

Antioxidant Activity Testing of Fractions Resulting from Gravity Column Chromatography of Methanol Extract of Kepundung Leaves (*Baccaurea racemosa*) Using The DPPH Method

Juhratul Istiqamah¹, Lina Permatasari^{1*}, Nisa Isneni Hanifa¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia;

Article History

Received : October 10th, 2024

Revised : October 30th, 2024

Accepted : November 26th, 2024

*Corresponding Author: **Lina Permatasari**, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia; Email:

lina.permatasari@unram.ac.id

Abstract: Free radicals are compounds that can cause various diseases and can be inhibited with antioxidant compounds. One of the antioxidant compounds that can be obtained from natural sources is the kepundung plant (*Baccaurea racemosa*). This research aims to determine the fraction that contains flavonoid compounds and determine the percent inhibition of the fraction resulting from gravity column chromatography from the methanol extract of kepundung leaves (*Baccaurea racemosa*) using the DPPH method. Extraction used the sonication method and continued with fractionation using gravity column chromatography. A UV-VIS spectrophotometer was then used to measure the antiradical activity and perform a qualitative flavonoid and antioxidant test using TLC. The study's findings demonstrated that the yield of a 96% methanol extract of kepundung leaves was 17%, and that there were 15 sets of fractions produced by gravity column chromatography. Positive results for flavonoids and antioxidants were shown by fractions B, G, H, K, L, and N. The fraction with the highest antiradical activity was fraction L with a % inhibition value of 79,94%.

Keywords: Antioxidants, DPPH, gravity column chromatography, Kepundung leaves.

Pendahuluan

Atom atau senyawa dengan elektron tak berpasangan di kulit terluarnya dikenal sebagai radikal bebas. Radikal bebas ini dapat secara reaktif mengekstraksi elektron dari molekul tetangga untuk menciptakan yang baru, yang dapat menyebabkan stres oksidatif jika jumlahnya cukup banyak. Kondisi yang melibatkan stres oksidatif dapat membahayakan sel, jaringan, dan organ, mempercepat proses penuaan dan perkembangan berbagai penyakit (Simanjuntak & Zulham, 2020).

Antioksidan merupakan senyawa yang memiliki kemampuan untuk mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif guna mengendalikan reaksi oksidasi dan menghentikan kerusakan sel (Suena dan Antari, 2020). Untuk menstabilkan radikal bebas dan

menghentikan rantai kejadian yang mengakibatkan terbentuknya radikal bebas baru, antioksidan berfungsi dengan memberikan elektron kepada radikal bebas (oksidan). (Damanis *et al.*, 2020).

Sumber alami zat kimia antioksidan meliputi tanaman, seperti tanaman kepundung (*Baccaurea racemosa*). Tanaman yang dikenal dengan nama kepundung (*Baccaurea racemosa*) merupakan anggota genus *Baccaurea* dan famili Phyllanthaceae. Daun kepundung mengandung senyawa metabolit sekunder dengan kualitas antioksidan. Berdasarkan hasil skrining fitokimia daun kepundung, metabolit sekunder seperti polifenol, terpenoid, flavonoid, dan tanin terdapat pada ekstrak metanol daun kepundung (Wulandari *et al.*, 2020).

Hasil penelitian Indrayoni & Padmiswari (2022), ekstrak etanol daun kepundung

mengandung flavonoid sebesar 10.383,12 mg QE/100 g ekstrak dan fenolik sebesar 4.223,06 mg GAE/100 g ekstrak. Dengan nilai IC50 sebesar $4,298 \pm 0,306$ ppm, ekstrak metanol daun kepundung menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat tinggi (Widodo *et al.*, 2019).

Hasil penelitian Widodo *et al.*, (2019) telah membuktikan kepundung mempunyai kemampuan sebagai antioksidan yang tergolong sangat kuat, akan tetapi penelitian mengenai aktivitas antioksidan fraksi hasil kromatografi kolom gravitasi dari ekstrak metanol daun kepundung belum dilakukan dan diteliti secara luas (Wulandari *et al.*, 2020). Oleh karena itu, pada penelitian ini bertujuan untuk menentukan fraksi yang memiliki kandungan senyawa flavonoid serta menentukan persen inhibisi fraksi hasil kromatografi kolom gravitasi dari ekstrak metanol daun kepundung (*Baccaurea racemosa*) menggunakan metode DPPH.

Bahan dan Metode

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian berlangsung bulan Maret sampai Juli 2024. Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Mataram.

Alat dan bahan penelitian

Alat penelitian ini adalah gloves latex, pisau, baskom, gunting, banner, kain hitam, nampan, blender Philips®, ayakan mesh 40, kertas minyak, timbangan analitik Ohaus®, toples plastik, sonikator Elmasonic®, toples kaca, gelas beaker Iwaki Pyrex®, gelas ukur Iwaki Pyrex®, corong kaca Iwaki Pyrex®, batang pengaduk Iwaki Pyrex®, kain mori, kertas perkamen, kertas saring, *rotary evaporator* Heidolph®, *water bath* Labnet®, cawan porselen Iwaki Pyrex®, aluminium foil Klinpak®, lemari pendingin Sharp®, chamber Camag®, pipa kapiler, botol semprot, lampu UV 254 dan 366 nm Camag®, kolom kromatografi Iwaki Pyrex®, botol vial, labu erlenmeyer Iwaki Pyrex®, spatula lab, tabung reaksi Iwaki Pyrex®, rak tabung reaksi, pipet tetes One Med®, pipet ukur Iwaki Pyrex®, *rubber bulb*, mikropipet Labnet®, *blue* dan *yellow tip*, labu ukur Iwaki Pyrex®, lemari asam Kewaunee®, vortex Labnet®, kuvet QS®, dan spektrofotometer UV-

Vis Specord®200.

Bahan penelitian ini adalah daun kepundung (*Baccaurea racemosa*), serbuk simplisia daun kepundung (*Baccaurea racemosa*), aquadest, n-heksana teknis Brataco®, etil asetat teknis Brataco®, asam asetat glasial teknis Brataco®, metanol teknis Brataco®, ekstrak metanol daun kepundung (*Baccaurea racemosa*), serbuk AlCl₃ Merck®, serbuk silika gel 60 F254 Merck®, plat silika gel 60 F254 Merck®, metanol p.a Merck®, kuersetin Sigma Aldrich®, dan DPPH (1,1-*diphenyl-2-picrylhydrazyl*) Sigma Aldrich®.

Variabel penelitian

Variabel bebas penelitian ini yaitu fraksi hasil kromatografi kolom gravitasi dari ekstrak metanol daun kepundung (*Baccaurea racemosa*). Variabel terikat penelitian ini yaitu aktivitas antioksidan fraksi hasil kromatografi kolom gravitasi dari ekstrak metanol daun kepundung (*Baccaurea racemosa*).

Pembuatan Ekstrak

Serbuk simplisia daun kepundung (*Baccaurea racemosa*) sebanyak 300 gram ditambahkan 3 L pelarut metanol (1:10). Melakukan proses ekstraksi dengan metode sonikasi menggunakan sonikator dan filtrat dipisahkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50°C dan diuapkan menggunakan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental metanol daun kepundung. Rumus rendemen ekstrak dihitung berdasarkan persamaan berikut (Mawarda *et al.*, 2020)

$$\text{Rendemen ekstrak (\%)} = \frac{\text{Bobot ekstrak kental}}{\text{Bobot simplisia yang diekstraksi}} \times 100\%$$

Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG)

Ekstrak metanol daun kepundung terlebih dahulu dilakukan KLT dengan tujuan untuk mencari fase gerak yang memiliki pemisahan terbaik untuk kromatografi kolom yang didasarkan pada peningkatan polaritas komposisi pelarut organik (Yulisa *et al.*, 2018). Fase diam menggunakan serbuk silika gel 60 F254 sebanyak 75 gram yang diaktifasi menggunakan oven pada suhu 110°C selama 1 jam dengan pembuatan bubur silika (Mamonto *et al.*, 2015). Bubur silika yang telah jadi dimasukan secara perlahan

kedalam kolom, kemudian didiamkan selama 24 jam.

Serbuk sampel ekstrak metanol daun kepundung dibuat dengan cara mencampurkan sejumlah 2,5 gram sampel dengan 7,5 gram serbuk silika gel 60 F254 yang telah diaktifasi lalu dimasukkan kedalam kolom (Mamonto *et al.*, 2015). Elusi dilakukan menggunakan eluen berdasarkan hasil orientasi pemisahan secara KLT yang dilakukan sebelumnya. Fraksi hasil kolom ditampung pada vial sebanyak 20 mL tiap vial yang sebelumnya telah diberi nomor urut (Darmawansyah *et al.*, 2023).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Fraksi hasil kromatografi kolom gravitasi yang diperoleh, selanjutnya diamati dengan KLT untuk melihat pola kromatogram komponen hasil kromatografi kolom. Sampel fraksi-fraksi ditotolkan pada plat KLT, kemudian memasukkan dalam chamber yang sudah dijenuhkan. Membiarkan hingga plat terelusi seluruhnya, kemudian mengangkat plat KLT dan dikeringkan. Mengamati bercak noda menggunakan sinar ultra violet (UV) pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Fraksi-fraksi mempunyai bercak yang sama dikelompokkan menjadi satu, kemudian kelompok fraksi diperoleh diuapkan (Agustin *et al.*, 2021).

Analisis Senyawa Flavonoid dan Antioksidan Secara KLT

Kelompok fraksi yang diperoleh, dianalisis senyawa flavonoid dengan menggunakan pereaksi semprot aluminium (II) klorida ($AlCl_3$) dan antioksidan menggunakan pereaksi semprot DPPH 0,2%. Mengamati bercak noda menggunakan sinar ultra violet (UV) pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm (Ayu *et al.*, 2019; Agustin *et al.*, 2021).

Uji Aktivitas Antiradikal

Pengukuran aktivitas antiradikal dilakukan menggunakan metode DPPH. Tahapan pertama pembuatan larutan DPPH 1 mM dengan cara menimbang sebanyak 19,7 mg dan melarutkan dengan metanol p.a 50 mL, lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu 4°C (Prasetyo *et al.*, 2021). Kemudian, membuat larutan kontrol dengan mereaksikan larutan DPPH 1 mM sebanyak 0,30 mL yang sudah

dibuat sebelumnya dengan menambahkan 5 mL metanol p.a, kemudian diinkubasi selama *operating tiime* pada suhu 25°C (Binuni *et al.*, 2020).

Membuat larutan standar kuersetin dan larutan uji fraksi-fraksi daun kepundung yaitu dengan melarutkan masing-masing 10 mg kuersetin dan fraksi dengan metanol p.a 10 mL, lalu diencerkan pada konsentrasi 50 ppm dengan cara dipipet larutan induk 500 µL. Kemudian, dimasukkan dalam labu ukur 10 mL dan dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga tanda batas dan dihomogenkan (Mangiwa *et al.*, 2023).

Absorbansi 4,70 mL larutan quercetin 50 ppm dengan 0,30 mL DPPH 1 mM diukur setiap 5 menit selama satu jam pada panjang gelombang maksimum teoritis 517 nm untuk menentukan waktu operasi (OT). Waktu yang menunjukkan hasil absorbansi paling stabil dengan peredaman radikal bebas DPPH digunakan sebagai *operating time* (Fauzi & Santoso, 2021). Absorbansi 0,30 mL DPPH 1 mM dengan 4,70 mL metanol p.a. diukur pada rentang panjang gelombang 400–600 nm untuk menentukan panjang gelombang maksimum larutan DPPH. Nilai serapan terbesarnya menunjukkan panjang gelombang maksimumnya (Binuni *et al.*, 2020).

Pengukuran absorbansi larutan uji dilakukan pada panjang gelombang maksimum dengan waktu inkubasi berdasarkan hasil pengukuran yang dilakukan sebelumnya. Dilakukan pengukuran absorbansi larutan kontrol berupa campuran larutan DPPH 1 mM 0,30 mL dan 4,70 mL metanol p.a yang telah dibuat untuk menghitung nilai % inhibisi (Suena & Antari, 2020). Pengukuran absorbansi larutan standar kuersetin dan larutan uji fraksi-fraksi daun kepundung dengan konsentrasi 50 ppm dilakukan replikasi sebanyak 3 kali (Pramiastuti *et al.*, 2021).

Hasil dan Pembahasan

Ekstrak Metanol Daun Kepundung

Pemisahan senyawa bioaktif dengan pelarut tanpa pemanasan suhu tinggi, 300 gram serbuk simplisia daun kepundung diekstraksi dengan 3 L pelarut metanol 96% pada rasio 1:10 w/v menggunakan metode sonikasi selama 30 menit pada suhu 30°C. Ekstrak kemudian dipisahkan menggunakan rotary evaporator

vakum, yang memungkinkan pelarut menguap dan mencegah kerusakan akibat suhu tinggi (Andriani *et al.*, 2019; Herli & Wardaniati, 2019). Menurut Farmakope Herbal, ekstrak yang baik memenuhi standar jika rendemennya lebih besar dari 10%. Hasil ekstrak kental yang diperoleh adalah 51,46 gram dengan rendemen ekstrak sebesar 17% (Depkes RI, 2017). Besarnya nilai rendemen ekstrak daun kepundung menggunakan pelarut metanol 96% menunjukkan bahwa pelarut metanol 96% mampu mengekstraksi senyawa pada daun kepundung dengan baik.

Fraksi Hasil Kromatografi Kolom Gravitasi

Tahap awal dilakukan optimasi pelarut menggunakan uji KLT sebagai identifikasi awal yang bertujuan untuk menentukan eluen yang baik yang akan digunakan pada proses fraksinasi menggunakan kromatografi kolom gravitasi (Mamonto *et al.*, 2015). Berdasarkan hasil uji yang dilakukan, diperoleh eluen dengan pemisahan terbaik yaitu n-heksan : etil asetat : asam asetat glasial (3:1:0,25). Adsorben diisi dengan cara basah yaitu berupa bubuk silika. Bubuk silika memiliki gugus silanol polar yang dapat membentuk ikatan hidrogen dan uap air sehingga bubuk silika harus terlebih dahulu diaktifkan dalam oven yang suhunya 110°C selama 1 jam untuk menghilangkan uap air dan atom hidrogen yang menempel pada gugus silanol (Darmawansyah, 2023).

Fase diam dalam kolom dapat memberikan pengaruh yang merata terhadap proses pemisahan, maka kolom yang berisi adsorben dibiarkan selama satu hari penuh untuk memastikan fase diam telah terpadatkan secara sempurna. Untuk mencegah silika gel dalam kolom mengering dan retak pada saat proses pemadatan, kran kolom ditutup dan bagian atasnya ditutup dengan aluminium foil (Darmawansyah, 2023; Ramdan & Fitriah, 2023). Untuk memisahkan senyawa-senyawa dengan berbagai polaritas, maka digunakan fase gerak dari optimasi pelarut pada uji KLT sebelumnya untuk prosedur elusi. Fase ini memiliki gradien polaritas dari polaritas terendah hingga polaritas tertinggi. Fase gerak penelitian ini terdiri dari asam asetat glasial yang bersifat polar, etil asetat yang bersifat semi polar, n-heksana yang bersifat non polar, dan metanol yang bersifat sangat polar (Supriadin *et al.*,

2017). Komposisi fase gerak yang digunakan untuk elusi sampel dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi fase gerak kromatografi kolom gravitasi

No	N-Heksan (mL)	Etil asetat (mL)	Asam asetat glasial (mL)	Metanol (mL)
1	100	-	-	-
2	80	20	5	-
3	60	40	5	-
4	40	60	5	-
5	20	80	5	-
6	-	100	-	-
7	-	75	-	25
8	-	50	-	50
9	-	25	-	75
10	-	-	-	100
11	-	-	-	100
12	-	-	-	100

Laju aliran yang ditentukan oleh gravitasi, fase gerak dibiarkan melewati kolom (Supriadin *et al.*, 2017). Setiap vial yang dikalibrasi sebelumnya berisi hingga 20 mL fraksi. Fase gerak telah mengeluarkan bahan kimia yang diserap oleh silika sehingga prosedur elusi dihentikan ketika warna adsorben mulai memudar (Darmawansyah, 2023). Berdasarkan hasil elusi diperoleh hasil fraksi sebanyak 66 vial. Fraksi hasil pemisahan dengan kromatografi kolom gravitasi selanjutnya dilakukan uji KLT menggunakan fase gerak berdasarkan pola pemisahan terbaik pada setiap fraksi yang ada pada vial sehingga dapat dilakukan analisis lebih lanjut dengan menggunakan KLT untuk mengelompokkan fraksi yang didasarkan kesamaan dan kemiripan pola pemisahan dan warna fraksi hasil kolom (Darmawansyah, 2023). Berdasarkan hasil uji KLT, diperoleh hasil kelompok fraksi sebanyak 15 kelompok yaitu fraksi A sampai O.


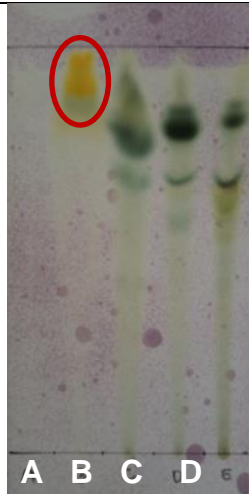
Analisis Senyawa Flavonoid dan Antioksidan Secara KLT

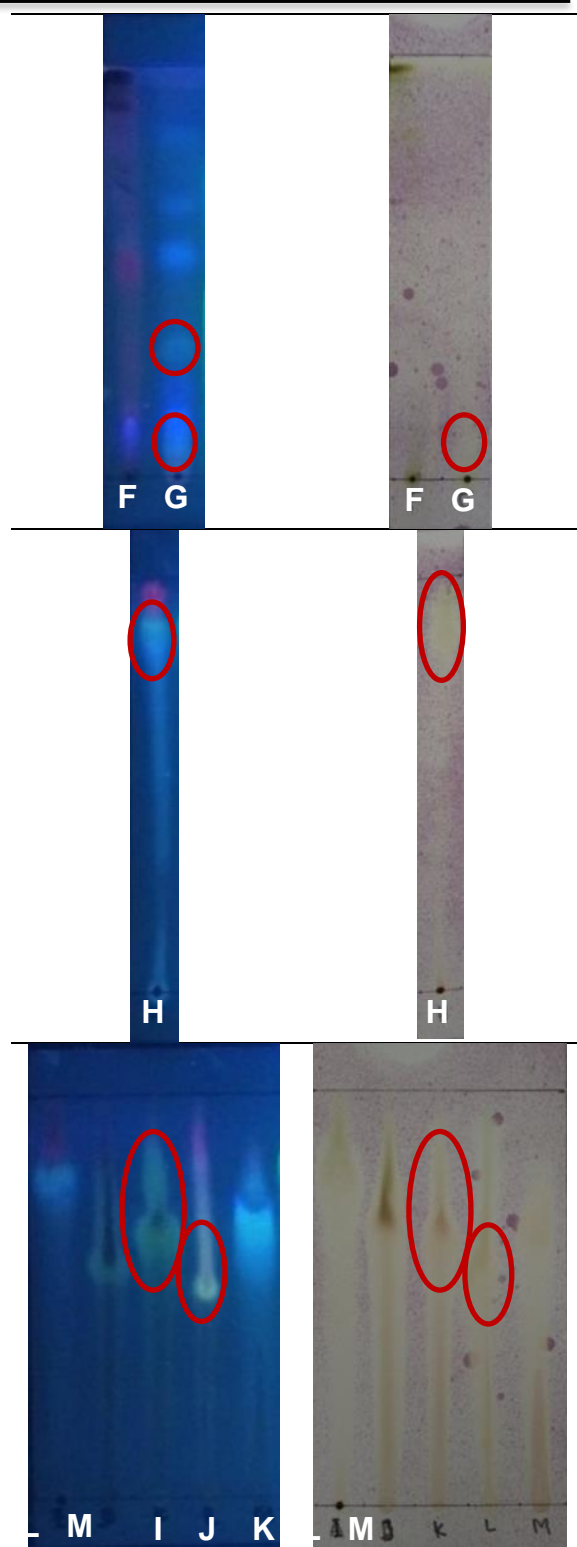
Identifikasi kandungan senyawa flavonoid dan antioksidan dilakukan dengan uji KLT menggunakan fase diam plat silika gel 60 GF₂₅₄ terhadap kelompok fraksi yang telah diperoleh sebelumnya. Hasil positif flavonoid ditandai adanya bercak berwarna kuning kehijauan setelah penyemprotan menggunakan AlCl₃ 10% pada pengamatan dibawah sinar UV 366 nm. Sementara hasil positif antioksidan ditandai

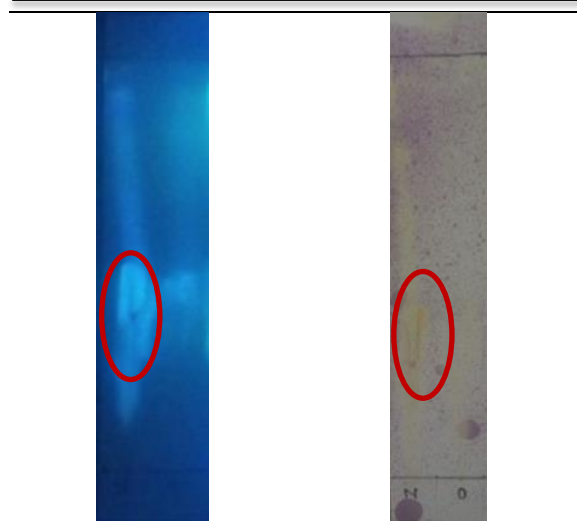
dengan latar belakang berwarna ungu atau gelap dengan adanya bercak kuning pada plat KLT setelah dilakukan penyemprotan DPPH 0,2% pada pengamatan visual. Hasil uji flavonoid dan antioksidan dengan KLT setelah disemprot $AlCl_3$ 10% dan DPPH 0,2% pada tabel 2.

Berdasarkan uji KLT yang telah dilakukan, diperoleh hasil fraksi yang menunjukkan indikasi positif flavonoid dan antioksidan yaitu fraksi B, G, H, K, L, dan N. Hal ini menunjukkan bahwa proporsi flavonoid positif sesuai dengan hasil antioksidan. Menurut Suhaenah & Nuryanti (2017), titik-titik kuning kehijauan yang diamati di bawah sinar UV 366 nm setelah disemprot dengan larutan $AlCl_3$ menunjukkan bahwa sampel positif mengandung bahan kimia flavonoid, yang mendukung temuan uji flavonoid. Sementara itu, temuan uji antioksidan dikuatkan oleh pernyataan Muthia *et al.*, (2019) bahwa, setelah inspeksi visual, titik-titik kuning pada latar belakang ungu atau gelap setelah penyemprotan larutan DPPH menunjukkan bahwa sampel positif mengandung bahan kimia antioksidan.

Tabel 2. Hasil uji flavonoid dan antioksidan menggunakan KLT

Flavonoid	Antioksidan
	





Keterangan: A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, dan O : Kelompok fraksi

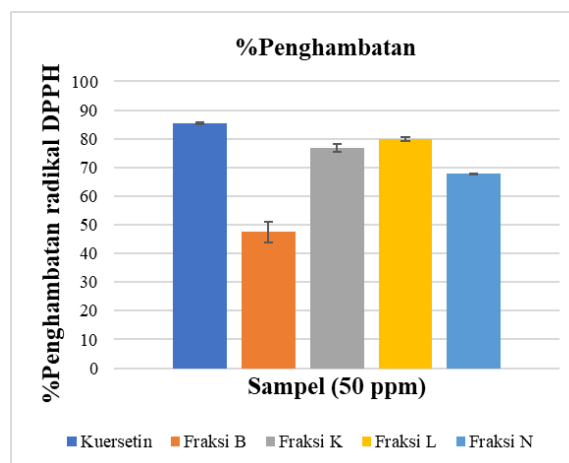
Aktivitas Antiradikal

Penelitian ini menggunakan waktu operasi 30 menit karena hasil pengukuran waktu operasi konsisten pada 30 sampai 35 menit. Hal ini konsisten dengan temuan DPPH OT secara umum, yang menunjukkan bahwa panjang gelombang DPPH tertinggi adalah 517 ± 2 nm dan berlangsung selama 15 sampai 30 menit (Molyneux, 2004). Panjang gelombang maksimum yang diukur adalah 514 nm. Panjang gelombang DPPH maksimum, secara teori, adalah 517 nm. Kita dapat memperhitungkan pergeseran antara 0 dan 4 nm untuk memperhitungkan perbedaan antara panjang gelombang maksimum teoritis dan hasil aktual (Nasution, 2018). Hal ini menunjukkan bahwa temuan pengukuran panjang gelombang DPPH maksimum masih dalam rentang pergeseran yang dibolehkan, itulah sebabnya 514 nm dipilih sebagai panjang gelombang maksimum dalam penelitian ini.

Mengukur absorbansi larutan kontrol, yang bertujuan untuk memastikan absorbansi awal DPPH sebelum menambahkan standar atau sampel, merupakan langkah pertama dalam menentukan aktivitas antiradikal. Untuk meningkatkan ketepatan percobaan dan memastikan bahwa aktivitas antiradikal sampel ditentukan secara akurat, aktivitas standar quercetin harus diukur. Glikosida quercetin, suatu zat dengan sifat antiradikal bebas yang kuat, membentuk 60–75% flavonoid. Melalui proses transfer atom H atau transfer elektron dari kelompok ini, gugus OH quercetin dapat

menstabilkan radikal bebas (Adawiyah & Rizki, 2018; Hasanah & Novian, 2020).

Larutan DPPH 0,30 mL mM digunakan untuk mereaksikan 4,70 mL setiap larutan standar dan sampel konsentrasi 50 ppm untuk menghasilkan aktivitas antiradikal. Larutan diinkubasi selama 30 menit berdasarkan hasil OT dengan tujuan untuk mendapatkan reaksi yang stabil antara larutan uji dengan DPPH (Adawiyah & Rizki, 2018). Hasil pengukuran aktivitas antiradikal standar quercetin dan fraksi-fraksi dinyatakan dalam nilai persen inhibisi seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Nilai persen penghambatan antiradikal quercetin dan fraksi-fraksi

Berdasarkan Grafik 1 dapat dilihat bahwa nilai % penghambatan (%inhibisi) standar dan sampel uji berbeda-beda yang berarti terdapat perbedaan signifikan antar nilai % penghambatan (%inhibisi) dari fraksi-fraksi daun kepundung. Diperoleh nilai % penghambatan tertinggi yaitu pada standar quercetin. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan fraksi daun kepundung masih di bawah standar industri. Hal ini mungkin karena quercetin merupakan zat murni, sedangkan kandungan fraksinya masih merupakan senyawa kompleks yang mengandung banyak komponen lain (Handayani *et al.*, 2020). Aktivitas antioksidan fraksi daun kepundung, diperoleh nilai % penghambatan tertinggi yaitu pada fraksi L yang menandakan bahwa fraksi L memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi dibandingkan fraksi lainnya. Dengan demikian, pada konsentrasi 50 ppm, fraksi daun kepundung mampu meredam radikal bebas DPPH hingga 79,94%.

Kesimpulan

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun kepundung yang diperoleh dengan kromatografi kolom gravitasi memiliki aktivitas antioksidan pada masing-masing kelompok fraksi dan positif mengandung senyawa flavonoid dan antioksidan. Aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada fraksi L pada konsentrasi 50 ppm, dengan nilai persentase penghambatan rata-rata sebesar 79,94%, menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih peneliti ucapkan kepada semua pihak yang terlibat dalam penelitian ini baik secara moral maupun materil.

Referensi

- Adawiyah, R., & Rizki, M. I. (2018). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol akar kalakai (*Stenochlaena palustris* bedd) asal kalimantan tengah. *Jurnal Pharmascience*, 5(1). DOI: <https://doi.org/10.20527/jps.v5i1.5788>
- Agustin, R., Oktaviantari, D. E., & Feladita, N. (2021). Identifikasi Hidrokuinon dalam Sabun Pemutih Pembersih Wajah di Tiga Klinik Kecantikan dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis dan Spektrofotometri UV-Vis. *J. Anal. Farm.*, 6, 95-101. DOI: <https://doi.org/10.33024/jaf.v6i2.2236>
- Andriani, M., Permana, I. D. G. M., & Widarta, I. R. (2019). Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Aktivitas Antioksidan dengan Metode Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 8(3), 330-340. <https://jurnal.harianregional.com/itepa/full-53466>
- Ayu, S. I., Pratiwi, L., & Nurbaeti, S. N. (2019). Uji Kualitatif senyawa Fenol dan Flavonoid dalam Ekstrak N-Heksan Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran Untan*, 4(1). <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jmfar>
- masi/article/viewFile/41675/75676586427
- Binuni, R., Maarisit, W., Hariyadi, H., & Saroinsong, Y. (2020). Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun mangrove *Sonneratia alba* dari Kecamatan Tagulandang, Sulawesi Utara menggunakan metode DPPH. *Biofarmasetikal Tropis (The Tropical Journal of Biopharmaceutical)*, 3(1), 79-85. DOI: <https://doi.org/10.55724/j.biofar.trop.v3i1.260>
- Damanis, F. V., Wewengkang, D. S., & Antasionasti, I. (2020). Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol ascidian *Herdmania Momus* dengan metode DPPH (1, 1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Pharmacon*, 9(3), 464-469. DOI: <https://doi.org/10.35799/pha.9.2020.30033>
- Darmawansyah, A. (2023). Pemisahan Senyawa Terpenoid Ekstrak n-Heksan Daun Kaembu-Embu (*Blumea balsamifera*) Menggunakan Kromatografi Kolom Gravitasi. *Sains: Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*, 12(1), 24-30. <https://sains.uho.ac.id/index.php/journal/article/view/29/29>
- Darmawansyah, A., Nurlansi., & Haeruddin. (2023). Pemisahan Senyawa Terpenoid Ekstrak n-Heksan Daun Kaembu-Embu (*Blumea balsamifera*) Menggunakan Kromatografi Kolom Gravitasi. *Sains: Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*, 12(1), 24-30. <https://sains.uho.ac.id/index.php/journal/article/view/29/29>
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2017. Farmakope Hebal Indonesia Edisi II. In Farmakope Herbal Indonesia. <https://bikinpabrik.id/wp-content/uploads/2023/04/Farmakope-Herbal-Indonesia-Edisi-II-Tahun-2017-1.pdf>
- Fauzi, M. N., & Santoso, J. (2021). Uji Kualitatif dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Buah Maja (*Aegle Marmelos* (L.) Correa) dengan Metode DPPH. *Jurnal Riset Farmasi*, 1-8. DOI: <https://doi.org/10.29313/jrf.v1i1.25>
- Handayani, S., Kurniawati, I., & Rasyid, F. A. (2020). Uji Aktivitas antioksidan ekstrak

- daun karet kebo (*Ficus elastica*) dengan metode peredaman radikal bebas Dpph (1, 1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)(e-Journal)*, 6(1), 141-150. DOI: <https://doi.org/10.22487/j24428744.2020.v6.i1.15022>
- Hasanah, N., & Novian, D. R. (2020). Analisis ekstrak etanol buah labu kuning (*Cucurbita moschata* D.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 9(1), 54-59. DOI: <https://doi.org/10.30591/pjif.v9i1.1758>
- Herli, M. A., & Wardaniati, I. (2019). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Ketapang Yang Tumbuh Di Sekitar Univ. *Abdurrah, Pekanbaru*. DOI: <https://doi.org/10.36341/jops.v2i2.1024>
- Indrayoni, P., & Padmiswari, A. A. I. M. (2022). Potential of Hibiscus Rosa-Sinensis L. and Baccaurea Racemosa Extract as a Hair Growth with Tail Suspension Test Stress-Induced Alopecia. *Ad-Dawaa'Journal of Pharmaceutical Sciences*, 5(1). DOI: <https://doi.org/10.24252/djps.v5i1.27645>
- Mamonto, K. D., Ramadhan, A. M., & Rijai, L. (2015). Profil Kromatografi Lapis Tipis Metabolit Sekunder Ekstrak Fraksi Etil Asetat Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) Hasil Pemisahan Kromatografi Kolom Gravitasi. In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences* (Vol. 1, pp. 100-107). DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v1i1.14>
- Mangiwa, A., Maulidah, M., Patulen, T. R., Kende, D. K., Ismail, I., Lestari, D. A., Indrisari, M., & Muslimin, L. (2023). A Comparative Study on Antioxidant Activity of Infusion and Decoction of (*Cayratia trifolia* (L.) Domin). *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 6(3), 909-915. DOI: <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v6i3.55>
- Mawarda, A., Samsul, E., & Sastyarina, Y. (2020). Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi dari Ekstrak Etanol Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr) terhadap Rendemen Ekstrak dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences* (Vol. 11, pp. 1-4). DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v11i1.384>
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarini J. sci. technol*, 26(2), 211-219. <https://www.thaiscience.info/journals/article/song/10462423.pdf>
- Muthia, R., Saputri, R., & Verawati, S. A. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Mundar (*Garcinia forbesii* King.) Menggunakan Metode DPPH (2, 2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil). *Jurnal Pharmascience*, 6(1), 74-82. DOI: <https://doi.org/10.20527/jps.v6i1.6079>
- Nasution, A. Y. (2018). Penetapan Kadar Residu Formalin pada Ikan Tongkol yang Diberi Jeruk Nipis (Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis). *JOPS (Journal Of Pharmacy and Science)*, 2(1), 22-28. DOI: <https://doi.org/10.36341/jops.v2i1.1258>
- Pramiastuti, O., Solikhati, D. I. K., & Suryani, A. (2021). Aktivitas Antioksidan Fraksi Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) Dengan Metode Dpph (1, 1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal Wiyata: Penelitian Sains dan Kesehatan*, 8(1), 55-66. <https://ojs.iik.ac.id/index.php/wiyata/article/view/392/224>
- Prasetyo, E., Kiromah, N. Z. W., & Rahayu, T. P. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil) Terhadap Ekstrak Etanol Kulit Buah Durian (*Durio zibethinnus* L.) dari Desa Alasmalang Kabupaten Banyumas. *Jurnal Pharmascience*, 8(1), 75-82. DOI: <https://doi.org/10.20527/jps.v8i1.9200>
- Ramdan, S. R. K., & Fitriah, V. (2023). Optimasi Fase Gerak pada Isolasi dan Identifikasi Antosianin Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas* L). *Pharmacy Genius*, 2(2), 135-144. DOI: <https://doi.org/10.56359/pharmgen.v2i2.280>
- Simanjuntak, E. J., & Zulham, Z. (2020). Superoksida Dismutase (Sod) Dan Radikal Bebas. *Jurnal Keperawatan Dan Fisioterapi (Jkf)*, 2(2), 124-129. DOI:

- <https://doi.org/10.35451/jkf.v2i2.342>
Suena, N. M. D. S., & Antari, N. P. U. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Maserat Air Biji Kopi (*Coffea Canephora*) Hijau Pupuan Dengan Metode Dpph (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 6(2). DOI: <https://doi.org/10.36733/medicamento.v6i2.1106>
- Suhaenah, A., & Nuryanti, S. (2017). Skrining fitokimia ekstrak jamur kancing (*Agaricus bisporus*). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(1), 199-204. DOI: <https://doi.org/10.33096/jffi.v4i1.228>
- Supriadin, A., Kudus, R., & Amalia, V. (2017). Efek Larvasida Hasil Fraksinasi Metanol Daun *Aglaiia glabrata* terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Jurnal Istek*, 10(1). <https://journal.uinsgd.ac.id/index.php/istek/article/view/1457/1020>
- Widodo, H., Sismindari, S., Asmara, W., & Rohman, A. (2019). Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of selected medicinal plants used for liver diseases and its classification with chemometrics. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 9(6), 099-105. DOI: <https://doi.org/10.7324/japs.2019.90614>
- Wulandari, L., Nugraha, A. S., & Azhari, N. P. (2020). Penentuan aktivitas antioksidan dan antidiabetes ekstrak daun Kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg.) secara In Vitro. *JSFK (Jurnal Sains Farmasi & Klinis)*, 7(1), 60-66. DOI: <https://doi.org/10.25077/jsfk.7.1.60-66.2020>
- Yulisa, E., Rudiyanasyah., & Jayuska, H. A. (2018). Karakterisasi Senyawa Triterpenoid Dari Kulit Akar Jabon (*Anthocephalus cadamba* (Roxb.) Miq.). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 7(4). <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmi/article/view/28815/75676578601>