

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN ARBENAN (*Duchesnea indica* (Jacks.) Focke) DENGAN METODE DPPH

Nuraziza¹, Seniwati², Risda Waris¹

¹Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia, Makassar

²Fakultas Matematika Universitas Hasanuddin Makassar

Email: seniwatid@gmail.com

ABSTRACT

Arbenan (*Duchesnea indica* (Jacks.) Focke) is a plant belonging to Rosaceae family which server as an antioxidant, flavonoids. This research aimed to determine the antioxidant activity of ethanol extract of arbenan leaves using DPPH. The leaves were extracted using maceration method with a sample size of 300 gs dissolved using ethanol 70%, then obtained the viscous extract of 32,49 gs. The arrest of free radicals for each tested sample under the inhibition of DPPH. The tests were conducted at the 4 concentration series of 10, 20, 30, and 40 ppm by using methanol p.a by the addition of 0,5 mL with 3,5 mL DPPH of 30 ppm. Antioxidant activity absorbance was measured by a spectrophotometer at the wavelength of 515 nm and IC_{50} value was calculated based on the absorbance data. The calculations showed that the Arbenan leaves have a very strong antioxidant activity with IC_{50} value of 30,20 $\mu\text{g/mL}$.

Key words : Antioxidant, Ethanol extract of arbenan leaves *Dunchesnea indica* (Jacks) Focke, DPPH.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan yang kaya akan berbagai bahan alam, salah satu sumber daya alam adalah tumbuh-tumbuhan. Dari bermacam-macam tumbuhan banyak di antaranya berkhasiat untuk obat. Jutaan penduduk di dunia menggunakan obat tradisional karena mereka memercayainya dan kemudahan untuk mengakses tujuan terapeutik. Banyak obat-obatan modern dibuat dari tumbuhan obat, dan peracikannya dilakukan secara

laboratoris klinis (telah diketahui dosis terapeutik melalui penelitian)¹.

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah tumbuhan (*Duchesnea indica* (Jacks) Focke yang dikenal dengan arbenan. Masyarakat memanfaatkan tumbuhan ini sebagai penurun panas, antiinfeksi dan stimulan². Selain itu arbenan juga digunakan untuk pengobatan kanker, antiradang, menghentikan pendarahan, menghancurkan darah beku, dan mengurangi pembengkakan³.

Seluruh bagian tanaman arbenan mengandung saponin, flavanoid, dan tanin². Flavanoid merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan yang disebabkan adanya gugus hidroksi pada struktur molekulnya sehingga disebut bioflavonoid. Begitu juga dengan beberapa tanin terbukti mempunyai aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor dan menghambat enzim seperti *reverse transkriptase* dan *DNA topoisomerase*. Sedangkan beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba⁴.

Golongan senyawa flavanoid dapat diekstraksi dengan baik menggunakan etanol 70%⁵. Keuntungan penggunaan pelarut etanol 70 % adalah tidak beracun dan tidak berbahaya, digunakan etanol karena antioksidan yang hendak diekstrak diharapkan dapat diaplikasikan pada bahan makanan.

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghentikan reaksi propagasi radikal bebas, baik yang berasal dari produk samping metabolisme yang terjadi di dalam tubuh maupun yang berasal dari lingkungan seperti asap rokok, polusi udara, obat-obatan tertentu, sinar ultraviolet, dan radiasi⁶. Jumlah radikal bebas yang terus meningkat dalam

tubuh dapat mengakibatkan terjadinya stres oksidatif sel. Jika hal ini terus menerus terjadi maka dapat memicu munculnya penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes, peradangan dan kardiovaskuler⁷.

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun arbenan [*Duchesnea indica* (Jacks.) Focke] dengan menggunakan metode DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil). Metode ini sering digunakan untuk mendeteksi kemampuan antiradikal suatu senyawa karena hasilnya terbukti akurat, reliabel, relatif cepat dan praktis. Metode penangkapan radikal DPPH memiliki kelebihan antara lain pereaksi tidak selektif sehingga senyawa dengan gugus fungsi dari antioksidan lemah pun dapat diidentifikasi dan waktu stabil setelah terjadi reaksi cukup memadai untuk di analisis⁸. Metode DPPH dapat digunakan pada pelarut organik berair maupun nonpolar, maka antioksidan hidrofilik maupun lipofilik dapat di uji aktifitasnya.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah blender, batang pengaduk, seperangkat alat maserasi,

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun Arbenan (Duchesnea indica (Jacks.) Focke) dengan metode DPPH

toples kaca, cawan porselin, gelas kimia 5 mL dan 100 ml (pirex[®]), labu tentukur 5 mL; 10 mL; 50 mL; 100 mL (pirex[®]), lampu UV254 dan UV366, pipet volume 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL, dan 20 mL, rotary vacuum evaporator (ika[®] RV 10 basic), spektrofotometer ultraviolet visebel (simadzu UV 1800), tabung reaksi, timbangan analitik (ohaus) dan vortex.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun Arbenan [*Duchesnea indica* (Jacks.) Focke], aquadest, DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl), kuersetin, etanol 70 %, HCl, NaOH, FeCl₃, asam sulfat, dragendrof, kertas saring whattman, aluminium foil, lempeng KLT, metanol p.a, n-heksan dan etil asetat.

Prosedur Penelitian

Pengolahan Sampel

Sampel daun arbenan [*Duchesnea indica* (Jacks.) focke] yang telah dikumpulkan dibersihkan dari kotoran yang melekat pada daun menggunakan air mengalir lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah kering sampel kemudian dihaluskan.

Pembuatan Ekstrak Sampel

Serbuk daun arbenan ditimbang sebanyak 300 gram dimasukkan dalam wadah maserasi kemudian

ditambahkan pelarut etanol 70 % sebanyak 2700 mL sampai sampel terendam, kemudian dibiarkan selama 3-4 hari sambil diaduk berulang-ulang, selanjutnya dilakukan penyaringan dan diperoleh residu dan ekstrak etanol cair. Selanjutnya, ekstrak etanol cair yang telah diperoleh diuapkan dengan menggunakan alat *Rotary Vacuum Evaporator* sehingga diperoleh ekstrak etanol kental.

Identifikasi kandungan kimia

Identifikasi Flavanoid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dilarutkan dengan 2 mL etanol 70 % dan ditambahkan 3 tetes larutan NaOH. Terjadinya perubahan intensitas warna kuning menjadi tidak berwarna pada penambahan asam sulfat mengindikasikan adanya senyawa flavanoid⁹.

Identifikasi Fenol

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dilarutkan dengan 2 mL etanol 70 % dan ditambahkan 3 tetes larutan FeCl₃. Terbentuknya warna hitam kebiruan mengindikasikan adanya senyawa fenol⁹.

Uji aktivitas antioksidan secara kualitatif dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak etanol daun Arbenan ditotolkan pada lempeng KLT, kemudian dielusi dengan

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun Arbenan (Duchesnea indica (Jacks.) Focke) dengan metode DPPH

menggunakan eluen n-heksan : etil asetat (5:5), spot noda yang terelusi diamati pada beberapa penampak bercak yaitu sinar UV254 nm dan UV366 nm. Selanjutnya lempeng KLT disemprot dengan menggunakan DPPH dan diamati hingga terjadi perubahan warna dari ungu ke kuning, yang menunjukkan ekstrak tersebut memiliki aktivitas antioksidan.

Uji Aktivitas Antioksidan secara kuantitatif dengan metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol daun Arbenan [*Duchesnea indica* (Jacks.) Focke] dilakukan berdasarkan prosedur¹⁰ dengan beberapa modifikasi.

Pembuatan larutan DPPH

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 10 mg dilarutkan dengan 10 mL metanol p.a dalam labu tentukur untuk memperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 1000 ppm. Kemudian dipipet 3 mL lalu dicukupkan volumenya hingga 100 mL untuk memperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 30 ppm.

Pengukuran daya antioksidan larutan blanko

Larutan DPPH 30 ppm dipipet 4 mL, kemudian larutan ini dibiarkan selama 30 menit pada suhu 37 °C pada ruangan gelap, kemudian diukur absorbansinya pada panjang

gelombang 515 nm dengan menggunakan spektrofotometri UV-VIS.

Pengukuran daya antioksidan daun arbenan [*Duchesnea indica* (Jacks.) Focke]

Larutan sampel 1000 ppm dibuat dengan melarutkan 10 mg ekstrak daun arbenan [*Duchesnea indica* (Jacks.) Focke] dengan metanol p.a hingga 10 mL dalam labu tentukur. Dari larutan stok kemudian dipipet 1 mL lalu dicukupkan volumenya hingga 10 mL dalam labu tentukur untuk memperoleh larutan stok dengan konsentrasi 100 ppm. Kemudian dilakukan pengenceran dengan seri konsentrasi 10, 20, 30, dan 40 ppm, kemudian untuk konsentrasi 10 ppm dipipet 0,5 mL dari larutan stok, konsentrasi 20 ppm dipipet 1 mL, konsentrasi 30 ppm dipipet 1,5 mL, dan konsentrasi 40 ppm dipipet 2 mL kemudian masing-masing dicukupkan volumenya dengan metanol p.a hingga 5 mL. Seri konsentarsi yang telah dibuat pengenceran kemudian akan dipipet 0,5 mL dimasukkan dalam tabung reaksi dan masing-masing konsentrasi akan ditambahkan dengan larutan DPPH 30 ppm sebanyak 3,5 mL. Kemudian campuran tersebut akan dihomogenkan dengan menggunakan alat vortex yang

bertujuan untuk mencampurkan kedua larutan tersebut, kemudian diinkubasi pada suhu kamar 37 °C selama 30 menit, dan akan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm.

Pengukuran daya antioksidan sampel pembanding kuersetin

Larutan standar kuersetin 1000 ppm dibuat dengan melarutkan 10 mg kuersetin dengan metanol p.a hingga 10 mL dalam labu tentukur. Dari larutan stok, kemudian dipipet 1 mL lalu dicukupkan volumenya hingga 10 mL dalam labu tentukur untuk memperoleh larutan stok dengan konsentrasi 100 ppm. Kemudian dilakukan pengenceran dengan seri konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, dan 5 ppm dengan cara dipipet 0,05 mL, 0,1 mL, 0,15 mL, 0,2 mL, dan 0,25 mL secara berurutan untuk

masing-masing seri konsentrasi dan masing-masing konsentrasi dicukupkan volumenya dengan metanol p.a sampai volumenya 5 mL. Seri konsentrasi yang telah dibuat masing-masing dipipet 0,5 mL, lalu ditambahkan 3,5 mL DPPH 30 ppm. Kemudian larutan tersebut dihomogenkan dengan menggunakan alat vortex dan dibiarkan pada suhu kamar selama 37 °C selama 30 menit, lalu serapanya diukur pada panjang gelombang 515 nm.

Perhitungan IC₅₀

Persentase inhibisi radikal DPPH dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A-B}{A} \times 100$$

Dimana A adalah serapan blanko dan B adalah serapan sampel. Nilai IC₅₀ dihitung dengan menggunakan regresi persentase inhibisi¹¹.

HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Data persen (%) rendemen ekstrak etanol 70 % daun arbenan [*Duchesnea indica* (Jacks.) Focke]

| Nama Sampel | Jenis Pelarut | Berat Sampel Segar (g) | Berat Ekstrak (g) | Pelarut (L) | Rendemen (%) |
|--------------|---------------|------------------------|-------------------|-------------|--------------|
| Daun Arbenan | Etanol 70 % | 300 | 32,49 | 2,700 | 10,83 |

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun Arbenan (*Duchesnea indica* (Jacks.) Focke) dengan metode DPPH

Tabel 2. Hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol 70 % daun arbenan [*Duchesnea indica* (Jacks.) Focke]

| Nama sampel | Pengujian Senyawa | Reaksi yang Terjadi | Pustaka ⁹ | Hasil |
|----------------------------------|-------------------|--|--|-------|
| Ekstrak Etanol 70 % Daun Arbenan | Flavanoid | Terjadinya perubahan warna kuning menjadi tidak berwarna | Terjadinya perubahan warna kuning menjadi tidak berwarna | + |
| | Fenol | Terbentuknya warna hitam kebiruan | Terbentuknya warna hitam kebiruan | + |

Keterangan : (+) = mengandung flavonoid dan fenol

Tabel 3. Hasil pengukuran absorbansi, persentase pengikatan DPPH, dan nilai IC₅₀ dari ekstrak etanol 70 % daun arbenan [*Duchesnea indica* (Jacks.) Focke] dan perbandingan kuersetin

| Sampel | Konsentrasi (ppm) | Absorbansi | Inhibisi (%) | IC50 (µg/mL) |
|----------------------------------|-------------------|------------|--------------|--------------|
| Blanko | | 0,793 | | |
| Ekstrak Etanol 70 % Daun Arbenan | 10 | 0,560 | 29,382 | 30,20 |
| | 20 | 0,490 | 38,209 | |
| | 30 | 0,395 | 50,189 | |
| | 40 | 0,314 | 60,403 | |
| Kuersetin | 1 | 0,645 | 18,663 | 14,97 |
| | 2 | 0,624 | 21,437 | |
| | 3 | 0,621 | 21,815 | |
| | 4 | 0,593 | 25,346 | |
| | 5 | 0,571 | 28,121 | |

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini menggunakan sampel daun arbenan [*Duchesnea indica* (Jacks.) Focke] yang diambil dari gunung Bawakaraeng, Kabupaten Gowa, Sulawesi-selatan. Dalam penelitian ini dilakukan ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi.

Metode maserasi dipilih karena prosesnya mudah dan tidak menggunakan suhu tinggi yang memungkinkan dapat merusak

senyawa-senyawa kimia yang memiliki aktivitas antioksidan yang terdapat dalam sampel¹². Proses maserasi sampel daun Arbenan *Duchesnea indica* (Jacks.) Focke] dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 70 % sebanyak 2,700 L.

Hasil penapisan fitokimia yang dilakukan pada ekstrak etanol 70 % daun arbenan [*Duchesnea indica* (Jacks.) Focke] menunjukkan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder diantaranya flavanoid dan

fenolik. Umumnya metabolit sekunder yang diperoleh bersifat polar sehingga tersari didalam pelarut polar yang digunakan yaitu etanol 70 %. Golongan senyawa flavanoid dapat diekstraksi dengan baik menggunakan etanol 70 %⁵. Setelah diperoleh ekstrak cair dari proses maserasi, dilakukan penguapan dan menghasilkan ekstrak kental sebanyak 32,49 gram. Dari ekstrak kental yang diperoleh kemudian dihitung persen rendemen yaitu sebesar 10,83 %. Penentuan rendemen berfungsi untuk mengetahui kadar metabolit sekunder yang terbawa oleh pelarut tersebut namun tidak dapat menentukan jenis senyawa yang terbawa¹³. Pengujian kualitatif antioksidan terlebih dahulu dilakukan elusi dengan kombinasi eluen. Kombinasi eluen yang cukup baik untuk mengelusi etanol 70 % daun Arbenan [*Duchesnea indica* (Jacks.) Focke] yaitu pelarut n-heksan dan etil asetat dengan perbandingan 5:5. Setelah dielusi, dilakukan pengamatan dengan melihat noda pada sinar lampu UV₂₅₄ dan UV₃₆₆ nm, yang akan menghasilkan latar belakang (lempeng) menjadi gelap sehingga noda dapat berfluoresensi dan dapat terlihat secara visual.

Setelah itu, dilakukan penyemprotan dengan menggunakan

pereaksi DPPH. Adanya perubahan warna DPPH yang disemprotkan pada bercak plat KLT dari ungu menjadi kuning menandakan bahwa ekstrak etanol 70 % daun Arbenan [*Duchesnea indica* (Jacks.) Focke] memiliki aktivitas antioksidan. Terbentuknya bercak kuning setelah penyemprotan DPPH disebabkan oleh adanya senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen di dalam ekstrak sehingga molekul DPPH tereduksi yang diikuti dengan perubahan warna ungu dari larutan DPPH menjadi kuning bening.

Uji kuantitatif aktivitas antioksidan pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*). Metode DPPH ini dipilih karena merupakan metode yang sederhana, mudah cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk evaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam¹⁶. Prinsip pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif menggunakan metode DPPH ini adalah adanya perubahan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan konsentrasi larutan DPPH tersebut. Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron tidak berpasangan akan memberikan warna ungu. Warna

akan berubah menjadi kuning saat elektronnya berpasangan. Perubahan intensitas warna ungu ini terjadi karena adanya peredaman radikal bebas yang dihasilkan oleh bereaksinya molekul DPPH dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh molekul senyawa sampel sehingga terbentuk senyawa Difenil pikril hidrazil dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning. Perubahan warna ini akan memberikan perubahan absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} (*Inhibitory concentration*)¹⁶.

Pengukuran absorbansi ekstrak dengan DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang sebelumnya dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum DPPH. Panjang gelombang maksimum DPPH yang digunakan berada pada panjang gelombang 515 nm. Panjang gelombang maksimum ini memberikan serapan paling maksimal dari larutan uji dan memberikan kepekaan paling besar¹⁶.

Selanjutnya, besarnya aktivitas antioksidan dari ekstrak dan kontrol positif yang digunakan diukur pada

panjang gelombang 515 nm dengan volume sampel yang digunakan adalah 0,5 mL dan DPPH 3,5 mL. Dimana konsentrasi sampel yang digunakan adalah 10, 20, 30, dan 40 ppm sedangkan konsentrasi pembanding adalah 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm. Selanjutnya persamaan regresi yang diperoleh dari grafik hubungan antara konsentrasi sampel dan pembanding dengan persen penghambatan DPPH digunakan untuk mencari nilai IC_{50} . Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50 % radikal bebas DPPH¹⁶.

Pada penelitian ini diperoleh nilai IC_{50} dari sampel ekstrak etanol 70 % daun Arbenan sebesar 30,20 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan nilai IC_{50} dari kuersetin sebesar 14,97 $\mu\text{g/mL}$. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat apabila nilai $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$, kuat apabila nilai IC_{50} antara 50-100 $\mu\text{g/mL}$, sedang apabila nilai IC_{50} berkisar antara 101-150 $\mu\text{g/mL}$, dan lemah apabila nilai $IC_{50} > 150 \mu\text{g/mL}$. Dari hasil penelitian dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol 70 % daun Arbenan berpotensi sebagai zat antioksidan dan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Potensi aktivitas antioksidan masing-masing sampel dapat dilihat dari nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} berbanding terbalik dengan kemampuan senyawa menangkap radikal bebas DPPH, semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin besar kemampuan senyawa untuk menangkap radikal bebas. Nilai IC_{50} ekstrak etanol 70 % daun Arbenan > kuersetin yang berarti bahwa kemampuan aktivitas penangkapan radikal bebas yang paling besar adalah kuersetin. Hal ini disebabkan kuersetin memiliki beberapa gugus hidroksi fenolik yang dapat membentuk radikal baru¹⁷

Berdasarkan hasil skrining fitokimia didapat golongan senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan di dalam ekstrak etanol 70 % daun Arbenan diantaranya adalah flavanoid dan fenol. Senyawa fenolik dan flavanoid pada strukturnya mengandung gugus hidroksil yang dapat mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas, sehingga senyawa fenolik dan flavanoid berpotensi sebagai antioksidan¹⁴.

Flavanoid merupakan senyawa polifenol yang mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen kepada senyawa radikal bebas, maka aktivitas antioksidan senyawa polifenol dapat

dihasilkan pada reaksi netralisasi radikal bebas atau pada penghentian reaksi berantai yang terjadi. Adapun senyawa fenol mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen, sehingga radikal DPPH dapat tereduksi menjadi bentuk yang lebih stabil. 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 maka semakin besar aktivitas antioksidan yang dihasilkan¹⁸.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 70 % daun arbenan [*Duchesnea indica* (Jacks.) Focke] berpotensi sebagai zat antioksidan dengan kategori aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Nilai IC_{50} ekstrak etanol 70 % daun arbenan [*Duchesnea indica* (Jacks.) Focke] sebesar 30,20 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan kuersetin memiliki nilai IC_{50} sebesar 14,97 $\mu\text{g/mL}$.

DAFTAR PUSTAKA

1. Chaudury RR. *Herbal Medicine for Human Health*. , New Delhi : World Health Organization; 1992.
2. Hutapea JR. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Balai Penerbitan

- dan Pengembangan Kesehatan; 1991.
3. Dalimartha S. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, Jilid 3. Jakarta: Puspaswara; 2004.
 4. Artanti N, Jamilah dan Hartati S. *Laporan Teknis Sub Tolok Ukur Pengembangan Senyawa Potensial antikanker dari Taxus sumatrana dan Benalu*. Serpong : Puslit Kimia LIPI; 2003.
 5. Harborne JB. *Metode Fitokimia 5 Penuntun cara modern menganalisa tumbuhan*. Terbitan Kedua. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: ITB; 1987.
 6. Arief S. *Radikal Bebas, Laporan Penelitian*, Ilmu Kesehatan Anak, Surabaya: Fakultas Kedokteran UNAIR; 2008.
 7. Wijeratne SSK, Cuppett SL, Schlegel V. *Hydrogen Peroxide Induced Oxidative Stress Damage and Antioxidant Enzyme Response in Caco-Human colon cells*. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 2005;53:8768-8774.
 8. Deng, Wangyuan, Guangzhong. *A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay*. *Food Chemistry* 2011;125:1430–1435.
 9. Tiwari, Kumar, Kaur Mandeep, Kaur Gurpreet & Kaur Harleem. *Phytochemical Screening and Extraction: A Review*. *Internationale Pharmaceutica Scientia* 2011;1(1).
 10. Brand-Williams W, Cuvelier ME and Berset C. *Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity*. *Lebensmittell-Wissenschaft und Technologie/Food Science and Technology*; 1995.
 11. Ahmad AR, Mun'im A and Elya B. *Study of antioxidant activity With reduction of free radikal DPPH and Xanthine Oxidase inhibitor of the extract Ruella tuberosa linn lear*. *Internasional Research joernal of pharmacy* 2012;102:29 47,48.
 12. Pratiwi D, Wahdaningsih S, Isnindar. *Uji Aktivitas Antioksidan Daun Bawang Mekah (Eleutherine Americana Merr.) dengan Metode DPPH*. *Trad. Med. Journal* 2013;18(1).
 13. Ukieyanna E. *Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolik, dan Flavonoid Total Tumbuhan Suruhan (Peperomia pellucid L. Kunth)*. Bogor : Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor; 2012.
 14. Molyneux P. *The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity*. *Songklanakarinn. J Sci Technol* 2004;26(2):212.
 15. Andayani R, Yovita L, Maimunah. *Penentuan aktivitas antioksidan, kadar fenolat total dan likopen pada buah Tomat (Solanum lycopersicum l)*. *J Sains dan Teknologi Farmasi* 2008;13(1): 31-37.
 16. Nic´iforovic´ N, et al. *Antioxidant Activity of Selected Plant Species; Potential New Sources of Natural Antioxidants*, *Food and Chemical Toxicology* 2010;48:3125–3130.

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun Arbenan (Duchesnea indica (Jacks.) Focke) dengan metode DPPH

17. Ridho EA. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum (Cayratia trifolia) Dengan Metode Dpph (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil).*

Pontianak: Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura; 2013.

18. Es-Safi NE, S. Ghidouche PH. Ducrot, *Molecule* 12 (2007) 2228.