



Perbandingan Kadar Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Dan Infusa Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Dengan Metode ABTS

Riszki Nur Aini¹, Tiara Ajeng Listyani², Danang Raharjo³

^{1,2,3} Program Studi S1 Farmasi, Universitas Duta Bangsa Surakarta

Abstract

Received: 4 November 2023
Revised: 22 November 2023
Accepted: 27 November 2023

Free radicals in the body are very reactive and have oxidation reactions with certain body parts and cells which can trigger various diseases. Antioxidants are substances the body needs to neutralize free radicals and prevent free radical damage to normal cells, proteins, fats and antioxidants. This study aims to determine the content of flavonoids, secondary metabolite compounds and determine the antioxidant activity of ethanol extract and infusion of rambutan leaves (*Nephelium lappaceum* L.) which were tested using the ABTS method. Making ethanol extract using the maceration method with 96% ethanol solvent. Making infusion extract using distilled water as a solvent. Phytochemical screening tests were carried out using the tube test and TLC methods, determination of total flavonoid levels was carried out using the AlCl₃ colorimetric method, antioxidant activity testing was carried out using the ABTS method. The research results showed that the ethanol extract of rambutan leaves (*Nephelium lappaceum* L.) contained alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, triterpenoids and steroids with an average total flavonoid content of 23,390 mg QE/g. Rambutan leaf infusion extract (*Nephelium lappaceum* L.) contains alkaloids, flavonoids, tannins, triterpenoids and steroids with an average total flavonoid content of 12.294 mg QE/g. The test results show that the ethanol extract has antioxidant activity with an IC₅₀ value of 59,250 ppm (Strong) and an IC₅₀ value of 97,357 ppm (Strong). Ethanol extract has higher flavonoid levels compared to infusion extract. Ethanol extract has stronger antioxidant activity compared to infusion extract.

Keywords: ABTS, antioxidants, ethanol extract, infusa extract, flavonoids

(*) Corresponding Author: riszkinuraini2@gmail.com

How to Cite: Aini, R., Listyani, T., & Raharjo, D. (2023). Perbandingan Kadar Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Dan Infusa Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Dengan Metode ABTS. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 9(23), 665-680. <https://doi.org/10.5281/zenodo.10353550>.

PENDAHULUAN

Radikal bebas di dalam tubuh sangat reaktif dan memiliki reaksi oksidasi dengan bagian tubuh dan sel-sel tertentu yang terdiri dari lemak, protein, karbohidrat, DNA dan RNA yang dapat memicu berbagai macam penyakit seperti penyakit jantung koroner, kanker dan penuaan dini. Oleh karena itu, diperlukan antioksidan untuk mengatasi radikal bebas (Yenerel *et al.*, 2018).

Antioksidan merupakan zat yang dibutuhkan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan radikal bebas pada sel-sel normal, protein, lemak dan antioksidan yang memiliki kemampuan untuk mendonorkan elektron sehingga dapat menstabilkan radikal bebas (Raharjo *et al.*, 2022). Antioksidan sintetik kurang disukai karena efek samping berbahaya bagi kesehatan manusia yang bersifat karsinogenik (Syarif *et al.*, 2013).

Beberapa penelitian tentang BHA (*Butylated Hydroxyanisole*) dan BHT (*Butylated Hydroxytoluene*) menunjukkan bahwa komponen ini apabila digunakan dalam jangka panjang dapat menyebabkan tumor. Kekhawatiran terhadap potensi efek samping antioksidan sintetik menjadikan antioksidan alami banyak dikembangkan. Antioksidan alami dapat melindungi tubuh dari kerusakan yang disebabkan oleh senyawa oksigen reaktif, mencegah penyakit degeneratif dan mampu mencegah peroksidasi lipid dalam makanan (Katrin *et al.*, 2015).

Indonesia memiliki keanekaragaman tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai antioksidan. Salah satu tanaman yang kaya akan antioksidan adalah daun rambutan. Penelitian (Chigurupati *et al.*, 2019) menyatakan bahwa daun rambutan memiliki kandungan total fenolik, kandungan flavonoid total NL dihitung dan dinyatakan dalam asam galat ($19,6 \pm 0,04$ mg GAE/g) dan ekuivalen rutin ($16,7 \pm 0,01$ mg RUE/g) masing-masing. Uji aktivitas antioksidan menunjukkan adanya penghambatan yang signifikan pada metode DPPH ($IC_{50} \pm SEM: 1,52 \pm 0,03$ μ g/mL) dan pada metode ABTS $IC_{50} \pm SEM: 1,295 \pm 0,05$ μ g/mL. Menurut Pratiwi (2015) menyebutkan bahwa daun rambutan mengandung metabolit sekunder yaitu saponin, terpenoid atau steroid, flavonoid, fenol dan tannin.

Berdasarkan uraian diatas, akan dilakukan penelitian mengenai perbandingan kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan infusa daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) dengan metode ABTS.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui kandungan kadar flavonoid, senyawa metabolit sekunder serta mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol dan infusa daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) yang diuji menggunakan metode ABTS (*2,2-Azinobis 3-Ethylbenzothiazoline 6-Sulfonic Acid*). Tahap penelitian dimulai dari pengambilan sampel, determinasi tumbuhan, pembuatan simplisia, standarisasi simplisia, pembuatan ekstrak dan infusa, standarisasi ekstrak, skrining fitokimia, pembuatan larutan uji, penetapan kadar flavonoid, pengujian aktivitas antioksidan dan analisis data.

Alat Dan Bahan

Alat

Spektrofotometer UV-Vis (*EMCLab*), *waterbath* (*Thermostest*), *moisture analyzer* (*Ohrus*), blender (*Philips*), ayakan mesh nomer 40 (*GB/T6003*), timbangan analitik (*Solechan MT*), *rotary evaporator* (*Nesc*), panci infusa, kompor listrik, toples kaca, pompa vakum, tabung reaksi (*Iwaki*), rak tabung, pipet tetes, mikropipet (*Dragon Lab*), corong pisah (*pyrex*), labu ukur (*pyrex*), gelas ukur (*Iwaki*), gelas beaker (*Iwaki*), cawan porselen (*Iwaki*), batang pengaduk, chamber, pinset, plat KLT, corong (*Iwaki*).

Bahan

Etanol 96%, aquadest, serbuk ABTS (Sigma), reagen Dragendorff, reagen Mayer, HCl 2N (asam klorida), serbuk Mg (magnesium), FeCl₃ (feri klorida), CH₃COOH (asam asetat anhidridat), H₂SO₄ (asam sulfat), metanol p.a, kloroform, Etil Asetat, serbuk kuersetin, serbuk AlCl₃, serbuk natrium asetat, serbuk Sodium Phosphate Monobasic (NaH₂PO₄), serbuk Sodium Phosphate dibasic (Na₂HPO₄), serbuk Kalium Persulfat (K₂S₂O₈).

Pengambilan Bahan Dan Determinasi Tumbuhan

Daun rambutan diperoleh dari Dusun Karang Joho, Kecamatan Bawen, Kabupaten Semarang. Determinasi tanaman akan dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT).

Pembuatan Simplisia

Daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) sebanyak 3 kg yang telah dikumpulkan selanjutnya disortasi basah untuk menghilangkan kotoran atau benda asing yang masih menempel pada daun. Dicuci menggunakan air bersih dan mengalir sebanyak 3 kali. Perajangan daun rambutan dilakukan untuk mempercepat proses pengeringan. Proses pengeringan dilakukan menggunakan sinar matahari langsung hingga kering. Tanda simplisia yang sudah kering apabila dipegang akan bergemerisik. Kemudian dilakukan sortasi kering untuk memisahkan benda asing dan pengotor lain yang masih tertinggal pada simplisia. Pembuatan serbuk dengan cara di blender kemudian diayak menggunakan ayakan mesh nomer 40. Serbuk yang diperoleh disimpan dalam wadah tertutup dan dijauhkan dari paparan sinar matahari (Leonardy *et al.*, 2019).

Standarisasi Simplisia

Penetapan susut pengeringan

Penetapan susut pengeringan dengan cara menimbang 2 gram serbuk daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) kemudian masukan dalam oven dan dikeringkan pada temperatur suhu 105⁰C selama 30 menit.

Penetapan kadar air

Penetapan kadar air menggunakan alat *moisture balance* dengan cara menimbang 2 gram serbuk daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) kemudian dimasukan dalam lempeng logam, ratakan. Nyalakan *moisture analyzer* pada suhu 105⁰C, tunggu sampai alat berbunyi yang menandakan analisis sudah selesai. Kadar air simplisia yang baik adalah kurang dari 10% (Rukmawati *et al.*, 2017).

Penetapan kadar abu

Timbang 2 gram serbuk daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.), masukkan ke dalam krus platina atau krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara. Serbuk simplisia yang didalam krus platina atau silikat dimasukan dalam tanur penggabuan dan dipijarkan pada suhu 600⁰C selama 3 jam sampai jadi abu, kemudian didinginkan lalu ditimbang sampai diperoleh bobot tetap (Nurhidayah *et al.*, 2019).

Pembuatan Ekstrak Etanol Dan Infusa Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)

Pembuatan ekstrak etanol

Timbang serbuk simplisia daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) sebanyak 400 gram dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 3000 mL dengan perbandingan 1:7,5 selama 3 x 24 jam dengan pengadukan beberapa kali dan disaring. Ampas dimaserasi kembali (remaserasi) menggunakan etanol 96% sebanyak 1000 mL dengan perbandingan 1:2,5 selama 2 x 24 jam. Maserat hasil maserasi dan remaserasi daun rambutan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40⁰ C – 60⁰ C dan dikentalkan menggunakan *waterbath* sehingga diperoleh ekstrak kental yang selanjutnya dihitung rendemennya (Riyani, 2021).

Pembuatan ekstrak infusa

Timbang serbuk simplisia sebanyak 100 gram kemudian ditambahkan pelarut aquadest sebanyak 1000 mL perbandingan 1:10. Dipanaskan selama 15 menit pada suhu 90⁰ C lalu diserkai selagi masih panas (2 kali pengulangan). Filtrat hasil infus daun rambutan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40⁰ C – 60⁰ C dan dikentalkan menggunakan *waterbath* sehingga diperoleh ekstrak kental yang selanjutnya dihitung rendemennya (Hamad *et al.*, 2017).

Standarisasi Ekstrak

Penetapan kadar air

Penetapan kadar air menggunakan alat *moisture analyzer* dengan cara menimbang 1 gram serbuk daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) kemudian dimasukkan dalam lempeng logam, ratakan. Nyalakan *moisture analyzer* pada suhu 105⁰ C, tunggu sampai alat berbunyi yang menandakan analisis sudah selesai. Kadar air simplisia yang baik adalah kurang dari 10% (Rukmawati *et al.*, 2017).

Penetapan kadar abu

Timbang 2 gram serbuk daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.), masukkan ke dalam krus platina atau krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara. Serbuk simplisia yang didalam krus platina atau silikat dimasukkan dalam tanur penggabuan dan dipijarkan pada suhu 600⁰C selama 3 jam sampai menjadi abu, kemudian didinginkan lalu ditimbang sampai diperoleh bobot tetap (Nurhidayah *et al.*, 2019).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia ekstrak etanol dan infusa daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) dalam penelitian ini dilakukan dengan dua metode yaitu metode tabung dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Uji Tabung

Uji flavonoid

Timbang ekstrak etanol dan infusa daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) sebanyak 10 mg, ditambahkan 20 mL etanol dan dipipet 10 mL masukan ke dalam tabung reaksi lain. Tambahkan HCl 2N, magnesium. Tabung reaksi dikocok dan diamati adanya perubahan warna. Sampel positif flavonoid jika terjadi perubahan warna merah, kuning atau jingga (Suliska *et al.*, 2020).

Uji alkaloid

Timbang ekstrak etanol dan infusa daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) sebanyak 10 mg kemudian ditambahkan 10 mL kloroform diaduk rata. Tambahkan 1 mL HCl 2N dan dikocok, dibiarkan beberapa saat. Lapisan yang terbentuk diuji dengan pereaksi dragendorff dan mayer. Hasil positif alkaloid jika terbentuk endapan berwarna kuning jingga, orange, merah dengan pereaksi dragendorff dan terdapat endapan putih dengan pereaksi mayer (Riyani, 2021).

Uji saponin

Timbang ekstrak etanol dan infusa daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) sebanyak 10 mg kemudian ditambahkan 10 mL kloroform diaduk rata. Tambahkan 1 mL HCl 2N dan dikocok, dibiarkan beberapa saat. Lapisan yang terbentuk diuji dengan pereaksi dragendorff dan mayer. Hasil positif alkaloid jika terbentuk endapan berwarna kuning jingga, orange, merah dengan pereaksi dragendorff dan terdapat endapan putih dengan pereaksi mayer (Riyani, 2021).

Uji tannin

Timbang ekstrak etanol dan infusa daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) ditimbang 10 mg, ditambahkan 10 mL air panas, ditambahkan larutan FeCl_3 1% 3 tetes. Hasil positif apabila terbentuk warna biru atau biru hitam (Riyani, 2021).

Uji triterpenoid/steroid

Timbang ekstrak etanol dan infusa daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) sebanyak dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform, kemudian ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidridat dan ditetesi dengan 2 mL asam sulfat pekat. Hasil uji positif untuk triterpenoid bila terjadi perubahan warna menjadi ungu. Hasil uji positif untuk steroid bila terbentuk warna hijau, hijau kebiruan (Segara *et al.*, 2021).

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Skrining fitokimia dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan fase diam plat KLT silika gel GF₂₄₅ dengan ukuran panjang 8 cm dan lebar 1 cm dengan jarak elusi 7 cm. Fase gerak yang digunakan untuk ekstrak etanol yaitu campuran kloroform:etil asetat (9:1) (Ningrum *et al.*, 2017) dan fase gerak yang digunakan untuk ekstrak infusa yaitu campuran n-butanol:asam asetat glasial:air (4:1:5) (Nastiti *et al.*, 2021).

Identifikasi senyawa flavonoid

Identifikasi senyawa flavonoid menggunakan pereaksi semprot atau penampak noda AlCl_3 10%. Hasil positif senyawa flavonoid menunjukkan adanya spot berwarna kuning pada sinar tampak dan spot berfluoresensi biru pada UV 366 nm (Sopiah *et al.*, 2019).

Penetapan Kadar Flavonoid

Pembuatan larutan AlCl_3 10%

Serbuk AlCl_3 ditimbang sebanyak 5 gr. Masukkan kedalam *beaker glass* lalu serbuk AlCl_3 dilarutkan dengan sebagian aquadest sampai larut sempurna. Kemudian masukan kedalam labu ukur 50 mL, tambahkan aquadest sampai tanda batas.

Pembuatan natrium asetat 1 M

Timbang serbuk natrium asetat 1 M sebanyak 1 gram. Masukkan dalam *beaker glass*, serbuk natrium asetat 1 M dilarutkan dengan sebagian aquadest sampai larut sempurna. Kemudian masukan kedalam labu ukur 10 mL, tambahkan aquadest sampai tanda batas.

Pembuatan larutan blanko

Larutan AlCl_3 10% sebanyak 0,2 mL, tambahkan natrium asetat 1 M sebanyak 0,2 mL kedalam labu ukur 10 mL. Aduk sampai tercampur rata, tambahkan aquadest sampai tanda batas.

Preparasi larutan baku kuersetin

Serbuk kuersetin ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan metanol p.a dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan didapatkan konsentrasi kuersetin 100 ppm. Larutan baku kerja kuersetin dengan konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm dibuat dari larutan baku 100 ppm yang dipipet masing-masing sebanyak 0,25 mL; 0,5 mL; 0,75 mL; 1 mL; dan 1,25 mL dalam labu ukur 5 mL kemudian ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas (Siska, 2022).

Penentuan panjang gelombang maksimum (λ_{maks})

Larutan baku kuersetin 20 ppm dipipet sebanyak 1 mL, ditambah 1 mL larutan AlCl_3 10% dan 1 mL larutan natrium asetat 1 M. Kemudian tambahkan

aquadest dalam labu ukur 10 mL. lakukan pengukuran serapan pada range panjang gelombang 370- 450 nm (Tarasia, 2021). Panjang gelombang maksimum ditunjukkan dengan nilai serapan tertinggi. Panjang gelombang maksimum tersebut yang digunakan untuk mengukur serapan dari sampel ekstrak etanol dan infus daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)

Penentuan *operating time* (OT)

Pipet sebanyak 1 mL larutan baku kuersetin 20 ppm, ditambah dengan 1 mL larutan AlCl_3 10% dan 1 mL larutan natrium asetat 1 M, lalu diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum dengan interval waktu 2 menit selama 30 menit hingga diperoleh absorbansi stabil. *Operating time* tercapai pada waktu dihasilkan absorbansi yang stabil (Raharjo *et al.*, 2022).

Pembuatan kurva baku kuersetin

Larutan standar kuersetin 100 ppm, dibuat beberapa seri konsentrasi sebanyak 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm atau dipipet masing-masing sebanyak 0,25 mL; 0,5 mL; 0,75 mL; 1 mL; 1,25 mL. Masing-masing konsentrasi larutan baku kuersetin dipipet 1 mL. Tambahkan 1 mL AlCl_3 10%, 1 mL natrium asetat 1 M. Sampel diinkubasi selama waktu *operating time* yang diperoleh. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Raharjo *et al.*, 2022).

Penetapan kadar flavonoid sampel ekstrak etanol dan infusa daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)

Ekstrak etanol dan infusa daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) ditimbang 10 mg dilarutkan dengan 10 mL metanol p.a. Diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Larutan sampel dipipet 1 mL lalu ditambahkan 1 mL AlCl_3 10%, 1 mL natrium asetat 1M. Kocok larutan ad homogen kemudian diinkubasi selama *operating time* yang diperoleh dan diinkubasi pada suhu kamar, absorbansinya diukur menggunakan alat Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Aminah *et al.*, 2017).

Pengujian Aktivitas Antioksidan Dengan Metode ABTS

Pembuatan larutan ABTS

Serbuk ABTS ditimbang sebanyak 18 mg, dilarutkan dengan aquadest dalam labu ukur 5 mL (Indrianingsih, 2020).

Pembuatan larutan $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$

Serbuk kalium persulfat ditimbang sebanyak 14 mg, dilarutkan menggunakan aquadest dimasukkan hingga tanda batas 25 mL (Wardani, 2020).

Pembuatan larutan *Phosfat Buffer Saline* (PBS) Ph 7,4

Ditimbang seksama *Sodium Phosphate dibasic* sebanyak 20.214 gram, selanjutnya dilarutkan dengan 800 mL aquadest bebas CO_2 dalam labu takar 1000 mL. Tambahkan 3.394 g *Sodium Phosphate Monobasic Monohydrate* kocok sampai larut, atur pH dengan menambahkan NaOH atau HCl. Tambahkan aquadest bebas CO_2 sampai tanda batas (Salem *et al.*, 2022).

Pembuatan larutan stok ABTS

Pipet larutan ABTS sebanyak 5 mL kemudian tambahkan 5 mL larutan kalium persulfat, sebelum digunakan larutan diinkubasi di ruangan gelap pada suhu 22-24°C selama 12-16 jam, hasil ABTS akan berwarna biru gelap. Larutan ABTS pekat diencerkan dengan PBS pH 7,4 hingga absorbansi akhir $0,70 \pm 0,02$ absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 734 nm (Indrianingsih, 2020).

Larutan blanko

Pipet larutan kalium persulfat sebanyak 5 mL, tambahkan dengan 5 mL aquadest, kemudian diinkubasi di ruangan gelap pada suhu 22-24°C selama 12-16 jam (Indrianingsih, 2020).

Pembuatan larutan baku pembanding kuersetin

Serbuk kuersetin ditimbang sebanyak 10 mg, larutkan dengan metanol p.a dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL sehingga didapatkan konsentrasi kuersetin 100 ppm. Larutan baku kerja kuersetin dibuat dari larutan baku 100 ppm dengan cara. Deret konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm yang dipipet masing-masing sebanyak 0,25 mL; 0,5 mL; 0,75 mL; 1 mL; dan 1,25 mL dalam labu ukur 5 mL kemudian ditambahkan metanol p.a hingga tanda batas (Siska, 2022).

Pengukuran panjang gelombang maksimum

Pipet larutan ABTS sebanyak 1 mL dan di cukupkan dengan PBS pH 7,4 dalam labu ukur 25 mL. Absorbansi larutan diukur pada range panjang gelombang 700-750 nm, ditentukan panjang gelombang saat diperoleh absorbansi tertinggi (Chigurupati *et al.*, 2019).

Penentuan *operating time* (OT)

Pipet larutan baku kuersetin 15 ppm sebanyak 0,05 mL larutan ditambah 2 mL larutan ABTS. Kemudian diukur pada panjang gelombang maksimum dengan interval waktu 2 menit hingga diperoleh absorbansi stabil. *Operating time* tercapai pada waktu dihasilkan absorbansi yang stabil (Siska, 2022).

Pengukuran absorbansi kontrol

Pipet larutan ABTS sebanyak 1 mL ditambahkan 2 mL PBS pH 7,4. Larutan diinkubasi dalam ruang gelap suhu 22-24°C selama waktu *operating time*. Kemudian diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Siska, 2022).

Pengukuran aktivitas antioksidan baku pembanding kuersetin

Larutan baku kerja kuersetin dibuat dari larutan induk kerja kuersetin 100 ppm dengan deret konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm atau dipipet masing-masing sebanyak 0,25 mL; 0,5 mL; 0,75 mL; 1 mL; 1,25 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL, tambahkan metanol p.a hingga tanda batas. Kemudian masing - masing konsentrasi dipipet sebanyak 0,1 mL larutan baku kerja ditambah 2 mL larutan ABTS. Larutan diinkubasi selama 2 menit yang diperoleh dan diukur absorbansinya dengan Spektrofotometri UV-Vis. Lakukan replikasi sebanyak 3 kali (Siska, 2022).

Pengukuran aktivitas antioksidan sampel ekstrak etanol dan infusa daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)

Larutan stok sampel 1000 ppm dibuat dengan cara menimbang sampel uji ekstrak etanol dan infusa daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) sebanyak 50 mg. larutkan dengan methanol p.a sampai 50 mL. Kemudian membuat larutan intermediet 500 ppm dengan cara mengambil larutan stok 1000 ppm sebanyak 2,5 mL lalu di tambahkan methanol p.a dalam labu ukur 5 mL. Larutan dipipet 0,1 mL, 0,2 mL, 0,4 mL, 0,8 mL dan 1,6 mL dengan deret konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm, dan 160 ppm ditambahkan metanol p.a hingga 5 mL. Masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 0,1 mL larutan dan ditambah 2 mL larutan ABTS, larutan selanjutnya diinkubasi selama waktu *operating time* yang diperoleh dan

diukur serapan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum saat terjadi *operating time* (Patabang *et al*, 2019).

Analisis Data

1. Perhitungan Rendemen Ekstrak

% Rendemen = $\frac{\text{Bobot yang diperoleh}}{\text{Bobot bahan awal}} \times 100\%$

Bobot bahan awal

2. Perhitungan Regresi Linier

Hasil data absorbansi yang diperoleh dari pengukuran dimasukkan ke dalam persamaan regresi linier sebagai y dan nilai x sebagai konsentrasi larutan baku. Persamaan regresi linier dinyatakan dengan rumus di bawah ini :

$$y = bx + a$$

Deskripsi :

y = absorbansi

a = intersep/tetapan regresi

x = konsentrasi (ppm)

b = kemiringan kurva (*slope*)

Hasil absorbansi dari pengukuran sampel daun rambutan daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) dimasukkan ke dalam regresi linier. Kadar flavonoid total yang diperoleh dinyatakan sebagai jumlah mg ekuivalen kuersetin (QE) pada tiap gram ekstrak etanol dan infusa daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.). Menurut (Mukhriani *et al.*, 2019) perhitungan kadar flavonoid (F) total dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{Kadar Flavonoid Total (mg / 100 gr)} = \frac{\text{Konsentrasi} \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \times V}{\text{Berat Sampel (gr)}} \times Fp$$

Keterangan :

v = Volume ekstrak yang digunakan

Fp = Faktor pengenceran

3. Penentuan Aktivitas Antioksidan

Pengukuran presentase aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus (Mukhriani *et al.*, 2019):

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

4. Penetapan IC₅₀

Perhitungan nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration* 50%) menunjukkan besarnya konsentrasi senyawa larutan uji yang mampu meredam 50%, melalui persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi larutan uji (x) dengan % inhibisi (y) sehingga didapatkan persamaan regresi linier $y = bx + a$. Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan rumus persamaan regresi linier antara konsentrasi versus % penghambatan. Nilai IC₅₀ didapatkan dari nilai x setelah mengganti y = 50 (Raharjo *et al.*, 2022). Perhitungan nilai IC₅₀ dapat dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$y = bx + a$$

$$50 = bx + a$$

$$\text{IC}_{50} = \frac{50 - a}{b}$$

Alur Penelitian

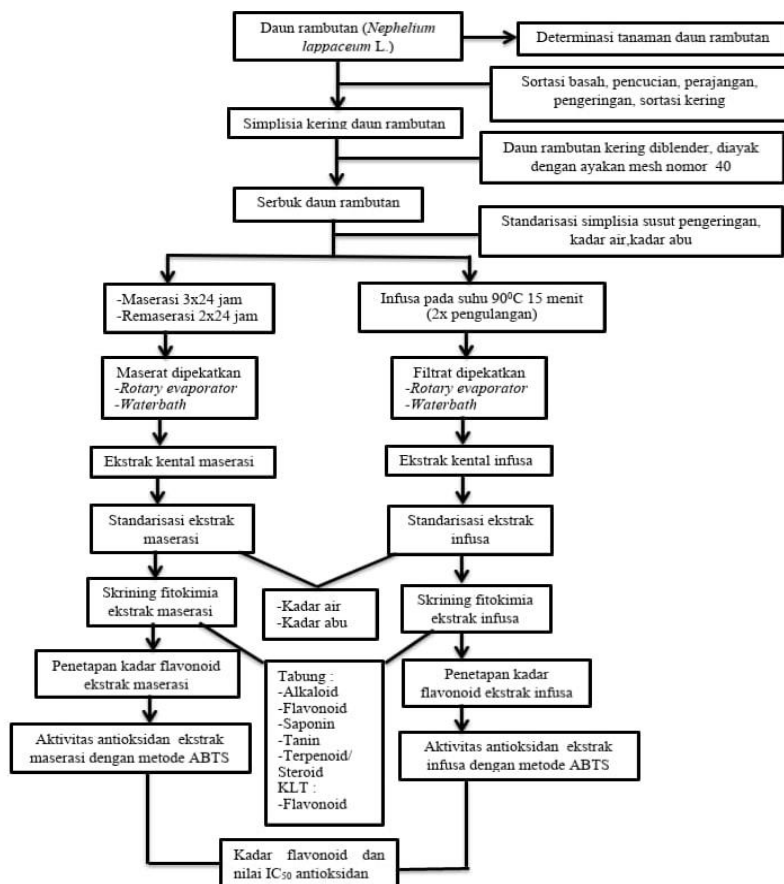


Figure 1. Alur Penelitian

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Determinasi

Daun rambutan dideterminasi di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT). Dilakukan determinasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman uji yang digunakan. Hasil determinasi diperoleh bahwa sampel tanaman yang di uji benar daun rambutan dengan nama latin *Nephelium lappaceum L.*

Preparasi Simplisia

Daun rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) dikumpulkan sebanyak 3 kg, disortasi basah kemudian dicuci, dirajang kemudian di keringkan. Proses pengeringan menggunakan metode pengeringan dengan sinar matahari langsung selama 4 hari, selanjutnya daun rambutan kering ditimbang diperoleh bobot 1.360 gram dengan rendemen simplisia sebesar 45,33%. Daun rambutan yang sudah kering lalu diserbukan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan mesh nomer 40. Didapatkan serbuk daun rambutan sebanyak 1.330 gram dengan rendemen serbuk sebesar 97,79%. Standarisasi susut pengeringan serbuk daun rambutan bertujuan untuk memberikan batasan besarnya senyawa yang hilang pada saat proses pengeringan. Hasil pengujian susut pengeringan serbuk daun rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) yaitu 8,75%. Pengujian kadar air serbuk daun rambutan

(*Nephelium lappaceum* L.) dilakukan menggunakan alat *moisture analyzer*. Diperoleh hasil kadar air serbuk daun rambutan sebesar 8.98% dimana kadar air tersebut telah memenuhi persyaratan standarisasi kadar air yaitu kurang dari 10% (Rukmawati *et al.*, 2017). Pengujian standarisasi simplisia kadar abu serbuk daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) bertujuan untuk menunjukkan tingginya kandungan mineral yang terkandung dalam simplisia. Hasil kadar abu serbuk daun rambutan sebesar 5,72%.

Pembuatan Ekstrak Etanol Dan Infusa

Dalam penelitian ini menggunakan dua metode ekstraksi yaitu ekstraksi dengan metode maserasi dan ekstraksi dengan metode infusa. Metode maserasi dipilih dalam penelitian ini karena merupakan metode ekstraksi yang sederhana, prosesnya mudah dan tidak dilakukan pemanasan sehingga dapat mencegah kerusakan senyawa kimia atau zat aktif yang terkandung didalam daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.). Pelarut yang digunakan dalam metode maserasi ini menggunakan pelarut etanol 96% karena pelarut etanol 96% adalah pelarut polar, dan mudah didapatkan. Kelebihan dari pelarut etanol 96% antara lain pelarut etanol 96% lebih mudah masuk dan berpenetrasi masuk ke dalam dinding sel sampel daripada pelarut etanol dengan kadar yang lebih rendah sehingga ekstrak yang dihasilkan lebih banyak dan lebih pekat selain itu pelarut etanol 96% selektif, tidak toksik, absorbansinya baik, dan kemampuan penyariannya tinggi sehingga dapat menyari senyawa yang bersifat non-polar, semi polar maupun polar (Aminah *et al.*, 2017). Hasil ekstrak etanol kental daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) diperoleh sebanyak 119,49 gr dengan rendemen yang diperoleh sebesar 29,86%. Metode infusa digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dan bahan-bahan nabati. Metode infusa dipilih karena cara ini sederhana, lebih mudah, murah dan pembuatnya lebih aplikatif (Ainia, 2017). Pelarut yang digunakan dalam proses infusa ini menggunakan pelarut aquadest. Pemilihan aquadest sebagai pelarut karena aquadest merupakan pelarut yang murah, mudah didapatkan, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar dan tidak beracun (Risfianty *et al.*, 2020). Hasil ekstrak infusa kental daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) yang diperoleh sebanyak 20,57 gr dengan rendemen diperoleh sebesar 20,57%. Proses penyarian simplisia, lama waktu ekstraksi sangat mempengaruhi hasil yang diperoleh. Semakin lama waktu ekstraksi, semakin tinggi rendemen yang diperoleh, karena kesempatan bereaksi antara bahan simplisia dengan pelarut semakin lama maka proses penetrasi pelarut kedalam sel bahan semakin baik dan menyebabkan semakin banyak senyawa yang berdifusi keluar sel (Wijaya *et al.*, 2018). Standarisasi kadar air ekstrak etanol dan ekstrak infusa diperoleh hasil 9,07% dan 6,57% dimana hasil tersebut telah memenuhi standar persyaratan dengan presentase nilai 5-30% (Riyani, 2021). Standarisasi kadar abu ekstrak etanol dan ekstrak infusa diperoleh hasil 2,49% dan 0,82% hasil tersebut menunjukkan rendahnya kandungan mineral di dalam ekstrak etanol dan ekstrak infusa daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.).

Skrining Fitokimia

Berdasarkan hasil pengujian skrining fitokimia pada ekstrak etanol daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) yang menggunakan metode tabung diketahui bahwa senyawa fitokimia yang terkandung didalam ekstrak etanol daun rambutan meliputi alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid dan steroid. Pengujian

pada ekstrak infusa daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) diketahui bahwa senyawa fitokimia yang terkandung didalam ekstrak infusa daun rambutan meliputi alkaloid, flavonoid, tannin, triterpenoid dan steroid.

Pengujian skrining fitokimia kromatografi lapis tipis (KLT) ekstrak etanol daun rambutan diperoleh hasil positif flavonoid karena adanya bercak berwarna biru dibawah sinar UV 366 nm dan terbentuk bercak berwarna kuning setelah disemprot AlCl_3 10% pada sinar tampak dengan nilai Rf 0,89. Hasil yang didapatkan dari uji kromatografi lapis tipis ekstrak infusa yaitu adanya bercak atau spot berwarna biru dibawah sinar UV 366 nm dan pada sinar tampak terbentuk bercak berwarna kuning setelah disemprot AlCl_3 10% dengan nilai Rf 0,78.

Penetapan Kadar Flavonoid

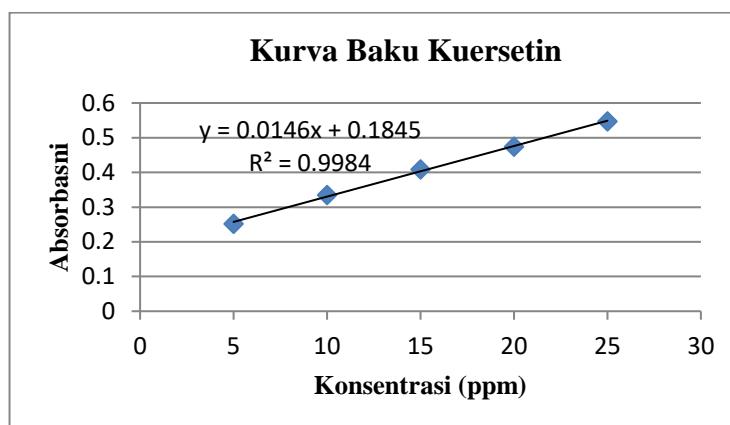
Penetapan kadar flavonoid ekstrak etanol dan infusa daun rambutan dilakukan menggunakan metode kolorimetri aluminium klorida dengan larutan baku kuersetin . Prinsip penetapan kadar flavonoid dengan metode aluminium klorida yaitu dapat membentuk kompleks antara aluminium klorida dengan gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari golongan flavon dan flavonol. Flavonoid memiliki kemampuan untuk menekan radikal bebas yang berkaitan dengan kemampuannya mendonorkan elektron. Hal tersebut yang menyebabkan hubungan antara kandungan total flavonoid dengan aktivitas antioksidan. Semakin tinggi nilai total fenol dan flavonoid maka semakin tinggi kemampuan antioksidan dalam mendonorkan elektronnya yang menekan perkembangan radikal bebas. Komponen fenolik ataupun flavonoid merupakan senyawa utama dalam peranan antioksidan (Nur *et al.*, 2019).

Pengukuran panjang gelombang maksimum bahwa panjang gelombang maksimum standar baku kuersetin yang diperoleh adalah 435 nm. Panjang gelombang maksimum yang didapatkan digunakan untuk menentukan *operating time*. Hasil penetapan *operating time* diperoleh pada menit ke 10-14. Hal tersebut menandakan pada menit ke 10-14 senyawa flavonoid sudah selesai bereaksi dengan aluminium klorida.

Penentuan kurva baku kuersetin bertujuan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi larutan dengan nilai absorbansi. Dibuat larutan baku kuersetin sebagai larutan standar dengan variasi deret konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm. Berikut hasil pengukuran absorbansi larutan standar kuersetin dengan variasi konsentrasi.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Larutan Standar Kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
5	0,252
10	0,335
15	0,408
20	0,474
25	0,547



Gambar 1. Hasil Penentuan Kurva Baku Kuersetin

Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi kurva baku kuersetin dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi, maka semakin tinggi nilai absorbansinya. Hasil pengukuran kurva baku diperoleh persamaan $y = 0,0146x + 0,1845$ dan nilai koefisien korelasi $r = 0,9984$. Nilai r yang mendekati angka 1 menunjukkan kurva kalibrasi linier dan terdapat hubungan antara konsentrasi larutan kuersetin dengan nilai absorbansi. Nilai y menyatakan absorbansi sampel dan nilai x menyatakan kadar flavonoid dalam sampel yang digunakan untuk menghitung kadar flavonoid pada ekstrak etanol dan ekstrak infusa daun rambutan (Hasanah *et al*, 2020). Berikut hasil penetapan kadar flavonoid pada ekstrak etanol dan ekstrak infusa daun rambutan.

Tabel 2. Hasil Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)

Sampel Ekstrak Etanol	Absorbansi	Kadar Flavonoid Total (mg QE/g)	Rata-Rata
Replikasi 1	0,527	23,459	
Replikasi 2	0,526	23,390	23,390
Replikasi 3	0,525	23,322	

Tabel 3. Hasil Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Infusa Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)

Sampel Ekstrak Infusa	Absorbansi	Kadar Flavonoid Total (mg QE/g)	Rata-Rata
Replikasi 1	0,365	12,363	
Replikasi 2	0,364	12,294	12,294
Replikasi 3	0,363	12,226	

Hasil penetapan kadar flavonoid ekstrak etanol dan ekstrak infusa daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.), didapat rata-rata kadar flavonoid yaitu 23,390 mg QE/g dan 12,294 mg QE/g.

Uji Aktivitas Antioksidan

Metode pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS. Metode ABTS dipilih sebagai pengujian aktivitas antioksidan karena ABTS dapat memberikan absorbansi yang lebih spesifik pada panjang gelombang visible dan waktu reaksi yang lebih cepat (Amin *et al.*, 2021). Prinsip pengujian metode ABTS yaitu penghilangan warna kation ABTS dan mengukur kapasitas antioksidan yang langsung bereaksi dengan radikal ABTS. Pengujian dengan metode ABTS dilakukan berdasarkan pada generasi ABTS biru atau hijau yang dapat direduksi oleh antioksidan. Flavonoid akan bereaksi dengan kation ABTS membentuk radikal ABTS yang lebih stabil sehingga akan terjadi proses oksidasi radikal yang dapat mempengaruhi intensitas warna berkurang karena direduksi oleh molekul ABTS dan terjadi perubahan warna menjadi hijau-biru. Antioksidan seperti flavonoid menekan pembentukan warna karena terjadi reduksi ABTS sehingga terjadi penurunan absorbansi (Nasir *et al.*, 2021).

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode ABTS, terlebih dahulu dilakukan penetapan panjang gelombang maksimum ABTS yang diperoleh adalah 730 nm, selanjutnya penentuan *operating time*, larutan stabil pada menit ke 10-14. Hal tersebut menandakan bahwa pada menit ke 10-14 merupakan waktu yang stabil untuk larutan ABTS bereaksi dengan antioksidan. Hasil *operating time* yang didapatkan, digunakan untuk mengatur waktu inkubasi sebelum melakukan pengukuran absorbansi. Berikut hasil pengujian aktivitas antioksidan.

Table 4. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Sam pel	Konse ntrasi (ppm)	% Inhibisi	IC 50 (ppm)	Keter angan
Kue rsetin	5	34 ,621	14 ,793	Sangat Kuat
	10	35 ,862		
	15	49 ,195		
	20	60 ,782		
	25	71 ,586		
Ekst rak Etanol	10	44 ,046	59 ,250	Kuat
	20	44 ,322		
	40	47 ,126		
	80	53 ,517		

	160	62		
		,759		
	10	35		
		,632		
	20	37		
Ekst		,885	97	Kuat
rak Infusa	40	40	,357	
		,368		
	80	50		
		,759		
	160	58		
		,207		

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan, kuersetin memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi daripada ekstrak etanol dan ekstrak infusa daun rambutan. Hal ini disebabkan karena kuersetin merupakan isolat yang hanya terdiri satu golongan senyawa dan sudah terbukti memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan ekstrak infusa daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) didapatkan nilai IC₅₀ ekstrak etanol lebih baik dibandingkan nilai IC₅₀ ekstrak infusa. Kedua metode ekstraksi ini menunjukkan aktivitas antioksidan yang sedang, maka dapat disimpulkan bahwa perbedaan metode ekstraksi sangat berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

KESIMPULAN

Kadar flavonoid ekstrak etanol dan ekstrak infusa daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) berturut-turut adalah 23,390 mg QE/g dan 12,295 mg QE/g. Ekstrak ekstrak etanol dan ekstrak infusa daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ berturut-turut 59,250 ppm dan 97,357 ppm. Ekstrak etanol memiliki kadar flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak infusa. Ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak infusa.

REFERENSI

- Ainia, N. (2017). Uji Fitokimia Infusa Pekat Buah Pare (*Momordica charantia* L.) dan Pengaruh Lama Terapi dengan Variasi Dosis Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Aloksan. *Skripsi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang*, 1–161.
- Amin, A., Riski, R., & Sutamanggala, N. R. (2021). Antioxidant activity of mesocarp extract of watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb) Matsun & Nakai) using ABTS method. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 6(1), 1–5.
- Aminah, A., Tomayahu, N., & Abidin, Z. (2017). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2), 226–230.

- Chigurupati, S., Vijayabalan, S., Selvarajan, K. K., Hashish, N. E., Mani, V., Ahmed, E. S., & Das, S. (2019). Identification Of Nephelium Lappaceum Leaves Phenolic And Flavonoid Component With Radical Scavenging, Antidiabetic And Antibacterial Potential. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 18(2), 360–365.
- Hamad, A., Jumitera, S., Puspawiningtyas, E., & Hartanti, D. (2017). Aktivitas Antibakteri Infusa Kemangi (*Ocimum basilicum L.*) Pada Tahu dan Daging Ayam Segar. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 2(1), 1–8.
- Hasanah, N., & Novian, D. R. (2020). Analisis Ekstrak Etanol Buah Labu Kuning (*Cucurbita moschata D.*). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 9(1), 54–59.
- Indrianingsih. (2020). Penetapan Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Dan Fraksi Daun Seledri (*Apium Graveolens L.*) Dengan Metode ABTS. *Skripsi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta*.
- Katrin, K., & Bendra, A. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak, Fraksi dan Golongan Senyawa Kimia Daun *Premna oblongata Miq.* *Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(1), 21–31.
- Leonardy *et al.* (2019). Karakterisasi dan Skrining Fitokimia Infusa Kulit Buah Nanas (*Ananas comosus (L.) Merr.*) Pada Variasi Usia Kematangan Buah. *Jurnal Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak*, 1–15.
- Mukhriani, M., Rusdi, M., Arsul, M. I., Sugiarna, R., & Farhan, N. (2019). Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Anggur (*Vitis vinifera L.*). *Ad-Dawaa' Journal Of Pharmaceutitcal Sciences*, 2(2).
- Nasir, N. H., Pusmarani, J., & Filmaharani. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanolik Daging Buah Semangka dan FRAP. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 7(2), 223–235.
- Nastiti, K., Noval, & D. Kurniawati. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Infusa (*Actinuscirpus Grossus*) dan Kulit Jeruk nipis (*Citrus Aurantifolia*). *Jurnal Surya Medika*, 7, 115–122.
- Ningrum, D. W., Kusriani, D., & Fachriyah, E. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Etanol Daun Johar (*Senna siamea Lamk.*). *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 20(3), 123–129. *Jurnal Kimia Sains Aplikasi*, (3) 123-129.
- Nur, S., Sami.J.F., Awaludin, A., & Afsari.A.I.M. (2019). Korelasi Antara Kadar Total Flavonoid dan Fenolik dari Ekstrak dan Fraksi Daun Jati Putih (*Gmelina arborea Roxb .*) Terhadap Aktivitas Antioksidan. 5(1), 33–42. *Jurnal Farmasi Galenika*, 5(1):33-42.
- Nurhidayah, Soeskendarsi, E., & Erviani, A. E. (2019). Kandungan Kolagen Sisik Ikan Bandeng (*Chanos-chanos*) dan Sisik Ikan Nilla (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Fakultas Biologi, Makassar*, 4(1), 39–47.
- Patabang,I., Kasim, S., Taba,P. (2019). Sintesis Nanopartikel Perak Menggunakan Ekstrak Daun Kluwak *Pangium edule Reinw* Sebagai Bioreduktor dan Uji Aktivitasnya Sebagai Antioksidan. 10(1), 42–50. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*, 10 (1), 42-50.
- Raharjo, D., Listyani, T. A., & Pambudi, D. B. (2022). Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Akar *Rhizophora stylosa* Metode ABTS dan FRAP. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 15(2), 123–137.
- Risfianty, D. K., & Indrawati. (2020). Perbedaan Kadar Tanin pada Infusa Daun

- Asam Jawa (*Tamarindus indica L.*) Dengan Metoda Spektrometer UV-VIS. *Lombok Journal of Science (LJS)*, 2(3), 1–7.
- Riyani, N. (2021). Penetapan Kadar Flavonoid Dan Uji Antioksidan Ekstrak Etanol Dan Fraksi Batang Beluntas (*Pluchea indica Less.*) Menggunakan Metode ABTS•+. *Skripsi Fakultas Ilmu Kesehatan*, 1–23.
- Rukmawati, Y. E. A., Hartini, S., & Cahyanti, M. N. (2017). Isoterm Sorpsi Air pada Tepung Ubi Jalar Terfermentasi dengan Angkak. *Jurnal Kimia Valensi*, 3(1), 71–78.
- Salem *et al.* (2022). Antioxidant And Cytotoxic Activities Of Different Solvent Fractions From *Murraya Koenigii* Shoot: HPLC Quantification And Molecelular Docking Of Identified Phenolics With Anti-Apoptotic Proteins. *Journal Bull.* 36(3), 651–666.
- Segara Yega M, Kurniawan Agus. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Flavonoid Total pada Ekstrak Etanol Daun Iler (*Coleus scutellarioides (L .) Benth .*) Antioxidant Activity Test and Determination of Total Flavonoid . Uji Aktivitas Antioksidan Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Pada Ekstrak Etanol Daun Iler (*Coleus Scutellarioides (L.) Benth.*) Antioxidant, *Jurnal Farmasi Dan Farmakoinformatika*,(10) 60–75.
- Siska, R. N. (2022). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Dan Fraksi Batang Waru (*Hibiscus tiliaceus L .*) Dengan Metode ABTS+ *Skripsi Universitas Duta Bangsa Surakarta*.
- Sopiah, B., Muliastari, H., & Yuanita, E. (2019). Skrining Fitokimia dan Potensi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Hijau dan Daun Merah Kastuba. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 17(1), 27.
- Suliska, N., Maryam, S., & Leni, N. (2020). Efek Antihiperqlikemia Ekstrak Etanol Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) Pada Mencit Jantan (Swiss Webster) Dengan Metode Induksi Glukosa. *Medicine and Health*, 2(6), 128–137.
- Syarif, U. I. N., Jakarta, H., Ikhlas, N. U. R., Kedokteran, F., Ilmu, D. A. N., & Farmasi, P. S. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Herba Kemangi (*Ocimum americanum Linn*) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 4 (2), 241-245.
- Tarasia Gandes Belani. (2021). Solvent Optimazation Of Rambutan Leaf Extract (*Nephelium lappaceum L.*) Againts Total Flavonoid Content And Antioxidant Activity by Simplex lattice Design Method. *Skripsi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Di Surakarta*.
- Wardani, Y. (2020). Penetapan Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Dari Ekstraksi Dan Fraksi Daun Kluwih (*Artocarpus camansi*) Dengan Metode ABTS (*Determination*). *Skripsi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta*, 21(1), 1–9.
- Wijaya, H., Novitasari, & Jubaidah, S. (2018). Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambui Laut (*Sonneratia caseolaris L. Engl*). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 4(1), 79–83.
- Yenerel, N. M., Dinc, U. A., & Gorgun, E. (2018). A case of sterile endophthalmitis after repeated intravitreal bevacizumab injection. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 24(3), 362–363.

