

Uji Aktivitas Antioksidan Umbi Simbagh Utak (*Hydnophytum* sp) dengan Metode DPPH

Anggun Dwi Anggar Jati^{1*}, Herina Yuni Utami², Yeni Raini³

¹Pascasarjana Pendidikan Kimia, Universitas Pendidikan Indonesia

²Pascasarjana Pendidikan IPA, Universitas Bengkulu

³Teknologi Pendidikan, Universitas Ibn Khaldun Bogor

*Corresponding author, email: anggundaj@gmail.com

Abstract. Umbi Simbagh Utak (*Hydnophytum* sp) diketahui mengandung senyawa Flavonoid, Saponin, Tanin, Terpenoid, dan Fenolik. Kandungan senyawa dalam Simbagh Utak tersebut diyakini memiliki aktivitas antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi umbi Simbagh Utak dengan metode DPPH. Umbi Simbagh Utak diekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dan difraksinasi berdasarkan tingkat kepolaran dengan pelarut air, etil asetat, dan etanol. Uji aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi-fraksi umbi Simbagh Utak dilakukan dengan metode DPPH. Dalam percobaan ini digunakan 4 buah sampel yaitu ekstrak kasar (S), Fraksi aktif 1 yang diwakilkan oleh fraksi 4 (SF4), Fraksi aktif 2 yang diwakilkan oleh fraksi 7 (SF7), Fraksi aktif 3 yang diwakilkan oleh fraksi 20 (SF20), dan quercetin (Q). Berdasarkan pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH diketahui bahwa semua sampel memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Quercetin (Q) yang digunakan sebagai kontrol positif memiliki IC₅₀ 0.2 µg/ml sedangkan ekstrak kasar (S), fraksi 7 (SF7) dan fraksi 20 (SF20) memiliki IC₅₀ yang lebih kecil dari Quercetin yaitu 0.1 ; 0.13 and 0.1 µg/ml yang menandakan sampel- sampel ini memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dari quercetin sedangkan fraksi 4 (SF4) memiliki IC₅₀ 2.0 µg/ml yang memiliki aktivitas antioksidan juga tetapi tidak setinggi sampel lainnya.

Keywords: *simbagh utak, hydnophytum sp, antioksidan, metode DPPH*

Pendahuluan

Indonesia merupakan Negara yang memiliki iklim tropis, terdapat beragam tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat. Penggunaan obat tradisional umumnya dianggap lebih aman daripada obat modern karena memiliki efek samping yang lebih sedikit [4]. Salah satu tanaman obat yang telah digunakan sejak lama oleh masyarakat suku serawai, Bengkulu Selatan adalah "*simbagh utak*" yang dikenal dengan nama sarang semut dengan spesies *Hydnophytum* sp. Tumbuhan ini umumnya digunakan sebagai tanaman obat untuk mengobati sakit kepala, pegal-pegal, darah tinggi, diabetes dan kanker payudara. Masyarakat Suku Serawai menggunakannya dengan cara meminum air rebusan dari "*simbagh utak*", dan bisa juga dengan menempelkan ke kepala pada saat seseorang mengalami kecelakaan jika kepalanya terbentur. Namun hal ini dilakukan masyarakat berdasarkan pengalaman yang turun temurun, bukan berdasarkan kajian ilmiah yang sistematis dan terencana [2]. Beberapa khasiat *simbagh utak* ini berdasarkan penelitian diantaranya adalah menurunkan kadar asam urat darah pada mencit jantan hiperurisemia, [2] menurunkan kadar gula darah pada mencit diabetes [8], serta sebagai anti bakteri dan antioksidan untuk menangkal radikal bebas [4].

Radikal bebas adalah molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya, radikal bebas sangat reaktif dan tidak stabil, sebagai usaha untuk mencapai

kestabilannya radikal bebas akan bereaksi dengan atom atau molekul di sekitarnya untuk memperoleh pasangan electron. Reaksi ini dalam tubuh dapat menimbulkan reaksi berantai yang mampu merusak struktur sel, bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya. Untuk meredam aktivitas radikal bebas diperlukan antioksidan [1]. Senyawa antioksidan memiliki peran yang sangat penting dalam kesehatan. Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan mengurangi risiko berbagai penyakit kronis seperti kanker dan penyakit jantung koroner. Berdasarkan sumber perolehannya ada 2 macam antioksidan, yaitu antioksidan alami merupakan antioksidan hasil ekstraksi bahan alami dan antioksidan buatan (sintetik) merupakan antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia. Karakter utama senyawa antioksidan adalah kemampuannya menangkap radikal bebas [7]. Salah satu tumbuhan yang diketahui mengandung senyawa antioksidan adalah umbi *Simbagh Utak* (*Hydnophytum* sp).

Pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan metode DPPH (2,2 difenil-1- pikrilhidrazil). Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil [10].

Pada penelitian ini aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi aktif Umbi *Simbagh Utak* (*Hydnophytum* sp) dilakukan dengan metode DPPH. Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil [7]. Berdasarkan uraian tersebut maka pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi-fraksi dari umbi *Simbagh Utak* (*Hydnophytum* sp) dengan metode DPPH.

Metode

Penelitian perbedaan aktivitas antioksidan umbi *Simbagh Utak* (*Hydnophytum* sp) dengan metode DPPH. Metode ini dipilih karena dalam pengujian tersebut hanya membutuhkan sedikit sampel, sederhana, mudah, cepat dan sensitif untuk dapat mengetahui aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam [5].

Alat

Pipet tetes, batang pengaduk, labu reaksi, labu ukur, Erlenmeyer, gelas kimia, botol zat, spatula, pipet volumetric, carter, alu dan lumpang, toples kaca, saringan *rotary evaporator*, kuvet, spektrofotometer *bio rad smart spec plus*, inkubator, termos medium, lemari *biosafety*, *92- well plate*, aluminium foil, botol kaca, plat kromatografi lapis tipis, kromatografi kolom LH 20, kromatografi kolom C-18, alat gelas, tissue, kertas saring, *hot plate*, mikropipet.

Bahan

Umbi *Hydnophytum* sp, Aquadest, pelarut etanol 96%, Nitrogen cair, Aseton Nitril, Metanol, Aseton, DPPH (di(phenyl)-(2,4,6-trinitrophenyl)iminoazanium), Quercetin, KMnO₄, Kloroform.

Prosedur Penelitian

Persiapan Sampel

Pengambilan sampel umbi *Hydnophytum* sp adalah dari daerah suku serawai Bengkulu Selatan. Umbi *Hydnophytum* sp yang telah dipilih diiris-iris lalu kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan

tanpa cahaya matahari langsung. Kemudian irisan umbi *Hydnophytum* sp digiling dengan blender hingga menjadi bubuk *Hydnophytum* sp.

Ekstraksi dan Maserasi

1. Ekstraksi sampel umbi *Hydnophytum* sp dilakukan dengan cara maserasi. Serbuk umbi *Hydnophytum* sp ditimbang sebanyak 400 gram dan diekstraksi secara maserasi menggunakan 5L (menyesuaikan, sampai semua simplisia terendam) pelarut etanol 96% dalam toples kaca, kemudian disimpan ditempat terlindung cahaya selama 7 hari sambil dikocok-kocok, kemudian disaring dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut dan perlakuan yang sama. Filtrat yang dihasilkan ditampung dan dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak pekat dari umbi *Hydnophytum* sp. Ekstrak pekat ini kemudian akan diuji aktivitas antioksidan dan dilanjutkan Fraksinasi ekstrak kasar untuk memperoleh fraksi aktif.

2. Fraksinasi Ekstrak kasar dengan Kromatografi Kolom LH-20

Dilakukan TLC terlebih dahulu sebelum melakukan fraksinasi untuk menentukan system pelarut mana yang paling sesuai. Ekstrak yang digunakan bersifat sangat polar maka digunakan sistem pelarut Metanol : air = 4:1. Setelah mendapatkan system pelarut maka kolom LH-20 dikembangkan dengan Metanol selama 1 hari sebelum digunakan untuk fraksinasi. Ekstrak terlebih dahulu dikeringkan dengan pengering Nitrogen untuk menghilangkan kandungan air dan etanol dalam ekstrak, kemudian dilanjutkan dengan teknik Freeze Dry pada suhu -80°C . Ekstrak yang sudah kering dilarutkan kedalam Metanol:air = 4:1 kemudian dilanjutkan ke kromatografi kolom LH-20. Fraksi ditampung setiap 100ml. Fraksi-fraksi yang didapat kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator.

3. Dilakukan uji TLC kembali dari seluruh hasil fraksinasi untuk mendapatkan fraksi-fraksi mana saja yang aktif dan fraksi-fraksi yang memiliki kandungan senyawa yang sama digabung menjadi 1 fraksi. Fraksi yang aktif akan diuji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.

Uji Antioksidan

Metode ini digunakan untuk menentukan aktivitas menangkap radikal bebas dari DPPH oleh ekstrak dan fraksi aktif umbi *Hydnophytum* sp terlihat dari adanya perubahan warna pada larutan DPPH dalam metanol yang semula berwarna ungu pekat menjadi kuning pucat (Handayani et al., 2014). Langkah-langkahnya yaitu disiapkan sebanyak 4,73mg DPPH dalam 200ml Metanol, 10mg ekstrak dalam DMSO, 10mg fraksi-fraksi yang ingin diuji dalam 1ml DMSO, dan 1mg Quercetin dalam *dimetil sulfoxide*.

- Dimasukkan masing-masing 20 μL kedalam setiap *well* kecuali baris A
- Ditambahkan masing-masing 20 μL sampel yang telah di siapkan ke dalam *well* A dan B (sampel 1 pada *well* 1-3, sampel 2 *well* 4-6, sampel 3 *well* 7-9, dan quercetin *well* 10-12).
- Diaduk perlahan dengan mikropipet dan ambil 20 μL mulai dari *well* B-G
- Dibuang 20 μL dari *well* G
- Disimpan dalam ruang gelap selama 30 menit
- Penurunan absorbansi ditentukan pada 515 nm menggunakan *Microplate Reader* (Varioskan).

Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi dengan Maserasi

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi *simbagh utak* atau sering dikenal dengan sarang semut. Langkah awal proses ekstraksi ini adalah pengeringan sampel *simbagh utak*. Sebanyak 5 kg yang diiris tipis-tipis kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa cahaya matahari langsung hingga kering yaitu ± 1 minggu. Tujuan dikeringkan adalah agar kadar air yang ada pada umbi

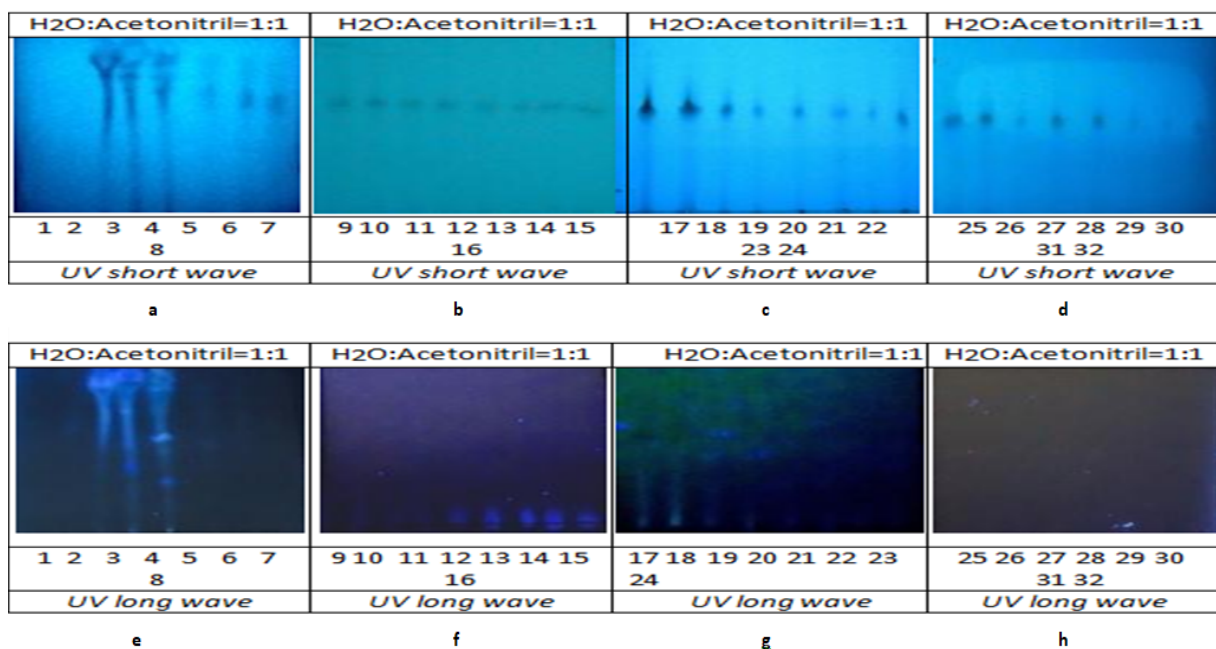
berkurang sehingga memudahkan pada saat ekstraksi. Pengeringan tanpa menggunakan sinar matahari langsung bertujuan agar senyawa yang terkandung tidak mudah mengalami kerusakan. Setelah kering, sampel tersebut diblender hingga halus untuk memperluas permukaan sampel dan didapat sebanyak 400 gr serbuk *simbagh utak*. Fungsi penghalusan ini untuk memperluas permukaan sampel, sehingga kontak antara sampel dengan pelarut semakin luas dan mempermudah penetrasi pelarut ke dalam sampel sehingga hasil semakin sempurna. Selain itu juga dimaksudkan agar sel atau jaringan tumbuhan yang mengandung senyawa-senyawa organik dapat terlarut sebanyak mungkin dalam pelarut yang terbatas. Selanjutnya proses maserasi dimana sampel direndam dalam etanol 96% selama 1 minggu hingga diperoleh filtrat *simbagh utak*. Filtrat ini dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak pekat dari umbi *simbagh utak*.

Fraksinasi Ekstrak kasar dengan Kromatografi Kolom LH-20

Dilakukan uji KLT (kromatografi lapis tipis) silica gel terlebih dahulu untuk menentukan sistem pelarut dan kolom mana yang paling sesuai sebelum melakukan fraksinasi. Ekstrak beberapa kali diuji KLT dengan sistem pelarut kloroform:etil asetat=1:1, metanol:kloroform=1:1, etil asetat:metanol=8:2, dan kombinasi pelarut kloroform, etanol dan etil asetat tetapi hasil pembacaan melalui *UV short* dan *long* menunjukkan bahwa sampel ada terlalu naik atau malah tidak naik sehingga tidak bisa menggunakan pelarut tersebut. Ini menunjukkan bahwa ekstrak dari sampel *simbagh utak* yang digunakan bersifat sangat polar sehingga dilakukan KLT dengan C-18 *reverse phase* untuk sistem pelarut Metanol : air = 4:1 yang hasil pemisahannya baik.

Setelah mendapatkan sistem pelarut maka kolom yang dipilih yaitu kolom LH-20. Ini karena kolom silica biasa tidak boleh menggunakan air sebagai pelarut, sedangkan sampel menggunakan air sebagai pelarut. Adapun kelebihan kolom LH-20 dibandingkan kolom silica biasa yaitu dapat memisahkan senyawa polar dan non polar sekaligus. Tidak berdasarkan kepolaran suatu zat tetapi dipisahkan berdasarkan berat molekul zat. Sebelum digunakan, kolom LH-20 dikembangkan dengan Metanol selama 1 hari. Untuk menghilangkan kandungan air dan etanol dalam ekstrak, ekstrak terlebih dahulu dikeringkan dengan pengering Nitrogen dan dilanjutkan dengan teknik *Freeze Dry* pada suhu -80°C dan diperoleh 32gr ekstrak *simbagh utak* yang kering. Ekstrak yang sudah kering diambil sebanyak 20gr kemudian dilarutkan kedalam Metanol:air = 4:1 kemudian dilanjutkan ke kromatografi kolom LH-20. Fraksi ditampung setiap 100ml dan didapat sebanyak 33 Fraksi. Fraksi-fraksi yang didapat dipekatkan dengan *rotary evaporator* kemudian dikeringkan dengan pengering Nitrogen dan dilanjutkan dengan teknik *Freeze Dry* pada suhu -80°C .

Dilakukan uji KLT kembali dari seluruh hasil fraksinasi sebelum dikeringkan untuk mendapatkan fraksi-fraksi mana saja yang aktif dan fraksi-fraksi yang memiliki kandungan senyawa yang sama digabung menjadi 1 fraksi. Hasil uji KLT dapat dilihat pada gambar di bawah ini :

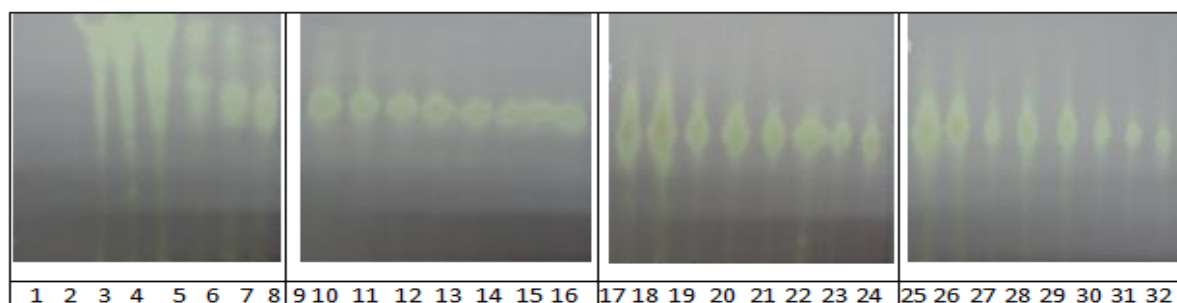


Gambar 1. Uji KLT 32 fraksi pada panjang gelombang pendek (a, b, c, d) dan panjang gelombang panjang (e, f, g, h)

Dari hasil uji KLT tersebut dapat dilihat bahwa no 1 dan 2 tidak terdapat senyawa aktif dan dianggap hanya mengandung pelarut saja sehingga bukan dianggap fraksi aktif. Fraksi-fraksi aktif diberi nama mulai dari Fraksi 1-6. Fraksi 1 terdapat pada nomor 3 saja yang memiliki bentuk yang berbeda dari yang lain. Fraksi 2 terdapat pada nomor 4 dan 5. Fraksi 4 terdapat pada nomor 6-8. Fraksi 4 terdapat pada nomor 9-16. Fraksi 5 terdapat pada nomor 17-19. Fraksi 6 terdapat pada nomor 20-32. Fraksi-fraksi ini kemudian dikeringkan dengan pengering Nitrogen dan dilanjutkan dengan teknik *Freeze Dry* pada suhu -80°C . Adapun berat kering masing-masing fraksi yaitu fraksi 1 1,9gr ; fraksi 2 2,3gr ; fraksi 3 2,1gr ; fraksi 4 1,25gr ; fraksi 5 0,51gr ; fraksi 6 2,1gr. Fraksi yang aktif akan diuji aktivitas antioksidan.

Uji Antioksidan

Dilakukan 2 kali uji aktivitas antioksidan yaitu uji secara kualitatif dan kuantitatif. Pada uji kualitatif aktivitas antioksidan dilakukan secara KLT dengan dispray pereaksi DPPH, timbulnya bercak putih kekuningan memberikan aktivitas penangkapan radikal bebas, yang menandakan sampel simbagh utak mempunyai aktivitas antioksidan. Dapat dilihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 2. Uji Antioksidan fraksi 1-8 (a), fraksi 9-16 (b), fraksi 17-24 (c), dan fraksi 25-32 (d) secara KLT

Dari hasil uji kualitatif terlihat bahwa sampel mempunyai aktivitas antioksidan. Kemudian dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan secara spektrofotometri dengan metode DPPH. Metode DPPH adalah salah satu uji kuantitatif untuk mengetahui seberapa besar aktivitas sampel simbagh utak sebagai antioksidan. Metode pengujian menggunakan DPPH merupakan metode konvensional dan telah lama digunakan sebagai penetapan aktivitas senyawa antioksidan. Untuk mengetahui tingkat peredaman warna sebagai akibat adanya senyawa antioksidan yang mampu mengurangi intensitas warna ungu dari DPPH, maka pengukuran reaksi warna dilakukan pada konsentrasi sampel *simbah utak* yang berbeda-beda yaitu 2,5 µg/ml; 1,25 µg/ml; 0,625 µg/ml; 0,3125 µg/ml; 0,15625 µg/ml. Pengukuran absorbansi dimulai pada t=0. Kemudian larutan uji diinkubasi di tempat gelap selama 30 menit. Selanjutnya absorbansi dibaca dan dicatat sebagai absorbansi pada t=30. Penentuan dilakukan dalam tiga ulangan. Kontrol positif yang digunakan dalam metode ini adalah quercetin (Sigma, Jerman).

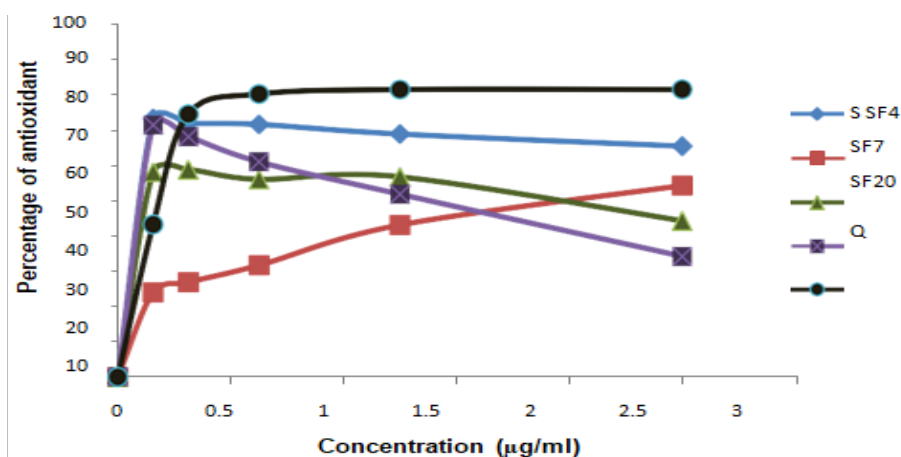
Aktivitas menangkap radikal oleh sampel yang diuji dinyatakan sebagai persentase penghambatan aktivitas menangkap radikal bebas dari DPPH, dihitung dengan menggunakan rumus berikut :

$$\% \text{ Penghambatan} = [(Abs_{t=0} - Abs_{t=30}) / Abs_{t=0}] \times 100\% \quad (1)$$

Selanjutnya, interpretasi data dilakukan dengan menggunakan kategori berikut :

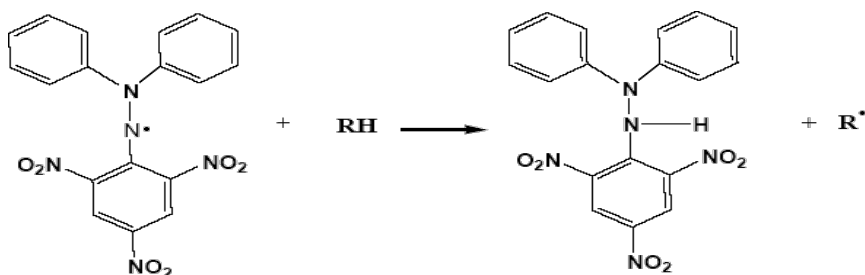
- Persentase inhibisi 79-89 % adalah aktivitas yang kuat
- Persentase inhibisi 55-78 % adalah moderat untuk aktivitas lemah
- Persentase inhibisi kurang dari 55 % tidak aktif sebagai aktivitas menangkap radikal bebas.

Dalam percobaan ini digunakan 4 buah sampel yaitu ekstrak kasar (S), Fraksi aktif 1 yang diwakilkan oleh fraksi 4 (SF4), Fraksi aktif 2 yang diwakilkan oleh fraksi 7 (SF7), Fraksi aktif 3 yang diwakilkan oleh fraksi 20 (SF20), dan quercetin (Q). Quercetin dijadikan sebagai control karena diketahui memiliki antioksidan yang tinggi. Pengukuran reaksi warna ini dilakukan pada konsentrasi sampel simbagh utak dan control yang berbeda-beda yaitu 2,5 µg/ml; 1,25 µg/ml; 0,625 µg/ml; 0,3125 µg/ml; 0,15625 µg/ml. Dari hasil pengukuran absorbansi didapat bahwa ekstrak dan fraksi dari umbi simbagh utak serta control memiliki % inhibisi seperti pada gambar di bawah ini:



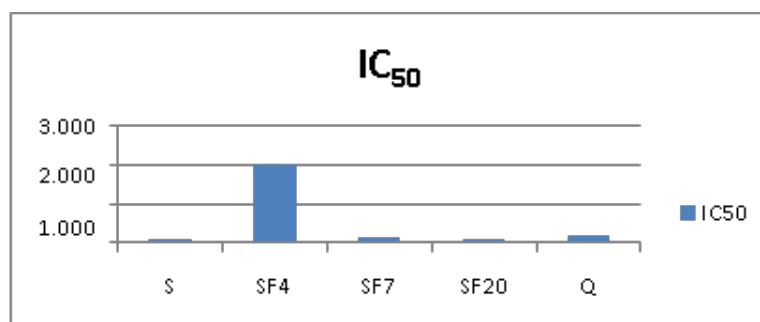
Gambar 3. Grafik % Inhibisi

Berdasarkan tabel dan grafik % inhibisi di atas diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak akan semakin besar pula peredamannya yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning. Dikarenakan pada konsentrasi tinggi senyawa yang terkandung akan semakin banyak dan menyebabkan semakin besar pula aktivitas antioksidannya. Uji aktivitas antioksidan DPPH berdasarkan reaksi penangkapan radikal DPPH oleh senyawa antioksidan melalui mekanisme donasi atom hydrogen sehingga akan dihasilkan DPPH-H (bentuk non radikal) dan menyebabkan terjadinya penurunan intensitas warna ungu dari DPPH [9].



Gambar 4. Reaksi Penangkapan Radikal oleh DPPH (Molyneux, 2004)

Elektron tak berpasangan pada DPPH memberikan suatu absorpsi yang kuat, maksimum pada $\lambda = 515$ nm dan berwarna ungu. Peredaman radikal bebas oleh antioksidan terjadi ketika elektron tak berpasangan menjadi berpasangan dengan adanya sebuah donor hidrogen, sehingga membentuk DPPH yang lebih stabil. Aktivitas peredaman radikal bebas biasanya dinyatakan sebagai persen inhibisi dari DPPH, tetapi dapat juga dinyatakan sebagai konsentrasi yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH (IC_{50}). Nilai IC_{50} dianggap sebagai ukuran yang baik dari efisiensi antioksidan senyawa-senyawa murni ataupun ekstrak. Nilai tersebut menggambarkan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap radikal sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi [7]. Berdasarkan data persen penghambatan di atas dapat dihitung IC_{50} nya dengan menarik garis lurus pada angka 50%.



Gambar 5. Grafik IC_{50}

Berdasarkan data IC_{50} di atas diketahui bahwa semua sampel memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Quercetin (Q) yang digunakan sebagai kontrol positif memiliki IC_{50} 0.2 µg/ml sedangkan ekstrak kasar (S), fraksi 7 (SF7) dan fraksi 20 (SF20) memiliki IC_{50} yang lebih kecil dari Quercetin yaitu 0.1 ; 0.13 and 0.1 µg/ml yang menandakan sampel - sampel ini memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dari quercetin sedangkan fraksi 4 (SF4) memiliki IC_{50} 2.0 µg/ml yang memiliki aktivitas antioksidan juga tetapi tidak setinggi sampel lainnya.

Kesimpulan

Uji aktivitas antioksidan umbi Simbagh Utak dilakukan dengan metode DPPH. Umbi Simbagh Utak diekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dan difraksinasi berdasarkan tingkat kepolaran dengan pelarut. Berdasarkan pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH diketahui bahwa semua sampel memiliki aktivitas antioksidan. Quercetin (Q) digunakan sebagai kontrol positif karena diketahui memiliki antioksidan yang tinggi. Quercetin yang digunakan memiliki IC_{50} 0.2 µg/ml sedangkan ekstrak kasar (S), fraksi 7 (SF7) dan fraksi 20 (SF20) memiliki IC_{50} yang lebih kecil dari Quercetin yaitu 0.1 ; 0.13 and 0.1 µg/ml yang menandakan sampel- sampel ini memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dari quercetin sedangkan fraksi 4 (SF4) memiliki IC_{50} 2.0 µg/ml yang memiliki aktivitas antioksidan juga tetapi tidak setinggi sampel lainnya.

Referensi

- [1] Candra Eka Setiawan, N., & Febriyanti, A. (2017). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Dan Fraksi-Fraksi Umbi *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr Dengan Metode DPPH (The Antioxidant Activity Of Extract And Factions *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr Bulbs By DPPH Method). 1(1), 2598–2095.
- [2] Ernis, G., Handayani, D., & Sundaryono, A. (2020). Dampak Pemberian Ekstrak “Simbagh Utak” (*Hydnophytum formicarum*) Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Darah pada Mencit (*Mus musculus*) Jantan Hiperurisemia. *PENDIPA Journal of Science Education*, 4(2), 94–100. <https://doi.org/10.33369/pendipa.4.2.94-100>
- [3] Handayani, V., Ahmad, A. R., Sudir, M., Etlingera, P., & Sm, R. M. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R . M . Sm) Menggunakan Abstrak. *Pharm Sci Res*, 1(2), 86–93.
- [4] Khasanah, N. W., Karyadi, B., & Sundaryono, A. (2020). Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Umbi *Hydnophytum* sp. terhadap *Artemia salina* Leach. *PENDIPA Journal of Science Education*, 4(1), 47–53. <https://doi.org/10.33369/pendipa.4.1.47-53>
- [5] Membri, D. K., Yudistira, A., & Abdullah, S. S. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Spons *Liosina Paradoxa* Yang Dikoleksi Dari Pulau Mantehage. *Pharmacon*, 10(2), 774. <https://doi.org/10.35799/pha.10.2021.34024>
- [6] Molyneux. (2004). The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *J. Sci. Technol*, 26(2), 211–219.
- [7] Pratiwi, D., Wahdaningsih, S., & Isnindar. (2013). the Test of Antioxidant Activity From Bawang Mekah Leaves (*Eleutherine Americana* Merr.) Using Dpph (2,2- Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) Method. *Trad. Med. J*, 18(January), 10–11.
- [8] Purnamasari, M., Ruyani, A., & Sundaryono, A. (2022). Aktivitas anti-diabetes ekstrak umbi simbagh utak (*Hydnophytum formicarum*) terhadap kadar gula darah mencit (*Mus musculus*) jantan. 6(3), 783–787.
- [9] Purwati. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Dan Uji Kadar Flavonoid Fraksi Etil Asetat Ekstrak Buah Tomat (*Lycopersicum esculentum* MILL.). 3(02), 768–771.
- [10] Sunarni, T., Pramono, S., & Asmah, R. (2007). Antioxidant–free radical scavenging of flavonoid from The Leaves of *Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 18(3), 111–116. <http://indonesianjpharm.farmasi.ugm.ac.id/index.php/3/article/view/451/330>.