

Isolasi Senyawa Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Bilaran Tapah (*Argyrea nervosa*) Asal Rantau Kalimantan Selatan

* **Sutomo**¹, Arnida¹, Nurmalita Sari², Fadlilaturrahmah³

¹Pusat Studi Obat Berbasis Bahan Alam Universitas Lambung Mangkurat

²Program studi Farmasi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat

³Bagian Kimia Farmasi Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat

Jl. A. Yani Km 36 Banjarbaru, Kalimantan Selatan

Email: sutomo01@unlam.ac.id

ABSTRAK

Kalimantan Selatan kaya akan tumbuhan berkhasiat obat, salah satunya *Argyrea nervosa*. Ekstrak etanol daun *A. nervosa* berpotensi sebagai antioksidan dengan nilai IC₅₀ 9,46 ppm. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa antioksidan fraksi etil asetat daun *A. nervosa*. Metode ekstraksi yang digunakan maserasi. Pemisahan dan pemurnian isolat dilakukan dengan KLT, KCV, dan KK. Uji kualitatif dan uji kuantitatif aktivitas antioksidan menggunakan metode difenil pikrilhidrazil (DPPH). Identifikasi senyawa dengan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. Serbuk daun *A. nervosa* diekstraksi dengan etanol 96% dan diperoleh rendemen sebesar 16,916%. Rendemen fraksi etil asetat diperoleh sebesar 16,33%. Fraksi etil asetat difraksinasi kembali menggunakan KCV dengan eluen n-heksan:etil asetat (20:1, 15:1; 10:1, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7) v/v, dan metanol:etil asetat (1:4) v/v diperoleh 5 fraksi. Fraksi 4 digunakan pada KK dengan eluen n-heksan:etil asetat (20:1; 15:1; 10:1; 9:1; 7:3; dan 5:5) v/v. Uji kualitatif KLT menunjukkan isolat mengandung senyawa antioksidan dengan pereaksi DPPH. Analisis dengan spektrofotometer UV-Vis menghasilkan λ_{maks} 344 nm dan 299 nm. Analisis FTIR menunjukkan terdapat gugus fungsi –OH, C=O, C-O, C=C (alkena dan aromatis), dan C-H.

Kata Kunci : Antioksidan, DPPH, fraksi etil asetat, daun *A. nervosa*, isolasi

ABSTRACT

South Kalimantan is rich with medicinal herbs, one of it is Argyrea nervosa. Ethanol extract of A. nervosa leaves has potential as antioxidant with IC50 value of 9,46 ppm. This study aims to isolate antioxidant compounds from ethyl acetate fraction of A. nervosa leaves. Extraction method used by maceration. Separation and purification of isolates was done by TLC, VLC, and CC. Qualitative and quantitative test of antioxidant activity using diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) method. Identification of compounds uses

UV-Vis and FTIR spectrophotometers. *Argyrea nervosa* leaf powder was extracted with 96% ethanol and obtained a yield of 16,916%. Rendemen of ethyl acetate fraction is 16,33%. The ethyl acetate fraction is fractionated again using VLC with eluen *n*-hexane:ethyl acetate (20:1, 15:1, 10:1,9:1, 8:2, 7:3, 6:4; 5:5; 4:6; 3:7) v/v, and methanol:ethyl acetate (1:4) v/v obtained 5 fraction. The fraction 4 is used for isolation using the gravity CC with eluen *n*-hexane:ethyl acetate (20:1, 15:1, 10:1, 9:1, 7:3, and 5:5) v/v. Qualitative TLC test showed isolates containing antioxidant compounds with DPPH reagent. Analysis with UV-Vis spectrophotometer yielded 344 nm and 299 nm λ_{max} . FTIR analysis shows there are functional groups -OH, C=O, C-O, C=C (alkene and aromatic), and C-H.

Keywords: Antioxidants, DPPH, ethyl acetate fraction, *A. nervosa* leaves, isolation

I. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati lebih dari 30.000 spesies tumbuhan dan tercatat 7000 spesies telah diketahui khasiatnya (Saifudin *et al.*, 2011). Banyak penelitian yang telah dilakukan pada obat tradisional, khususnya yang berasal dari Kalimantan. Kawasan hutan tropis Kalimantan telah banyak ditemukan berbagai macam tumbuhan yang berkhasiat obat. Bagian tumbuhan yang sering digunakan oleh masyarakat adalah akar, batang, rimpang, dan daun (Krismawati & Sabran, 2004).

Bilaran tapah (*Argyrea nervosa* (Burm. f.)) merupakan salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat di daerah Rantau, Kalimantan Selatan. *Argyrea nervosa* memiliki kandungan kimia dari golongan alkaloid, lipid, flavonoid, steroid dan triterpenoid (Husain *et al.*, 1992; Sharma *et al.*, 2001). Menurut penelitian lain, aktivitas antioksidan yakni *Inhibitory Concentration 50* (IC₅₀) ekstrak daun *A.*

nervosa adalah sebesar 9,46 ppm. Hal ini membuktikan bahwa daun *A. nervosa* sangat berpotensi sebagai antioksidan (Sutomo *et al.*, 2016).

Antioksidan memiliki peran yang sangat penting bagi kesehatan. Karakter utama senyawa antioksidan adalah kemampuannya menangkap radikal bebas (Prakash *et al.*, 2001). Tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat memiliki zat-zat penting yang sangat berperan dalam menentukan aktivitas kerja tumbuhan obat tersebut, salah satunya yaitu flavonoid. Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan (Selawa *et al.*, 2013).

Etil asetat merupakan pelarut yang mampu menarik senyawa yang bersifat semi polar seperti flavonoid dan tanin. Fraksi etil asetat memiliki total fenolik terbesar, dimana golongan fenolik merupakan senyawa yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan (Samin *et al.*, 2013). Metode penentuan aktivitas yang sering digunakan adalah metode 2,2-

difenil-2-pikrihidrazil (DPPH) karena hasil yang diperoleh lebih cepat, mudah dianalisis, selain itu harga yang relatif ekonomis (Brand-William *et al.*, 1995; Bondet *et al.*, 1997; Fukumoto & Mazza, 2000; Kedare & Singh, 2011). Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian tentang isolasi dan uji aktivitas antioksidan daun *A. nervosa* ini dari fraksi etil asetat

II. METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat pada penelitian ini yaitu alat-alat gelas (Pyrex® Iwaki Glass), botol reagen, cawan porselin, corong pisah, *Infrared spectrometry* (FTIR, Perkin Elmer 100), kertas saring, kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom (KK), labu ukur 5;10; dan 25 mL, lampu ultraviolet 254 nm dan 366 nm, lemari asam, neraca analitik (Ohaus®), oven, pipa kapiler, pipet ukur, *rotary vacuum evaporator*, seperangkat alat KLT, seperangkat alat kromatografi kolom, seperangkat alat maserasi, UV-Vis (spectronic® 20 genesys™), *waterbath* (SMIC®).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu akuades, daun *A. nervosa*, etil asetat (p.a), kalium bromida, kloroform (p.a), metanol (p.a), metanol (teknis), *n*-heksana (p.a), plat kromatografi lapis tipis (KLT) dengan silika gel 60 F₂₅₄

for thin layer chromatography (Merck), silika gel 60 *for column chromatography* (Merck), *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH).

B. Pengumpulan dan pengolahan simplisia

Simplisia diambil dari daerah Rantau, Kalimantan Selatan. Bagian yang diambil adalah daun. Daun disortasi basah terlebih dahulu, lalu dilakukan pencucian dengan air mengalir. Sampel dirajang kecil-kecil kemudian dikeringanginkan. Sampel kering yang didapat ditimbang dan dicatat beratnya, kemudian disimpan di tempat kering, bersih, dan tertutup rapat (Suharmiati & Maryani, 2003).

C. Ekstraksi

Serbuk kering sebanyak 500 gram dimaserasi dengan etanol 96% ±1 cm di atas permukaan serbuk atau sebanyak 4 L (1:8) di dalam maserator. Maserasi dilakukan selama 3 kali 24 jam, dan dilakukan pengadukan setiap 6 jam. Setiap 24 jam dilakukan pergantian pelarut dengan jumlah yang sama. Ekstrak cair yang didapat dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 60° C. Ekstrak kental dihitung rendemennya terhadap berat simplisia awal (Sutomo, 2014).

D. Fraksinasi

Fraksinasi yang dilakukan ialah fraksinasi cair-cair. Ada dua macam

pelarut organik yang digunakan, yaitu *n*-heksan dan etil asetat. Ekstrak ditimbang 15 gram (pertama) disuspensikan dengan akuades sebanyak 37,5 mL (1:2,5) dan diekstraksi dengan *n*-heksan terlebih dahulu. Senyawa yang tidak larut pada pelarut *n*-heksan dimasukkan kembali dalam corong pisah, dan ditambahkan pelarut etil asetat sebanyak 75 mL (1:5). Campuran tersebut digojog, dan dibiarkan hingga terbentuk dua lapisan, dimana lapisan atas adalah lapisan etil asetat dan lapisan bawah adalah lapisan air. Fraksinasi dilakukan sebanyak 12 kali sampai lapisan etil asetat berwarna bening. Lapisan etil asetat yang didapat ditampung dan diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental fraksi etil asetat. Seluruh fraksi etil asetat disimpan untuk uji aktivitas antioksidan dan isolasi senyawa aktif. Fraksi *n*-heksan dan etil asetat yang telah dipisahkan dihitung rendemennya (Sutomo, 2014).

E. Pemisahan dengan Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Empat puluh lima gram silika gel 60 untuk kromatografi kolom dimasukkan ke dalam kolom. Sebanyak 2 gram sampel digerus dengan silika dan sedikit demi sedikit diteteskan dengan 5 mL campuran metanol-kloroform (1:1 v/v) agar mudah bercampur dengan silika sambil digerus hingga terbentuk serbuk kering yang

homogen. Sampel dielus dengan gradien fasa gerak campuran *n*-heksana-etil asetat (20:1; 15:1; 10:1; 9:1; 8:2; 7:3; 6:4; 5:5; 4:6; dan 3:7) v/v, dan untuk bilasan terakhir menggunakan metanol:etil asetat (1:4).

F. Pemisahan dengan Kromatografi Kolom (KK)

Sebanyak 1 gram sampel dimasukkan ke dalam kolom sedikit demi sedikit hingga semuanya masuk. Bagian atas permukaan sampel ditutup kembali dengan silika gel yang telah disuspensikan dengan fasa gerak. Fasa gerak yang digunakan adalah *n*-heksan : etil asetat (20:1; 15:1; 10:1; 9:1; 7:3; dan 5:5) v/v. Fasa gerak yang keluar diatur dengan kecepatan 8 detik 1 tetes. Eluat yang keluar ditampung dalam vial berlabel dan bila mulai penuh diganti dengan vial yang lain. Tiap eluat diperiksa profil kromatogramnya dan vial dengan karakteristik yang sama dikumpulkan sebagai fraksi-fraksi. Isolat yang diperoleh dilakukan identifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis, FT-IR, dan aktivitas antioksidan (Sutomo, 2014).

G. Pemeriksaan Kemurnian dengan KLT 2 Dimensi

Senyawa hasil isolasi dengan kromatografi kolom ditotolkan pada lempeng lalu dikembangkan dengan satu

sistem fasa gerak sehingga campuran terpisah menurut jalur yang sejajar dengan salah satu sisi. Lempeng diangkat, dikeringkan dan diputar 90°, dan diletakkan dalam bejana kromatografi yang berisi fasa gerak kedua, sehingga bercak yang terpisah pada pengembangan pertama terletak dibagian bawah sepanjang lempeng, lalu dikromatografi lagi (Harborne, 1987).

H. Uji Aktivitas Kuantitatif Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun *A. nervosa*

Larutan isolat fraksi etil asetat daun *A. nervosa* dibuat dengan menimbang 5,0 mg isolat kemudian dilarutkan dalam metanol hingga volume 1 mL. Kemudian diambil sebanyak 0,2 mL dan dilarutkan dalam labu ukur 25 mL dan diperoleh larutan stok 40 ppm. Larutan baku 40 ppm dilakukan pengenceran sehingga diperoleh variasi konsentrasi 2,5; 5; 10; 20; dan 40 ppm. Satu milliliter larutan DPPH 0,4 mM dalam labu ukur 5 mL ditambahkan dengan tiap-tiap larutan sampel sebanyak 1 mL, dan ditambahkan metanol sampai tanda batas. Kemudian larutan didiamkan di tempat gelap selama 20 menit. Kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 516 nm (Nihlati *et al.*, 2008).

Kapasitas antioksidan (persen inhibisi) untuk menghambat radikal bebas

menurut Andayani *et al.*, (2008) ditentukan dengan persamaan:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Abs Kontrol} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs Kontrol}} 100 \%$$

Nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi sampel yang dapat menghambat radikal bebas sebesar 50% diperoleh dengan memakai persamaan regresi linear $y = bx + a$.

I. Spektrofotometri UV-Vis

Sampel Analisis senyawa murni hasil isolasi dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada. Spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk mencari panjang gelombang maksimum (λ_{max}) dari sampel yang diukur. Sampel yang akan diukur dilarutkan dengan 5 mL metanol p.a selanjutnya dimasukkan ke dalam kuvet. Kuvet yang berisi blanko dimasukkan pada sisi yang tepat, begitu pula dengan sampel yang diukur pada panjang gelombang 200-400nm (Sutomo, 2014).

J. Spektrofotometri FTIR

Analisis Senyawa murni hasil isolasi dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada Spektrofotometri FTIR digunakan untuk melihat gugus fungsi dari sampel yang diukur pada daerah gelombang tertentu. Senyawa hasil isolasi (isolat) yang akan diukur digerus dengan KBr (0,2-0,5 mg isolat + 100 mg KBr).

Campuran dikempa (dibuat pelet) dan pelet yang telah dibuat ditempatkan pada kisi NaCl, kemudian diukur dengan alat FTIR di daerah bilangan gelombang tengah infra merah ($4000-400\text{ cm}^{-1}$) pada resolusi 16 cm^{-1} dengan jumlah payar 32 (Sutomo, 2014).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Preparasi Sampel Daun *A. nervosa*

Daun yang telah disortasi dikeringkan dengan cara kering angin di tempat teduh selama 3-4 hari sampai kering ditandai dengan simplisia keringnya dapat diremas dan membentuk serbuk kasar. Serbuk kering yang diperoleh sebanyak 1 kg berwarna hijau tua, beraroma khas, dan tidak berasa.

B. Ekstraksi

Ekstrak dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 3 kali 24 jam dengan pergantian pelarut setiap 24 jam (remaserasi), disertai pengadukan setiap 6 jam. Ekstrak selanjutnya diuapkan dengan *waterbath* hingga ekstrak mengental dan diperoleh ekstrak sebanyak 84,58 gram. Rendemen yang diperoleh adalah 16,916%.

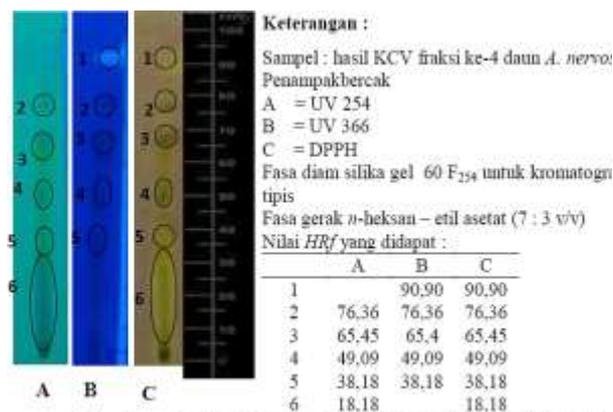
C. Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan secara bertingkat, yakni menggunakan pelarut *n*-heksan terlebih dahulu. Setelah tidak ada

lagi senyawa yang tertarik dalam *n*-heksan, bagian yang tidak larut dipisahkan kemudian dilakukan fraksinasi dengan etil asetat. Filtrat fraksi etil asetat yang diperoleh diuapkan dan diperoleh berat fraksi 4,9 gram. Rendemen fraksi etil asetat daun *A. nervosa* yang diperoleh sebesar 16,33%. Uji kualitatif antioksidan dengan KLT memberikan informasi bahwa beberapa senyawa dalam ekstrak dan fraksinya bersifat antioksidan. Fraksi yang didapatkan dipisahkan kembali menggunakan kromatografi cair vakum.

D. Fraksinasi dengan KCV

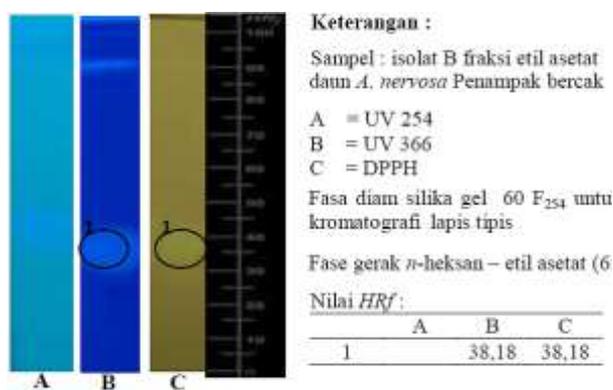
Hasil KLT fraksi etil asetat menunjukkan bahwa masih terdapat banyak bercak yang berdempetan pada plat KLT sehingga dilanjutkan ke proses KCV. Kromatografi cair vakum digunakan dengan tujuan untuk memisahkan senyawa yang terdapat pada fraksi etil asetat agar lebih sederhana atau tunggal. Hasil KVC diperoleh sebanyak 5 fraksi, dan fraksi yang digunakan untuk KK adalah fraksi ke-4. Berdasarkan profil KLT fraksi 4 diperoleh 5 bercak pada penampak bercak UV 254 nm, 5 bercak pada penampak bercak UV 366 nm, dan 6 bercak kuning setelah dilakukan penyemprotan dengan pereaksi DPPH, kemudian nilai *HRf* tiap-tiap bercak yang ada pada plat dihitung. Hasil KLT disajikan pada gambar 1.



Gambar 1. Profil Kromatogram fraksi 4 dari hasil KCV

E. Isolasi Senyawa Kimia dengan KK

Fraksi 4 dari hasil KCV diisolasi dengan KK menggunakan fasa gerak *n*-heksan:etil asetat (20:1; 15:1; 10:1; 9:1; 7:3; dan 5:5)v/v. Perbandingan eluen yang digunakan ialah eluen bergradien (polaritas meningkat), sehingga diperoleh bercak dengan pemisahan yang maksimal dan diharapkan didapatkan bercak yang tunggal. Berdasarkan hasil KLT diperoleh isolat B memiliki bercak tunggal dan memiliki aktivitas antioksidan saat disemprot dengan pereaksi DPPH. Hasil KLT isolat B disajikan pada gambar 2.



Gambar 2. Profil KLT isolat B fraksi etil asetat daun *A. nervosa*

F. Uji Kemurnian dengan KLT 2 Dimensi

Uji kemurnian dengan KLT dua dimensi menggunakan dua macam eluen yang berbeda tingkat kepolarannya setelah diputar sebesar 90° (Ramadhani, 2013). Perbandingan eluen yang digunakan yaitu *n*-heksan:etil asetat (7:3 dan 6:4). Berdasarkan hasil KLT yang diamati secara visual dan pada lampu UV 254, terlihat bahwa terdapat satu noda pada plat, hal ini menandakan bahwa isolat yang didapat murni.

G. Aktivitas Kuantitatif Antioksidan Isolat

Aktivitas antioksidan isolat daun *A. nervosa* ditentukan menggunakan UV-Vis dengan metode DPPH yang dinyatakan dalam presen inhibisi. Metode ini sering digunakan karena hasil yang didapat lebih cepat, mudah, dan murah untuk dilakukan, sehingga digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang bersifat antioksidan (Brand-William *et al.*, 1995; Fukumoto & Mazza, 2000; Bondet *et al.*, 1997; Kedare & Singh, 2011). Persamaan yang diperoleh dari hubungan konsentrasi dengan % inhibisi adalah $y = 0,0737x + 18,1296$ dengan koefisien korelasi (*r*) sebesar 0,9994. Besarnya IC₅₀ isolat daun *A. nervosa* diperoleh sebesar 436,58 ppm.

H. Analisis Spektrum UV-Vis

Hasil analisa spektrum UV-Vis menunjukkan adanya serapan maksimum pada 344 nm dengan absorbansi 1,708 yang mengindikasikan adanya gugus kromofor berupa C=C dari senyawa aromatik, maka dapat diperkirakan adanya sistem kromofor dengan nilai transisi $\pi-\pi^*$ (Pavia *et al.*, 2001). Selanjutnya adanya serapan lain pada panjang gelombang 299 nm dengan absorbansi 0,794 yang mengindikasikan adanya ikatan C=O dari senyawa keton (jenuh) maka diperkirakan terdapat nilai transisi $n-\pi^*$ pada sistem kromofornya (Skoog *et al.*, 1983).

I. Analisis Spektrum FT-IR (*Fourier Transform – Infra Red*)

Hasil analisa infra merah dari isolat menunjukkan adanya serapan melebar antara 3600–3300 cm^{-1} yaitu pada bilangan gelombang 3371,57 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus hidroksil (-OH), didukung dengan adanya serapan serapan pada 1242,16 cm^{-1} dan 1273,02 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya C-O. Selanjutnya terdapat serapan dengan serapan kuat pada bilangan gelombang 2924,09–2854,65 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus CH alifatik didukung dengan adanya serapan pada 1442,75 cm^{-1} dan 1381,03 cm^{-1} untuk CH₂ (Meten) dan CH₃ (Metil). Ada C=O terkonjugasi pada bilangan gelombang

1689,64 cm^{-1} dan C=C aromatik pada bilangan gelombang 1604,77 cm^{-1} dan 1512,19 cm^{-1} . Berdasarkan data IR, senyawa yang diisolasi kemungkinan mengandung gugus aromatis, gugus hidroksi, gugus karbonil, dan serapan C-H alifatik dari metil (CH₃) dan metilen (CH₂). Pendekatan struktur dibandingkan dengan senyawa golongan fenolik (Tabel 1).

Tabel 1. Perbandingan bilangan gelombang isolat dengan golongan senyawa golongan fenolik (Tamat *et al.*, 2007; Rizkia *et al.*, 2014)

Gugus Fungsi	Isolat (cm^{-1})	Pemandin g 1 (cm^{-1})	Pemandin g 2 (cm^{-1})
	3371,57		
	1689,64		
-OH	1242,16	3344	
C=O	;	1710,74	3424
C – O	1273,02	1377,80	-
C=C	1442,75	1460,01	1130,08
(Aromatis)	;	dan	1635
	1512,19	1506,30	
	;	973, 835,	759
C – H	1604,77	dan 721	
	856,39		
	dan		
	817,82		

IV. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah

1. Senyawa antioksidan yang berhasil terisolasi adalah senyawa yang memiliki gugus fungsi -OH, C=O, C-O, C=C (alkena dan aromatis), dan C-H. selain itu memiliki panjang gelombang maksimum pada 344 nm dan 299 nm.

2. Aktivitas antioksidan isolat fraksi etil asetat daun *A. nervosa* yang diperoleh masih lemah dibandingkan ekstrak

DAFTAR PUSTAKA

- Andayani, R., L. Yovita, & Maimunah. 2008. Penentuan Aktivitas Antioksidan Kadar Fenolik Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum lycopersium* L.). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, **13** (1).
- Brand-William, W., M. E. Cuvelier, & C. Berset. 1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lwt.* **28** (1) : 25 – 30
- Bondet, V., W. Brand-William, & Berset, S. 1997. Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity Using The DPPH Free Radical Method. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.* **30** : 609-615.
- Fukumoto, L. R., & G. Mazza. 2000. Assessing Antioxidant and Prooxidant Activities of Phenolic Compounds. *J. Agric. Food Chem.* **48** (8) : 3597 – 3604
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Jilid II. Penerbit ITB, Bandung.
- Husain, O. P. A., S. P. Viramani, L. N. Popli, M. M. Misra, G. N. Gupta, Z. Srivastava, Abraham, & A. K. Singh. 1992. *Dictionary of Indian Medicinal Plants*. Central Institute of Mecinal & Aromatic Plants, Lucknow.
- Kedare, S. B., & R. P. Singh. 2011. Genesis and Development of DPPH Method of Antioxidant Assay. *J. Food Sci. Technol.* **48** (4) : 412-422
- Krismawati, A. & M. Sabran. 2004. Pengelolaan Sumber Daya Genetik Tanaman Obat Spesifik Kalimantan Tengah. *Buletin Plasma Nutfah.* **12** (1)
- Nihlati, A.P., A. Rohman, & T. Hertiani. 2008. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata* (Roxb. Schlecth) dengan Metode Penangkapam Radikal DPPH, *J. Nat. Med.* **62** : 207-21.
- Pavia, D. L., G. M. Lampman, G. S. Kriz, & Vyvyan. 2001. *Introduction to Spectroscopy 4th Edition*. Department of Chemistry, Western Washington University Bellingham, Washington.
- Prakash, A., F. Rigelhof, & E. Miller. 2001. Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories: Analytical Progress.* **19** (2) : 1-4.
- Ramadhani, R. A., D. Kusriani, & E. Fachriyah. 2013. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Etil Asetat Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.). *Chem. Info.* **1** (1) : 247-255
- Rizkia, P., Akyunul J., Haidatul H. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70%, Ekstrak dan Isolat Senyawa Flavonoid dalam Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *ALCHEMY.* **2** (3) : 154-162
- Saifudin, A., V. Rahayu, & H. Y. Teruna. 2011. *Standardisasi Bahan Obat Alam*. Graha Ilmu, Yogyakarta.
- Selawa, W., M. R. J. Runtuwene, & Gayatri C. 2013. Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)). *Pharmacon : Jurnal Ilmiah Farmasi.* **2** (1) : 18-22
- Sharma, P. C., M. B. Yelne, & T. J. Dennis. 2001. *Database on Medicinal Plants used in Ayurveda Volume 2*. Documentation & Publication Division, New Delhi.
- Skoog, D. A., F. J. Holler, T. A. Nieman. 1983. *Principles of Instrumental*

- Analysis Edisi ke-5*. Hourcourt Brace, Orlando
- Suharmiati & H. Maryani. 2003. *Khasiat dan Manfaat Jati Belanda : Si Pelangsing & Peluruh Kolesterol*. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Sutomo. 2014. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Penangkap Radikal DPPH dan Imunomodulator dari Buah Kasturi (Mangifera casturi Kosterm.) Suku Anacardiaceae*. Desertasi Program Pascasarjana Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Sutomo, Arnida, Rizki, M. I., Triyasmono, L., Nugroho, A., Mintowati, E., & Salamiah. 2016. Skrining Fitokimia dan Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan Tumbuhan Asal Daerah Rantau Kabupaten Tapin Kalimantan Selatan. *Jurnal Pharmascience*. **3 (1)** : 66 – 74
- Tamat, S. R., T. Wikanta, & Lina S. M. 2007. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Metanol Rumput Laut Hijau *Ulva reticulate* Forsskal. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. **1 (5)** : 31-36