

Peredaman Radikal Bebas Ekstrak Etanol Daun Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) Dengan Metode Frap (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Vina Farah Fauziah^{a,1,*}, Devika Nurhasanah^{a,2}, Nofran Putra Pratama^{a,3}

^a Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta, Jl. Siliwangi, Ringroad Barat, Sleman, 55293, Indonesia
¹vfarahfauziah@gmail.com*; ²deviikanurhasanah@gmail.com; ³nofranputrapratama@gmail.com

* corresponding author

ABSTRACT

ARTICLE INFO

Background: Antioxidant are chemical compounds that can donate electrons to unpaired free radicals, thereby reducing the effects of free radical oxidation. One of the plants that have antioxidants activity is the rosella plant, for example in the leaves. Rosella leaves contain phytochemical compounds that are useful as antioxidant, namely flavonoids, alkaloids, saponins, tanin.

Objective: Determine the antioxidant activity of the ethanol extract of rosella leaf (*Hibiscus sabdariffa* L) by FRAP method.

Method: Rosella leaf was macerated using 70% ethanol as solvent. Then filtered and thicken using a frying pan on an electric stove over medium heat of approximately 300 watt. Phytochemical screening was carried out, namely flavonoids, alkaloids, saponins, tanin and TLC test to indicate the presence of flavonoid compounds as antioxidants. Quantitative analysis was carried out to determine antioxidant activity with the FRAP method measured using a UV-Vis spectrophotometer.

Result: The antioxidant activity test of the ethanol extract of rosella leaves has FRAP value of 1,749 mmol FeSO₄/mg. Based on statistical analysis T-test, shows that there is a difference between the sample and the standard with a significant value ($p < 0,05$) is 0,001.

Conclusion: The antioxidant activity test on rosella leaves with the FRAP method proved that the ethanol extract of rosella leaves had antioxidant content with a FRAP value of 1,749 mmol FeSO₄/mg.

Keywords: Antioxidant, Rosella Leaves, FRAP

Article history

Received: 3 April 2023

Revised: 4 Mei 2023

Accepted: 12 Mei 2023

Keywords

Antioxidant

Rosella Leaves

FRAP

I. Pendahuluan

Radikal bebas ialah molekul ataupun senyawa yang mengandung satu atau lebih jumlah elektron yang tidak berpasangan [1]. Dalam jumlah yang normal radikal bebas memiliki manfaat kesehatan seperti, memutus bakteri, mengatasi peradangan, dan mengontrol tonus otot polos pembuluh darah serta organ pada tubuh. Sedangkan dalam jumlah yang berlebihan dapat mengakibatkan stres oksidatif atau ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan. Keadaan tersebut dapat mengakibatkan kerusakan oksidatif pada tingkat sel, jaringan, dan organ yang mempercepat terjadinya proses penuaan dan tumbuhnya penyakit [2].

Tubuh memiliki berbagai enzim dan antioksidan untuk memerangi kerusakan akibat stres oksidatif [3]. Antioksidan ialah senyawa kimia yang bisa mendonorkan elektronnya terhadap radikal bebas yang tidak berpasangan, sehingga dapat mengurangi efek oksidasi radikal bebas. Banyak



senyawa dari tumbuhan yang bisa digunakan sebagai antioksidan eksogen alami dan juga terbukti secara klinis efektif sebagai antioksidan [4]. Salah satu tanaman memiliki antioksidan adalah daun rosella [5].

Berdasarkan penelitian Nurnasari *et al* [6] seluruh bagian tanaman rosella mempunyai kandungan fitokimia yang memiliki efek farmakologis. Senyawa fitokimia tersebut yakni kelompok senyawa alkaloid, fenol, tannin, saponin, flavonoid, dan asam organik. Menurut penelitian Wang *et al* [5] daun rosella mengandung senyawa fitokimia yang berguna sebagai antioksidan yaitu asam klorogenat, asam neoklorogenat, asam kriptoklorogenat, rutin, dan *isoquercitrin*. Menurut Windyaswari *et al* [7] bagian akar dan daun rosella berisi senyawa fenolik lebih banyak dibandingkan dengan bagian lainnya. Berdasarkan penelitian daun rosella memiliki aktivitas antioksidan pada metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), DPPH (*2,2-difenil-2-pikrilhidrazil*), dan ABTS (*2,2-azinobis-(3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid)*).

2. Metode

2.1 Alat dan Bahan Penelitian

Alat: grinder, beaker glass (*Iwaki*), erlenmeyer (*Iwaki*), propipet, batang pengaduk, rak tabung reaksi, timbangan analitik (*Ohaus*), pipet tetes, mikropipet, pipet ukur (*Iwaki*), lemari asam, labu ukur (*Iwaki*), cawan porselin, vortex (*Ohaus*), ayakan 40 mesh, sendok spatula, toples kaca, Spektrofotometer UV-Vis *Double Beam* (*Genesys 10S UV-Vis*), wajan, kompor, oven (Memmert type UN-160), bejana, dan lampu UV *Viewing Cabinet* 254 nm dan 366 nm (UvOC-02).

Bahan: daun rosella (*H. sabdariffa* L.), etanol 70%, aquades, Vitamin C, TPTZ (2,4,6-tripyridil-striazine), kertas saring, *blue tip*, *white tip*, ferro sulfat heptahidrat ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), asam klorida pekat (HCl), aluminium klorida, metanol, serbuk magnesium, klorida heksahidrat ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), natrium asetat, asam asetat, plat *silica gel* GF₂₅₄, kloroform, FeCl_3 , kuersetin, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, pereaksi Dragendorff, asam sulfat, dan aluminium foil.

2.2 Pembuatan Sampel

Daun rosella sebanyak ± 3 kg dibersihkan menggunakan air mengalir, kemudian dilakukan perajangan lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C hingga menjadi simplisia kering. Setelah kering (rapuh saat digenggam) kemudian dihaluskan menggunakan grinder. Simplisia yang telah halus diayak dengan ayakan 40 mesh [7].

2.3 Pembuatan Ekstrak Etanol

Serbuk simplisia daun rosella sebanyak 500 g ditimbang lalu dimasukkan pada toples kaca. Maserasi dengan etanol 70% menggunakan perbandingan (1:10). Toples kaca ditutup dan disimpan ditempat yang gelap. Sampel dimaserasi selama 3 hari dan setiap 12 jam sekali lakukan pengadukan. Filtrat disaring lalu diremaserasi residunya satu kali menggunakan etanol 70% sebanyak 2,5 L. Hasil ekstraksi dipematkan untuk mendapatkan ekstrak kental menggunakan kompor listrik, setelah itu dihitung rendemen ekstrak [8].

2.4 Uji Organoleptis dan Skrining Fitokimia

Pengujian organoleptis dilakukan dengan pengamatan secara visual, antara lain bentuk, bau, rasa serta warna [9]. Identifikasi flavonoid dilakukan dengan menimbang sebanyak 0,5 g ekstrak etanol daun rosella ditambahkan dengan HCl pekat sebanyak 1 mL dan 0,05 mg serbuk magnesium, kemudian dikocok. uji positif ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi merah [10].

Identifikasi alkaloid dilakukan dengan menimbang sebanyak 0,5 g ekstrak etanol daun rosella dilarutkan 10 mL H_2SO_4 2N yang sudah dipanaskan, kemudian disaring dan bagi menjadi 3 bagian, dan masukkan 5 tetes kedalam masing-masing tabung reaksi. Kemudian tambahkan reagen Mayer, Wagner, dan Dragendorff tetes demi tetes ke masing-masing tabung. Uji Mayer positif alkaloid apabila terbentuk endapan putih, uji Wagner positif alkaloid apabila terbentuk endapan coklat, dan uji Dragendorff positif alkaloid apabila terbentuk endapan jingga. Jika hasil uji positif 2-3 maka sample mengandung alkaloid.

Identifikasi tanin dilakukan dengan menimbang ekstrak etanol daun rosella sebanyak 0,1 g, dimasukkan dalam tabung reaksi lalu larutkan dalam 5 mL air panas. Ditambahkan larutan FeCl_3 3 tetes. Uji tanin dinyatakan positif jika terbentuk warna kehijauan atau biru tua [12].

Identifikasi saponin dilakukan dengan menimbang 0,1 g sampel ekstrak etanol daun, kemudian tambahkan 10 mL air panas, didiamkan lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Bila membentuk busa setinggi 1-10 cm kemudian tambahkan 2 tetes HCl dan diamkan ± 10 menit, bila busa tidak hilang menunjukkan adanya saponin [12].

2.5 Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Dilakukan penjenjahan bejana dengan cara fase gerak Kloroform: Metanol: Asam asetat (14:2:1) dimasukkan kedalam bejana dan dijenuhkan. Kemudian dimasukkan kertas saring dengan tinggi 18 cm kedalam bejana. Setelah itu ditutup kedap dan didiamkan hingga fase gerak tersebut jenuh. Fase gerak jenuh dilihat dari kertas saring yang terbasahi oleh fase gerak [13].

Pembuatan larutan standar kuersetin 1000 ppm dengan cara menimbang baku standar kuersetin sebanyak 2 mg, lalu dilarutkan dengan etanol p.a sampai dengan 2 mL. Pembuatan larutan uji 100 ppm dengan cara menimbang ekstrak etanol daun rosella sebanyak 0,5 mg, kemudian dilarutkan dalam 5 mL etanol p.a.

Uji Kromatografi Lapis Tipis dilakukan dengan cara Plat silika selebar 10x4 cm, lalu diberi penanda atas dan bawah (1 cm). Kemudian dipanaskan di oven ± 30 menit dengan suhu 110°C . Ditotolkan sampel ekstrak daun rosella dengan konsentrasi 100 ppm dan standar kuersetin dengan konsentrasi 1000 ppm pada garis bawah dengan *white tip*. masukkan dalam bejana yang telah jenuh, plat KLT dibiarkan di dalam bejana hingga eluen sampai pada tanda batas yang sudah ditentukan. Kemudian plat KLT dikeluarkan dari bejana lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan kemudian disinari di bawah lampu ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Kemudian disemprotkan AlCl_3 sebagai penampak bercak dan diamati kembali.

2.6 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode FRAP

Pembuatan larutan Buffer Asetat pH 3,6 dibuat dengan cara natrium Asetat ditimbang sebanyak 3,7 mL dengan asam asetat pekat 46,3 mL dan larutkan aquades pada labu takar 100 mL. Pembuatan larutan TPTZ (*2,4,6-tripyridil-s-triazine*) dibuat dengan menimbang TPTZ sebanyak 31 mg dimasukkan dalam labu takar 10 mL, kemudian ditambahkan HCl 40 mmol/L hingga 10 mL [15].

Pembuatan Larutan $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dibuat dengan cara menimbang $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 0,27 g, kemudian tambahkan aquades pada labu takar hingga 50 mL. Setelah itu, larutkan hingga homogen. Pembuatan reagen FRAP dengan cara dibuat reagen FRAP dengan perbandingan (10:1:1) dicampurkan sebanyak 25 mL buffer asetat, larutan TPTZ sebanyak 2,5 mL dan 2,5 mL larutan $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ kemudian dihomogenkan, tambahkan aquades pada labu takar 100 mL [15].

Pembuatan larutan Standar $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dibuat dengan cara sebanyak 10 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan aquades pada labu takar 10 mL sampai diperoleh konsentrasi sebesar 1000 ppm. Kemudian dilakukan orientasi dalam 5 seri konsentrasi yaitu 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm, 1000 ppm. Pada konsentrasi tersebut didapatkan nilai absorbansi yang tinggi sekitar 1,0, sehingga digunakan konsentrasi 200 ppm, 300 pm, 400 ppm, 500 ppm, 600 ppm. Kemudian dimasukkan dalam labu takar 5 mL dan di tambahkan dengan aquades hingga tanda batas [15].

Penentuan panjang gelombang maksimum dibuat dengan cara larutan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ diambil 1 mL dengan konsentrasi yang paling tinggi 1000 ppm, lalu ditambahkan 3 mL reagen FRAP, kemudian dibaca pada rentang panjang gelombang 588-610 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis [15].

Penentuan *operating time* dibuat dengan cara di ambil larutan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 1 mL dengan konsentrasi yang paling tinggi 1000 ppm, tambahkan 3 mL reagen FRAP, setelah itu, dibaca absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dengan selang waktu 5 menit untuk mendapatkan absorbansi yang stabil [16]

Pembuatan dan pengujian larutan pembanding vitamin C dibuat dengan cara ditimbang Vitamin C 1 mg, dilarutkan dengan etanol dalam labu takar 10 mL hingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Dibuat 5 seri konsentrasi yaitu konsentrasi 30 ppm, 35 ppm, 40 ppm, 45 ppm dan 50 ppm dan tambahkan etanol pada masing-masing larutan hingga tanda batas labu ukur 10 mL. Setelah itu, di ambil 1 mL pada masing-masing konsentrasi dan ditambahkan sebanyak 3 mL reagen FRAP lalu

diamkan sesuai waktu operating time yang didapatkan. Setelah itu, dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang maksimum. Aktivitas antioksidan ditentukan dengan pembacaan absorbansi sebanyak 3 kali dan hasilnya dinyatakan dalam mmol Fe²⁺/mg sampel [17].

Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun rosella dibuat dengan cara ekstrak etanol daun rosella Sebanyak 10 mg, dilarutkan dengan aquades pada labu takar 10 mL sampai diperoleh konsentrasi sebesar 1000 ppm. Dibuat 5 seri konsentrasi yaitu konsentrasi 150 ppm, 175 ppm, 200 ppm, 225 ppm dan 250 ppm. Diambil 1 mL pada masing-masing konsentrasi tersebut dimasukkan kedalam tabung reaksi, tambahkan 3 mL reagen FRAP dan ditambahkan dengan aquades 1 mL. Setelah itu, dibaca absorbansinya dalam panjang gelombang maksimum yang didapatkan dari hasil panjang gelombang maksimum. Aktivitas antioksidan ditentukan dengan pembacaan absorbansi sebanyak 3 kali dan hasilnya dinyatakan dalam mmol Fe²⁺/mg sampel.

3. Hasil dan Diskusi

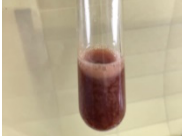

Pada penelitian ini diperoleh nilai rendemen pada ekstrak etanol daun rosella sebesar 19,366 % (g/g) dan sudah memenuhi syarat [18]. Uji organoleptis bertujuan memberikan pengenalan awal ekstrak berupa bentuk, warna, bau dan rasa. Berdasarkan hasil uji organoleptis, ekstrak daun rosella memiliki spesifikasi seperti pada (Tabel 1).

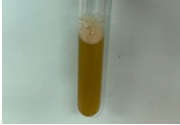

Tabel 1. Hasil Uji Organoleptis Ekstrak Etanol Daun Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L).

Identifikasi	Hasil
Bentuk	Ekstrak Kental
Bau	Aromatik
Warna	Coklat
Rasa	Asam

Tabel 1 menunjukkan hasil uji organoleptis ekstrak etanol daun rosella menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun rosella berwarna coklat, berbentuk ekstrak kental, berbau khas dan rasa asam. Skrining fitokimia yaitu untuk mengidentifikasi adanya suatu kandungan senyawa metabolit sekunder suatu bahan alam. Adapun analisis senyawa kandungan yang diuji adalah flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Berikut hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun rosella, dapat dilihat pada (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L)

Senyawa	Hasil	Keterangan	Gambar
Flavonoid	Merah	Positif	
Alkaloid			
-Mayer	- endapan putih	Positif	
-Wagner	- endapan coklat		
-dragendroff	- endapan jingga		

Senyawa	Hasil	Keterangan	Gambar
Saponin	Terbentuk busa setinggi 2 cm	Positif	
Tanin	Kehijauan	Positif	

Berikut hasil pengujian skrining fitokimia yang dapat dilihat pada (Tabel 2), diketahui bahwa penelitian tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Nurnasari *et al* [6] bahwa pengujian fitokimia ekstrak etanol daun rosella mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin.

Identifikasi senyawa flavonoid menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis. Analisis ini menggunakan fase diam plat silika gel GF₂₅₄ bersifat polar dengan ukuran 10 cm x 4 cm, fase gerak yang digunakan kloroform : metanol : asam asetat (14 : 2 : 1) serta standar pembanding kuersetin. Konsentrasi ekstrak dan standar yang digunakan yaitu sebesar 0,5 mg/5 mL dan 2 mg/ 2 mL. Ekstrak etanol daun rosella dan standar pembanding kuersetin ditotolkan menggunakan *white tip* pada plat silika gel GF₂₅₄. Penotolan sampel dilakukan sebanyak 3 kali agar tidak terlalu pekat. Dimasukkan plat kedalam bejana yang sudah jenuh. bejana jenuh dilihat dari kertas saring yang terbasahi oleh fase gerak. Bercak dapat diamati pada sinar tampak dan dibawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

Uji KLT menggunakan nilai Rf (*Retardation Factor*), hasil nilai Rf kuersetin dan sampel dapat dilihat pada (Tabel 3) dimana diperoleh nilai Rf pada kuersetin sebesar 0,962 cm dan pada ekstrak spot 1 sebesar 0,362 cm, spot 2 0,562 cm dan spot 3 0,975. Nilai Rf telah memenuhi ketentuan yaitu berkisar antara 0,2-0,8 [20]. Berdasarkan hasil pengamatan KLT yang dibandingkan dengan standar kuersetin, diduga ekstrak etanol daun rosella mengandung senyawa kuersetin.

Penentuan aktivitas antioksidan pada penelitian ini terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang untuk mengetahui daerah serapan yang dapat dihasilkan berupa nilai absorbansi. Panjang gelombang yang diukur pada rentang 588 – 610 nm, dan hasilnya 596 nm. Setelah itu, penentuan *operating time* bertujuan untuk menentukan waktu stabilnya reaksi yang ditunjukkan dengan tidak adanya penurunan absorbansi [21], diukur pada interval 5 menit dan didapatkan hasil *operating time* yaitu selama 15 menit.

Tabel 3. Hasil Perhitungan Nilai Rf Ekstrak Etanol Daun Rosella

Spot	Ekstrak sampel	Standar kuersetin
	Rf	Rf
1	0,362	0,962
2	0,562	
3	0,975	

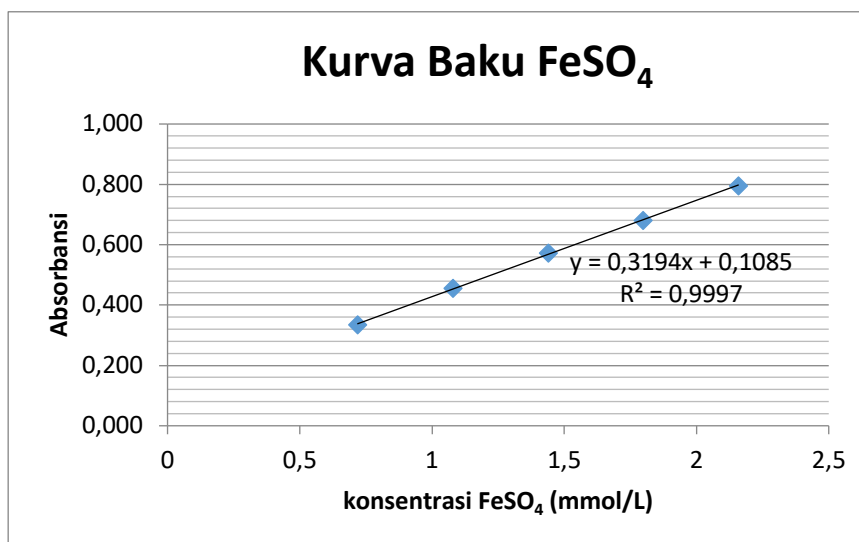
Penelitian ini digunakan FeSO₄.7H₂O sebagai standar baku untuk menentukan kurva baku yang berperan dalam perhitungan kapasitas antioksidan. Larutan standar FeSO₄ dibuat dalam konsentrasi 1000 ppm, kemudian dibuat 5 seri konsentrasi yaitu konsentrasi 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm, dan 600 ppm menghasilkan persamaan $Y = 0,3194 x + 0,1085$ dengan nilai $r = 0,9998$, sehingga data absorbansi sampel dimasukkan ke persamaan tersebut.

Aktivitas antioksidan dalam vitamin C ditentukan dalam konsentrasi 100 ppm. Dibuat 5 seri konsentrasi 30 ppm, 35 ppm, 40 ppm, 45 ppm dan 50 ppm hasilnya diplotkan dalam persamaan regresi linear dari larutan standar FeSO₄.7H₂O. Dilakukan perhitungan FRAP *value*, dimana berdasarkan hasil penentuan aktivitas antioksidan pada vitamin C pada konsentrasi 50 ppm didapat FRAP *value* yang tinggi sebesar 4,261 mmol/mg Vit C. Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode FRAP menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel vitamin

C maka semakin tinggi pula kompleks Fe_{2+} yang terbentuk, hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi kandungan antioksidan yang terkandung dalam sampel [22].

Aktivitas antioksidan dalam ekstrak etanol daun rosella ditentukan dalam konsentrasi 1000 ppm. Dibuat 5 seri konsentrasi 150 ppm, 175 ppm, 200 ppm, 225 ppm dan 250 ppm, hasilnya diplotkan dalam persamaan regresi linear dari larutan standar $FeSO_4 \cdot 7H_2O$. Dilakukan perhitungan FRAP *value* dimana berdasarkan hasil penentuan aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun rosella pada konsentrasi 250 ppm didapat FRAP *value* yang tinggi sebesar 1,749 mmol/mg ekstrak. Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode FRAP menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel ekstrak etanol daun rosella maka semakin tinggi pula kompleks Fe_{2+} yang terbentuk, hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi kandungan antioksidan yang terkandung dalam sampel [22].

Dilakukan uji statistik menggunakan *SPSS Software* dari nilai FRAP *value* yang diperoleh dari ekstrak etanol daun rosella dan Vitamin C. Hasil yang diperoleh pada uji normalitas data dengan menggunakan *Shapiro-Wilk* didapatkan hasil Vitamin C 0,827 dan ekstrak etanol daun rosella 0,842 kedua sampel tersebut menunjukkan data terdistribusi normal dengan hasil nilai signifikan ($p > 0,05$). Untuk uji homogenitas dengan *Levenes Test* hasil yang diperoleh homogen yang ditandai dengan hasil nilai signifikan ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji statistik dengan menggunakan uji *Independent T-test* untuk membandingkan apakah terdapat perbedaan yang signifikan aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun rosella dengan vitamin C. Hasil yang diperoleh 0,001 yang menandakan bahwa aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun rosella dengan vitamin C terdapat perbedaan yang signifikan yang ditandai dengan nilai signifikan ($p < 0,05$).



Gambar 1. Kurva Baku $FeSO_4$

4. Kesimpulan

Ekstrak etanol daun rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) memiliki aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode FRAP dengan hasil FRAP *value* sebesar 1,749 mmol $FeSO_4$ /mg.

5. Ucapan Terimakasih

Tim peneliti mengucapkan terima kasih kepada Prodi Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta yang telah memberikan sarana dan prasarana sehingga memungkinkan tim peneliti untuk menambah wawasan dan pengetahuan melalui penelitian ini. Semoga penelitian ini dapat membawa manfaat bagi kemajuan bangsa Indonesia

6. Referensi

- [1] S. T. Zulaikhah, "The Role of Antioxidant to Prevent Free Radicals in The Body,"

- Sains Med.*, vol. 8, no. 1, p. 39, 2017, doi: 10.26532/sainsmed.v8i1.1012.
- [2] E. Y. Reni, *Pengantar Radikal Bebas Dan Antioksidan*, Edisi 1. Yogyakarta: Deepublish, 2018.
- [3] R. Ahmad, *Introductory Chapter: Basics of Free Radicals and Antioxidants, Free Radicals, Antioxidants and Diseases*. IntechOpen, 2018. doi: 10.5772/intechopen.76689.
- [4] J. Sukweenadhi *et al.*, “Antioxidant activity screening of seven Indonesian herbal extract,” *Biodiversitas*, vol. 21, no. 5, pp. 2062–2067, 2020, doi: 10.13057/biodiv/d210532.
- [5] J. Wang, X. Cao, H. Jiang, Y. Qi, K. L. Chin, and Y. Yue, “Antioxidant activity of leaf extracts from different Hibiscus Sabdariffa accessions and simultaneous determination five major antioxidant compounds by LC-Q-TOF-MS,” *Molecules*, vol. 19, no. 12, pp. 12226–12238, 2014, doi: 10.3390/molecules191221226.
- [6] E. Nurnasari and A. D. Khuluq, “Potensi Diversifikasi Rosela Herbal (Hibiscus sabdariffa L.) untuk Pangan dan Kesehatan,” *Bul. Tanam. Tembakau, Serat Miny. Ind.*, vol. 9, no. 2, p. 82, 2018, doi: 10.21082/btsm.v9n2.2017.82-92.
- [7] A. S. Windyaswari, Y. Karlina, and A. Junita, “Pengaruh Teknik dan Pelarut Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan dari Empat Jenis Ekstrak Daun Rosella (Hibiscus sabdariffa L.),” *Talent. Conf. Ser. Trop. Med.*, vol. 1, no. 3, pp. 014–019, 2018, doi: 10.32734/tm.v1i3.254.
- [8] E. M. Nahor, B. I. Rumagit, H. Y. You, and P. Kesehatan Kemenkes Manado, “Comparison of the Yield of Andong Leaf Ethanol Extract (*Cordyline fruticosa* L.) Using Maceration and Soxhlet Extraction Methods,” *J. Poltekkes Manad.*, vol. 1, no. 1, pp. 40–44, 2020.
- [9] S. Rahmatullah, Y. W. Permadi, and D. S. Utami, “Formulasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Sediaan Hand and Body Lotion Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) dengan Metode DPPH,” *J. Farm. FIK UINAM*, vol. 7, no. 1, p. Hal. 26-33, 2019.
- [10] C. T. Theodora, I. W. G. Gunawan, and I. M. D. Swantara, “ISOLASI DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN FLAVONOID PADA EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN GEDI (*Abelmoschus manihot* L.),” *J. Kim.*, p. 131, 2019, doi: 10.24843/jchem.2019.v13.i02.p02.
- [11] A. Aprilia and S. Putri, “Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Fenolik Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Nyiri Batu (*Xylocarpus moluccensis*),” *Unesa J. Chem.*, vol. 4, no. 1, pp. 1–6, 2015.
- [12] L. Munandika, S. Slamet, and N. Aktifah, “Uji Aktivitas Antioksidan Partisi N-Heksan, Metanol, Uji Aktivitas Antioksidan Partisi N-Heksan, Metanol, Dan Ekstrak Dengan Metode Frap,” pp. 890–898, 2021.
- [13] H. V. Annegowda, M. N. Mordi, S. Ramanathan, M. R. Hamdan, and S. M. Mansor, “Effect of Extraction Techniques on Phenolic Content, Antioxidant and Antimicrobial Activity of *Bauhinia purpurea*: HPTLC Determination of Antioxidants,” *Food Anal. Methods*, vol. 5, no. 2, pp. 226–233, 2012, doi: 10.1007/s12161-011-9228-y.
- [14] H. Asmorowati and N. Y. Lindawati, “Penetapan Kadar Flavonoid Total Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan Metode Spektrofotometri,” *J. Ilm. Farm.*, vol. 15,

- no. 2, pp. 51–63, 2019.
- [15] F. W. Safitri, A. Abdul, and F. Qonitah, “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Adas (*Foeniculum Vulgare* Mill) Dengan Metode DPPH Dan FRAP Antioxidant Activity Test of Fennel Leaves Ethanol Extract (*Foeniculum vulgare* Mill) using DPPH and FRAP Methods,” *J. Pharm. Sci. Med. Res.*, vol. 3, no. 2, pp. 43–54, 2020.
- [16] A. P. Samosir, M. R. J. Runtuwene, and G. Citraningtyas, “UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN TOTAL FLAVONOID PADA EKTRAK ETANOL PINANG YAKI (*Areca vestiaria*),” *J. MIPA Univ Sam Ratulangi*, vol. 1, no. 2, pp. 1–6, 2012.
- [17] F. V. M. Damanis, D. S. Wewengkang, and I. Antasionasti, “UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL ASCIDIAN *Herdmania Momus* DENGAN METODE DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil),” *Pharmacon*, vol. 9, no. 3, p. 464, 2020, doi: 10.35799/pha.9.2020.30033.
- [18] FHI, *Farmakope Herbal Indonesia*, Edisi II. 2017. doi: 10.1201/b12934-13.
- [19] R. L. Vifta and Y. D. Advistasari, “Skринing Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B.),” *Pros. Semin. Nas. Unimus*, vol. 1, pp. 8–14, 2018.
- [20] T. M. Dewi, D. Herawati, and S. Hamdani, “Analisis Kualitatif residu Antibiotika Tetrasiklin pada Madu,” *Farmasi*. p. 7, 2015.
- [21] K. R. Amalia, S. Sumantri, and M. Ulfah, “Perbandingan Metode Spektrofotometri Ultraviolet (Uv) Dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Kckt) Pada Penetapan Kadar Natrium Diklofenak,” *J. Ilmu Farm. dan Farm. Klin.*, no. 2008, pp. 48–57, 2011.
- [22] R. A. Yulianti, “(*Musa paradisiaca* L .) DENGAN METODE FRAP DAN DPPH PADA SEDIAAN HAND AND BODY LOTION ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF COTTON BANANA PEEL EXTRACT (*Musa paradisiaca* L .) USING THE FRAP METHOD AND DPPH IN HAND AND BODY LOTION,” *Skripsi*, vol. 17, no. 2, pp. 86–92, 2021, doi: 10.37160/bmi.v17i1.743.

