabilan absorbansi selama proses pengujian (Isnindar & Luliana, 2020). Absorbansi DPPH diukur pada panjang gelombang 517 nm dari menit ke 0 sampai 60 dengan interval waktu 5 menit. Nilai absorbansi DPPH stabil pada menit ke-30 sampai menit ke-35, sehingga dapat disimpulkan bahwa *operating time* (OT) yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 menit (**Gambar 5**). Hal ini sesuai dengan *operating time* yang direkomendasikan oleh Blois (1958) dalam metode awal DPPH. Waktu OT tersebut selanjutnya digunakan sebagai waktu inkubasi untuk sampel yang akan diuji.

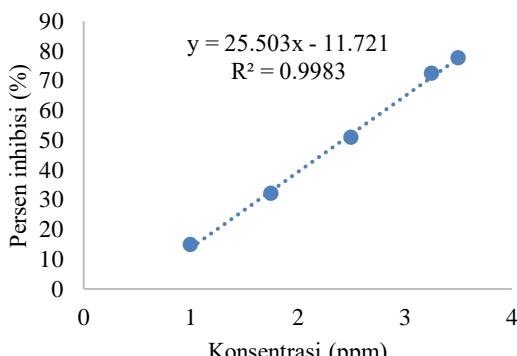


Gambar 5. Grafik hasil penentuan *operating time* (OT)

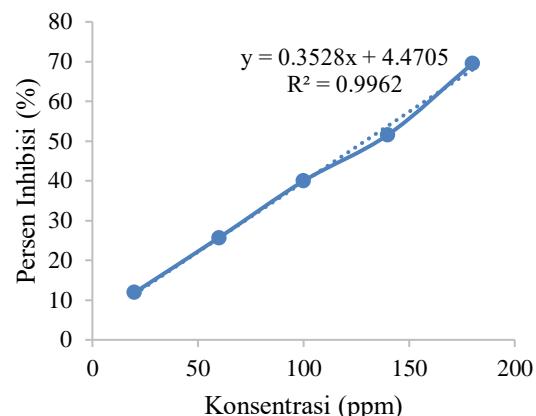
Panjang gelombang maksimum pengukuran sampel ditentukan berdasarkan nilai absorbansi terbesar DPPH pada spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang maksimum akan memberikan serapan paling optimal yang

menyebabkan perubahan serapan pada tiap konsentrasi sampel terdeteksi dengan lebih akurat (Lestari *et al.*, 2020; Nasution *et al.*, 2015). Pada penelitian ini, serapan maksimum DPPH diperoleh pada panjang gelombang 516 nm. Secara teoritis, DPPH mengalami penyerapan maksimum pada panjang gelombang 517 nm. Perbedaan ini masih dapat diterima karena berdasarkan teori, panjang gelombang secara teoritis dengan hasil pengamatan dapat bergeser antara 0-4 nm (Prananta *et al.*, 2020).

Penentuan aktivitas antiradikal dilanjutkan dengan pengukuran larutan kontrol yaitu DPPH. Pengukuran absorbansi larutan kontrol bertujuan untuk mengetahui absorbansi awal DPPH sebelum penambahan sampel atau standar. Standar asam askorbat diperlukan untuk membuktikan metode yang digunakan dalam menentukan aktivitas antiradikal sampel sudah benar (Julizan *et al.*, 2019). Persen inhibisi dari absorbansi kontrol dan sampel diplotkan dalam grafik bersama dengan seri konsentrasi sehingga diperoleh persamaan regresi. Nilai IC₅₀ diperoleh dari substitusi nilai 50 pada konstanta y dalam persamaan regresi. Nilai tersebut merupakan konsentrasi yang dibutuhkan senyawa untuk menghambat 50% radikal bebas (Lestari dkk., 2020). Standar asam askorbat (**Gambar 6**) dan sampel ekstrak metanol 80% herba ashitaba (**Gambar 7**) memiliki nilai koefisien determinasi (R²) mendekati 1. Hal ini menunjukkan pengaruh variabel bebas terhadap variabel terikat adalah besar (Ndruru *et al.*, 2014).



Gambar 6. Grafik konsentrasi vs persen inhibisi standar asam askorbat (Vitamin C)



Gambar 7. Grafik konsentrasi vs persen inhibisi ekstrak metanol herba ashitaba

Tabel 1. Aktivitas antiradikal DPPH standar asam askorbat dan ekstrak metanol herba ashitaba

Sampel	IC ₅₀ (ppm)		
	$\bar{X} \pm SD$	CV (%)	Kategori
AA	$2,37 \pm 0,06$	2,67	Sangat kuat
EAK	$129,40 \pm 7,36$	5,69	Sedang

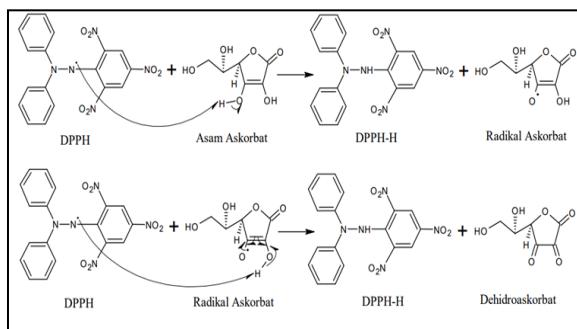
Keterangan: Asam Askorbat (AA), Ekstrak metanol *Angelica keiskei* (EAK)

Berdasarkan hasil pengukuran (**Tabel 1**), diperoleh nilai IC₅₀ standar asam askorbat sebesar $2,37 \pm 0,06$ ppm. Asam askorbat dengan nilai IC₅₀ < 50 ppm terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Jumina dkk., 2019). Standar deviasi lebih rendah dari nilai rata-rata IC₅₀ menunjukkanpersebaran data yang rendah sehingga dapat dikatakan pengukuran yang dilakukan akurat. Koefisien variasi pada pengukuran asam askorbat sebesar 2,30% menunjukkan pengukuran dengan tingkat presisi tinggi dimana kesalahan acak dan sistematis selama pengukuran rendah (Gandjar & Rohman, 2012). Penelitian Prayitno dkk. (2016) dan Utami (2020) yang juga menggunakan larutan DPPH konsentrasi 1 mM memperoleh nilai IC₅₀ asam askorbat sebesar 2,98 ppm dan 2,64 ppm. Hal ini menunjukkan metode yang digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan sampel sudah benar.

Mekanisme asam askorbat sebagai antioksidan dalam penghambatan radikal DPPH diawali dengan reaksi donor hidrogen dari asam askorbat pada radikal DPPH. Oksidasi asam askorbat menghasilkan radikal askorbat dan

DPPH-H. Radikal askorbat selanjutnya bereaksi secara cepat dengan radikal DPPH lain melalui reaksi donor elektron sehingga menghasilkan radikal askorbil dan dehidroaskorbat. Elektron tak berpasangan dalam radikal askorbil akan mengalami resonansi sehingga menghasilkan molekul dehidroaskorbat yang stabil (Nimse & Pal, 2015). Mekanisme reaksi asam askorbat pada penghambatan radikal DPPH digambarkan dalam **Gambar 8**.

Ekstrak metanol 80% herba ashitaba memiliki nilai IC_{50} $129,40 \pm 7,36$ ppm. Nilai $IC_{50} < 150$ ppm menunjukkan ekstrak herba ashitaba memiliki aktivitas antioksidan sedang (Jumina *et al.*, 2019). Standar deviasi lebih rendah dari nilai rata-rata IC_{50} menunjukkan persebaran data yang rendah sehingga dapat dikatakan pengukuran yang dilakukan akurat. Koefisien variasi pada pengukuran ekstrak metanol 80% herba ashitaba sebesar 5,69% menunjukkan pengukuran dengan tingkat presisi tinggi dimana kesalahan acak dan sistematis selama pengukuran rendah (Gandjar & Rohman, 2012). Studi lain membuktikan bahwa ekstrak etanol herba ashitaba memiliki nilai IC_{50} penangkalan radikal bebas DPPH senilai dengan vitamin E berturut-turut sebesar 19,38 dan 19,54 g/mL (Haryoto *et al.*, 2018).



Gambar 8. Mekanisme reaksi asam askorbat pada penghambatan radikal DPPH (Nishizawa *et al.*, 2005)

Kandungan senyawa dalam ekstrak herba ashitaba diantaranya yaitu senyawa golongan fenolik seperti flavonoid dan polifenol. Senyawa-senyawa tersebut berperan sebagai antioksidan dalam menghambat radikal bebas. Senyawa fenolik ($ArOH$) dengan satu atau lebih gugus hidroksil (OH) yang terikat pada cincin benzena mampu memecah rantai ikatan pada radikal bebas. Senyawa tersebut memiliki dua jenis mekanisme penghambatan radikal bebas

yaitu *Hydrogen Atom Transfer* (HAT) dan *Single-Electron Transfer* (SET). Mekanisme HAT terjadi ketika senyawa fenolik ($ArOH$) mendonorkan atom hidrogennya pada radikal bebas dan membentuk radikal fenolik (ArO^\bullet) yang stabil sehingga proses oksidasi dapat terhenti. Berbeda dengan HAT, mekanisme SET menjelaskan bahwa radikal bebas menjadi aseptor elektron tunggal dari senyawa fenolik ($ArOH$) dan menghentikan reaksi oksidasi berantai dengan mereduksi intermedi teroksidasi menjadi bentuk stabil (Tukiran dkk., 2018).

Kesimpulan

Ekstrak metanol 80% herba ashitaba memiliki hambatan terhadap radikal DPPH dengan nilai IC_{50} $129,40 \pm 7,36$ ppm. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol herba ashitaba tergolong kategori sedang dengan senyawa pembanding asam askorbat.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih penulis sampaikan kepada Universitas Mataram yang telah mendanai penelitian ini.

Referensi

- Affandy, F., Wirasisya, D. G., & Hanifa, N. I. (2021). Skrining fitokimia pada tanaman penyembuh luka di Lombok Timur. *Sasambo Journal of Pharmacy*, 2(1), 1–6. DOI: <https://doi.org/10.29303/SJP.V2I1.84>
- Akihisa, T., Kikuchi, T., Nagai, H., Ishii, K., Tabata, K., & Suzuki, T. (2011). 4-Hydroxyderricin from Angelica keiskei Roots Induces Caspase-dependent Apoptotic Cell Death in HL60 Human Leukemia Cells. *J. Oleo Sci.*, 60(2), 71–77. URL: <http://www.jstage.jst.go.jp/browse/jos/>
- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D. G., Lightfoot, D. A. (2017). Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. *Plants (Basel)*, 6(4):42.

- Blois, M. S. (1958). Antioxidant Determinations by The Use of A Stable Free Radical. *Nature*, 4617(1), 1–2.
- Caesar, L. K., & Cech, N. B. (2016). A Review of The Medicinal Uses and Pharmacology of Ashitaba. *Planta Medica*, 82(14), 1236–1245. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0042-110496>
- Cikita, I., Hasibuan, I. H., dan Hasibuan, R. (2016). Pemanfaatan Flavonoid Ekstrak Daun Katuk (*Sauvagesia androgynus* (L) Merr) Sebagai Antioksidan Pada Minyak Kelapa. *Jurnal Teknik Kimia*, 5(1): 45–51.
- Gandjar, I. G., & Rohman, A. (2012). *Kimia Farmasi Analisis* (2nd ed.). Pustaka Pelajar.
- Gani, A. P., Pramono, S., Martono, S., & Widayarni, S. (2018). Radical Scavenging Activity Combination of Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) and Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L.) Ethanolic Extracts on 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH). *Majalah Obat Tradisional*, 23(3), 79–84. URL: <https://jurnal.ugm.ac.id/TradMedJ/article/view/31600>
- Hanifa, N. I., Wirasiska, D. G., Muliani, A. E., Utami, S. B., & Sunarwidhi, A. L. (2021). Phytochemical Screening of Decoction and Ethanolic Extract of *Amomum dealbatum* Roxb. Leaves. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(2), 510–518. DOI: <https://doi.org/10.29303/jbt.v21i2.2758>
- Haryoto, Fitriana, Y., Anggraini, D. A. R. L., & Khong, H. Y. (2018). Antioxidant and Inhibition of α -Glucosidase Enzyme Activity of Extract and Their Fractions of Ashitaba (*Angelica keiskei*). *Medicinal Plants - International Journal of Phytomedicines and Related Industries*, 10(3).
- Ipandi, I., Triyasmoro, L., & Prayitno, B. (2016). Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kajahai (*Leucosyne capitellata* Wedd.). *Jurnal Pharmascience*, 3(1), 93–100.
- Isnindar, I., & Luliana, S. (2020). Synergism of Antioxidant Activity Combination of Buas-Buas (*Premnaserratifolia* Linn.), Meniran (*Phyllanthusniruri* L.), Secang (*Caesalpiniasappan*) and Roselle (*Hibiscus sabdarifa*) Extracts. *Traditional Medicine Journal*, 25(3), 140–145. DOI: <https://doi.org/10.22146/mot.51328>
- Julizan, N., Maemunah, S., Dwiyanti, D., & Al Anshori, J. (2019). Validasi Penentuan Aktifitas Antioksidan dengan Metode DPPH. *KANDAGA*, 1(1), 41–45.
- Jumina, Siswanta, D., Zulkarnain, A. K., Triono, S., Priyatmoko, Yuanita, E., Imawan, A. C., Fatmasari, N., & Nursalim, I. (2019). Development of C-Arylcalix[4]resorcinarennes and C-Arylcalix[4]pyrogallolarennes as Antioxidant and UV-B protector. *Indonesian Journal of Chemistry*, 19(2), 273–284. DOI: <https://doi.org/10.22146/ijc.26868>
- Jumpatong, K., Phutdhawong, W., & Buddhasukh, D. (2006). Dechlorophyllation by Electrocoagulation. *Molecules : A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry*, 11(2), 156. DOI: <https://doi.org/10.3390/11020156>
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and Development of DPPH Method of Antioxidant Assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 412–422. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>
- Kim, S. J., Cho, J. Y., Wee, J. H., Jang, M. Y., Kim, C., Rim, Y. S., Shin, S. C., Ma, S. J., Moon, J. H., & Park, K. H. (2005). Isolation and Characterization of Antioxidative Compounds from The Aerial Parts of Angelica keiskei. *Food Sci. Biotechnol*, 14(1), 58–63.
- Krisyanella, Susilawati, N., & Rivai, H. (2013). Pembuatan Dan Karakterisasi Serta Penentuan Kadar Flavonoid Dari Ekstrak Kering Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.). *Jurnal Farmasi Higea*, 5(1), 9–19. URL: <http://www.jurnalfarmasihigea.org/index.php/higea/article/view/72>
- Lestari, Y. D., Permatasari, S., & Oktasari, & Ade. (2020). Antioxidant Activity esting of Extract Kweni Peel (*Mangifera odorata* Griff). *Indonesian Journal of Chemistry and Environment*, 3(2), 11–20.
- Luo, L., Wang, R., Wang, X., Ma, Z., & Li, N. (2012). Compounds from Angelica

- keiskei with NQO1 Induction, DPPH Scavenging and α -glucosidase Inhibitory Activities. *Food Chemistry*, 131(3), 992–998. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.099>
- Mahardani, O. T., & Yuanita, D. L. (2021). Efek Metode Pengolahan Dan Penyimpanan Terhadap Kadar Senyawa Fenolik Dan Aktivitas Antioksidan. *Unesa Journal of Chemistry*, 10(1), 64–78. DOI: <https://doi.org/10.26740/UJC.V10N1.P64-78>
- Marpaung, M. P., & Romelan, R. (2018). Analisis Jenis dan Kadar Saponin Ekstrak Metanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dengan Menggunakan Metode Gravimetri. *JFL : Jurnal Farmasi Lampung*, 07(2). DOI: <https://doi.org/10.37090/jfl.v7i2.57>
- Nasution, P. A., Batubara, R., & Surjanto, S. (2015). Tingkat Kekuatan Antioksidan dan Kesukaan Masyarakat terhadap Teh Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk) Berdasarkan Pohon Induksi dan Non-Induksi. *Peronema Forestry Science Journal*, 4(1), 1–12.
- Ndruru, R. E., Situmorang, M., & Tarigan, G. (2014). Analisa Faktor-faktor yang Mempengaruhi Hasil Produksi Padi di Deli Serdang. *Saintia Matematika*, 2(1), 71–83.
- Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free Radicals, Natural Antioxidants, and Their Reaction Mechanisms. *RSC Advances*, 5(35), 27986–28006. DOI: <https://doi.org/10.1039/c4ra13315c>
- Nishizawa, M., Kohno, M., Nishimura, M., Kitagawa, A., & Niwano, Y. (2005). Non-reductive Scavenging of 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) by Peroxyradical: A Useful Method for Quantitative Analysis of Peroxyradical. *Pharm. Bull.*, 53(6), 714–716.
- Noviyanty, Y., Hepiyanson., dan Yudan, A., (2020). Identifikasi Dan Penetapan Kadar Senyawa Tanin Pada Ekstrak Daun Biduri (*Calotropis gigantea*) Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. Vol 6 No 1, p. 57-64.
- Nugrahani, R., Andayani, Y., & Hakim, A. (2016). Skrining Fitokimia dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) Dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 2(1). DOI: <https://doi.org/10.29303/jppipa.v2i1.38>
- Nurharini, I., Supratomo, & Muhidong, J. (2016). Pengaruh Waktu Panen Batang Sorgum Manis (*Sorghum bicolor* (L) Moench) Terhadap Nira Yang Dihasilkan. *Jurnal AgriTechno*, 9(2). URL: <http://agritech.unhas.ac.id/ojs/index.php/ata/article/view/46/36>
- Nurjanah, Azka, A., & Abdullah, A. (2012). Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Semanggi Air (*Marsilea crenata*). *Jurnal Inovasi Dan Kewirausahaan*, 1(3), 152–158.
- Oktavia, F. D., & Sutoyo, S. (2021). Skrining Fitokimia, Kandungan Flavonoid Total, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Tumbuhan *Selaginella doederleinii*. *Jurnal Kimia Riset*, 6(2), 141. DOI: <https://doi.org/10.20473/jkr.v6i2.30904>
- PFAF. (2006). *Angelica keiskei PFAF Plant Database*.
- Prananta, Y. E., Rakhman, K. A., & Saleh, J. (2020). Antioxidant Activities of Red Jabon (*Anthocephalus macrophyllus*) Ethanol Extract. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 415(1), 1–8. DOI: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/415/1/012026>
- Prasetyo, I., & Entang. (2013). *Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-obatan (Bahan Simplicia)*. Cetakan ke-1. Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB.
- Prayitno, B., Rosyidah, K., & Astuti, M. D. (2016). Uji Antioksidan Senyawa Terpenoid Dari Fraksi M-17 Ekstrak Metilena Klorida Kulit Batang Tumbuhan Kasturi (*Mangifera casturi*). *Jurnal Pharmascience*, 3(1), 32–36. URL: <http://jps.ppjpu.unlam.ac.id/>
- Rosyidah, F. (2018). *Potensi Ekstrak Etanol, Fraksi N-Heksan, Dan Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Terong Belanda (*Solanum Betaceum Cav*) Sebagai Penurun Berat Badan Pada Tikus Jantan Putih* [Akademi Farmasi Putera Indonesia Malang].
- Sari, L. P. I. P. (2020). *Optimasi Pelarut untuk Ekstraksi Daun Nagasari (*Mesua ferrea L.*) sebagai Anti Radikal Bebas dengan*

- Metode Simplex Lattice Design [Skripsi]. Universitas Mataram.
- Sembiring, B. B., & Manoi, F. (2011). Identifikasi Mutu Tanaman Ashitaba. *Bul. Littro*, 22(2), 177–185
- Suhartati, R., & Virgianti, D. P. (2015). Daya hambat ekstrak etanol 70% daun ashitaba (Angelica keiskei) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari luka diabetes. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan Dan Farmasi*, 14(1), 162. <https://doi.org/10.36465/jkbth.v14i1.134>
- Sulasmi, E. S., Faiqohutun Wuriana, Z., Sapta Sari, M., & Suhadi, S. (2018). Analisis Kualitatif Kandungan Senyawa Aktif (Flavonoid, Alkaloid, Polifenol, Saponin, Terpenoid dan Tanin) pada Ekstrak Metanol Daun dan Rhizoma *Phymatodes scolopendria* (Burm.) Ching di Taman Nasional Baluran. *Universitas Negeri Malang. Prosiding Seminar Nasional VI Hayati 2018, September*, 121–128.
- Susanti, R. F., Andreas, A., & Solihin, G. C. (2015). Pengaruh Jenis, Konsentrasi Bahan Pengisi Dan Suhu Pengeringan Terhadap Kualitas Ekstrak Buah Physalis angulata Yang Diperoleh Dengan Ekstraksi Menggunakan Air Subkritik. . *Journal Unpar*, 2(14). URL: <https://journal.unpar.ac.id/index.php/rekayasa/article/view/1607>
- Susiloningrum, D., & Sari, D. E. M. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Temu Mangga (*Curcuma mangga* Valeton & Zijp) dengan Variasi Konsentrasi Pelarut. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 5(2), 117–127.
- Sutomo, Kiptiah, M., Nurmaidah, & Arnida. (2021). Identifikasi Potensi Senyawa Antioksidan Dari Fraksi Etil Asetat Daun Mundar (*Garcinia Forbesii King.*) Asal Kalimantan Selatan. *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah* , 6(3). URL: <https://prosiding.farmasi.unmul.ac.id/index.php/mpc/article/view/405/388>
- Tukiran, Wardana, A. P., Hidayati, N., & Shimizu, K. (2018). An Ellagic Acid Derivative and Its Antioxidant Activity of Chloroform Extract of Stem Bark of *Syzygium polyccephalum* Miq. (Myrtaceae). *Indonesian Journal of Chemistry*, 18(1), 26–34. DOI: <https://doi.org/10.22146/ijc.25467>
- Tunchaiyaphum, S., Eshtiaghi, M. N., & Yoswathana, N. (2013). Extraction of Bioactive Compounds from Mango Peels Using Green Technology. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 194–198.
- Utami, S. B. (2020). *Aktivitas Penghambatan Radikal Bebas dari Rebusan Daun Renggak (Amomum dealbatum Roxb. Menggunakan Metode DPPH* [Skripsi]. Universitas Mataram.