

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Herba Kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) Dengan Metode *Ferric Reducing Antioxidant Power*

Rayditho Lazuardi Noor, Elsa Trinovita*, Indria Augustina

Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Palangka Raya, Jl. Yos Sudarso, Palangka Raya, Kalimantan Tengah, Indonesia. *e-mail: elsa3novita@gmail.com

Abstrak. Tubuh secara alami memproduksi zat antioksidan endogen yang mampu mengatasi efek radikal bebas, tetapi saat pasokan radikal bebas meningkat dibutuhkan pasokan zat antioksidan dari luar yang berasal dari bahan alam. Salah satu tanaman yang dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan alami adalah kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd). Kalakai mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, saponin dan tanin yang dapat mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Salah satu metode yang digunakan untuk mengevaluasi kandungan antioksidan dalam sampel adalah *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) yang mengukur daya reduksi sebagai indikatornya. Metode ekstraksi yang digunakan adalah *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) dengan pelarut etanol 96%. Lalu dilakukan skrining fitokimia secara kualitatif dan kuantitatif. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode FRAP dilakukan dengan beberapa konsentrasi yaitu 80, 100, 120, 140, dan 160 ppm dan vitamin C sebagai kontrol positif. Selanjutnya dilakukan pengukuran daya reduksi dan IC_{50} sebagai indikator aktivitas antioksidan. Nilai IC_{50} ditentukan dengan menghitung analisis regresi % inhibisi terhadap konsentrasi ekstrak herba kalakai dan vitamin C. Pada uji aktivitas antioksidan dengan metode FRAP terdapat perubahan warna dari kuning muda menjadi biru berlin. Ekstrak etanol 96% herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) memiliki nilai IC_{50} sebesar 23,380 ppm dan vitamin C memiliki nilai IC_{50} sebesar 16,335 ppm dimana keduanya dapat digolongkan sebagai antioksidan sangat kuat. Aktivitas antioksidan pada ekstrak herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) dipengaruhi oleh kerja senyawa fitokimia yang terkandung di dalamnya. Ekstrak etanol 96% herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) mempunyai daya reduksi sebagai indikator aktivitas antioksidan dengan metode FRAP.

Kata Kunci: Antioksidan, Kalakai, IC_{50} , Daya Reduksi, FRAP

Abstract. *The body naturally produces endogenous antioxidants that can overcome the effects of free radicals. However, when the supply of free radicals increases, external antioxidants originating from natural ingredients are needed. One plant that can be used as a source of natural antioxidants is kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd). Kalakai contains alkaloids, flavonoids, steroids, saponins, and tannins that can be antioxidants. One method used to evaluate the antioxidant content in samples is Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP), which measures reduction power as an indicator. The extraction method used was Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) with 96% ethanol solvent. Then, qualitative and quantitative phytochemical screening was carried out. Antioxidant activity testing using the FRAP method was carried out with several concentrations, namely 80, 100, 120, 140, and 160 ppm, and vitamin C as a positive control. Next, the reduction power and IC_{50} were measured as indicators of antioxidant activity. The IC_{50} value was determined by calculating the regression analysis of % inhibition on the concentration of kalakai herb extract and vitamin C. In the FRAP method's antioxidant activity test, there was a color change from light yellow to Berlin blue. The 96% ethanol extract of the kalakai herb (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) has an IC_{50} value of 23,380 ppm, and vitamin C has an IC_{50} value of 16,335 ppm, both of which can be classified as powerful antioxidants. The antioxidant activity of kalakai herb extract (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) is influenced by the action of the phytochemical compounds contained therein. 96% ethanol extract of kalakai herb (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) has reduced power as an indicator of antioxidant activity using the FRAP method*

Keywords: Antioxidants, Kalakai, IC_{50} , Reducing Power, FRAP

PENDAHULUAN

Penyakit-penyakit yang disebabkan oleh stres oksidatif mempunyai tingkat mortalitas dan prevalensi yang tinggi. Data dari *Global Status Report on Noncommunicable Diseases 2010* memaparkan bahwa pada tahun 2008, dari 57 juta kematian yang terjadi secara global, 36 juta di antaranya disebabkan oleh penyakit tidak menular sehingga penyakit tidak menular merupakan penyebab terbesar kematian di dunia (WHO, 2011). Empat penyakit tidak menular yang tingkat mortalitasnya tertinggi di dunia adalah penyakit yang disebabkan oleh stres oksidatif, yaitu penyakit kardiovaskular, kanker, diabetes, dan Penyakit Pulmonal Obstruktif Kronik (PPOK) (WHO, 2011; Sen et al, 2010). Prevalensi kanker, diabetes melitus, dan PPOK di Indonesia masing-masing menunjukkan nilai sebesar 1,4%, 1,5%, dan 3,7% perseribu (Riskedas, 2013).



Stres oksidatif adalah ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan yang dipicu oleh dua kondisi umum yakni kurangnya antioksidan dan kelebihan produksi radikal bebas. Berbagai enzim pada sel dan proses metabolik yang terkontrol, akan menjaga agar kerusakan oksidatif ditingkat sel tetap minimal. Pada saat produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) meningkat, maka kontrol protektif tidak akan mencukupi sehingga memicu kerusakan oksidatif (Nichols dan Katiyar, 2010). Tubuh secara alami memproduksi zat antioksidan endogen yang mampu mengatasi efek radikal bebas, tetapi saat pasokan radikal bebas meningkat dibutuhkan pasokan zat antioksidan dari luar. Antioksidan tersebut dapat berasal dari sintetik dan bahan alam. Antioksidan sintetik yang sudah banyak digunakan seperti *buthylated hydroxytoluene* (BHT), *buthylated hidroksianisol* (BHA), dan *ters-buthyl hidroquinone* (TBHQ) secara efektif dipercaya dapat menghambat oksidasi. Namun, penggunaan antioksidan sintetik dibatasi oleh aturan pemerintah karena penggunaan yang melebihi batas dapat menyebabkan racun dalam tubuh dan bersifat karsinogenik sehingga dibutuhkan antioksidan lain yang aman untuk digunakan (Wulansari, 2018).

Sumber antioksidan alami telah banyak dilaporkan berasal dari tanaman. Salah satu tanaman yang dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan alami adalah herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f) Bedd). Kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f) Bedd) adalah tumbuhan sejenis pakis yang dapat ditemukan di India, Asia Tenggara, Polinesia dan Australia. Tumbuhan ini memproduksi daun subur yang mengandung daun steril dan spora. Masyarakat Kalimantan sering menggunakan kalakai sebagai obat tradisional untuk pereda demam, antidiare, dan obat radang dikarenakan bahan yang terkandung di dalamnya. Beberapa penelitian juga yang mengidentifikasi kandungan yang terdapat dalam tumbuhan kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f) Bedd) diantaranya adalah flavonoid, steroid dan alkaloid serta beberapa vitamin seperti vitamin C dan vitamin A yang diketahui memiliki sifat antioksidan (Maharani et al. 2013). Hal ini dibuktikan pada penelitian mengenai senyawa antioksidan pada tanaman kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f) Bedd) yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol akar kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f) Bedd) tanah pasir dengan metode DPPH mempunyai nilai IC_{50} yaitu sebesar 24,40 ppm (Antioksidan sangat kuat) (Adawiyah et al. 2019).

Pemilihan metode ekstraksi harus diperhatikan untuk memperoleh kadar senyawa yang optimum. Beberapa teknik konvensional yang dapat digunakan untuk mengisolasi senyawa aktif dari bahan alam, diantaranya ekstraksi maserasi, sokletasi, refluks, sonikasi dan lain-lain. Namun, penggunaan metode konvensional saat ini memiliki kekurangan, seperti besarnya volume pelarut, membutuhkan waktu ekstraksi yang lama, dan menimbulkan risiko degradasi dari komponen senyawa termolabil (Ballard et al. 2010). Salah satu metode non-konvensional yang dapat menjadi alternatif lain adalah metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE). Metode UAE banyak digunakan karena memiliki kelebihan yaitu waktu ekstraksi lebih singkat, efisiensi penggunaan pelarut, dihasilkan produk akhir dengan kemurnian tinggi, dan tidak membutuhkan banyak energi dibandingkan dengan metode konvensional (Chemat et al. 2016).

Penggunaan *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) dalam ekstraksi senyawa bahan alam telah dilakukan sebelumnya yang menghasilkan peningkatan rendemen, efektivitas antioksidan dan mengurangi waktu ekstraksi pada pigmen karotenoid labu kabocha (*Cucurbita maxima* L.). Kondisi optimum pada beberapa parameter meliputi rasio bahan:pelarut 1:9 dan lama ekstraksi 25 menit dengan total karoten 254.77 mg/100g, nilai IC_{50} 84.28 ppm, dan rendemen 30.25% (Manasika dan Wishanarko, 2015). Salah satu metode yang dikembangkan untuk penentuan kandungan antioksidan dalam sampel adalah metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP). Metode FRAP merupakan metode yang digunakan untuk menguji antioksidan dalam tumbuh-tumbuhan. Kelebihan metode FRAP ini yaitu metodenya murah, reagensinya mudah disiapkan dan cukup sederhana dan cepat. Daya reduksi yang dihasilkan dengan metode FRAP merupakan indikator potensi suatu senyawa antioksidan. Daya reduksi dalam hal tersebut diukur dari kemampuan suatu antioksidan untuk mengubah ion ferri (Fe^{3+}) menjadi ion ferro (Fe^{2+}) melalui reaksi reduksi (Munisa et al. 2012). Penelitian sebelumnya yang menggunakan metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) telah dilakukan sebelumnya yaitu pada tanaman ekstrak etanol batang kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap reaksi oksidasi dari radikal bebas dimana diperoleh nilai IC_{50} yaitu sebesar 147,22 ppm (Antioksidan sedang) (Magfira, 2018). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f) Bedd) melalui metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP).

METODE

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain adalah *Ultrasonic Cleaning Bath* model JP-010S dengan total power 80 W dan frekuensi 40 kHz (China), timbangan analitik (Jerman), *rotary evaporator* (Switzerland), waterbath (USA), alat gelas (USA), micropipet (Jerman), centrifuge (Kanada), spektrofotometer UV-VIS (Jerman). Beberapa bahan penelitian yang digunakan adalah herba (Akar, batang dan daun) kalakai diperoleh dari jalan Mahir Mahar Lingkar luar Palangka Raya, etanol 96 % (Indonesia), aquadest (Indonesia), vitamin C (Singapura), Asam trikloroasetat 10% (Singapura), $FeCl_3$ (Singapura), kalium ferrisianida (Singapura).

Persiapan Ekstraksi Dengan *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) Determinasi Tumbuhan

Determinasi untuk menetapkan kebenaran yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi secara makroskopis herba kalakai (*Stenochlaena palustris*) terhadap kepastakaan. Determinasi dilakukan di Herbarium Bogoriense, Balai Penelitian dan Pengembangan Botani Pusat Penelitian Dan Pengembangan Biologi, LIPI Bogor.

Tahapan Penyiapan Simplisia Herba Kalakai

Herba (akar, batang dan daun) kalakai segar sebanyak 2 kg dibersihkan dari sisa-sisa tanah dan kotoran dengan air yang mengalir. Lalu dilakukan proses pengeringan herba kalakai dengan ditutupi kain hitam dan setelah dinyatakan kering sempurna maka tanaman kalakai kering tersebut dengan cara di-*grinding* dengan mesin *grinder* sehingga diperoleh serbuk simplisia. Lalu ayakan dengan ayakan Mesh 60 hingga diperoleh serbuk simplisia yang homogen.

Tahapan Ekstraksi dengan *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE)

Ditimbang serbuk simplisia herba kalakai (*Stenochlaena palustris*) pada timbangan analitik lalu tambahkan pelarut etanol 96 % dengan rasio sampel/pelarut sebesar 1:9 g/mL. Lalu dilakukan proses ekstraksi dengan alat *digital ultrasonic* dengan frekuensi 40 Khz selama 25 menit. Selanjutnya dilakukan proses penyaringan hingga diperoleh filtrat. Kemudian hasil filtrat diuapkan dengan menggunakan alat *rotary vacuum evaporator* pada kecepatan 110 rpm dan temperatur 50°C. Setelah filtrat diuapkan kemudian dipekatkan menjadi ekstrak kental menggunakan *waterbath* pada suhu 50°C (Manasika dan Wishanarko, 2015). Ekstrak kental ditimbang dan dianalisis menggunakan rumus berikut.

$$\text{Rendeman} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Simplisia}} \times 100\%$$

Uji Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia secara kualitatif dan kuantitatif (Harborne, 1987). Uji fitokimia kualitatif dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Palangka Raya. Uji fitokimia kuantitatif dilakukan di Laboratorium Kimia-Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.

Prosedur Pengujian Aktivitas Antioksidan Dengan Metode FRAP

Pengujian Daya Reduksi Dan Pengukuran IC₅₀

Sebanyak 50 mg sampel ditimbang dan dilarutkan dalam 50 ml etanol p.a pada labu ukur 50 ml hingga mencapai batas sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Kemudian diambil masing-masing 0,8 ml, 1 ml, 1,2 ml, 1,4 ml dan 1,6 ml dari larutan stok ke dalam labu ukur 10 ml hingga diperoleh konsentrasi 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, 140 ppm dan 160 ppm, kemudian larutan ditambahkan masing-masing 1 ml dapar fosfat 0,2 N (pH 6,6) dan 1 ml K₃Fe(CN)₆ 1%. Selanjutnya diinkubasi selama 20 menit dengan suhu 50°C. Setelah diinkubasi ditambahkan 1 ml larutan TCA 10% lalu disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Setelah disentrifuge dipipet 2 ml lapisan bagian atas kedalam labu ukur, dan ditambahkan 2 ml aquadest dan 0,4 ml FeCl₃ 0,1%. Larutan didiamkan selama 10 menit dan diukur serapan maksimumnya. Meningkatnya absorban dari campuran tersebut berarti menunjukkan bertambahnya kemampuan mereduksi yang diukur pada λ 681 nm (Magfira, 2018). Nilai IC₅₀ dihitung berdasarkan persentase inhibisi terhadap radikal bebas dari masing-masing konsentrasi larutan sampel dengan rumus sebagai berikut.

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{(\text{Abs Sampel} - \text{Abs Blanko})}{\text{Absorbansi Sampel}} \times 100 \%$$

Setelah didapatkan persentase inhibisi masing-masing konsentrasi, Hasil dari metode FRAP umumnya dibuat dalam bentuk *Inhibition Concentration 50%* (IC₅₀) ditentukan persamaan $y = a + bx$ dengan perhitungan secara regresi linear dimana x adalah konsentrasi (μg/mL) dan y adalah persentase inhhibisi (%). Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *inhibition concentration 50%* (IC₅₀) yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal FRAP sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ didapatkan dari nilai x setelah mengganti $y=50$. Setelah didapatkan nilai IC₅₀ diinterpretasikan nilai tersebut sesuai dengan tingkat kekuatan antioksidan menurut klasifikasi Blois. Menurut klasifikasi Blois tingkat kekuatan suatu antioksidan dikatakan sangat kuat apabila nilai IC₅₀ < 50 ppm, dikatakan kuat jika nilai IC₅₀ antara 50-100 ppm, dikatakan sedang jika nilai IC₅₀ 101-150 ppm, dikatakan lemah jika nilai IC₅₀ 151-200 ppm, dan dikatakan sangat lemah jika nilai IC₅₀ > 200 ppm (Shalaby, 2013).

Analisis Data

Hasil data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan program *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) 25. uji normalitas dan uji homogenitas. Uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-wilk* dan uji homogenitas menggunakan *test of homogeneity of variance*. Data yang terdistribusi normal dan bervarian homogen dianalisis secara statistik parametrik yaitu *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan taraf kepercayaan 95%. Data yang telah dikumpulkan akan dianalisa melalui regresi linear sederhana.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendeman Ekstrak Herba Kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd)

Perolehan rendemen ekstrak herba kalakai dengan metode UAE sebesar 4,2 %.

Analisis Senyawa Metabolit Sekunder

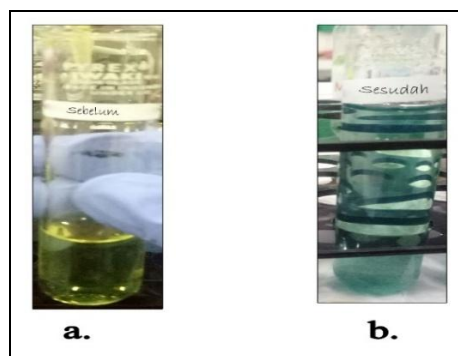
Pada penelitian ini dilakukan pengujian fitokimia kualitatif dan kuantitatif terhadap ekstrak etanol 96% herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd). Uji yang dilakukan adalah uji alkaloid, uji flavonoid, uji saponin, uji tannin dan uji steroid (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Kualitatif Tumbuhan Herba Kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd)

Senyawa Metabolit Sekunder	Hasil Uji Fitokimia Kualitatif	Hasil Uji Fitokimia Kuantitatif (Nilai Kadar ± SD)
Alkaloid (%)	Terbentuk endapan putih Terbentuk endapan cokelat	15,560 ± 0,866
Flavonoid (%)	Perubahan warna menjadi kuning	13,289 ± 0,748
Saponin (mg/mL QE)	Terbentuk emulsi	0,729 ± 0,043
Tanin (mg/mL QE)	Perubahan warna menjadi coklat kehijauan	45,417 ± 0,764
Steroid (mg/mL)	Perubahan warna menjadi hijau	50,339 ± 0,829

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antioksidan kualitatif yaitu daya reduksi dengan menggunakan metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) yang ditandai dengan perubahan warna kuning menjadi kompleks biru berlin pada sampel setelah ditambahkan dengan pereaksi FRAP. Perubahan warna yang terjadi seperti yang terlihat pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. Perubahan warna ekstrak etanol 96% Herba Kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) dengan penggunaan metode FRAP (a. sebelum ditambahkan pereaksi FRAP ditandai dengan warna kuning; b. setelah ditambahkan dengan pereaksi FRAP berubah menjadi kompleks biru berlin)

Perolehan nilai absorbansi sampel ekstrak etanol 96% herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) pada beberapa konsentrasi dan vitamin C sebagai kontrol positif dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3 berikut ini.

Tabel 2. Absorbansi Uji Antioksidan Herba Kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd)

Nama Sampel	K (ppm)	\bar{A}	A Blanko
Ekstrak Etanol 96% Herba Kalakai (<i>Stenochlaena palustris</i>)	80	0,314	0,2945
	100	0,335	
	120	0,401	
	140	0,459	
	160	0,556	

Tabel 3. Absorbansi Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C sebagai Kontrol Positif

Nama Sampel	K (ppm)	\bar{A}	A Blanko
Vitamin C	8	0,324	0,2945
	12	0,364	
	16	0,432	
	20	0,468	
	24	0,583	

Keterangan :

K = Konsentrasi (ppm)

A1 = Absorbansi pertama

A2 = Absorbansi kedua
A3 = Absorbansi Ketiga
A4 = Absorbansi keempat
 \bar{A} = Rata rata absorbansi

Pada penelitian ini didapatkan persentase aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) dengan pembandingan vitamin C seperti pada Tabel 4 dan Tabel 5 berikut.

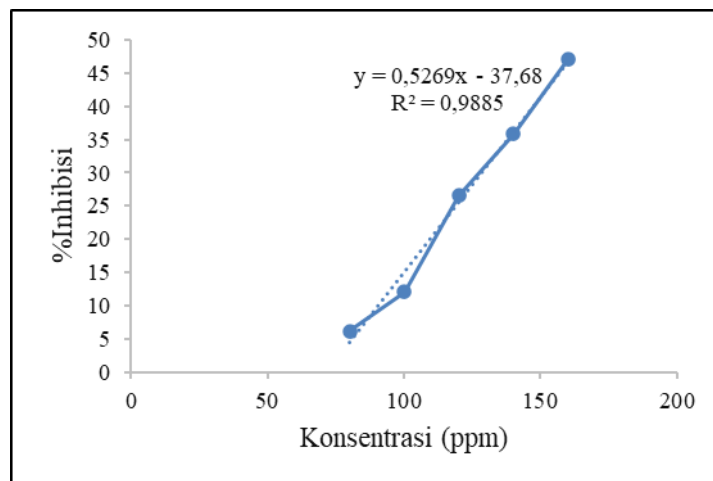
Tabel 4. Data Persentase Inhibisi Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Herba Kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) Dengan Berbagai Konsentrasi

Nama Sampel	Konsentrasi (ppm)	Inhibisi (%)
Ekstrak <u>Etanol 96%</u> Herba Kalakai (<i>Stenochlaena palustris</i> (Burm. f.) Bedd)	80	6,22
	100	12,08
	120	26,55
	140	35,83
	160	47,03

Tabel 5. Data persentase inhibisi antioksidan vitamin C dengan berbagai konsentrasi

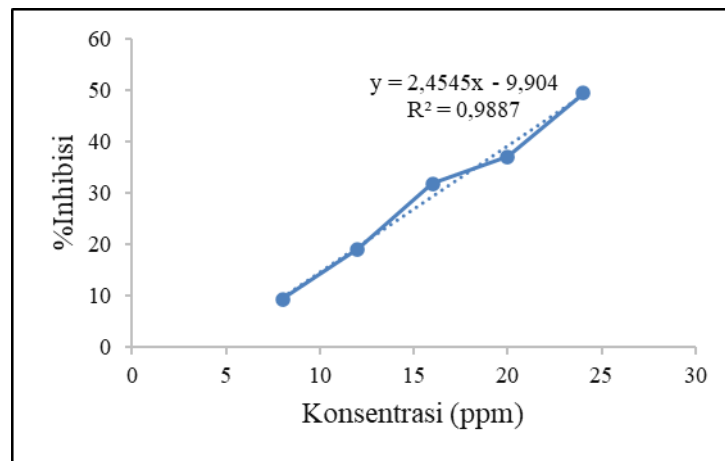
Nama Sampel	Konsentrasi (ppm)	Inhibisi (%)
Vitamin C	8	9,38
	12	19,09
	16	31,82
	20	37,07
	24	49,48

Tabel 4 dan 5 diatas menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi zat uji maka nilai persen (%) inhibisinya juga semakin meningkat. Nilai persen inhibisi yang telah dihitung dari setiap konsentrasi selanjutnya digunakan untuk perhitungan IC_{50} dimana menunjukkan konsentrasi ekstrak (mikrogram/mililiter) yang mampu menghambat 50 % oksidasi. Semakin kecil nilai IC_{50} akan semakin efektif zat tersebut sebagai antioksidan. Nilai IC_{50} didapatkan melalui persamaan regresi linear yang didapatkan melalui persamaan kurva standar dengan persen inhibisi sebagai sumbu y dan konsentrasi sampel sebagai sumbu x. Kurva regresi linier dari ekstrak etanol 96% herba kalakai dapat dilihat pada gambar 2 dibawah ini.



Gambar 2. Kurva Regresi Linear Ekstrak Etanol 96% Herba Kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd)

Hasil kurva regresi linear ekstrak etanol 96% herba kalakai pada gambar 5.1 diatas diperoleh persamaan regresi pada ekstrak etanol herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) adalah $y = 0,5269x - 37,68$ dari hasil persamaan regresi ini kemudian dilakukan perhitungan untuk menentukan nilai IC_{50} adapun hasil nilai IC_{50} yang diperoleh dari persamaan regresi linear ekstrak etanol 96% herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) ini adalah 23,380 ppm. Sedangkan kurva regresi linear vitamin C dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Kurva Regresi Linear Vitamin C

Hasil kurva regresi linear vitamin C pada gambar 5.2 diatas diperoleh persamaan regresi pada vitamin C adalah $y = 2,4545x - 9,904$ dari hasil persamaan regresi ini kemudian dilakukan perhitungan untuk menentukan nilai IC_{50} adapun hasil nilai IC_{50} yang diperoleh dari persamaan regresi linear vitamin C ini adalah 16,335 ppm. Tabel 6 di bawah ini menunjukkan hasil analisa statistik dengan uji *Post Hoc Tukey*.

Tabel 6. Data Uji *Post Hoc Tukey* Ekstrak Etanol 96% Herba Kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd)

	80 ppm	100 ppm	120 ppm	140 ppm	160 ppm
80 ppm			0,000*	0,000*	0,000*
100 ppm	0,529		0,000*	0,000*	0,000*
120 ppm	0,000*	0,000*		0,000*	0,000*
140 ppm	0,000*	0,000*	0,000*		0,000*
160 ppm	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	

Keterangan :

* Terdapat perbedaan bermakna terhadap nilai absorbansi antioksidan pada tiap kelompok perlakuan ($p < 0,05$)

Hasil Ekstraksi Herba Kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) Dengan Metode UAE

Rendemen ekstrak herbal kalakai dengan metode ekstraksi *Ultrasound assisted extraction* (UAE) sebesar 4,2 %. Hal ini menunjukkan bahwa nilai rendemen ekstrak dengan metode UAE lebih tinggi dibandingkan dengan metode ekstraksi sokletasi yaitu sebesar 0,0434% (Handayani dan Rusmita, 2017) dan maserasi sebesar 1,6% (Egra et al. 2019). Perbedaan nilai rendemen tersebut dikarenakan perbedaan konsentrasi pelarut, dan teknik ekstraksi yang digunakan. Pada penggunaan metode UAE dapat meningkatkan rendemen sebesar 0,12-1,18% (Widyasanti et al, 2008). Hal ini dipengaruhi oleh kerja UAE dengan bantuan ultrasonik yang dapat berlangsung lebih cepat. Dinding sel dari bahan dipecah dengan getaran ultrasonik sehingga kandungan yang ada di dalamnya dapat keluar dengan mudah Efek dari gelombang ultrasonik yang akan melepaskan energi kalor sehingga terjadi pemanasan yang mengakibatkan suhu meningkat dan gerakan mekanik antarmuka zat padat dan zat cair, sehingga mempercepat laju perpindahan massa-nya. Gesekan cairan dan partikel padat serta gelombang kejut menyebabkan semakin tipisnya lapisan batas antara cairan dan partikel, sehingga dapat meningkatkan kemampuan penetrasi pelarut seiring meningkatnya difusibilitas dan solvensi senyawa aktif dalam sel, yang pada akhirnya meningkatkan laju perpindahan panas, massa dan efisiensi ekstrak. Kondisi proses seperti besarnya intensitas dan frekuensi ultrasonik, waktu sonikasi dan jenis pelarut yang tepat akan menghasilkan ekstrak dengan rendemen tinggi dan senyawa yang lebih selektif (Sondari et al, 2016).

Hasil Fitokimia Herba Kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd)

Berdasarkan hasil uji fitokimia kualitatif ekstrak etanol herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) dengan metode UAE terdapat kandungan senyawa alkaloid, saponin, tanin, flavonoid dan steroid. Sedangkan pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Clara yang menggunakan metode ekstraksi secara perkolasi didapatkan senyawa alkaloid, tanin flavonoid dan steroid pada tanaman herba kalakai (Stephanie, 2016). Perbedaan hasil skrining fitokimia tersebut yaitu adanya saponin. Hal ini dapat disebabkan oleh karena adanya perbedaan konsentrasi pelarut dan metode ekstraksi yang digunakan dalam mengisolasi senyawa metabolit sekunder yang ada pada tanaman herba kalakai.

Terbentuknya endapan pada uji *Mayer, Wagner*, menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) mengandung senyawa golongan alkaloid. Hasil positif alkaloid pada uji *Mayer* ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Diperkirakan endapan tersebut merupakan kompleks kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi *Mayer*, larutan merkuriur (II) klorida ditambah kalium iodida akan bereaksi membentuk endapan merah merkuriur (II) iodida. Jika kalium iodida yang ditambahkan berlebih maka akan terbentuk kalium tetraiodomerkurat (II). Alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan ion logam. Pada uji alkaloid dengan pereaksi *Mayer*, diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Pada reaksi menggunakan pereaksi *Wagner*, ion logam K^+ membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan alkaloid sehingga membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Marliana et al. 2006)

Terbentuknya busa emulsi pada uji saponin menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) mengandung senyawa golongan saponin. Timbulnya busa tersebut menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk busa dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya. Terbentuknya warna coklat kehijauan pada uji tanin menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) mengandung senyawa golongan tanin. Timbulnya warna tersebut terjadi karena adanya reaksi reduksi. Tanin merupakan golongan senyawa polifenol, polifenol mampu mereduksi besi (III) menjadi besi (II) (Budini et al. 1980). Terbentuknya warna kuning pada uji flavonoid menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) mengandung senyawa golongan flavonoid. Timbulnya warna tersebut terjadi karena pada suatu sampel yang mengandung flavonoid, bila direaksikan dengan $AlCl_3$ akan terbentuk warna kuning, hal ini terjadi karena terbentuknya senyawa kompleks antara flavonoid dengan $AlCl_3$. Terbentuknya warna hijau pada uji steroid menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) mengandung senyawa golongan steroid. Berdasarkan reaksi *Liebermann-Buchard* menyatakan bila suatu steroid direaksikan dengan asam asetat anhidrat dan setetes asam sulfat pekat akan menghasilkan warna hijau atau biru. Reaksi yang terjadi antara steroid dengan asam asetat anhidrat adalah reaksi asetilasi gugus $-OH$ pada steroid (Robinson, 1995).

Pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dalam pelarut organik di luar sel, maka larutan terpekat akan berdifusi keluar sel dan proses ini akan berulang terus sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam dan di luar sel. Pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96%. Pelarut ideal yang sering digunakan untuk ekstraksi adalah alkohol atau campurannya dengan air karena pelarut pengekstraksi yang terbaik untuk hampir semua senyawa dengan berat molekul rendah seperti saponin, flavonoid dan berat molekul tinggi seperti tannin (Wijesekara, 1991). Tanaman herba kalakai mengandung banyak flavonoid dikarenakan pada daun kalakai yang berwarna kemerahan mempunyai peranan senyawa fenol yaitu antosianin. Pigmen antosianin inilah yang memberikan warna pada sejumlah bagian tumbuhan dan berfungsi sebagai sarana transport untuk monosakarida serta sebagai pengatur osmotik selama periode kekeringan dan suhu rendah pada tanaman herba kalakai (Susanti, 2012).

Hasil Uji Antioksidan Herba Kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd)

Pada tabel 2 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol 96% herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) maka semakin tinggi juga persen inhibisinya. Hal ini dikarenakan pada pengujian aktivitas antioksidan, sampel uji yang direaksikan dengan senyawa radikal bebas dapat mengalami perubahan konsentrasi absorbansi gelombang. Semakin meningkatnya konsentrasi sampel yang kemudian ditambahkan dengan pereaksi radikal bebas tersebut, maka diharapkan nilai absorbansi gelombang yang dihasilkan semakin meningkat. Peningkatan absorbansi gelombang tersebut menunjukkan bahwa sampel yang diduga mengandung senyawa aktif antioksidan tersebut, mampu menunjukkan perannya dalam mereduksi senyawa yang bersifat radikal bebas (Magfira, 2018). Pada uji aktivitas antioksidan dengan metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) terdapat perubahan warna dari kuning muda menjadi biru berlin seperti terlihat pada tabel 2 dimana metode FRAP dilakukan berdasarkan kemampuan suatu senyawa dalam mereduksi kalium ferrisianida ($K_3Fe(CN)_6$) menjadi kalium ferrosianida ($K_4Fe(CN)_6$). Antioksidan dalam sampel herba kalakai akan mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} dengan memberikan sebuah elektron. Jumlah kompleks Fe^{2+} sebagai hasil dari pengujian aktivitas antioksidan dari sampel dapat diketahui dengan mengukur sampel pada panjang gelombang 681 nm. Berdasarkan hasil penelitian terdapat kenaikan serapan sampel. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh *Maghfirah* bahwa semakin tinggi nilai absorbansi yang terukur maka semakin tinggi pula kemampuan reduksinya (Jayanti dan Lalita, 2011).

Pada larutan FRAP yang berisi ekstrak herba kalakai setelah diukur serapan absorbansinya kemudian dihitung aktivitas antioksidannya menggunakan persentase inhibisi, yaitu banyaknya aktivitas senyawa antioksidan yang dapat menangkap radikal bebas FRAP. Pada tabel 2 menunjukkan rata rata persentase inhibisi antioksidan herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) dengan konsentrasi 160 ppm menghasilkan persentase inhibisi antioksidan paling tinggi sebesar 47,03% dan pada konsentrasi 80 ppm menghasilkan persentase inhibisi antioksidan paling rendah sebesar 6,22%. Pada penelitian ini nilai IC_{50} ekstrak etanol 96% herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) dan Vitamin C didapat dari hasil perhitungan persamaan regresi linier yang terlihat pada gambar 5.1 dan 5.2, dimana persamaan regresi dari ekstrak etanol 96% herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) adalah $y = 0,5269x - 37,68$ dan $R = 0,9885$, sedangkan vitamin C adalah $y = 2,4545x - 9,904$ dan $R = 0,9887$. Koefisien y pada persamaan ini adalah sebagai IC_{50} , sedangkan koefisien x pada persamaan ini adalah konsentrasi dari ekstrak yang akan dicari nilainya, dimana nilai dari x yang didapat merupakan besarnya konsentrasi yang diperlukan untuk dapat meredam 50% aktivitas radikal FRAP. Nilai r 0,9885 dan 0,9887 yang mendekati +1 (bernilai positif) menggambarkan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak maka semakin besar aktivitas antioksidannya.

IC_{50} merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas FRAP sebesar 50% atau IC_{50} dapat dikatakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak (ppm) yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Jayanti dan Lalita, 2011). Berdasarkan klasifikasi blois tersebut ekstrak etanol 96% herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) memiliki nilai IC_{50} sebesar 23,380 ppm dan Vitamin C memiliki nilai IC_{50} sebesar 16,335 ppm dimana keduanya dapat digolongkan sebagai antioksidan sangat kuat. Aktifitas antioksidan pada ekstrak etanol 96% herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) dikarenakan oleh adanya senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd) seperti alkaloid, saponin, flavonoid, tanin dan steroid.

Alkaloid merupakan salah satu metabolisme sekunder yang terdapat pada tumbuhan, yang bisa dijumpai pada bagian daun, dan batang kalakai. Mekanisme alkaloid sebagai antioksidan adalah dengan cara mendonorkan atom H pada radikal bebas, mekanisme ini menunjukkan bahwa alkaloid bekerja sebagai antioksidan primer (Kurniati, 2013).

Dalam hal ini senyawa Fe^{3+} akan tereduksi menjadi senyawa Fe^{2+} , kondisi tersebut diakibatkan oleh mekanisme alkaloid yang bertindak sebagai antioksidan dalam sampel (Magfira, 2018). Saponin sebagai antioksidan mampu meredam superoksida melalui pembentukan antara intermediet hidropersida dengan ion logam transisi seperti besi sehingga dapat mencegah suatu kerusakan biomolekular oleh radikal bebas (Ahmad et al. 2012). Aktivitas antioksidan pada senyawa flavonoid dikarenakan senyawa tersebut adalah senyawa-senyawa fenol, yaitu senyawa dengan gugus $-OH$ yang terikat pada karbon cincin aromatik. Senyawa fenol ini mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen, sehingga radikal FRAP (Fe^{3+}) dapat tereduksi menjadi bentuk yang lebih stabil (Fe^{2+}). Aktivitas peredaman radikal bebas senyawa fenol dipengaruhi oleh jumlah dan posisi hidrogen fenolik dalam molekulnya. Semakin banyak jumlah gugus hidroksil yang dimiliki oleh senyawa fenol dalam sampel ekstrak etanol 96% herba kalakai maka semakin besar aktivitas antioksidan yang dihasilkan (Dina et al. 2013; Chao et al. 2014). Senyawa polifenol pada tannin yang terdapat dalam herba kalakai mampu menghambat proses oksidasi. Polifenol merupakan senyawa turunan fenol yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Fungsi polifenol dapat sebagai penangkap dan pengikat radikal bebas dari rusaknya ion-ion logam seperti besi. Tanin memiliki sifat antara lain dapat larut dalam air atau alkohol karena tanin banyak mengandung fenol yang memiliki gugus OH , yang dapat mengikat logam berat (Chao et al. 2014).

Senyawa steroid terdapat dalam setiap makhluk hidup. Steroid yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan herba kalakai disebut fitosterol, sedangkan yang ditemukan dalam jaringan hewan disebut kolesterol. Beberapa senyawa ini jika terdapat dalam tumbuhan akan dapat berperan menjadi pelindung (Stephanie, 2015). Fitosterol pada senyawa steroid sebagai antioksidan berperan dalam mencegah terjadinya penyakit atherosklerosis (penimbunan lemak dalam pembuluh darah). Mekanisme fitosterol dalam menurunkan kadar kolesterol dengan cara mengikat dan menghambat kolesterol di usus (Mayes et al. 2003; Chen et al. 2019). Dengan demikian hal tersebut dapat mengurangi terjadinya kondisi stress oksidatif yang dihasilkan oleh ketidakseimbangan jumlah radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh (Nichols dan Katiyar, 2010). Hasil analisis secara statistik menggunakan uji *Pos Hoc Tukey HSD* menunjukkan perbedaan bermakna antara kelompok konsentrasi 120 ppm, 140 ppm dan 160 ppm (Tabel 6.). Hal tersebut berarti menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% herba kalakai mempunyai aktivitas sebagai antioksidan pada beberapa konsentrasi.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol 96% herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f) Bedd) mempunyai daya reduksi sebagai indikator aktivitas antioksidan dengan metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP). Ekstrak etanol 96% herba kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f) Bedd) memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 23,380 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Adawiyah R, Rizki MI. 2019. "Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Akar Kalakai (*Stenochlaena palustris* Bedd) Asal Kalimantan Tengah". *J Pharmascience*. 5(1):71–7.
- Ahmad, A. R., et al., 2012. "Study of Antioxidant Activity with Reduction of Free Radical DPPH and Xanthine Oxidase Inhibitor of The Extract *Ruellia tuberosa* Linn Leaf." *International Research Journal of Pharmacy*, 3 : (2729).
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. 2013. "Riset Kesehatan Dasar". Jakarta: Kemenkes, 306 p.
- Ballard, T. S., Mallikarjunan, P., Zhou, K., & O'Keefe, S. 2010. "Microwave Assisted Extraction Of Phenolic Antioxidant Compounds From Peanut Skins". *Food Chemistry*. 2010. 120(4), 1185–1192.
- Budini, R., D. Tonelli dan S. Girotti. 1980. "Analysis of Softening Enzymes During Cherry Maturation". *J Agric Food Chem*. 28: 1236-1238.
- Chao Z.L. et al. Structure-Activity Relationships of Antioxidant Activity in Vitro About Flavonoids Isolated From (*Pyrethrum tatsienense*). *JICEP* 3(3): 123 – 127. 2014.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A., Meullemiestre, A., & Abert-vian, M. 2016. "Ultrasound Assisted Extraction Of Food And Natural Products. Mechanism, Techniques, Combinations, Protocols". *Ultrasonics-Sonochemistry*. 34, 540– 560.
- Chen Q, Gruber H, Catherine Pakenham C, Ratnayake WM, Kylie A, Scoggan KA. 2009. "Dietary Phytosterols and Phytosterols alter the ex pression of Sterol Regulatory Genes in SHRSP and WKY inbred rats". *Ann Nutr Metab* . 55(4):341-50.
- Dina P. Wahdaningsih, Sri, Isnindar. 2013. "The Test Of Antioxidant Activity From Bawang Mekah Leaves (*Eleutherine American* MERR.) Using DPPH (2,2-Diphenyl-1- Picrylhydrazyl) Method". *Trad Med Journal* Vol. 18(1): 9-16. <https://doi.org/10.22146/tradmedj.7755>
- Egra Saat, Mardhiana, Patriawa Randy, Kartina, Sirait Sudirman, Kuspradin Harlinda. 2019. "Aktivitas Antimikroba Tanaman Paku (*Stenochlaena palustris* dan *Pteridium caudatum*) Terhadap Bakteri (*Ralstonia solanacearum* dan *Streptococcus sobrinus*)". *Jurnal Jamu Indonesia*, 4(1): 28-36
- Handayani R, Rusmita H. 2017. "Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Akar Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd.) terhadap Bakteri *Escherichia coli*". *Jurnal Surya Medika* 2(2):13-26
- Jayanthi. P. dan Lalitha, P. 2011. "Reducing Power of The Solvent Extracts of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms." *International Journal Pharmacy and Pharmaceutical Sci*. 3.(3). pp.126-128.

- Kurniati, Indah Ruth. 2013. "Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Daun Buas- Buas (*Premna Cordifolia* Linn.) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1- Pikrilhidrazil)". *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, vol. 3, no. 1.
- Magfira. 2018. "Analisis Penghambatan Ekstrak Etanol Batang Kembang Bulan (*Tithonia Diversifolia*) Terhadap Reaksi Oksidasi Dari Radikal Bebas Dengan Metode DPPH ABTS Dan FRAP". Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin : Makassar.
- Maharani, D.M., Haidah, S.N., dan Haiyinah. 2013. "Studi Potensi Kalakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd), Sebagai Pangan Fungsional". Jurusan Malang.Budidaya Pertanian. Universitas Lambung Mangkurat. Banjarbaru.
- Manasika, A & Wishanarko, S. B. 2015. "Ekstraksi Pigmen Karotenoid Labu Kabocha Menggunakan Metode Ultrasonik (Kajian Rasio Bahan : Pelarut dan Lama Ekstraksi)". *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol 3 No 3 p. 928-938
- Marliana, S.D., Suryani, V., dan Suyono. 2005. "Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule Jacq. Swartz.*) dalam Ekstrak Etanol." *Biofarmasi*. 3 (1), 26-31.
- Mayes PA. 2003. "Pengangkutan Dan Penyimpanan Lipid, Sintesis Pengangkutan Dan Ekskresi Kolesterol. Dalam : Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, editor. *Biokimia Harper* (Edisi ke-25)." Jakarta: EGC, ; p.254-81.
- Mu'nisa A, Wresdiyati T, Kusumorini N, Manalu W. 2012. "Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Cengkeh". *Veteriner*. 13(3):272-7.
- Nichols JA, Katiyar SK. 2010. "Skin Photoprotection By Natural Polyphenols: Anti-Inflammatory, Antioxidant And DNA Repair Mechanisms". *Arch Dermatol Res* 2010; 302:71-83. DOI 10.1007/s00403-0091001-3.
- Robinson, Trevor. 1995. "Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi." Penerbit ITB. Bandung.
- Sen S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy YSR, De B. 2010. "Free Radicals, Antioxidants, Diseases And Phytomedicines: Current Status And Future Prospect". *Int J Pharm Sci Rev Res*. 3:91-100.
- Shalaby, E. A. 2013. "Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*". 2013. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences* vol.42: 556-564.
- Sondari Dewi, Irawadi Tun Tedja, Setyaningsih Dwi dan Tursiloadi Silvester. 2016. "Studi Awal Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar *Asiaticoside* Dari *Centella Asiatica* (*L*) *Urb*". *Jurnal Sains Materi Indonesia* Vol.17, No.3, hal.124-130.
- Stephanie Clara. 2015. "Karakterisasi Simplisia Dan Skrining Fitokimia Serta Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Herba Kelakai (*Stenochlaena Palustris* (Burm.F.) Bedd.)". Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara : Medan.
- Susanti, Hilda. 2012. "Produksi Protein dan Antosianin Pucuk Kolesom (*Talinum triangulare* (Jacq) Willd) dengan Pemupukan Nitrogen dan Interval Panen." *Jurnal Agrivita* 2012. 7(2): 5-6.
- Widyasanti Asri, Nurlaily Novira, Wulandari Endah. 2008. "Karakteristik Fisikokimia Antosianin Ekstrak Kulit Buah Naga Merah Menggunakan Metode UAE". *Jurnal Ilmiah Rekayasa Pertanian dan Biosistem*, Vol.6, No. 1, Maret 2008.
- World Health Organization. 2010. "Global Status Report On Noncommunicable Diseases". Geneva: WHO; 2011. 176 p.
- Wulansari AN. 2018. "Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium Varingiaefolium*) Sebagai Antioksidan Alami". *REVIEW*, 16:222-230