

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Jeruk Kingkit (*Triphasia trifolia* Dc) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

Antioxidant Activity Test of Ethanol Extract of Kingkit Citrus (Triphasia trifolia Dc) using the DPPH Method (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

¹Ni Putu Widayanti, ¹Ayu Saka Laksmi W

¹Program Studi Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Bali
Internasional, Denpasar, Bali.

*Email: wida.yantisp@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan golongan metabolit sekunder dan mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol buah jeruk kingkit (*Triphasia trifolia* Dc) secara *in vitro*. Buah jeruk kingkit diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol. Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan variasi konsentrasi 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm dan 100 ppm. Ekstrak etanol buah jeruk kingkit mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, polifenol, tanin dan terpenoid berdasarkan hasil uji fitokimia. Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan ekstrak etanol buah jeruk kingkit memiliki aktivitas yang kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 90,94 ppm.

Kata kunci : antioksidan, fitokimia, DPPH, *Triphasia trifolia* Dc

ABSTRACT

This study aims to define a class of secondary metabolite compounds and determine the antioxidant activity of jeruk kingkit's fruit ethanol extract (*Triphasia trifolia* Dc) by *in vitro* test. Jeruk kingkit's fruit extracted by maceration method using ethanol. Phytochemical screening tests is conducted to identify a class of secondary metabolite compounds. Antioxidant activity test using DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) with various concentration of 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm and 100 ppm. Jeruk kingkit's fruit ethanol extract contain secondary metabolites are alkaloids, flavonoids, polyphenols, tannins and terpenoids based on phytochemical test results. The test results demonstrate the antioxidant activity of jeruk kingkit's fruit ethanol extract is strong as an antioxidant with IC₅₀ value of 90,94 ppm.

Key words: antioxidant, phytochemical, DPPH, *Triphasia trifolia* Dc

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman sumber daya alam hayati karena didukung oleh kondisi iklim tropis serta kondisi geografis. Berbagai tanaman dieksplorasi untuk keperluan pangan, sandang dan obat-obatan untuk memenuhi kesejahteraan masyarakat. Berdasarkan data WHO (World Health Organization) tahun 2015, sekitar 3,4 milyar penduduk di negara berkembang bergantung pada pengobatan tradisional yang berasal dari tanaman (Sarker,

2009). Bahkan sekitar 20.000 spesies tanaman yang bersal dari hutan hujan tropis Indonesia banyak digunakan sebagai bahan obat-obatan alami oleh penduduk di seluruh Indonesia (Kementrian Lingkungan Hidup, 2010).

Belakangan ini muncul ketertarikan baru terhadap obat-obatan herbal. Budaya "Back To Nature" ini berlawanan dengan ilmu pengobatan modern, sehingga para peneliti banyak yang tertarik untuk mengembangkan penelitian di bidang kimia bahan alam untuk mengetahui potensi dari berbagai jenis

tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat herbal oleh masyarakat. Berbagai daerah di Indonesia memiliki keanekaragaman tanaman hutan yang berpotensi sebagai tanaman obat. Salah satu provinsi di Indonesia yang memiliki kekayaan hayati yang cukup beragam adalah Bali, dimana banyak penduduk pada zaman dahulu yang memanfaatkan obat-obat alami yang berasal dari tanaman yang hingga sekarang masih dipercaya memiliki khasiat menyembuhkan suatu penyakit. Salah satu tanaman yang tumbuh di Bali yang belum banyak dikenal masyarakat adalah jeruk kingkit (*Triphasia trifolia* Dc). Jenis tanaman ini juga memiliki nama yang cukup beragam di beberapa daerah lainnya. Pada kawasan lintas dunia seperti di Inggris, tanaman jeruk ini dikenal dengan sebutan Limeberry, sedangkan di Thailand dikenal dengan sebutan limonsito dan di Indonesia dikenal dengan sebutan jeruk kingkit (Hardisto & Tjandra, 2019).

Triphasia trifolia Dc merupakan salah satu jenis tanaman semak belukar atau pohon kecil dengan tinggi batang kurang dari 5 cm, berbentuk tegak silindris dan terdapat duri dipermukaan batang. Daun tanaman ini berupa daun majemuk. Buah jeruk Kingkit berbentuk bulat dengan kulit buah berwarna merah, permukaan buah halus dan memiliki kulit buah yang tipis (Zufahmi & Nurlaila, 2018). Daging buah dari tanaman ini berupa cairan, berwarna kuning dan rasanya masam. Tanaman ini tergolong dalam tanaman semak kecil yang menghasilkan beberapa buah saja (Hardisto & Tjandra, 2019).

Triphasia trifolia Dc memiliki banyak khasiat yang dikenal oleh masyarakat diantaranya sebagai obat batuk dan diare. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa minyak atsiri dari daun jeruk kingkit berpotensi sebagai antibakteri dan menghambat aktivitas *Escherichia coli*. Tanaman ini juga dimanfaatkan untuk kecantikan yaitu untuk merawat kuku. Selain berpotensi sebagai obat dan kecantikan, tanaman ini juga dimanfaatkan sebagai tanaman hias seperti bonsai (Hardisto & Tjandra, 2019).

Melihat manfaat dari tanaman jeruk kingkit yang belum banyak dikenal oleh masyarakat maka diperkirakan tanaman tersebut memiliki beragam kandungan senyawa metabolit sekunder yang berpotensi dalam pengobatan penyakit. Aktivitas biologi

tanaman jeruk kingkit juga belum banyak diketahui oleh masyarakat secara luas. Salah satu aktivitas biologi yang diduga terdapat pada tanaman jeruk kingkit adalah sebagai antioksidan. Antioksidan memiliki peranan yang penting bagi tubuh manusia dalam menangkal serangan radikal bebas atau kerusakan yang terjadi akibat radikal bebas. Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan penelitian lebih dalam mengenai skrining fitokimia dari ekstrak buah jeruk kingkit meliputi uji fenol, flavonoid, terpenoid, saponin dan tanin sebagai uji pendahuluan yang kemudian dilanjutkan dengan uji aktivitas antioksidan secara *in vitro* dengan metode peredaman radikal bebas menggunakan DPPH (Winarsi, 2007).

METODE PENELITIAN

Preparasi Sampel

Sampel buah jeruk kingkit (*Triphasia trifolia* Dc) dicuci dengan bersih kemudian dihaluskan dengan blender.

Proses Ekstraksi

Sebanyak 1 kg sampel buah jeruk kingkit (*Triphasia trifolia* Dc) yang sudah halus ditimbang kemudian dimaserasi dengan etanol 96% pada suhu kamar selama 24 jam kemudian disaring. Ampas dari sampel dimaserasi kembali dengan etanol 96% pada suhu kamar selama 24 jam, lalu disaring. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan dengan vacuum rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental. Selanjutnya ekstrak dipekatkan dengan diinkubasi pada suhu 30°C sampai pelarut habis menguap. Hasil rendemen dari ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang dengan neraca analitik.

Skrining Fitokimia

1. Uji Fenol

Sebanyak 1 ml ekstrak sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi untuk dilakukan pengujian fenolik dengan cara ekstrak ditambahkan pereaksi FeCl_3 1%, jika terjadi warna hitam menunjukkan adanya senyawa fenolik.

2. Uji Flavonoid

a) Pereaksi Wilstater

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan beberapa tetes HCl pekat kemudian

ditambah sedikit serbuk magnesium. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning.

- b) Pereaksi Bate Smite-Metcalf
Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan beberapa tetes HCl pekat kemudian dipanaskan. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah.

3. Uji Alkaloid

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan 2 tetes larutan pereaksi Mayer, reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan menggumpal berwarna putih atau kuning.

4. Uji Saponin

Sampel dididihkan terlebih dahulu dengan 20 ml air di dalam penangas air. Filtrat dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Terbentuknya busa yang stabil menunjukkan positif terdapat saponin.

5. Uji Steroid/Triterpenoid

Sampel ditambahkan dengan asetat anhidrat dan H₂SO₄ pekat serta asetat anhidrit. Perubahan warna hijau-biru menunjukkan positif adanya steroid. Jika perubahan warna yang terbentuk merah-ungu menunjukkan positif adanya triterpenoid.

6. Uji Tanin

Sampel dididihkan dengan 20 ml air kemudian disaring. Selanjutnya filtrat ditambahkan beberapa tetes FeCl₃ 1%. Terbentuknya warna coklat kehijauan atau biru kehitaman menunjukkan positif adanya tanin.

Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol buah jeruk kingkit menggunakan standar kuersetin sebagai pembanding. Uji aktivitas antioksidan secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan metode penangkapan radikal DPPH (Kresnawaty dan Zainuddin, 2009).

Larutan sampel ekstrak etanol buah jeruk kingkit dibuat dengan variasi konsentrasi 10, 25, 50, 75 dan 100 ppm. Selanjutnya diambil dari masing-masing sampel sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan 3 ml larutan DPPH 0,0040% dalam metanol. Campuran

tersebut selanjutnya dikocok dan disimpan dalam ruang gelap selama 30 menit agar reaksi dapat berlangsung dengan sempurna, selanjutnya absorbansinya diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm. Pengujian dilakukan dengan pengulangan 3 kali dan absorbansi yang diperoleh selanjutnya dihitung % peredamannya dengan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Selanjutnya ditentukan kurva regresi linear antara konsentrasi sampel dan persen penghambatan rata-rata. Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menghitung nilai konsentrasi penghambatan (IC₅₀). Nilai IC₅₀ diperoleh dari persamaan $y = ax + b$ pada kurva regresi linear hubungan konsentrasi (x) dan persentase peredaman (y). Hasil IC₅₀ dari ekstrak etanol buah jeruk kingkit dikatakan aktif sebagai antioksidan jika memiliki IC₅₀ < 200µg/ml (Kresnawaty dan Zainuddin, 2009).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jeruk kingkit memiliki berbagai macam khasiat salah satunya sebagai senyawa antioksidan. Untuk memperkuat potensi antioksidan yang terkandung pada sampel maka diawali dengan uji skrining fitokimia untuk mengidentifikasi jenis senyawa aktif yang terkandung di dalamnya. Penelitian jeruk kingkit ini menggunakan metode maserasi, uji skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.

Buah jeruk kingkit yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah yang masih segar, sudah matang dan berwarna merah. Sampel dihaluskan dengan blender agar luas permukaan lebih besar sehingga pada saat proses maserasi seluruh pelarut dapat diserap oleh sampel.

Proses ekstraksi buah jeruk kingkit menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Proses ekstraksi dilakukan dengan cara merendam sampel selama 24 jam yang sesekali disertai dengan proses pengadukan secara manual dengan tujuan untuk memaksimalkan hasil ekstraksi karena proses ekstraksi dapat berlangsung secara optimal dengan tersedianya waktu kontak antara sampel dengan pelarut. Maserasi buah jeruk kingkit dilakukan sampai diperoleh filtrat berwarna bening. Filtrasi hasil penyaringan

pertama berwarna kuning kecoklatan sedangkan filtrate yang terakhir berwarna bening. Filtrat hasil ekstraksi dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum*.

Uji skrining fitokimia dilakukan setelah diperoleh ekstrak kental etanol. Uji

fitokimia merupakan uji kualitatif yang digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam sampel. Golongan senyawa aktif yang diuji berupa alkaloid, flavonoid, steroid, triterpen, tannin dan saponin (hasil disajikan pada Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Buah Jeruk Kingkit

Metabolit Sekunder	Hasil	Keterangan
Alkaloid	+	Terbentuk endapan putih
Flavonoid	+	Terbentuk warna kuning
Saponin	-	Tidak terbentuk busa
Polifenol	+	Terbentuk warna hijau kecoklatan
Tanin	+	Terbentuk warna hijau kehitaman
Steroid	-	Terbentuk warna coklat
Terpenoid	+	Terbentuk warna coklat kemerahan

Keterangan: (-): negative; (+): positif

Prinsip yang digunakan dalam uji alkaloid adalah reaksi pengendapan yang terjadi karena adanya penggantian logam. Ion logam dengan atom hidrogen yang memiliki pasangan elektron bebas dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat. Reaksi positif alkaloid pada uji Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih yang merupakan senyawa kompleks kalium-alkaloid dari hasil reaksi antara senyawa nitrogen pada alkaloid dengan ion K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II)/pereaksi Mayer. Kompleks yang terbentuk dari kalium alkaloid selanjutnya mengendap (McMurry dan Fay, 2004).

Senyawa-senyawa fenol yang memiliki gugus hidroksi ($-OH$) yang terikat pada karbon cincin aromatik diantaranya flavonoid, fenolik dan tannin. Potensi antioksidan yang dimiliki oleh flavonoid disebabkan karena struktur molekul dan posisi dari gugus hidroksilnya. Ekstrak etanol buah jeruk kingkit positif mengandung flavonoid saat direaksikan dengan pereaksi Willstater yang menunjukkan terbentuknya perubahan warna kuning. Hasil positif diperkuat dengan terbentuknya perubahan warna menjadi coklat saat direaksikan dengan pereaksi Bate Smith-Metcalf. Reaksi tersebut terjadi dikarenakan flavonoid memiliki cincin benzene yang terdiri dari gugus hidroksi (Rajanandh and Kavitha, 2010).

Hasil positif juga ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna hijau kecoklatan pada sampel saat direaksikan

dengan $FeCl_3$ yang menandakan adanya senyawa fenolik. Berdasarkan penelitian sebelumnya, senyawa fenolik berpotensi sebagai penangkal radikal oksigen yang baik. Hal tersebut dikarenakan potensial reduksi elektron dari radikal fenolik lebih rendah dari pada potensial reduksi elektron dari radikal oksigen (Bors *et al.*, 1990). Senyawa fenolik merupakan senyawa aktif yang paling banyak terkandung dalam tumbuhan dan memiliki kemampuan sebagai antioksidan untuk mencegah berbagai penyakit diantaranya jantung, mengurangi peradangan, menurunkan kejadian kanker, diabetes dan mengurangi tingkat mutagenesis pada sel (Khoddami *et al.*, 2013).

Pengujian tannin dilakukan dengan mereaksikan sampel dengan reagen $FeCl_3$. Selanjutnya salah satu gugus hidroksil yang terdapat pada tannin bereaksi dengan $FeCl_3$. $FeCl_3$ berfungsi menghidrolisis senyawa golongan tannin sehingga menghasilkan perubahan warna menjadi biru kehitaman sedangkan tannin terkondensasi menghasilkan warna hijau kehitaman (Sangi *et al.*, 2008).

Ekstrak etanol buah jeruk kingkit memberikan hasil yang berbeda terhadap uji terpenoid dan steroid. Hasil menunjukkan bahwa sampel negatif steroid dan positif terpenoid dengan terbentuknya cincin coklat pada batas antara H_2SO_4 dan kloroform. Di samping itu, ketika dilakukan penambahan 2 mL H_2SO_4 , terjadi perubahan warna dari hijau menjadi hijau pekat. Perubahan warna yang terjadi disebabkan oleh adanya oksidasi pada

golongan senyawa terpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi. Pelepasan H₂O dan penggabungan karbokation menyebabkan adisi elektrofilik yang selanjutnya diikuti dengan pelepasan nitrogen. Selanjutnya gugus hidrogen beserta elektronnya dilepas dan mengalami perpanjangan konjugasi yang memperlihatkan adanya cincin coklat (Siadi, 2012).

Penentuan aktivitas antioksidan secara *in vitro* pada ekstrak etanol buah jeruk kingkit dalam penelitian ini dilakukan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Inhibition concentration* (IC₅₀) merupakan salah satu parameter yang dapat digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan. IC₅₀ adalah konsentrasi suatu senyawa antioksidan yang mampu memberikan persen peredaman sebesar 50%. Jika suatu senyawa memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, maka senyawa tersebut akan memiliki nilai IC₅₀ yang rendah dan sebaliknya (Andayani, 2008). Metode DPPH dipilih dalam penelitian ini sebagai uji *in vitro* antioksidan yang melibatkan radikal bebas nitrogen. Antioksidan akan bereaksi dengan radikal bebas DPPH dengan mendonorkan atom hidrogennya untuk melengkapi kekurangan elektron dari radikal tersebut sehingga membentuk DPPH-H (1,1-difenil-2-pikrilhidrazilin). Selain itu, akan dihasilkan juga

radikal antioksidan yang sifatnya lebih stabil (Prakash, 2001). Reaksi peredaman radikal bebas ini ditandai dengan berkurangnya intensitas warna ungu dari DPPH menjadi warna kuning ketika direaksikan dengan larutan sampel yang mengandung senyawa golongan flavonoid yang berperan sebagai antioksidan. Keunggulan dari metode ini yaitu pengerjaannya cepat, teliti, sangat mudah diaplikasikan, sangat baik digunakan dalam pelarut organik (terutama alkohol) yang memiliki sensitivitas yang tinggi dalam menguji antioksidan (Apak *et al.*, 2007).

Pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan berbagai konsentrasi yaitu 10, 25, 50, 75 dan 100 ppm. Pengujian aktivitas antioksidan pada sampel diukur pada panjang gelombang 517 nm (Dewi, 2014). Pada proses pengukuran aktivitas antioksidan terjadi perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning ketika ditambahkan dengan sampel. Perubahan warna mengakibatkan penurunan nilai absorbansi radikal bebas dari DPPH, sehingga semakin rendah nilai absorbansi maka semakin tinggi antioksidannya. DPPH yang bereaksi dengan senyawa antioksidan akan menghasilkan bentuk DPPH tereduksi dan radikal antioksidan (Sulandi, 2014). Adapun hasil pengukuran % inhibisi dan IC₅₀ ekstrak etanol buah jeruk kingkit terhadap radikal bebas DPPH disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Persen Inhibisi dan IC₅₀ Ekstrak Etanol Buah Jeruk Kingkit

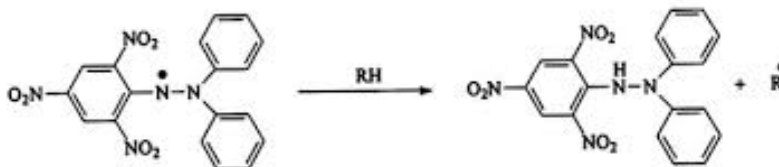
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Regresi Linear
0	0,625	0,00	y = 0,5342x + 1,418 R ² = 0,9977 IC ₅₀ = 90,94 ppm
10	0,579	7,36	
25	0,518	15,11	
50	0,443	29,03	
75	0,361	42,18	
100	0,289	53,72	

Nilai IC₅₀ memiliki hubungan yang berbanding terbalik dengan kemampuan antioksidan suatu senyawa. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka kemampuan suatu senyawa berpotensi sebagai antioksidan menjadi semakin kuat. Hasil analisis IC₅₀ yang diperoleh pada penelitian ini adalah 90,94 ppm. Hal ini menunjukkan keberadaan senyawa aktif di dalam ekstrak etanol buah jeruk kingkit yang bersifat antagonis dan memiliki

kemampuan meredam radikal DPPH (Asih *et al.*, 2015). Berdasarkan penggolongan kekuatan aktivitas antioksidan, ekstrak etanol buah jeruk kingkit memiliki aktivitas antioksidan kuat karena diperoleh nilai IC₅₀ < 100 ppm. Hal ini diduga akibat terjadinya sinergisme antar senyawa-senyawa antioksidan dalam ekstrak sehingga aktivitas antioksidan tetap stabil dan meningkat secara signifikan. Aktivitas antioksidan terjadi karena

bereaksinya molekul difenil pikrilhidrazil dengan atom hydrogen dari antioksidan sehingga terbentuk senyawa difenil pikrilhidrazin, yang ditunjukkan dengan

terjadinya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning. Mekanisme reaksi antara antioksidan dengan DPPH disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Reaksi antara radikal bebas DPPH dengan antioksidan

Menurut Halliwell dan Gutteridge (2000), peranan antioksidan flavonoid dalam tubuh mampu menekan pembentukan radikal bebas atau ROS dengan cara menghambat enzim yang terlibat dalam produksi radikal bebas anion superoksida (seperti xantin oksidase dan protein kinase), pengkelatan ion logam (*metal ion chelating*) yang terlibat dalam pembentukan radikal bebas dan meredam radikal bebas (*radicals scavengers*).

KESIMPULAN

Ekstrak etanol buah jeruk kingkit memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, terpenoid, polifenol, tanin dan flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan dari ekstrak tersebut tergolong kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 90,94 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Andayani, R., Lisawati, Y., Maimunah. (2008). Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen Pada Buah Tomat (*Solanum Lycopersicum L.*). Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi. 13(1): 124-131.
- Apak, R., Guclu, K., Demirata, B., Ozyurek, M., Celik, S.E., Bekasoglu, B., Berker, K.I. and Ozyur, D. (2007). *Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assay Applied to Phenolic Compounds with The CUPPRAC Assay. Molecules*. 12: 1496-1574.
- Asih, I.A.R.A., Sudiarta, I.W. & Suci, A.A.W. (2015). Aktivitas Antioksidan Senyawa Golongan Flavonoid Ekstrak Etanol Daging Buah Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav.). *Jurnal Kimia*. 9(1): 35-40.
- Bors, W., Heller, W., Michel, C. & Saran, M. (1990). *Flavonoids as Antioxidants: Determination of Radical-Scavenging Efficiencies. Methods Enzymol.*, 186, 343-355
- Dewi, N.W.O.A.C. (2014). Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Terong Belanda (*Solanum betaceum*, syn) dalam Menghambat Reaksi Peroksidasi Lemak pada Plasma Darah Tikus Wista. *Journal of Applied Chemistry*. 2(1): 7-16.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. (2000). *Free Radical in Biology Medicine*. Ed. 4th. New York: Oxford University Press.
- Hardisto, K. & Tjandra, O. (2019). Uji AKTivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Kingkit (*Triphasia trifoliata* DC) terhadap *Escherichia coli* secara *In Vitro*. *Tarumanegara Medical Journal*. 2(1): 88-91.
- Kementerian Lingkungan Hidup. (2010). *Panduan Adiwiyata*. Jakarta. KNLH.
- Khoddami A., Wilkes M.A., Roberts T.H. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*. 18: 2328-2375.
- Kresnawaty I. & Zainuddin A. (2009). Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri dari Derivat Metil Ekstrak Etanol Daun Gambir (*Uncaria gambir*), *Jurnal Littri* 15(4), Hlm. 145 – 151.
- McMurry, J. dan Fay, R.C. (2004). *McMurry fay chemistry*, 4th edition. Belmont: Pearson Education Internasional.
- Prakash, A. (2001). *Antioxidant Activity Medallion Laboratories: Analithical Progress. A Publication of Medallion Labs.*

- 19(2): 1-4.
- Rajanandh M.G., Kavitha J. (2010). *Quantitative Estimation of β -Sitosterol, Total Phenolic and Flavonoid Compounds in the Leaves of Moringa oleifera*. *International Journal of PharmTech Research*. 2(2): 1409-1414.
- Sangi, M., Runtuwene, M.R.J., Simbala, H.E.I., Makang, V.M.A. (2008). Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chem. Prog.* 1(1): 47-53.
- Sarker, S. D., Nahar, L. (2009). Kimia Untuk Mahasiswa Farmasi Bahan Kimia Organik, Alam Dan Umum. Penerjemah: Abdul Rohman. Pustaka Pelajar. Yogyakarta. Hal. 365-366
- Siadi, K. (2012). Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) sebagai Biopestisida yang Efektif dengan Penambahan Larutan NaCl. *Jurnal MIPA*. 35(1): 77-83.
- Sulandi, A. (2014). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kloroform Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Jurnal Kedokteran*. 1(1): 24-31.
- WHO. (2015). *World Health Statistic*. World Health Organization.
- Winarsi, H. (2007). Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Yogyakarta: Kanisius. Hal. 189-90.