

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) DENGAN MENGGUNAKAN 1,1-DIFENIL-2-PIKRILHIDRAZIL

Antioxidant Activity Test of Bay Leave (*Syzygium polyanthum*) Extract Using 1,1-diphenyl-2-picrilhidrazyl

* Putrawan Bahriul, Nurdin Rahman dan Anang Wahid M. Diah

Pendidikan Kimia/FKIP - Universitas Tadulako, Palu - Indonesia 94118

Received 17 July 2014, Revised 19 August 2014, Accepted 20 August 2014

Abstract

*Antioxidant activity test of bay leave (*Syzygium polyanthum*) extract using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) has been investigated. The aim of this research is to determine antioxidant strength of bay leave (*Syzygium polyanthum*) extract. The bay leaves used in this research were young, medium, and old leaves categories. Concentration of DPPH free radical after additional bay leave extracts were determined by UV-Vis spectrophotometry. Variation concentrations of bay leave extracts were 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, and 80 ppm. Vitamin C solution was used as the positive control at the similar concentration, while DPPH solution in ethanol absolute was the negative control. The results showed that IC₅₀ values for young, middle, and old leaves extracts were 37.441 ppm, 14.889 ppm, and 11.001 ppm, whereas vitamin C was 9.898 ppm. Based on these IC₅₀ values, vitamin C is the strongest antioxidant than young, middle, and old bay leave extracts, and these extracts are classified as very strong natural antioxidant.*

Keywords : Antioxidant Activity; Extract Bay Leave; Bay Leave; DPPH; Vitamin C

Pendahuluan

Indonesia terkenal dengan kekayaan alam yang memiliki berbagai jenis tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat. Obat tradisional telah dikenal dan digunakan secara turun-temurun oleh masyarakat Indonesia. Masyarakat yang jauh dari pelayanan kesehatan pada umumnya memanfaatkan tanaman sebagai obat, salah satunya adalah daun salam (Sumono & Mulan, 2009)

Daun salam sebagai tanaman obat asli Indonesia banyak digunakan oleh masyarakat untuk menurunkan kolesterol, kencing manis, hipertensi, gastritis, dan diare. Daun salam diketahui mengandung flavonoid, selenium, vitamin A, dan vitamin E yang berfungsi sebagai antioksidan (Riansari, 2008). Daun salam apabila diremas-remas dapat menghasilkan minyak atsiri yang memiliki aroma harum. Kulit batang, akar dan daun dapat digunakan

sebagai obat gatal-gatal, kayunya untuk bahan bangunan (Sembiring, dkk, 2008), sedangkan buah salam dapat digunakan sebagai antioksidan karena mengandung antosianin (Ariviani, 2010)

Antioksidan merupakan suatu substansi yang pada konsentrasi kecil secara signifikan mampu menghambat atau mencegah oksidasi pada substrat yang disebabkan oleh radikal bebas (Isnindar, dkk, 2011). Radikal bebas merupakan molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya sehingga dapat bereaksi dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel tersebut (Utomo, dkk, 2008). Radikal bebas yang dihasilkan secara terus menerus selama proses metabolisme normal, dianggap sebagai penyebab terjadinya kerusakan fungsi sel-sel tubuh yang akhirnya menjadi pemicu timbulnya penyakit degeneratif (Juniarti, dkk, 2009)

Antioksidan sintetik seperti BHA (butylated hidroxy aniline) dan BHT (butylated hidroxy toluen) telah diketahui memiliki efek samping yang besar antara lain menyebabkan kerusakan

*Korespondensi:

P. Bahriul

Program Studi Pendidikan kimia, Fakultas Keguruan dan

Ilmu Pendidikan, Universitas Tadulako

email: putrawan_bachriul@yahoo.com

© 2014 - Program Studi Pendidikan Kimia Universitas Tadulako

hati (Kikuzaki, dkk, 2002). Di sisi lain alam menyediakan sumber antioksidan yang efektif dan relatif aman seperti flavonoid, vitamin C, beta karoten dan lain-lain. Hal tersebut mendorong semakin banyak dilakukan eksplorasi bahan alam sebagai sumber antioksidan.

Menurut Molyneux (2004), antioksidan bereaksi dengan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) yang menstabilkan radikal bebas dan mereduksi DPPH. Kemudian DPPH akan bereaksi dengan atom hidrogen dari senyawa peredam radikal bebas membentuk 1,1-difenil-2-pikrilhidrazilin (DPPH-H) yang lebih stabil. Reagen DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan mengalami perubahan warna dari ungu ke kuning, intensitas warna tergantung kemampuan dari antioksidan.

Aktivitas antioksidan dari suatu senyawa dapat digolongkan berdasarkan nilai IC₅₀ yang diperoleh. Jika nilai IC₅₀ suatu ekstrak berada dibawah 50 ppm maka aktivitas antioksidannya kategori sangat kuat, nilai IC₅₀ berada diantara 50-100 ppm berarti aktivitas antioksidannya kategori kuat, nilai IC₅₀ berada di antara 100-150 ppm berarti aktivitas antioksidannya kategori sedang, nilai IC₅₀ berada di antara 150-200 ppm berarti aktivitas antioksidannya kategori lemah, sedangkan apabila nilai IC₅₀ berada diatas 200 ppm maka aktivitas antioksidannya dikategorikan sangat lemah (Molyneux, 2004)

Metode

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Tadulako. Peralatan yang digunakan yaitu neraca analitik, blender, seperangkat alat rotary vacuum evaporator, spektrofotometer UV-Vis PG instruments Ltd, labu, penangas air, dan peralatan gelas yang umum di laboratorium. Sedangkan bahan-bahan yang digunakan yaitu daun salam, etanol absolut, reagen mayer, logam Mg, HCl 2 N, larutan FeCl₃ 1%, HCl pekat, aquadest, DPPH dan Vitamin C.

Ekstraksi daun salam dengan menggunakan pelarut etanol absolut

Ekstrak daun salam dibuat dengan mengekstraksi 30 gram serbuk masing-masing daun salam (daun muda, daun setengah tua, daun tua) secara maserasi dengan pelarut etanol hingga terekstraksi sempurna. Simplisia direndam dalam pelarut etanol absolute sebanyak 300 mL selama 2 x 24 jam. Setelah

2 x 24 jam filtrat yang diperoleh disaring dan residunya dimaserasi kembali dengan pelarut etanol. Hasil ekstraksi selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan rotary vacuum evaporator.

Identifikasi senyawa bioaktif daun salam

Uji alkaloid: 0,1 gram ekstrak daun salam ditambahkan dengan 5 mL etanol absolut, kemudian ditambahkan dengan Reagen Mayer setetes demi setetes. Terbentuknya endapan yang berwarna merah sebagai indikator reaksi positif adanya alkaloid.

Uji flavonoid: 0,1 gram ekstrak daun salam ditambahkan dengan 5 mL etanol absolut kemudian ditambahkan lagi dengan 0,1 gram logam Mg. Jika terbentuk warna kuning jingga menunjukkan reaksi positif adanya flavonoid.

Uji saponin: 0,1 gram ekstrak daun salam ditambahkan dengan 5 mL aquades panas lalu didinginkan. Setelah itu campuran dikocok sampai muncul buih dan didiamkan selama 2 menit. Selanjutnya campuran ditambahkan dengan 2 tetes HCl 2 N dan dikocok lagi sampai terbentuk buih yang mantap selama 10 menit. Terbentuknya buih tersebut sebagai indikator reaksi positif adanya saponin.

Uji tanin: 0,1 gram ekstrak daun salam ditambahkan dengan 5 mL etanol absolut kemudian ditetesi dengan FeCl₃ 1%. Terbentuk warna biru tua menunjukkan reaksi positif adanya tanin.

Uji aktivitas antioksidan

Larutan induk ekstrak daun salam 1000 ppm dan larutan pembanding vitamin C 1000 ppm dipipet masing-masing 0,5 mL, 1 mL, 1,5 mL, dan 2 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL, lalu ditambahkan 5 mL larutan DPPH 0,5 mM lalu volumenya dicukupkan dengan etanol absolut sampai garis tanda. Kemudian didiamkan selama 30 menit lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sebagai blanko, diukur 5 mL larutan DPPH kemudian dicukupkan volumenya hingga 25 mL dalam labu ukur kemudian diukur absorbansinya.

Analisa Data

Besarnya persentase penghambatan terhadap radikal DPPH dihitung dengan rumus (Zuhra, dkk, 2008):

$$\% \text{ penghambatan} = \frac{(\text{absblanko} - \text{abssampel})}{\text{absblanko}} \times 100 \%$$

Hasil dan Pembahasan

Data hasil ekstraksi daun salam yang diperoleh pada penelitian ini disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Sampel Daun Salam dengan Menggunakan Pelarut Etanol

No	Jenis Sampel	Massa Sampel (g)	Volume Etanol (ml)	Massa Ekstrak (g)
1	Daun muda	30	300	1,353
2	Daun setengah tua	30	300	1,575
3	Daun tua	30	300	1,640

Data hasil uji identifikasi senyawa bioaktif pada daun salam yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Identifikasi Senyawa Bioaktif Daun Salam

No	Perlakuan	Hasil Pengamatan		
		Daun muda	Daun setengah tua	Daun tua
1	Uji Alkaloid	Hijau (-)	Hijau (-)	Hijau (-)
2	Uji Flavonoid	Jingga (+)	Jingga (++)	Jingga (+++)
3	Uji Saponin	Busa stabil (+)	Busa stabil (++)	Busa stabil (+++)
4	Uji Tanin	Biru (+)	Biru (++)	Biru (+++)

Keterangan :

- (-) = Hasil negatif
- (+) = Hasil positif lemah
- (++) = Hasil positif kuat
- (+++)= Hasil positif sangat kuat

Data hasil pengukuran absorbansi ekstrak daun salam dan perbandingan vitamin C yang telah ditambahkan dengan larutan DPPH sesuai variasi konsentrasi disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Absorbansi

No	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (A)			
		Daun muda	Daun setengah tua	Daun tua	Vitamin C
1	20	0,294	0,216	0,191	0,144
2	40	0,243	0,198	0,120	0,122
3	60	0,232	0,145	0,096	0,105
4	80	0,183	0,135	0,080	0,036

Absorbansi blanko (DPPH 0,1 mM) = 0,490

Data hasil uji aktivitas antioksidan dari ekstrak daun salam dan larutan perbandingan vitamin C disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

No	Sampel	IC ₅₀ (ppm)	Daya Antioksidan
1	Daun salam muda	37,441	Sangat kuat
2	Daun salam setengah tua	14,889	Sangat kuat
3	Daun salam tua	11,001	Sangat kuat
4	Vitamin C	9,898	Sangat kuat

Ekstraksi Daun Salam Menggunakan Pelarut Etanol Absolut

Ekstraksi merupakan suatu proses selektif yang dilakukan untuk mengambil zat-zat yang terkandung dalam suatu campuran dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Metode pemisahan ini bekerja berdasarkan prinsip kelarutan like dissolve like, yaitu pelarut polar akan melarutkan zat polar, dan sebaliknya (Khopkar, 2003)

Pada penelitian ini metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol absolut. Menurut (Harborne, 1987) ekstraksi efektif jaringan tumbuhan yaitu menggunakan pelarut yang sesuai 10 kali volume atau bobot sampel, sehingga pada penelitian ini digunakan pelarut etanol absolut sebanyak 300 ml untuk 30 gram sampel daun salam. Pemilihan metode maserasi pada penelitian ini karena metode ini mudah dilakukan dan tidak memerlukan alat khusus. Pemilihan pelarut etanol absolut pada penelitian ini disesuaikan dengan metode yang digunakan. Pada penelitian ini digunakan metode pengujian menggunakan DPPH, dimana metode ini hanya digunakan untuk menguji senyawa-senyawa antioksidan yang larut dalam pelarut organik khususnya alkohol (Molyneux, 2004), sehingga pada penelitian ini digunakan pelarut alkohol, dalam hal ini yaitu etanol absolut.

Identifikasi Senyawa Bioaktif Daun Salam

Pada penelitian ini dilakukan identifikasi senyawa bioaktif daun salam yang meliputi uji alkaloid, uji flavonoid, uji saponin dan uji tanin. Identifikasi senyawa bioaktif ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya senyawa-senyawa metabolit sekunder yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Uji pendahuluan yang dilakukan oleh Riansari (2008) menunjukkan bahwa ekstrak daun

salam mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan selenium.

Cara yang dilakukan untuk mendeteksi golongan senyawa alkaloid dengan menggunakan pereaksi Mayer yang memberikan endapan putih yang menunjukkan adanya alkaloid. Adanya senyawa flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna kuning-jingga oleh pereaksi deteksi flavonoid, adanya tanin ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna biru tua dengan pereaksi deteksi tanin, sedangkan adanya saponin menimbulkan busa yang stabil dengan pereaksi deteksi saponin (Arianti, dkk, 2007). Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa makin tua umur tanaman makin terakumulasi senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya. Peningkatan senyawa bioaktif ini disebabkan proses sintesis senyawa bioaktif yang meningkat apabila tanaman terkena cahaya langsung. Senyawa-senyawa golongan flavonoid dapat mengalami peningkatan karena pengaruh cahaya (Ghulamahdi, dkk, 2008)

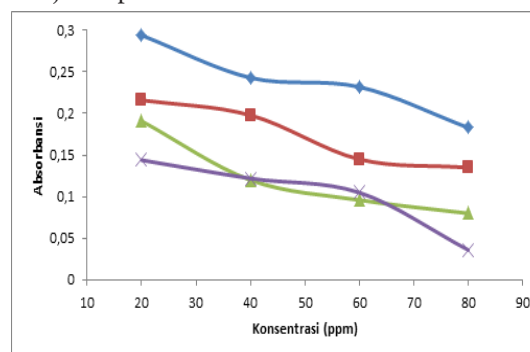
Uji aktivitas antioksidan

Pada penelitian ini, uji aktivitas antioksidan pada ekstrak daun salam dengan metode pengujian menggunakan DPPH. Metode uji antioksidan menggunakan DPPH adalah salah satu metode uji kuantitatif untuk mengetahui seberapa besar aktivitas daun salam sebagai antioksidan. Metode pengujian menggunakan DPPH merupakan metode yang konvensional dan telah lama digunakan untuk penetapan aktivitas senyawa antioksidan (Utomo, dkk, 2008). Selain itu, pengerjaannya juga mudah, cepat dan sensitif untuk menguji aktivitas antioksidan dari ekstrak tanaman menggunakan DPPH secara spektrofotometer (Pourmorad, Hosseinimehr, & Shahabimajid, 2006)

Pengukuran aktivitas antioksidan secara spektrofotometri dilakukan pada panjang gelombang 517 nm, yang merupakan panjang gelombang maksimum DPPH. Metode uji menggunakan DPPH ini didasarkan pada penurunan absorbansi akibat perubahan warna larutan warna DPPH, dimana DPPH akan bereaksi dengan atom hidrogen dari senyawa peredam radikal bebas membentuk DPPH-Hidrazin yang lebih stabil. Reagen DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan mengalami perubahan warna dari ungu ke kuning, intensitas warna tergantung kemampuan dari antioksidan (Molyneux, 2004).

Pengamatan terhadap intensitas warna pada penelitian ini dilakukan pada konsentrasi ekstrak daun salam yang berbeda-beda yaitu 20 ppm,

40 ppm, 60 ppm, dan 80 ppm yang bertujuan untuk mengetahui tingkat peredaman warna sebagai akibat adanya senyawa antioksidan yang mampu mengurangi intensitas warna ungu dari DPPH. Berdasarkan hasil yang diperoleh pada pengukuran absorbansi diperoleh data yang disajikan pada Gambar 1.



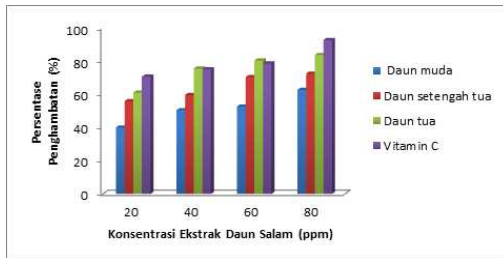
Gambar 1. Grafik Hubungan Absorbansi DPPH Dengan Konsentrasi Ekstrak Daun Salam dan Vitamin C

Data absorbansi yang diperoleh di atas menunjukkan bahwa semakin tua umur daun, maka semakin kecil nilai absorbansinya. Penurunan absorbansi pada umur daun yang berbeda disebabkan oleh perbedaan kandungan senyawa antioksidan, dimana semakin tua umur daun maka semakin banyak senyawa antioksidan yang terkandung di dalamnya (Arianti, dkk 2007). Semakin banyaknya senyawa antioksidan akan menyebabkan semakin besar pula peredaman warna ungu dari DPPH sehingga nilai absorbansi yang diperoleh semakin kecil. Peredaman tersebut dihasilkan oleh bereaksinya molekul DPPH dengan atom hidrogen yang dilepaskan satu molekul komponen sampel sehingga terbentuk senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (DPPH-H) dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning (Zuhra, dkk, 2008). Aktivitas antioksidan penangkap radikal dapat diketahui melalui penurunan serapan tersebut (Oke & Hamburger, 2002). Demikian pula dengan pembandingan vitamin C, memiliki nilai absorbansi yang lebih kecil dibandingkan nilai absorbansi daun salam, hal ini dikarenakan vitamin C merupakan senyawa antioksidan kuat, sehingga nilai absorbansi yang diperoleh juga semakin kecil seiring dengan bertambahnya konsentrasi vitamin C.

Data pada Gambar 1 juga menunjukkan bahwa nilai absorbansi DPPH semakin berkurang seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak daun salam. Hal ini dapat

terjadi oleh karena adanya reduksi radikal DPPH oleh antioksidan, dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun salam maka partikel-partikel senyawa antioksidan yang terkandung akan semakin banyak sehingga semakin besar pula aktivitas antioksidannya dan menyebabkan absorbansinya semakin berkurang (Talapessy, dkk, 2013).

Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi tersebut, dapat ditentukan pula persentase penghambatan radikal bebas oleh ekstrak daun salam dan vitamin C tersebut pada berbagai konsentrasi yang disajikan pada Gambar 2. Data pada gambar ini menunjukkan bahwa persentase penghambatan radikal bebas dari ekstrak daun salam tua tidaklah terlalu berbeda dengan persentase penghambatan vitamin C, bahkan kemampuan daya aktivitas antioksidan ekstrak daun salam tua pada konsentrasi 40 dan 60 ppm dari variasi konsentrasi uji melampaui daya aktivitas antioksidan vitamin C sebagai pembanding. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak daun salam memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang hampir sama dengan vitamin C. Oleh karena itu, ekstrak daun salam sangat baik dimanfaatkan sebagai bahan antioksidan alami.



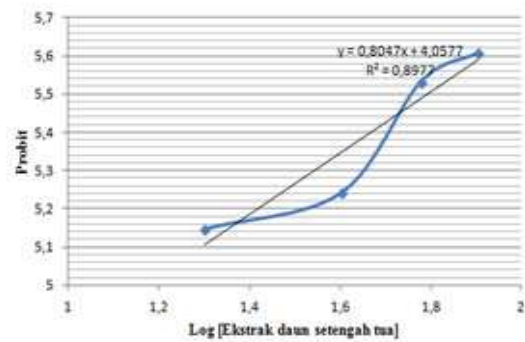
Gambar 2. Perbandingan Persentase Penhambatan Ekstrak Daun Salam dengan Vitamin C.

Penentuan IC50

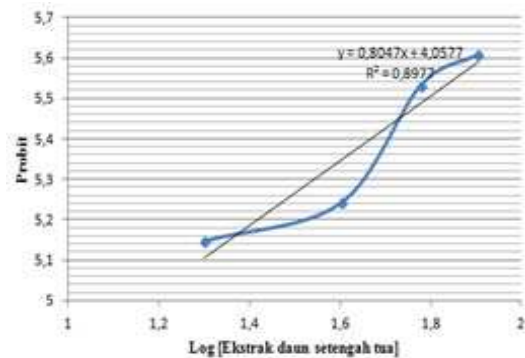
Uji antioksidan dalam penelitian ini menggunakan parameter IC50 (inhibition concentration) untuk menginterpretasikan hasil pengujian dengan metode uji menggunakan DPPH. IC50 merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan penghambatan 50% radikal bebas oleh suatu konsentrasi sampel (ppm) (Mailandari, 2012). Semakin kecil nilai IC50 berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan dari suatu senyawa dapat digolongkan berdasarkan nilai IC50 yang diperoleh. Jika nilai IC50 suatu ekstrak berada dibawah 50 ppm maka aktivitas antioksidannya sangat kuat, nilai IC50 berada diantara 50-100 ppm berarti aktivitas antioksidannya kuat, nilai IC50 berada di antara 100-150 ppm berarti aktivitas antioksidannya

sedang, nilai IC50 berada di antara 150-200 ppm berarti aktivitas antioksidannya lemah, sedangkan apabila nilai IC50 berada diatas 200 ppm maka aktivitas antioksidannya sangat lemah (Molyneux, 2004)

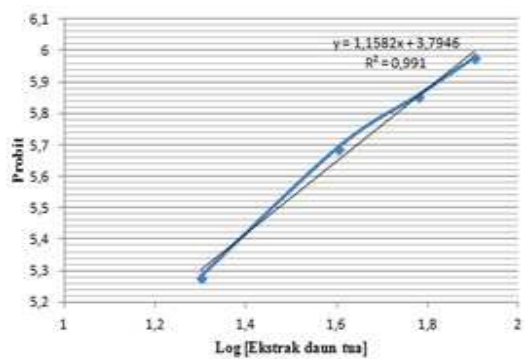
Nilai IC50 diperoleh dari beberapa tahapan yaitu menghitung nilai log konsentrasi dan nilai probit untuk masing-masing persentase aktivitas penghambat radikal bebas DPPH dari ekstrak daun salam dan vitamin C. Selanjutnya menghubungkan kedua data dari perhitungan yang diperoleh dalam 1 grafik utuh, dimana nilai log konsentrasi dijadikan sebagai sumbu X dan nilai probit digunakan sebagai sumbu Y. Adapun dalam hal ini dapat dilihat pada Gambar 3.



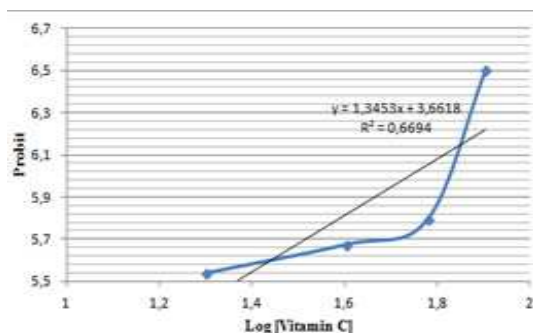
(A)



(B)



(C)



(D)
Gambar 3. Hubungan log konsentrasi dan harga probit pada : (A) Ekstrak daun salam muda, (B) Ekstrak daun salam setengah tua, (C) Ekstrak daun salam tua, dan (D) Vitamin C.

Berdasarkan Gambar 3 dapat diperoleh persamaan regresi linear $Y = 0,9687X + 3,4776$ untuk ekstrak daun salam muda, $Y = 0,8047X + 4,0577$ untuk ekstrak daun salam setengah tua, $Y = 1,1582X + 3,7946$ untuk ekstrak daun salam tua dan $Y = 1,3453X + 3,6618$ untuk vitamin C. Nilai IC₅₀ dari masing-masing sampel daun salam dan vitamin C ditentukan berdasarkan persamaan regresi yang diperoleh. Hasil perhitungan akhir menunjukkan nilai IC₅₀ untuk ekstrak daun salam muda mempunyai IC₅₀ sebesar 37,441 ppm, untuk ekstrak daun salam setengah tua sebesar 14,889 ppm, untuk ekstrak daun salam tua sebesar 11,001 ppm sedangkan nilai IC₅₀ yang dihasilkan vitamin C sebesar 9,898 ppm. Hal ini menjelaskan bahwa kemampuan menangkap radikal bebas ekstrak daun salam termasuk dalam golongan kategori sangat kuat dikarenakan nilai IC₅₀ hasil perhitungan kurang dari 50 ppm.

Perbedaan aktivitas antioksidan pada umur daun yang berbeda menurut Arianti, dkk (2007) dan Kuntorini (2013) dikarenakan oleh adanya perbedaan konsentrasi dari metabolit sekunder yang terkandung dalam daun tersebut. Semakin banyak metabolit sekunder yang dikandung maka akan semakin kuat aktivitas antioksidannya. Hal ini menunjukkan bahwa fase pertumbuhan (umur tanaman) berpengaruh terhadap metabolit sekunder yang mempunyai senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan.

Berdasarkan nilai IC₅₀ yang diperoleh dapat dijelaskan pula bahwa vitamin C sebagai pembanding atau kontrol positif termasuk antioksidan yang lebih kuat jika dibandingkan dengan ekstrak daun salam yang digunakan sebagai sampel pada penelitian ini, hal ini bisa dilihat dari nilai IC₅₀ untuk vitamin C yang

diperoleh yaitu 9,898 ppm.

Kesimpulan

Ekstrak daun salam yang meliputi daun muda, daun setengah tua dan daun tua memiliki daya antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ yang diperoleh masing-masing 37,441 ppm, 14,889 ppm dan 11,001 ppm.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ida Kesuma Utami selaku pengelola Laboratorium Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Tadulako yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada beasiswa bidikmisi yang telah banyak membantu selama studi di Universitas Tadulako.

Referensi

- Arianti, Harsojo, Syafria, Y., & Ermayanti, T. M. (2007). Isolasi dan uji antibakteri batang sambung nyawa (*Gynura procumbens* Lour) umur panen 1, 4 dan 7 bulan. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 6(2), 43-45.
- Ariviani, S. (2010). Anti radical capacity of anthosianin extract from fresh salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp) fruits with varied solvent Proportion. *Caraka Tani*, 25(1), 43-49.
- Ghulamahdi, M., Aziz, S. A., & Nirwan. (2008). Peningkatan laju pertumbuhan dan kandungan flavonoid klon daun dewa (*Gynura pseudochina* (L.) DC) melalui periode pencahayaan. *Bul. Agronomi*, 36(1), 40-48.
- Harborne, J. B. (1987). *Metode fitokimia: Penentuan cara modern menganalisis tumbuhan*. Bandung: ITB.
- Isnindar, Wahyuono, S., & Setyowati, E. P. (2011). Isolasi dan identifikasi senyawa antioksidan daun kesemek (*Diospyros kaki* Thunb.) dengan metode DPPH (2,2-Difenil-1 Pikrilhidrazil). *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 157-164.
- Juniarti, Osmeli, D., & Yuhernita. (2009). Kandungan senyawa kimia, uji toksisitas (Brine shrimp lethality test) dan antioksidan (1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazil) dari ekstrak daun saga (*Abrus precatorius* L.). *Makara Sains*, 13(1), 50-54.

- Khopkar, S. M. (2003). *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI-Press.
- Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K., & Taniguchi, H. (2002). Antioxidants properties of ferulic acid and it's related compound. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 50(7), 2161-2168.
- Kuntorini, E. M. (2013). Kemampuan antioksidan bulbus bawang dayak (*Eleutherine americana* Merr) pada umur berbeda. Diunduh kembali dari <http://jurnal.fmipa.unila.ac.id/index.php/semirata/article/download/686/506>
- Mailandari, M. (2012). Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun *Garcinia kydia roxb.* dengan metode DPPH dan identifikasi senyawa kimia fraksi yang aktif. Depok: Universitas Indonesia.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science Technology*, 26(2), 211-219.
- Oke, J. M. & Hamburger, M. O. (2002). Screening of some nigerian medicinal plants for activity using 2,2-diphenyl-picrylhidrazil (DPPH) radical. *African Journal of Biomedical Research*, 5(1), 77-79.
- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J., & Shahabimajd, N. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected iranian medicinal plants. *African journal of Biotechnology*, 5(11), 1142-1145.
- Riansari, A. (2008). Pengaruh pemberian ekstrak daun salam (*Eugenia polyantha*) terhadap kadar kolesterol total serum tikus jantan galur wistar hiperlipidemia. Diunduh kembali dari http://eprints.undip.ac.id/24176/1/Anugerah_R.pdf
- Sembiring, S., Winarti, C., & Baringbing, B. (2008). Identifikasi komponen kimia minyak daun salam (*Eugenia polyantha*) dari Sukabumi dan Bogor. Diunduh kembali dari <http://balitro.litbang.deptan.go.id/ind/images/publikasi/bul.vol.14.no.2/Bagem-DaunSalam.pdf>
- Sumono, A., & Mulan, A. (2009). Capability of boiling water of bay leaf (*Eugenia polyantha* W.) for reducing *Streptococcus* sp. colony. *Majalah Farmasi Indonesia*. 20(3), 112 – 117.
- Talapessy, S., Suryanto, E., & Yudistira, A. (2013). Uji aktivitas antioksidan dari ampas hasil pengolahan sagu (*Metroxylon sagu* Rottb). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(3), 40-44.
- Utomo, A. B., Suprijono, A., & Risdianto, A. (2008). Uji aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak sarang semut (*Myrmecodia pendans*) dan ekstrak teh hitam (*Camellia sinensis* O.K.var.assamica (mast.)) dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Diunduh kembali dari <http://journal.stifar.ac.id/ojs/index.php/js/article/viewFile/6/7>
- Zuhra, C. F., Tarigan, J. B., & Sihotang, H. (2008). Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dari daun katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatera*, 3(1), 7-10.