

SKRINING FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI n-HEXANE DAUN PULUTAN (*Urena lobata*)

Rahmadina Putri Meiviani, Fenti Kusumawardhani Hidayah, Yudi Purnomo*
Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah terjadinya kerusakan oksidatif dan banyak didapatkan pada tanaman. Daun pulutan adalah salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai antioksidan karena kandungan zat aktif yang dimilikinya. Fraksi n-hexane daun Pulutan diketahui memiliki senyawa aktif non polar yang berpotensi sebagai antioksidan seperti golongan terpenoid, steroid dan alkaloid. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kandungan zat aktif dan aktivitas antioksidan pada fraksi n-hexane daun Pulutan.

Metode: Eksperimental laboratorium untuk menganalisis kandungan senyawa aktif dan aktivitas antioksidan yang terdapat pada fraksi n-hexane daun Pulutan. Identifikasi senyawa aktif dilakukan dengan menggunakan metode skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical) dengan beta karoten sebagai standar. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan pengulangan sebanyak tiga kali, kemudian data dinyatakan dengan persen inhibisi ($\bar{X} \pm SD$) dan nilai IC_{50} yang dihitung dari persamaan linier.

Hasil: Fraksi n-hexane daun Pulutan memiliki kandungan zat aktif alkaloid dan steroid serta aktivitas antioksidan kategori lemah dengan nilai IC_{50} sebesar 173.43 $\mu\text{g/mL}$ dibandingkan dengan beta karoten ($IC_{50} = 16.31 \mu\text{g/mL}$) kategori sangat kuat. Aktivitas antioksidan fraksi n-hexane daun pulutan kekuatannya lebih lemah sepuluh kali dibandingkan dengan beta karoten.

Kesimpulan: Fraksi n-hexane daun Pulutan memiliki aktivitas antioksidan lemah dibandingkan dengan standar pembandingnya yaitu beta karoten.

Kata kunci: *fraksi n-Hexane, daun Pulutan, senyawa aktif, aktivitas antioksidan.*

*Korespondensi:

Yudi Purnomo

Jl. MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144

e-mail: y_purnomo92@yahoo.com

PHYTOCHEMICAL SCREENING AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF n-HEXANE FRACTION PULUTAN LEAVES (*Urena lobata*)

Rahmadina Putri Meiviani, Fenti Kusumawardhani Hidayah, Yudi Purnomo *
Faculty of Medicine, University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Antioxidants are compounds that can prevent oxidative damage and widely found in herbs. Pulutan leaves is one of the herbs that has potential antioxidants activity because the compenent contained in it. n-Hexane fraction of Pulutan leaves is known to have non polar active substances that have the potential antioxidants such as terpenoids, steroids, and alkaloids. This study aims to analyze the content of active substances and antioxidant activity in the n-hexane fraction of Pulutan leaves.

Method: Experimental laboratory studies to analyze the phytochemical content and antioxidant activity contained in the n-hexane fraction of Pulutan leaves. Identification of active compounds was carried out using phytochemical screening method and antioxidant activity test using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical) method with beta carotene as a standar. The antioxidant activity was carried out with threer repetitions then the data was expressed by the percentage of inhibition ($\bar{X} \pm SD$) and IC_{50} value which counted by linier equivalen.

Result: n-Hexane fraction of Pulutan leaves was detected to contain active alkaloids and steroids, and weak category of antioxidant activity with an IC_{50} value of 173.43 $\mu\text{g/mL}$ compared to beta carotene ($IC_{50} = 16.31 \text{ g/mL}$) which is very strong category. The antioxidant activity n-hexane fraction of Pulutan leaves was ten times weaker than beta karoten.

Conclusion: n-Hexane fraction of Pulutan leaves has weak antioxidant activity compared to beta carotene.

Keywords: *Fraction n-Hexane, Pulutan leaves, active compound, antioxidant activity.*

*Correspondence Author:

Yudi Purnomo

Jl. MT. Haryono 193 Malang, East Java, Indonesia, 65144

e-mail: y_purnomo92@yahoo.com

PENDAHULUAN

Radikal bebas memegang peran penting terhadap terjadinya kerusakan oksidatif sel. Radikal bebas merupakan molekul yang mengandung elektron tunggal pada orbit terluarnya dan bersifat sangat reaktif.¹ Radikal bebas dapat bersumber dari dalam tubuh, seperti hasil metabolisme dan proses peradangan serta dari luar tubuh seperti asap rokok, makanan, sinar UV dan polutan.² Radikal bebas dapat menimbulkan kerusakan oksidatif pada molekul biokimia sel seperti protein, DNA, dan lemak yang akan mendasari terjadinya penyakit kronis.^{3,4} Pemberian antioksidan diharapkan dapat mengurangi terjadinya kerusakan sel yang berperan pada penyakit kronis.⁵

Antioksidan diperlukan tubuh untuk menghambat kerusakan oksidatif. Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menunda, menghambat bahkan menghilangkan kerusakan oksidatif yang terjadi pada molekul target.⁶ Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan elektron kepada radikal bebas sehingga terjadi penghambatan proses reaksi berantai yang berperan terhadap kerusakan oksidatif.⁷ Sumber antioksidan terbagi menjadi dua yaitu, antioksidan endogen seperti enzim superoksida dismutase, glutathione peroksidase dan katalase serta antioksidan eksogen seperti *butylated hydroxytoluene* (BHT), fenolik, flavonoid dan terpenoid yang didalamnya termasuk karotenoid.⁸ Antioksidan eksogen dapat diperoleh secara alami maupun sintesis.⁹ Sumber antioksidan alami dapat berasal dari tanaman golongan rempah-rempah, buah-buahan dan sayur-mayur.¹⁰ Kandungan senyawa aktif yang diperoleh dari tumbuhan dan berpotensi sebagai antioksidan adalah senyawa fenolik seperti katekin, terpenoid seperti beta karoten dan likopen serta alkaloid seperti karpain.¹¹⁻¹⁴ Ekstrak daun Pulutan diketahui mengandung senyawa aktif yang berpotensi sebagai antioksidan.¹⁵

Daun Pulutan sering dimanfaatkan untuk pengobatan penyakit. Berdasarkan data empiris daun Pulutan dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat diabetes, demam dan penyembuhan luka. Pada uji preklinik, daun Pulutan menunjukkan potensi sebagai antioksidan.^{16,17} Ekstrak daun Pulutan diketahui mengandung senyawa aktif fenolik seperti mangiferin dan gossypetin, alkaloid seperti piperidin dan steroid seperti stigmasterol dan beta sitosterol.^{18,19} Hingga saat ini sudah banyak penelitian uji bioaktivitas daun Pulutan menggunakan bentuk ekstrak kasar, namun penggunaan bentuk fraksi belum banyak yang dilaporkan. Pelarut yang digunakan pada proses fraksinasi bervariasi dari yang kepolarannya rendah hingga yang tinggi. Hal tersebut bertujuan agar senyawa yang terkandung pada daun Pulutan dapat terekstrak sesuai dengan kepolaran pelarut yang digunakan. Penggunaan pelarut n-hexane yang bersifat non polar pada riset ini digunakan untuk mengambil senyawa aktif yang berpotensi sebagai antioksidan yang bersifat non polar seperti golongan terpenoid, steroid dan alkaloid.^{12,20} Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan penelitian untuk menganalisis kandungan zat aktif serta aktivitas

antioksidan pada fraksi n-hexane daun Pulutan.

METODE PENELITIAN

Desain penelitian yang digunakan adalah studi eksperimental laboratorium, dengan menganalisa kandungan zat aktif serta menguji aktivitas antioksidan daun Pulutan. Daun pulutan yang digunakan didapatkan dari daerah Batu, Malang dan telah dideterminasi oleh UPT Laboratorium Herbal Materia Medika Batu dengan nomor surat 074/555A/102.7/2020. Penelitian dilakukan pada bulan April-September 2021 di Laboratorium Herbal Materia Medika Batu, Laboratorium Terpadu FK UNISMA dan Laboratorium Biomedik FK UMM.

Pembuatan Fraksi n-Hexane Daun Pulutan

Ekstrak methanol daun Pulutan 15 gram dimasukkan dalam corong pisah kemudian ditambahkan pelarut n-hexane dan air dengan volume yang sama lalu dikocok selama kurang lebih 15 menit untuk setiap pengulangan. Kemudian fase air dengan fase n-hexane dipisahkan. Fraksinasi dilakukan beberapa kali dengan menggunakan pelarut dan volume yang sama, fraksinasi dihentikan jika didapatkan fase n-hexane dengan warna yang lebih pudar. Hasil fraksinasi dikumpulkan lalu diuapkan dengan evaporator pada suhu 60°C hingga diperoleh fraksi n-hexane daun Pulutan dalam bentuk pasta.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia terhadap fraksi n-hexane daun Pulutan dilakukan dengan menambahkan reagen khusus agar dapat diidentifikasi senyawa apa yang terkandung didalamnya. Senyawa polar seperti fenol, flavonoid dan saponin diidentifikasi menggunakan reagen berturut-turut FeCl₃ 1%, HCl pekat, dan menambahkan air kemudian dididihkan. Sedangkan untuk senyawa non polar seperti alkaloid, steroid dan triterpenoid menggunakan reagen berturut-turut meyer dan asetat anhidrat ditambah dengan ditambah H₂SO₄ pekat.²¹ Pengamatan saat skrining fitokimia dilakukan oleh dua orang pengamat.

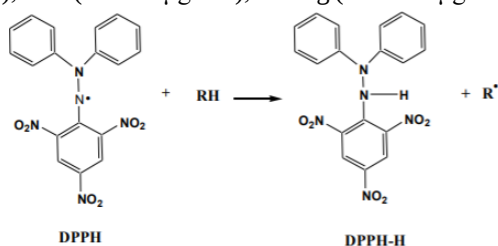
Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Larutan uji dibuat dengan cara melarutkan 10 mg fraksi kedalam methanol 100 mL. Selanjutnya dibuat beberapa konsentrasi 70 - 100 µg/mL. Masing-masing larutan uji diambil 2 mL dan ditambahkan dengan 2 mL larutan 1,1- difenil-2 pikrilhidrazil (DPPH). Kemudian campuran tersebut dihomogenkan lalu diinkubasi ditempat gelap selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Perlakuan yang sama juga diterapkan pada larutan blanko (5 mL DPPH dilarutkan dalam 100 mL methanol) serta kontrol positif beta karoten dengan konsentrasi 7 - 10 µg/mL.²² Pengujian sampel dilakukan tiga kali pengulangan.

Perhitungan aktivitas antioksidan dinyatakan dengan persen penangkal radikal bebas DPPH (% inhibisi) dan nilai *inhibitor concentration of 50%* (IC₅₀). Persentase aktivitas penangkal radikal bebas dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = 1 - \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Nilai IC₅₀ ditentukan dari persamaan linier antara kadar dan persen inhibisi sampel uji. Potensi antioksidan dibagi menjadi lima kategori berdasarkan nilai IC₅₀. Kategori tersebut antara lain sangat kuat (< 50 µg/mL), kuat (50-100 µg/mL), sedang (100-150 µg/mL),



Gambar 1. Reduksi Radikal DPPH oleh Antioksidan menjadi DPPH-H

Analisis Data

Analisa statistik yang digunakan adalah analisa statistik deskriptif. Data dinyatakan dengan $\bar{X} \pm \text{SD}$. Kemudian persamaan regresi linier digunakan untuk perhitungan nilai IC₅₀ yang menyatakan hubungan antara rata-rata % inhibisi (y) dan konsentrasi sampel uji (x), dengan persamaan garis linier $y = bx + a$. Analisis statistik deskriptif ini dihitung dengan menggunakan *Microsoft Excel 2016 for Windows*.

HASIL DAN ANALISA DATA

Skrining Fitokimia

Hasil identifikasi fraksi n-hexane daun Pulutan dapat dilihat pada Tabel 1 yang menunjukkan terdapat senyawa aktif alkaloid dan steroid.

Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Hexane Daun Pulutan

Potensi antioksidan fraksi n-hexane daun Pulutan dan beta karoten sebagai pembandingnya dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 1.

Tabel 1 Hasil Skrining Fitokimia Fraksi n-Hexane Daun Pulutan

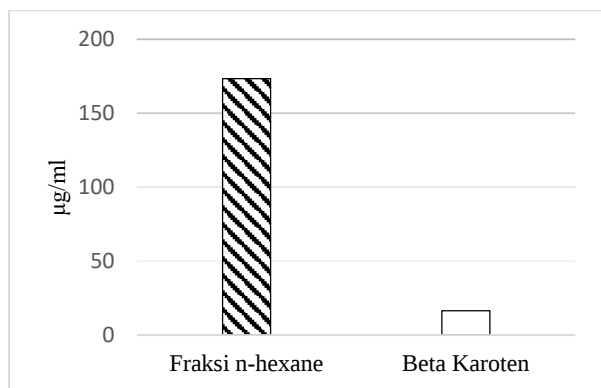
Parameter	Pereaksi	Perubahan Warna	Hasil Uji	Pengamat	
				I	II
Fenolik	FeCl ₃ 1%	Tidak ada perubahan warna	-	-	-
Flavonoid	HCl pekat	Tidak ada perubahan warna	-	-	-
Alkaloid	Meyer	Terbentuk endapan berwarna coklat	+	+	+
Triterpenoid	Asetat anhidrat dan H ₂ SO ₄ pekat	Tidak ada perubahan warna menjadi merah ungu	-	-	-
Steroid	Asetat anhidrat dan H ₂ SO ₄ pekat	Perubahan warna menjadi hijau biru	+	+	+
Saponin	Air	Tidak terbentuk busa	-	-	-

Keterangan : (+) teridentifikasi ; (-) tidak teridentifikasi

Tabel 2. Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Hexane Daun Pulutan dan Beta Karoten

Sampel	Konsentrasi µg/mL	Pengulangan (n)	% Inhibisi $\bar{X} \pm \text{SD}$	IC ₅₀ µg/mL	Kategori
Fraksi n-hexane	80	3	20.35 ± 0	173.43*	Lemah
	90	3	22.81 ± 1.12		
	100	3	26.75 ± 0.34		
Beta	7	3	1.93 ± 0.67	16.31*	Sangat kuat
Karoten	8	3	3.86 ± 0.77		
(pembanding)	9	3	6.18 ± 0.39		
	10	3	19.18 ± 0.89		

Keterangan : (*) Data dihitung dengan ekstrapolasi



Gambar 2. Histogram nilai IC₅₀ fraksi n-hexane daun Pulutan dan beta karoten

Aktivitas antioksidan fraksi n-hexane daun Pulutan (IC₅₀ = 173.43 µg/mL) lebih rendah dibandingkan dengan beta karoten (IC₅₀ = 16.31 µg/mL). Potensi fraksi n-hexane termasuk kategori lemah, sedangkan beta karoten sangat kuat sebagai antioksidan. Potensi antioksidan fraksi n-hexane lebih rendah sepuluh kali lipat dari beta karoten.

PEMBAHASAN

Komposisi Zat Aktif pada Fraksi n-Hexane Daun Pulutan berdasarkan Uji Fitokimia

Hasil skrining fitokimia fraksi n-hexane daun Pulutan mengandung senyawa alkaloid dan steroid. Senyawa aktif alkaloid dan steroid merupakan metabolit sekunder yang bersifat non polar sehingga terekstraksi dengan pelarut non polar seperti n-hexane. Hasil ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Amalia, *et al* (2014) menggunakan fraksi n-hexane dengan tumbuhan berbeda, bahwa dalam fraksi n-hexane tersebut mengandung senyawa alkaloid, steroid dan triterpenoid.²³ Fraksi n-hexane daun Pulutan tidak mengandung senyawa fenolik, flavonoid dan saponin, karena senyawa-senyawa tersebut bersifat polar sehingga penggunaan pelarut n-hexane akan sulit untuk menarik senyawa tersebut. Pernyataan ini didukung oleh penelitian Endrawati *et al*, (2021) yang menyebutkan bahwa penggunaan pelarut etil asetat yang bersifat polar dapat menarik senyawa fenolik dan flavonoid pada fraksi etil asetat daun Pulutan.²⁴ Prinsip pada suatu senyawa akan mudah tertarik jika menggunakan pelarut yang kepolarannya sama dengan senyawa tersebut (*like dissolve like*).²⁴ Alkaloid merupakan metabolit sekunder yang memiliki efek farmakologi sebagai antioksidan anti-bakteri, anti-kanker dan anti-inflamasi.^{23,26-27}

Steroid adalah metabolit sekunder yang banyak ditemukan di tumbuhan dengan efek farmakologi sebagai antioksidan, anti-bakteri, anti-karsinogenik dan hipolipidemik.²⁸⁻²⁹ Berdasarkan uraian tersebut, efek farmakologi dari dua senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi n-hexane daun Pulutan dapat berpotensi sebagai antioksidan. Metode ini merupakan

penelitian tahap awal sehingga belum bisa diketahui senyawa murni dari kelompok alkaloid dan steroid dalam fraksi n-hexane, oleh karena itu perlu dilakukan identifikasi senyawa alkaloid serta steroid pada fraksi n-hexane daun Pulutan menggunakan metode instrumentasi seperti *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Hexane Daun Pulutan dan Beta Karoten

Fraksi n-hexane daun Pulutan memiliki aktivitas antioksidan kategori lemah (IC₅₀ = 173.43 µg/mL). Aktivitas antioksidan pada fraksi n-hexane daun Pulutan dikendalikan oleh senyawa alkaloid dan steroid yang terkandung didalamnya. Beberapa senyawa alkaloid bertindak sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan satu elektronnya kepada radikal bebas yang reaktif, sehingga dapat mengurangi kekuatannya untuk merusak molekul penting tubuh.²⁶ Selain itu alkaloid juga berperan sebagai pengkelat logam yang diharapkan dapat meminimalisir pembentukan radikal bebas.³⁰ Penelitian yang dilakukan oleh Fadhillah *et al*, (2019) menyatakan bahwa pada ekstrak etanol daun Pulutan mengandung senyawa alkaloid yaitu piperidin.¹⁹ Piperidin berpotensi sebagai antioksidan dengan cara memungut radikal bebas reaktif dan melindungi mitokondria dari serangan radikal bebas.³¹ Stigmasterol dan beta sitosterol merupakan contoh dari senyawa steroid yang terdapat dalam ekstrak daun Pulutan dan berpotensi sebagai antioksidan.^{18,32} Stigmasterol bekerja sebagai antioksidan dengan cara *scavenger* radikal bebas melalui donor elektron sedangkan beta sitosterol dengan cara mencegah terjadinya lipid peroksidasi jika terjadi stres oksidatif.^{32,33} Aktivitas antioksidan pada fraksi n-hexane daun Pulutan termasuk dalam kategori lemah, hal ini mungkin terkait dengan kandungan zat aktif alkaloid dan steroid yang rendah sedangkan kandungan fenolik, flavonoid dan saponin pada daun Pulutan lebih tinggi. Hal tersebut diduga yang menyebabkan potensi antioksidannya rendah karena menggunakan pelarut n-hexane tidak dapat menarik senyawa yang banyak terkandung pada daun Pulutan.

Beta karoten (IC₅₀ = 16.31 µg/mL) memiliki aktivitas antioksidan lebih kuat dibandingkan dengan fraksi n-hexane daun Pulutan. Hal ini diduga karena beta karoten merupakan senyawa antioksidan murni (*single compound*) sehingga tidak ada interaksi senyawa lain yang dapat menurunkan aktivitas antioksidannya. Sedangkan fraksi n-hexane daun Pulutan mengandung beberapa senyawa aktif sehingga memungkinkan terjadinya interaksi antagonis.³⁴ Penggunaan beta karoten sebagai pembanding pada riset ini dikarenakan beta karoten bersifat non polar sehingga sama dengan

senyawa aktif yang terekstrak dalam fraksi n-hexane.³⁵ Penelitian oleh Berliansyah *et al*, (2021) menggunakan fraksi n-butanol daun Pulutan didapatkan aktivitas antioksidan lebih lemah dibandingkan fraksi n-hexane daun Pulutan dengan (IC_{50} 68.61 μ g/mL vs IC_{50} 173.43 μ g/mL). Penggunaan pelarut yang bersifat semi polar kemungkinan dapat mengekstrak senyawa polar yang berpotensi sebagai antioksidan lebih kuat seperti fenolik, flavonoid dan saponin.³⁶

Penggunaan metode DPPH dipilih karena memiliki beberapa keunggulan seperti sederhana, cepat dan sensitif walau hanya menggunakan sedikit pereaksi.³⁷ Prinsip kerja metode ini adalah menilai atom hidrogen yang berasal dari senyawa antioksidan, yang akan berikatan dengan elektron bebas dari senyawa radikal (DPPH), sehingga menyebabkan perubahan DPPH yang bersifat radikal (*diphenylpicrylhydrazyl*) menjadi tidak radikal (*diphenylpicrylhydrazine*). Hal tersebut dapat dinilai secara kualitatif dilihat dengan adanya perubahan warna dari ungu menjadi kuning yang diakibatkan karena proses reduksi radikal tersebut.³⁸ Aktivitas antioksidan dievaluasi dengan melihat nilai *Inhibitor Concentration of 50* (IC_{50}) pada sampel uji. Nilai IC_{50} menunjukkan konsentrasi yang dapat menghambat 50% radikal DPPH. Aktivitas antioksidan berbanding terbalik dengan nilai IC_{50} , semakin rendah nilai IC_{50} pada hasil pengujian semakin tinggi aktivitas antioksidan yang dimiliki.³⁹

KESIMPULAN

1. Hasil skrining fitokimia fraksi n-hexane daun Pulutan mengandung alkaloid dan steroid.
2. Fraksi n-hexane daun Pulutan memiliki aktivitas antioksidan lebih lemah sepuluh kali lipat dibandingkan dengan beta karoten berdasarkan nilai IC_{50} .

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian, pembahasan dan kesimpulan yang dijelaskan, peneliti memberikan saran sebagai berikut:

1. Dilakukan penelitian lanjutan untuk identifikasi jenis senyawa dan perhitungan kadar alkaloid dan steroid pada fraksi n-hexane daun Pulutan menggunakan metode instrumentasi seperti *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).
2. Melakukan subfraksinasi untuk mendapatkan senyawa aktif yang berpotensi pada fraksi n-hexane daun Pulutan menggunakan kromatografi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih saya sampaikan kepada IOM Fakultas Kedokteran UNISMA yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacogn Rev.**

- 2010;4(8):118–26.
2. Fitriana WD, Fatmawati S, Ersam T. Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari Fraksi-fraksi. **SNIP Bandung.** 2015;2015(Snips):658.
3. Khaira K. Meangkal Radikal Bebas dengan Antioksidan. **J Sainstek.** 2010;2:183–7.
4. Handajani A, Roosiehermatie B, Maryani H. Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Pola Kematian Pada Penyakit Degeneratif Di Indonesia. **Bul Penelit Sist Kesehat.** 2012;13(1).
5. Zalukhu ML, Phyma AR, Pinzon RT. Proses Menua , Stres Oksidatif , dan Peran Antioksidan. **CKD-245.** 2016;43(10):733–6.
6. Gülçin I. Antioxidant activity of food constituents: An overview. **Arch Toxicol.** 2012;86(3):345–91.
7. Hasanah N. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun salam. **J Pena Med.** 2015;(5):1.
8. Werdhasari A. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. **J Biomedik Medisiana Indonesia.** 2014;3(2):59–68.
9. Zuraida Z, Sulistiyani S, Sajuthi D, Suparto IH. Fenol, Flavonoid, Dan Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris* R.Br). **J Penelitian Hasil Hutan.** 2017;35(3):211–9.
10. Silvia D, Katharina K, Hartono SA, Anastasia V, Susanto Y. Pengumpulan Data Base Sumber Antioksidan Alami. 2016;1(2):181–98.
11. Bernatoniene J, Kopustinskiene DM. The Role of Catechins in Cellular Responses to Oxidative Stress. **Molecules.** 2018;23:1–11.
12. Mutiara R, Djangi MJ, Herawati N. Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Kulit Buah Mangrove Pidada (*Sonneratia caseolaris*). **J Chem.** 2016;12(2):52–62.
13. Proshkina E, Plyusnin S, Babak T, Lashmanova E, Maganova F, Koval L, et al. Terpenoids as Potential Geroprotectors. **Antioxidants.** 2020;9:1–50.
14. Bulla RM, Cunha TM Da, Nitbani FO. Identifikasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Alkaloid Daun Pepaya (*Carica papaya* L .) Kultivar Lokal. **Chem Notes.** 2020;1(1):58–68.
15. Fagbohun ED, Asare RR, Egbebi AO. Chemical composition and antimicrobial activities of *Urena lobata* L . (*Malvaceae*). **J Med Plants Res.** 2012;6(12):2256–60.
16. Singh D, Singh V. Isolation and Characterization of Flavonoids in *Urena lobata* Leaves. **European J Med Plants.** 2016;11(1):1–6.
17. Rajagopal PL, Sreejith KR, Linsha KT, Premaletha K, Nair MB, Aneeshia S. Antioxidant Activity of the Leaves of *Urena lobata*. **International J Res Rev.** 2019;6:82–4.
18. Purnomo Y, Soeatmadji DW, Sumitro SB,

- Widodo MA. Anti-diabetic potential of *Urena lobata* leaf extract through inhibition of dipeptidyl peptidase IV activity. **Asian Pac J Trop Biomed.** 2015;5(8):645–9.
19. Fadillah UF, Hambali E, Muslich. Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Daun Pulutan (*Urena lobata* L) dengan GC-MS. **J Sains dan Kesehatan.** 2020;2(3).
 20. Romandanu, Rachmawati SH, Lestari SD. Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Lotus (*Nelumbo nucifera*). **Fishtech.** 2014;III(November):1–7.
 21. Ikalinus R, Widyastuti S, Eka Setiasih N. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa Oleifera*). **Indones Med Veterinus.** 2015;4(1):71–9.
 22. Tristantini D, Ismawati A, Pradana BT, Gabriel J. Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L). 2016;1–7.
 23. Amalia S, Wahdaningsih S, Untari EK. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* Britton & Rose) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. **J Fitofarmaka Indones.** 2014;1(2):61–4.
 24. Endrawati P, Rosidah A, Purnomo Y. Analisis Fenolik dan Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Pulutan (*Urena lobata*). 2021
 25. Mariana E, Cahyono E, Rahayu EF, Nurcahyo B. Validasi Metode Penetapan Kuantitatif Metanol dalam Urin Menggunakan Gas Chromatography-Flame Ionization Detector. **Indones J Chem Sci.** 2018;7(3).
 26. Yin T, Cai L, Xing Y, Yu J, Li X, Mei R, et al. Alkaloids with antioxidant activities from *Aconitum handelianum*. **J Asian Nat Prod Res.** 2016;18(6):603–10.
 27. Macáková K, Afonso R, Saso L, Mladěnka P. Free Radical Biology and Medicine The influence of alkaloids on oxidative stress and related signaling pathways. **Free Radic Biol Med.** 2019;134(January):429–44.
 28. Nasrudin, Wahyono, Mustofa, Susdiarti RA. Isolasi Senyawa Steroid Dari Kulit Akar Senggugu. **Pharmacon.** 2017;6(3).
 29. Wu J, Xi Y, Huang L, Li G, Mao Q, Fang C, et al. A Steroid-Type Antioxidant Targeting the Keap1/Nrf2/ARE Signaling Pathway from the Soft Coral *Dendronephthya gigantea*. **J Nat Prod.** 2018;81.
 30. Neganova ME, Afanas S V, Klochkov SG, Shevtsova EF. Mechanisms of Antioxidant Effect of Natural Sesquiterpene Lactone and Alkaloid Derivatives. **Biophys Biochem.** 2012;152.
 31. Manjusha RK, Begum S, Begum A, Bharathi K. Antioxidant potential of piperidine containing compounds - A short review. **Asian J Pharm Clin Res.** 2018;11(8).
 32. Baskar AA, Numair KS Al, Paulraj MG, Alsaif MA, Muamar M Al, Ignacimuthu S. b - Sitosterol Prevents Lipid Peroxidation and Improves Antioxidant Status and Histoarchitecture in Rats with 1,2-Dimethylhydrazine-Induced Colon Cancer. **J Med Food.** 2012;15(4):335–43.
 33. Conforti F, Statti GA, Menichini F. Food Chemistry Chemical and biological variability of hot pepper fruits (*Capsicum annuum* var . *acuminatum* L .) in relation to maturity stage. **food Chem.** 2007;102:1096–104.
 34. Werdyani S, Hartati DS, Jumaryatno P. Penentuan Fraksi Aktif Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Benalu (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Denser) yang Tumbuh Pada Pohon Rambutan. **J Ilm Farm.** 2019;15(2):70–9.
 35. Chen W, Chen G. The Roles of Vitamin A in the Regulation of Carbohydrate , Lipid , and Protein Metabolism. **J Clin Med.** 2014;3:453–79.
 36. Berliansyah SZ, Dewi AR, Purnomo Y. Penentuan Kadar Fenol Total dan Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Butanol Daun Pulutan (*Urena lobata*). 2021.
 37. Rahmawati, Muflihunna A, Sarif LM. Analisis Aktivitas Antioksidan Produk Sirup Nuah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L .) dengan Metode DPPH. **J Fitofarmaka Indonesia.** 2010;2(2):97–101.
 38. Setiawan F, Yunita O, Kurniawan A. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan*) menggunakan metode DPPH, ABTS dan FRAP. **Media Pharm Indonesia.** 2018;2(2):82–9.
 39. Molyneux P. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. **J Sci Technol.** 2004;26:211–9.