

IN VITRO ANTIOXIDANT ACTIVITY AND GC-MS ANALYSIS OF ETHANOLIC MANGKOKAN LEAVES EXTRACT (*Polyscias balfouriana* (Sander ex Andre)) L.H.Bailey)

Eni Kartika Sari¹⁾, Sholihatil Hidayati²⁾

¹Program Studi Farmasi, STIKES Akbidyo, Jl. Parangtritis KM. 6 Sewon, Yogyakarta, Indonesia

²Program Studi Farmasi, STIKES dr. Soebandi Jember, Jl. Dr. Soebandi No, 99 Jember, Indonesia

D e t a i l A r t i k e l

Diterima : 22 Mei 2021

Direvisi : 29 Mei 2021

Diterbitkan : 1 Juni 2021

K a t a K u n c i

Antioksidan

Ekstrak Etanol

Daun Mangkukan

DPPH

GC-MS

P e n u l i s K o r e s p o n d e n s i

Name : Eni Kartika Sari

Affiliation : STIKES Akbidyo

Email : kartikasarieni83@gmail.com

A B S T R A K

Daun mangkukan (*Polyscias balfouriana* (Sander ex Andre) L.H.Bailey) merupakan tanaman hias atau pagar yang banyak tumbuh liar di lingkungan namun belum banyak dimanfaatkan secara maksimal. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui komponen senyawa serta potensi ekstrak etanol daun mangkukan sebagai antioksidan dalam menangkal radikal bebas dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Tahap penelitian meliputi skrining fitokimia dari kandungan metabolit sekunder, analisis komponen senyawa dengan metode GC-MS serta uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mangkukan positif mengandung tanin, alkaloid, terpenoid, saponin dan flavonoid. Hasil uji analisis GC-MS menunjukkan bahwa kandungan terbanyak daun mangkukan yaitu *Hexadecanoic acid* dengan luas area 12,28%. Berdasarkan hasil uji dengan penghambatan radikal bebas dengan metode DPPH diperoleh data bahwa ekstrak etanol daun mangkukan memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 161,39 ppm. Ekstrak etanol daun mangkukan memiliki aktivitas sebagai antioksidan sehingga sangat potensial untuk dikembangkan dalam pengobatan penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas.

A B S T R A C T

The leaves of mangkukan (*Polyscias balfouriana* (Sander ex Andre) L.H.Bailey) are ornamental plants or fences that grow wild in the environment but have not been fully utilized. This research was conducted to determine the components of the compound and the potential of mangkukan leaf ethanol extract as an antioxidant in counter free radicals using the DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) method. The research stage included phytochemical screening of secondary metabolites, component analysis using the GC-MS method and antioxidant activity testing using the DPPH method. The results showed that the

ethanol extract of mangkowan leaves positively contained tannins, alkaloids, terpenoids, saponins and flavonoids. The results of GC-MS analysis showed that the highest content of mangkowan leaves was Hexadecanoic acid with an area of 12.28%. Based on the test results with free radical inhibition with the DPPH method, it was found that the ethanol extract of mangkowan leaves had antioxidant activity with an IC₅₀ value of 161,39 ppm. The ethanol extract of mangkowan leaves has antioxidant activity so that it is potential to be developed in the treatment of diseases caused by free radicals.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan Negara dengan kekayaan alam hayati yang melimpah dengan jumlah spesies mencapai 20.000 spesies, yang mana 40% termasuk tumbuhan endemik atau asli Indonesia (Kusmana & Hikmat, 2015). Namun, kekayaan alam tersebut belum di manfaatkan secara maksimal, terutama dalam pengembangan obat-obatan.

Masyarakat Indonesia secara umum lebih familiar menggunakan pengobatan secara tradisional, yakni dengan menggunakan tumbuhan dengan kandungan kimia yang dimiliki (Hariana, 2008). Salah satu tanaman yang belum banyak dimanfaatkan secara maksimal yaitu daun mangkowan. Daun mangkowan banyak dimanfaatkan oleh masyarakat untuk tanaman hias atau pagar yang tumbuh liar. Tanaman tersebut belum digunakan secara maksimal karena masyarakat belum mengetahui manfaat dan kegunaannya sebagai tanaman obat. Secara empiris tanaman ini digunakan masyarakat untuk menghilangkan bau badan, pelumas kepala terhadap kerontokan rambut, infeksi, diuretika, dan peluruh keringat (Herawati, 2004). Ekstrak metanol daun mangkowan terbukti memiliki aktivitas antioksidan (Eden & Badahdah, 2016).

Antioksidan terdiri dari dua jenis, yaitu alami dan sintetik. Antioksidan alami bersumber dari bahan alam yang berpotensi menangkap radikal bebas, sedangkan antioksidan sintetik dihasilkan dari hasil sintesis secara kimia (Isfahlan et al., 2010). Senyawa antioksidan dapat mencegah efek negatif dari radikal bebas dengan cara memberikan elektron, mengikat dan mengakhiri reaksi berantai pada radikal bebas (Halliwell & Whiteman, 2004). Senyawa antioksidan memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya molekul radikal yang sangat reaktif (Herry, 2011).

Uji aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan metode penangkapan radikal bebas menggunakan DPPH. Berdasarkan latar belakang diatas, maka perlu dilakukan penelitian terkait kandungan senyawa serta uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun mangkowan menggunakan metode DPPH. Metode ini dinilai lebih menguntungkan karena sederhana, mudah, efisien, cepat dan tidak membutuhkan jumlah sampel yang banyak (Badarinath et al., 2010).

METODE PENELITIAN

Pengumpulan Sampel daun Mangkowan dan Ekstraksi

Sampel daun mangkowan didapatkan dari daerah Yogyakarta. Pelaksanaan determinasi dilakukan di laboratorium Biologi Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Daun yang

118

telah disortasi, dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C. Ekstraksi dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 400 gram sampel serbuk kering daun mangkokan, kemudian dimerasi dengan pelarut etanol 70% selama 24 jam sambil diaduk-aduk, dan di remerasi sebanyak 2 kali. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator*, kemudian hasil filtrat pekat ekstrak etanol daun mangkokan digunakan sebagai bahan uji.

Uji Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia terdiri dari identifikasi senyawa terpenoid menggunakan asam sulfat pekat, senyawa alkaloid pereaksi Wagner dan Mayer, senyawa flavonoid dengan HCl pekat, senyawa saponin metode terbentuknya buih putih dan senyawa tannin dengan larutan FeCl_3 1%.

Analisis Kandungan Senyawa dengan metode Gass Chromatography Mass Spectrometri (GC-MS)

Identifikasi sampel ekstrak etanol daun mangkokan menggunakan instrumen GC-MS seri QP2010S SHIMADZU dengan jenis kolom Rtx 5 MS yang panjangnya 30 m. Deteksi sampel dilakukan dengan menggunakan helium sebagai gas pembawa dengan energi ionisasi sebesar 70 eV. Suhu kolom oven diatur sebesar 70°C, temperatur injeksi 300°C, tekanan 13,7 kPa, aliran total :28,0 mL/menit, aliran kolom :0,50 mL/menit, kecepatan linear :25,9 cm/detik. Waktu mulai 3,20 menit, waktu berhenti pada menit ke 70,00 dan waktu setimbang 3 menit. Jumlah% relatif setiap komponen dihitung dengan membandingkan rata-rata luas puncak dengan luas total.

Uji aktivitas Antioksidan

a. Pembuatan reagen DPPH 0,15 mmol

Sebanyak 20 mg DPPH dilarutkan dalam 10 mL etanol p.a, dimasukkan dalam labu ukur 50 mL, kemudian ditambah etanol p.a sampai tanda batas dan homogenkan. Diambil 15 ml larutan DPPH 0,15 mmol, dimasukkan dalam labu ukur 100 mL, ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas dan homogenkan.

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Dipipet 1 mL DPPH 0,15 mmol tambahkan 1 mL etanol p.a digojog hingga homogen. Diukur absorbansinya pada rentang panjang gelombang 450–600 nm terhadap blanko etanol p.a.

c. Penentuan Absorbansi pada Panjang Gelombang Maksimum

Dipipet 1 mL DPPH 0,15 mmol ditambahkan 1 mL etanol p.a digojok hingga homogen. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh.

d. Pembuatan Larutan Sampel Induk Ekstrak Etanol Daun Mangkokan 10000 ppm

Ditimbang sampel sebanyak 100 mg dilarutkan dalam 5 ml etanol p.a. dan di masukkan ke dalam sonikator selama 25 menit, lalu disaring. Kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 ml, tambahkan etanol p.a sampai tanda batas dan homogenkan.

e. Penentuan Operating Time

119

Dibuat larutan sampel 500 ppm, ditambahkan 2 mL larutan DPPH dan diukur absorbansinya dalam rentang waktu 0–60 menit pada panjang gelombang 516 nm.

f. Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Dibuat larutan sampel ekstrak 100, 150, 200, 250, 300, 400 dan 500 ppm dalam labu ukur 5 ml. Pada masing-masing larutan, dipipet 1 mL larutan sampel lalu ditambahkan 1 mL larutan DPPH, digojog hingga homogen dan diinkubasi pada range operating time pada suhu ruang dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh.

g. Analisa Data

Persen inhibisi dihitung dengan rumus berikut.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A_{\text{blanko}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{blanko}}} \times 100\%$$

A blanko

Hubungan antara konsentrasi sampel dan % inhibisi dibuat persamaan regresi linier dan IC50 dihitung dengan memasukkan nilai persen inhibisi sebesar 50 pada persamaan tersebut

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi daun mangkokan dilakukan dengan cara maserasi. Penggunaan teknik ini memberikan beberapa keuntungan diantaranya murah dan mudah dilakukan. Selain itu, dengan adanya perendaman sampel dapat menyebabkan pemecahan dinding dan membran sel yang terjadi akibat perbedaan tekanan antara luar dan dalam sel, sehingga senyawa aktif yang terkandung di dalam sitoplasma dapat larut dalam pelarut (Yulianingtyas & Kusmartono, 2016). Pada penelitian ini, maserasi lakukan dengan menggunakan pelarut etanol 70% karena diharapkan dengan adanya air maka semakin banyak senyawa polar yang berdifusi kedalam pelarut (Indra et al., 2019). Menurut Sun, dkk pelarut etanol 75% memberikan hasil ekstraksi lebih baik dan aktivitas antioksidan yang kuat dibanding dengan etanol 25%, 50%, 95% dan 100% (Sun et al., 2015). Penggunaan air lebih banyak juga diharapkan dapat mengurangi toksitas.

Tabel 1. Hasil Uji Skrining Fitokimia

Senyawa Uji	Pereaksi	Hasil Uji	Keterangan
Tannin	Etanol + FeCl ₃ 1%	hitam kebiruan atau hijau	+
Alkaloid	HCL 2N + Wagner	Endapan jingga	+
	HCL + Mayer	Endapan Kuning	-
Terpenoid	Asam asetat anhidrat + asam sulfat pekat	kemerahan	+
Saponin	Air suling + dikocok kuat	Terbentuk busa	+
Flavonoid	Etanol 70% + HCl pekat + Mg	Merah tua	+

Uji fitokimia merupakan salah satu langkah penting dalam upaya mengungkap potensi sumber daya tumbuhan obat sebagai antibiotik, antioksidan, dan antikanker (Astuti & Rudiyan Syah, 2013). Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mangkokan mengandung senyawa tannin, alkaloid, terpenoid, saponin dan flavonoid sebagaimana yang ditunjukkan oleh Tabel 1. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol dapat menarik metabolit sekunder daun mangkokan dengan baik. Penelitian lain juga melaporkan bahwa ekstrak etanol 96% daun mangkokan terbukti positif flavonoid yaitu kuersetin (Farida & Guntarti, 2017). Selain itu, dilaporkan juga bahwa ekstrak metanol daun mangkokan mengandung senyawa saponin dan flavonoid (Eden & Badahdah, 2016).

Flavonoid merupakan antioksidan alami dari tumbuhan yang mampu berinteraksi dengan produksi radikal hidroksil (Treml & Šmejkal, 2016). Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan dipengaruhi oleh struktur molekul dan posisi dari gugus hidroksilnya (Rajanandh & Kavitha, 2010). Kuersetin merupakan salah satu komponen flavonoid yang banyak digunakan dalam pengobatan tradisional Tiongkok karena terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Xu et al., 2019).

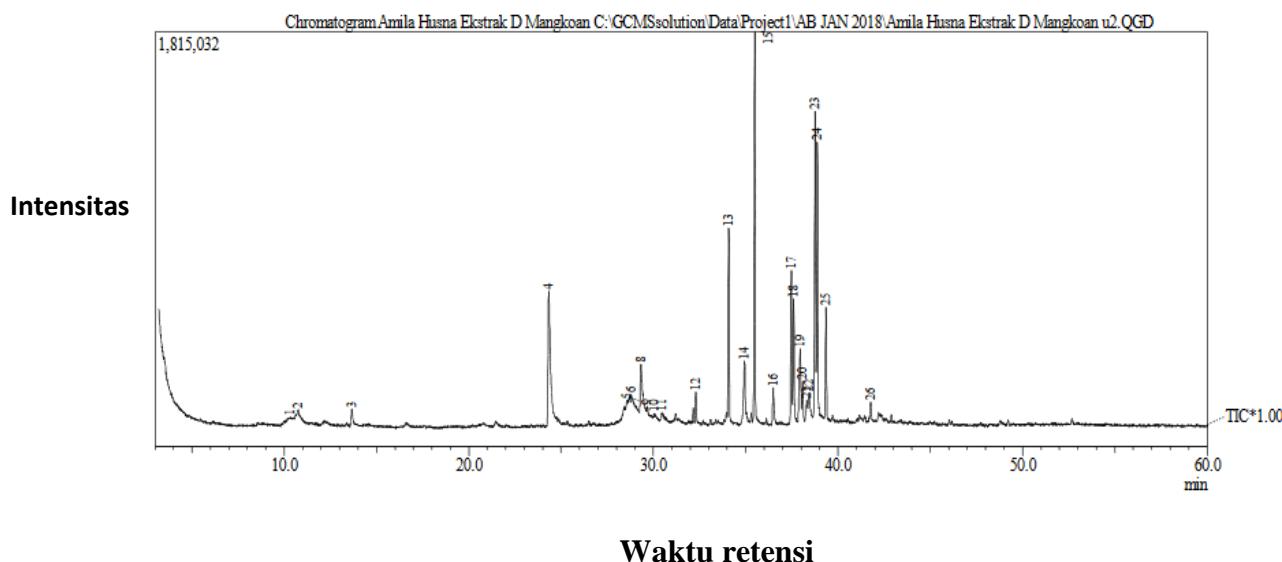
Tabel 2. Kandungan Kimia Senyawa Ekstrak Etanol Daun Mangkokan

Puncak	Nama senyawa	Waktu retensi (menit)	Area (%)	SI
1	Benzene, 1,4-Dibenzoyloxybutane	10,324	1,12	69
2	Pantolactone, dihydro-3-hydroxy-4,4-dimethyl-	10,733	1,46	
3	2,4,5-trimethyl-1,3-dioxolane	13,672	0,93	83
4	1-Dimethylaminohexane, N,N-Dimethyl-n-hexylamine, N,N-Dimethylhexylamine, 1-Hexanamine, N,N-dimethyl-	24,331	11,12	94
5	Pyrrolidine, 1-(1-pentenyl)-	28,583	1,36	62
6	Heptadecanoic acid, ethyl ester	28,799	4,38	68
7	1,3-Dioxolane-4-methanol, 2,2-dimethyl-.alpha.-vinyl-, acetate	29,008	1,95	64
8	1-Dimethylaminohexane, N,N-Dimethyl-n-hexylamine	29,331	5,27	94
9	Tetradecanoic acid, Methyl 12-methyltetradecanoate	29,645	1,23	74
10	Octadecatrienoic acid	30,055	0,95	72
11	1,12-Dodecanediol	30,461	1,21	73
12	2-Undecanone, 6,10-dimethyl-Hexahydropseudoionone		1,21	89
13	Octadecanoic acid, methyl ester	34,079	6,27	94
14	Hexadecanoic acid, Palmitinic acid		3,57	92
15	Hexadecanoic acid, ethyl ester	35,491	12,28	92
16	Falcarinol	36,494	1,79	84
17	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	37,473	5,04	93
18	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	37,598	4,25	88
19	1-Benzylpiperazine, N-Benzylpiperazine, Piperazine	37,948	3,82	74
20	Octadecanoic acid, methyl ester	38,086	1,47	95
21	7-Hexadecyne	38,315	1,38	84
22	2-Decyn-1-ol	38,436	2,16	82
23	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	38,764	10,49	88
24	9,12,15-Octadecatrienal	38,883	9,32	84
25	Hexadecanoic acid, ethyl ester	39,349	5,29	94
26	1,2-Ethanediamine, N,N-dimethyl-N-Ethylenediamine	41,777	0,98	79

Spektrometri massa menjadi alat penting untuk menentukan hasil kualitatif dan informasi kuantitatif pada molekul berdasarkan komposisi struktural. GC-MS dapat menganalisis campuran molekul kecil terutama senyawa organik rendah berat molekul (<600) (Asha et al., 2017). Analisis kandungan senyawa dengan metode GC-MS dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol daun mangkukan. Hasil pengujian GC-MS ekstrak etanol daun mangkukan teridentifikasi 26 senyawa dalam sampel yang dapat dilihat pada Tabel 2 dan hasil kromatogram yang ditunjukkan pada gambar 1. Berdasarkan Tabel 2 diketahui bahwa senyawa utama yang terkandung dalam ekstrak etanol daun mangkukan yaitu senyawa asam heksadekanoat dengan luas area sebesar 12,28% dan terdapat pada nomor puncak 15. Senyawa tersebut memiliki nilai *similarity Index* (SI) sebesar 92 dengan waktu retensi 35,491 menit.

Asam heksadekanoat adalah jenis asam lemak jenuh yang memiliki efek antioksidan, seperti agen lain seperti vitamin (Ranaei & Najafizadeh-sari, 2017). Beberapa penelitian telah melaporkan aktivitas antioksidan dari beberapa tanaman yang mengandung tinggi asam heksadekanoat (Kim et al., 2020). Selain itu, berdasarkan studi struktur dan kinetika, asam heksadekanoat potensial menghambat fosfolipase A (2) sehingga sangat potensial untuk dikembangkan sebagai agen antiinflamasi (Aparna et al., 2012).

Pada hasil pengujian GC-MS (tabel 2.) senyawa alkaloid *1-Benzylpiperazine*, *N-Benzylpiperazine*, *Piperazine* dengan berat molekul 176,26 g/mol terdeteksi dengan luas area 3,82%, namun senyawa flavonoid tidak terdeteksi. Hal ini dimungkinkan karena flavonoid memiliki berat molekul relatif besar yaitu 302 g/mol sehingga membutuhkan temperatur oven lebih besar (Gates & Lopes, 2012).



Gambar 1. Kromatogram ekstrak etanol daun mangkukan

Metode DPPH merupakan metode sederhana dan murah untuk mengukur kapasitas antioksidan dan banyak digunakan untuk mengukur aktivitas penghambatan radikal bebas pada bahan alam dan ekstrak tanaman (Shekhar, 2014). Prinsip metode DPPH yang digunakan dalam penelitian ini adalah pengukuran absorbansi dari radikal DPPH yang mengalami penurunan akibat adanya senyawa antioksidan dengan menggunakan spektrofotometer visibel pada *operating time* dan panjang gelombang serapan maksimum yang telah ditetapkan sebelumnya (Thangaraj, 2016).

Hasil penelitian uji aktivitas antioksidan sampel ekstrak etanol daun mangkokan dengan menggunakan metode DPPH diperoleh hasil yang terlihat pada tabel 3. Berdasarkan perhitungan persamaan linear yang didapatkan dapat ditentukan nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun mangkokan sebesar 161,39 ppm. IC₅₀ merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi efektif yang mampu menghambat aktivitas suatu antioksidan sebesar 50% (Salamah & Widayarsi, 2015).

Tabel 3. Aktivitas Antioksidan dan IC₅₀ Ekstrak Etanol Daun Mangkokan

Konsentrasi (ppm)	Rata-rata Absorbansi Sampel	% Penghambatan	IC ₅₀ (ppm)
500	0,156	81,20	
400	0,211	74,57	
300	0,298	66,50	
250	0,298	63,89	161,39
200	0,356	61,60	
150	0,438	45,46	
100	0,535	36,98	

Aktivitas antiaoksidan dari ekstrak etanol daun mangkokan dimungkinkan karena adanya kandungan senyawa kimia terutama flavonoid, saponin dan asam heksadecanoat. Flavonoid termasuk senyawa kelompok fenolik terbesar yang ditemukan di alam dan merupakan sumber antioksidan poten karena memiliki struktur kimia ideal yang mampu menangkal radikal bebas. Antioksidan berperan penting dalam perlindungan terhadap kerusakan sel oksidatif yang dapat menyebabkan beberapa kondisi penyakit, seperti penyakit Alzheimer, kanker, penyakit jantung dan juga terkait dengan peradangan kronis (Rajendran et al., 2014).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis data dan pembahasan yang telah dikemukakan dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak etanol daun mangkokan memiliki potensi aktivitas antioksidan dengan kandungan senyawa metabolit sekunder diantaranya tannin, alkaloid, terpenoid, saponin dan flavonoid. Hasil analisis kandungan senyawa dengan metode GC-MS, diketahui bahwa ekstrak etanol daun mangkokan memiliki 26 senyawa kandungan dengan

senyawa kandungan terbesar yaitu asam heksadecanoat. Aktivitas antioksidan yang dianalisis dengan menggunakan metode DPPH menunjukkan hasil nilai IC₅₀ pada ekstrak etanol daun mangkukan sebesar 161,39 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Aparna, V., Dileep, K. V, Mandal, P. K., Karthe, P., Sadasivan, C., & Haridas, M. (2012). Anti-inflammatory property of n-hexadecanoic acid: structural evidence and kinetic assessment. *Chemical Biology & Drug Design*, 80(3), 434–439.
- Asha, K. R., Priyanga, S., Hemmalakshmi, S., & Devaki, K. (2017). *GC-MS Analysis of the Ethanolic Extract of the whole Plant Drosera indica L.* 9(5), 685–688.
- Astuti, J., & Rudiyansyah, G. (2013). Uji Fitokiia dan Aktivitas Antioksidan Tumbuhan Paku Uban (*Nephrolepis biserrata* (Sw) Schhott). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 2(2).
- Badarinath, A. V, Rao, K. M., Chetty, C. M. S., Ramkanth, S., Rajan, T. V. S., & Gnanaprakash, K. (2010). A review on in-vitro antioxidant methods: comparisions, correlations and considerations. *International Journal of PharmTech Research*, 2(2), 1276–1285.
- Eden, W. T., & Badahdah, N. K. (2016). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Mangkukan (*Polyscias Scutellaria* (Burn. f.) fosberg). *Media Farmasi Indonesia*, 11(2).
- Farida, F., & Guntarti, A. (2017). *Uji Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas Ekstrak Etanol Daun Mangkukan*. 4(2), 73–78.
- Gates, P. J., & Lopes, N. P. (2012). Characterisation of flavonoid aglycones by negative ion chip-based nanospray tandem mass spectrometry. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2012.
- Halliwell, B., & Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British Journal of Pharmacology*, 142(2), 231–255.
- Hariana, H. A. (2008). *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Seri 2. Penebar Swadaya.
- Herawati, D. (2004). *Studi Makroskopis, Mikroskopis dan Skrining Fitokimia Daun *Nothopanax scutellarium* Merr.* Skripsi : Universitas Airlangga.
- Herry, W. (2011). *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius.
- Indra, I., NurmalaSari, N., & Kusmiati, M. (2019). Fenolik Total, Kandungan Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mareme (*Glochidion arborescens* Blume.). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 6(3), 206–212.
- Isfahanl, A. J., Mahmoodzadeh, A., HASANZADEH, A., Heidari, R., & Jamei, R. (2010). Antioxidant and antiradical activities of phenolic extracts from Iranian almond (*Prunus amygdalus* L.) hulls and shells. *Turkish Journal of Biology*, 34(2), 165–173.

- Kim, B.-R., Kim, H. M., Jin, C. H., Kang, S.-Y., Kim, J.-B., Jeon, Y. G., Park, K. Y., Lee, I.-S., & Han, A.-R. (2020). Composition and antioxidant activities of volatile organic compounds in radiation-bred Coreopsis cultivars. *Plants*, 9(6), 717.
- Kusmana, C., & Hikmat, A. (2015). Keanekaragaman hayati flora di Indonesia. *Journal of Natural Resources and Environmental Management*, 5(2), 187.
- Rajanandh, M. G., & Kavitha, J. (2010). Quantitative estimation of β -sitosterol, total phenolic and flavonoid compounds in the leaves of *Moringa oleifera*. *International Journal of PharmTech Research*, 2(2), 1409–1414.
- Rajendran, P., Nandakumar, N., Rengarajan, T., Palaniswami, R., Gnanadhas, E. N., Lakshminarasaiah, U., Gopas, J., & Nishigaki, I. (2014). Antioxidants and human diseases. *Clinica Chimica Acta*. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2014.06.004>
- Ranaei, A., & Najafizadeh-sari, S. (2017). *Medical reviews*. 4(4), 93–94. <https://doi.org/10.1185/03007>
- Salamah, N., & Widyasari, E. (2015). Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) dengan metode penangkapan radikal 2, 2'-difenil-1-pikrilhidrazil. *Pharmaciana*, 5(1), 25–34.
- Shekhar, A. (2014). Antioxidant Activity by DPPH Radical Scavenging Method of *Ageratum conyzoides* Linn. Leaves. *American Journal of Etnomedicine*, 1(4), 244–249.
- Sun, C., Wu, Z., Wang, Z., & Zhang, H. (2015). *Effect of Ethanol / Water Solvents on Phenolic Profiles and Antioxidant Properties of Beijing Propolis Extracts*. 2015.
- Thangaraj, P. (2016). *Pharmacological Assays of Plant-Based Natural Products*. Springer International Publishing.
- Treml, J., & Šmejkal, K. (2016). Flavonoids as potent scavengers of hydroxyl radicals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(4), 720–738.
- Xu, D., Hu, M. J., Wang, Y. Q., & Cui, Y. L. (2019). Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application. *Molecules*, 24(6). <https://doi.org/10.3390/molecules24061123>
- Yulianingtyas, A., & Kusmartono, B. (2016). Optimasi volume pelarut dan waktu maserasi pengambilan flavonoid daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Teknik Kimia*, 10(2), 61–67.