

Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil)

Dian Pratiwi¹, Fatimawali¹, Jainer Pasca Siampa¹

1) Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi, Manado
Email : dpsalilama@gmail.com, fatimawali@unsrat.ac.id, jainerpsampa@unsrat.ac.id

ABSTRACT

Antioxidants are compounds that bind to oxygen free radicals and prevent them from damaging healthy cells. Clerodendrum minahassae Teijsm. & Binn. (C. minahassae) has been used empirically by people in several areas in North Sulawesi. This plant is efficacious for treating various diseases and also contains nutrients that strengthen the body's immunity. This researched was conducted to determine the antioxidant activity of C. minahassae. Samples was extracted by 1:10 ethanol solvent maceration method and followed by fractionation with aquadest, ethanol, ethyl acetate and n-butanol respectively by liquid-liquid fractionation. Extracts and fractionation results werw used in antioxidant testing used the DPPH method. The results obtained in the antioxidant test of C. minahassae extract and fractions had very strong antioxidant abilities based on the Bloise classification, namely an IC_{50} valued of less than 50 ppm, where the ethyl acetate fraction had the highest antioxidant activity with an IC_{50} valued of 5. 76 ppm.

Keywords : antioxidants, *Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn., DPPH, UV-Vis Spectrophotometry

ABSTRAK

Antioksidan adalah senyawa yang mengikat radikal bebas oksigen dan mencegahnya merusak sel-sel sehat. *Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn. (*C. minahassae*) telah digunakan secara empiris oleh masyarakat di beberapa daerah di Sulawesi Utara. Tanaman ini berkhasiat untuk mengobati berbagai penyakit dan juga mengandung nutrisi yang memperkuat imunitas tubuh. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada tanaman *C. minahassae*. Sampel diekstraksi dengan metode maserasi pelarut etanol 1:10 dan dilanjutkan fraksinasi dengan masing-masing aquadest, etanol, etil asetat dan n-butanol dengan fraksinasi cair-cair. Ekstrak dan hasil fraksinasi digunakan pada pengujian antioksidan menggunakan metode DPPH. Hasil yang didapat pada pengujian antioksidan *C. minahassae* ekstrak dan fraksi mempunyai kemampuan antioksidan yang sangat kuat berdasarkan klasifikasi Bloise, yaitu nilai IC_{50} yang kurang dari 50 ppm, dimana fraksi etil asetat dengan aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC_{50} 5,76 ppm.

Kata Kunci : antioksidan, *Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn., DPPH, Spektrofotometri UV-Vis

1. PENDAHULUAN

Antioksidan adalah senyawa yang mengikat radikal bebas oksigen dan mencegahnya merusak sel-sel sehat (Dontha, 2016). Ada dua jenis antioksidan yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan. Antioksidan alami dapat diperoleh dari buah-buahan dan tumbuhan, sedangkan antioksidan buatan manusia dibuat melalui reaksi kimia sintetik. Antioksidan alami yang banyak terdapat pada tumbuhan adalah senyawa fenolik dan flavonoid (Rahmi, 2017).

Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas dengan mendonorkan atom proton,

sehingga menjadi stabil dan tidak reaktif. (Sing, 2004). Terdapat sistem enzim dismutase superoksida yang berfungsi sebagai antioksidan, namun ketika jumlah radikal bebas melebihi jumlah enzim yang ada dalam tubuh, diperlukan tambahan antioksidan dari luar. Oksidan terbagi menjadi dua jenis yaitu antioksidan buatan dan antioksidan alami (Veeru dkk., 2009).

Tanaman leilem (*Clerodendrum minahasae* Teijsm. & Binn.) termasuk dalam famili Lamiaceae, digunakan sebagai sumber pangan oleh masyarakat Minahasa. Pada penelitian sebelumnya, efek antioksidan daun leilem diuji dan setiap gram ekstrak daun leilem memiliki

efek antioksidan yang sama dengan 200 mg vitamin E (Emor, 2006).

Daun leilem dianggap sebagai tanaman fungsional selain dari pemanfaatannya sebagai makanan karena mengandung senyawa bioaktif. Secara tradisional, daun leilem bertindak sebagai obat cacing dan dapat menghilangkan (mangi) pada bayi dan anak kecil (Runtuwene dan Tangkuman, 2008).

Tanaman Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) telah digunakan secara empiris oleh masyarakat di beberapa daerah di Sulawesi Utara. Tanaman ini juga dikenal sebagai bahan pembuatan Tinutuan (bubur Manado), makanan khas Manado. Tanaman ini berkhasiat untuk mengobati berbagai penyakit seperti gangguan pencernaan, maag, radang usus, mangi pada bayi, sakit perut, penyakit paru-paru, dan juga mengandung nutrisi yang memperkuat imunitas tubuh (Utami dan Umar, 2017).

Secara umum, uji in vitro antioksidan menggunakan perangkap radikal bebas relatif mudah dilakukan. Metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) umumnya digunakan untuk menangkap radikal bebas. Metode ini mudah, cepat, dan murah dibandingkan metode lainnya (Dontha, 2016)..

Berdasarkan uraian sebelumnya, peneliti ingin menguji aktivitas antioksidan pada tanaman leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm dan Binn.) dan mengetahui tingkat kekuatan antioksidan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil).

2. METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2022 sampai Januari 2023 di Laboratorium Kimia Farmasi, Program studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi Manado.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 00780), ayakan, komputer pengolah data, kertas lakmus, pH meter digital (ATC), vortex mixer, timbangan analitik (aeADAM), mikro pipet, pipet tetes, hot plate dan alat-alat gelas.

Bahan-bahan yang dipakai ialah simplisia kering daun Leilem, DPPH, akuades, etil asetat, etanol, metanol dan n-butanol.

Prosedur Kerja

Pengambilan Sampel

Daun leilem segar diperoleh dari desa Tanamon, Kecamatan Sinonsayang, Minahasa Selatan. Sampel yang digunakan adalah bagian daun tanaman leilem. Pengambilan sampel dengan cara memetik daun leilem mulai dari bagian tangkai hingga daun sampel.

Pengolahan Sampel

Pengolahan sampel meliputi pengeringan sampel dengan cara diangin-anginkan, tidak terkena paparan sinar matahari langsung. Pengeringan dilakukan untuk menghilangkan kadar air dalam bahan untuk memperlancar proses analisis dan menambah daya awet bahan tersebut yang selanjutnya dilakukan proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 2 kali (maserasi dan remaserasi) lalu di filtrasi. Hasil filtrasi diuapkan menggunakan Rotary Evaporator lalu di oven pada suhu 40°C sampai ekstrak menjadi kental atau kering.

Ekstraksi Sampel

Sampel yang telah diolah dan dihaluskan dimaserasi dengan pelarut etanol dengan perbandingan 1:10 (100 gram serbuk : 1000 mL pelarut). Maserasi dilakukan dalam wadah toples kaca, selama 24 jam pada suhu ruang. Ekstrak tersebut kemudian dimasukkan ke dalam oven untuk penguapan agar mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang didapat kemudian dilakukan fraksinasi dengan empat pelarut yaitu aquadest, etil asetat, etanol dan n-butanol.

Fraksinasi Sampel

Diambil 1gr ekstrak etanol daun leilem dan dicampur 100ml pada masing-masing ke empat pelarut tersebut, dicampur hingga homogen, dipisahkan pada corong pisah dan dioven selama 24 jam. Untuk keperluan analisis, ekstrak kental tersebut disimpan dalam wadah toples kecil tertutup pada lemari es.

Pembuatan Larutan Induk Ekstrak Konsentrasi 1000ppm

Sebanyak 100 mg sampel dilarutkan dengan Ethanol p.a dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml, volume dicukupkan dengan Ethanol p.a sampai tanda batas.

Tabel 1. Pembuatan Larutan Uji Seri Konsentrasi

Konsentrasi (ppm)	Larutan stok (ml)	Ethanol p.a (ml)
25	0,25	10
50	0,50	10
75	0,75	10
100	1,00	10
125	1,25	10

Pembuatan Larutan DPPH

Serbuk DPPH (BM 394,32) 0.39432 gram dilarutkan dengan Etanol p.a 10 ml. Larutan DPPH 0.1M dipipet 100µl dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml dicukupkan dengan metanol p.a sampai tanda batas (DPPH 0.1mM).

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Larutan DPPH 0.1mM sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan dengan Etanol p.a 2 ml, divortex hingga homogen lalu dituang ke dalam kuvet dan diukur pada panjang gelombang 400-600 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Musfiroh dan Syarif, 2009) panjang gelombang maksimum 517 nm.

Pembuatan Larutan Blanko

Larutan DPPH 0.15mM sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan metanol p.a 2 ml, divortex hingga homogen, diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit, selanjutnya serapan diukur pada panjang gelombang 517 nm.

Penentuan Persen Inhibisi

Aktivitas penangkal radikal diekspresikan sebagai persen inhibisi yang dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{inhibisi} = \frac{\text{Abs Blanko} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs Blanko}} \times 100\%$$

Penentuan Nilai IC₅₀ (Inhibitory Concentration)

Konsentrasi sampel dan persen inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linier. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC₅₀ dari masing-masing sampel dinyatakan sebagai nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC₅₀ (Nurjanah dkk., 2011).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN**Identifikasi Sampel**

Proses Identifikasi Sampel daun leilem (*Clerodendrum minahassae* teism dan binn.) dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Program Studi Biologi FMIPA UNSRAT Manado. Identifikasi ini dilakukan untuk membuktikan kebenaran sampel tumbuhan daun leilem.

Preparasi Sampel

Sortasi dilakukan untuk menghilangkan tanah, kerikil, rumput-rumputan, bagian tanaman lain atau bagian lain dari tanaman yang tidak digunakan dan bagian daun yang rusak. Kemudian dicuci untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun leilem dan dikeringkan di ruangan terbuka dengan panas ruangan selama 1 minggu. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air, mencegah pertumbuhan jamur agar mendapatkan sampel dengan senyawa kimia yang tidak mudah rusak dan dapat disimpan dalam waktu lama.

Sampel yang telah kering, dihaluskan dengan blender kemudian di ayak hingga diperoleh serbuk kering (simplisia). Pembuatan serbuk ini dapat mempermudah proses ekstraksi. Menurut Sapri dkk (2014) ukuran dari serbuk simplisia berpengaruh terhadap rendemen ekstrak yang diperoleh, dimana semakin kecil ukuran serbuk simplisia, maka semakin besar rendemen ekstrak. Hal tersebut dikarenakan semakin kecil ukuran serbuk maka permukaan dari serbuk semakin luas sehingga memperbesar terjadinya kontak antar partikel serbuk dengan pelarut.

Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi

Dalam proses ekstraksi, pemilihan pelarut memegang peranan penting untuk menentukan berhasil atau tidaknya proses ekstraksi tersebut. Beberapa jenis solven yang sering digunakan dalam mengekstrak suatu bahan produk antara lain : asam asetat, metanol, etanol, dan air (Angelia, 2019).

Pada penelitian ini metode yang digunakan yaitu metode ekstraksi secara maserasi. Istilah dari maceration yang berasal dari bahasa latin macerare, memiliki arti merendam. Metode ekstraksi secara maserasi merupakan proses paling tepat yang dimana obat sudah halus siap untuk direndam dalam pelarut sampai meresap, melunakkan susunan sel, kemudian zat-zat mudah larut akan melarut. Maserasi adalah metode penyarian yang sederhana digunakan pada simplisia yang megandung zat aktif mudah

larut dalam larutan penyari dilakukan dengan cara merendam semua serbuk simplisia dalam larutan penyari (Sitepu, 2010).

Berdasarkan hasil ekstraksi 100 gram daun leilem maka diperoleh jumlah hasil rendemen dari ekstrak etanol adalah sebesar 23,56%. Pelarut etanol merupakan pelarut polar yang memiliki titik didih cukup rendah sehingga mudah untuk diuapkan ketika larut dalam senyawa organik dan memberikan ekstrak yang bersih. Menurut Handa dkk (2008), ekstraksi memiliki efisiensi yang dipengaruhi dari berbagai hal, meliputi sifat-sifat pelarut ekstraksi, ukuran partikel bahan baku, rasio pelarut, suhu ekstraksi dan durasi ekstraksi. Dari hasil rendemen ekstrak etanol daun leilem yang didapat kemudian di lanjutkan ke proses fraksinasi.

Esktrak kental dari proses maserasi sebelumnya dilanjutkan pada proses fraksinasi dengan

mencampur 1gr esktrak kental dengan 100ml pada masing-masing ke empat pelarut yakni aquadest, etanol, etil asetat dan n-butanol, kemudian dicampur hingga homogen dan hasil pemisahan pada corong pisah dioven selama 24 jam agar didapatkan 4 fraksi kental.

Aktivitas Antioksidan

Pada pengujian ini didapat fraksi aquadest, etanol, etil asetat, n-butanol daun leilem yang dibuat sebagai larutan uji dengan perlakuan konsentrasi 25, 50, 75, 100 dan 125 ppm yang mendapatkan nilai IC₅₀ 13,18 ppm untuk etanol, IC₅₀ 16,85 ppm untuk aquadest, IC₅₀ 13,46 ppm untuk n-butanol dan IC₅₀ 5,76 ppm untuk etil asetat. Berikut adalah hasil pengujian aktivitas antioksidan dari keempat fraksi daun leilem:

Tabel 2. Aktivitas Antioksidan Fraksi Aquadest

Konsentrasi (ppm)	Ulangan Absorbansi			Rata-rata	%Inhibisi	IC ₅₀
	U1	U2	U3			
25	0,398	0,395	0,399	0,397	48,37	16, 85024
50	0,305	0,304	0,303	0,304	60,46	
75	0,285	0,284	0,281	0,283	63,19	
100	0,251	0,25	0,252	0,251	67,36	
125	0,241	0,239	0,24	0,24	70,79	

Tabel 3. Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Butanol

Konsentrasi (ppm)	Ulangan Absorbansi			Rata-rata	%Inhibisi	IC ₅₀
	U1	U2	U3			
25	0,398	0,374	0,399	0,39	49,28	13, 45974
50	0,255	0,257	0,252	0,254	66,97	
75	0,241	0,242	0,243	0,242	68,53	
100	0,193	0,194	0,195	0,194	74,77	
25	0,398	0,374	0,399	0,39	49,28	

Tabel 4. Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat

Konsentrasi (ppm)	Ulangan Absorbansi			Rata-rata	%Inhibisi	IC ₅₀
	U1	U2	U3			
25	0,329	0,329	0,327	0,328	57,34	5, 76091
50	0,356	0,297	0,295	0,316	58,9	
75	0,284	0,282	0,283	0,283	63,19	
100	0,217	0,216	0,216	0,216	71,91	
25	0,329	0,329	0,327	0,328	57,34	

Tabel 5. Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat

Konsentrasi (ppm)	Ulangan Absorbansi			Rata-rata	%Inhibisi	IC ₅₀
	U1	U2	U3			
25	0,329	0,329	0,327	0,328	57,34	5, 76091
50	0,356	0,297	0,295	0,316	58,9	
75	0,284	0,282	0,283	0,283	63,19	
100	0,217	0,216	0,216	0,216	71,91	
25	0,329	0,329	0,327	0,328	57,34	

Pengujian metode DPPH dilakukan dengan prinsip reaksi antara radikal DPPH dengan senyawa antioksidan yang ada di dalam sampel. Nilai antioksidan ditentukan dengan menggunakan IC₅₀ (Inhibition Concentration) dengan cara pengukuran absorbansi blanko dan sampel.

Pengukuran panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 517 nm, pengukuran ini bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang yang menghasilkan nilai serapan paling maksimum. Hasil memperlihatkan panjang gelombang maksimum larutan DPPH sebesar 517nm hal ini sesuai dengan pernyataan Molyneux (2004) DPPH dapat memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 515-520.

Nilai IC₅₀ ditetapkan berdasarkan persamaan regresi linier yang telah didapatkan sebelumnya. Nilai IC₅₀ didapatkan dari nilai x pada persamaan $Y = a + bx$. Sementara nilai Y adalah nilai IC₅₀ telah ditetapkan yaitu 50. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin besar aktivitas antioksidan. Nilai IC₅₀ yang telah didapatkan kemudian dicocokkan menggunakan klasifikasi antioksidan menurut Blois untuk mengetahui kekuatan aktivitas antioksidan larutan uji.

Pada penelitian sebelumnya oleh Rachmatiah dkk (2022) yang menggunakan 4 variabel pengujian aktivitas antioksidan yang mendapatkan hasil fraksi etil asetat yang paling aktif dalam meredam radikal bebas DPPH karena memberikan serapan yang paling rendah fraksi lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa dalam fraksi etil asetat mengandung paling banyak senyawa yang dapat meredam radikal bebas DPPH yang menyebabkan konsentrasi DPPH menurun, sehingga memberikan serapan yang paling rendah. Hal ini sejalan dengan nilai IC₅₀ pada fraksi etil asetat yang didapat pada pengujian ini dengan nilai IC₅₀ 5,76 ppm.

Dalam hal ini kemampuan menangkap radikal bebas fraksi daun leilem termasuk dalam golongan sangat kuat. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyatakan tingkat kekuatan

antioksidan dengan menggunakan metode DPPH dapat digolongkan berdasarkan IC₅₀.

Nilai IC₅₀ ditetapkan berdasarkan persamaan regresi linier yang telah didapatkan sebelumnya. Nilai IC₅₀ didapatkan dari nilai x pada persamaan $Y = a + bx$. Sementara nilai Y adalah nilai IC₅₀ telah ditetapkan yaitu 50. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin besar aktivitas antioksidan. Nilai IC₅₀ yang telah didapatkan kemudian dicocokkan menggunakan klasifikasi antioksidan menurut Blois untuk mengetahui kekuatan aktivitas antioksidan larutan uji.

Tabel 6. Klasifikasi aktivitas antioksidan menurut Blois (Bahriul dkk., 2014)

Nilai IC ₅₀	Kategori Antioksidan
< 50 ppm	Sangat Kuat
50 - 100 ppm	Kuat
101 - 150 ppm	Sedang
151 - 200 ppm	Lemah
> 200 ppm	Sangat Lemah

Pemilihan jenis pelarut yang sesuai merupakan faktor penting yang sangat berpengaruh untuk mendapatkan hasil terbaik dalam pengujian ini. Pelarut yang digunakan adalah yang dapat dengan mudah mengekstrak sebagian besar senyawa yang diinginkan tanpa melarutkan zat lain. Etanol adalah pelarut umum yang dapat menarik senyawa polar dan non-polar. Etanol lebih mudah menembus membran sel untuk menarik bahan dalam sel tanaman. Oleh karena itu, proses fraksinasi dilakukan dengan menggunakan pelarut non polar (n-butanol) dan pelarut semi polar (etil asetat) untuk memisahkan senyawa dalam ekstrak berdasarkan kepolarannya.

Pada penelitian sebelumnya oleh Kairupan dkk (2019) ditemukan bahwa ekstrak daun leilem mampu mereduksi dengan stabil radikal DPPH berwarna ungu, menjadi DPPH.-H yang berwarna kuning mencapai 50% reduksi. Ekstrak daun

leilem memiliki kemampuan pendonor hidrogen yang kuat. Hubungan yang signifikan ditemukan antara potensi antioksidan dan kandungan fenolik total menunjukkan aktivitas antioksidan pada tanaman *Clerodendrum minahasae*. Menurut Kairupan dkk (2019), ekstrak etanol daun leilem memiliki manfaat mengobati hiperlipidemia dan aterosklerosis berkat aktivitas antioksidannya yang tinggi dan jumlah senyawa polifenol yang nyata menjadikan *Clerodendrum minahasae* sebagai tanaman potensial untuk digunakan sebagai sumber antioksidan alami. Pada studi fitokimia sebelumnya juga ditemukan bahwa pada tanaman leilem mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, steroid, dan fenol, sedangkan terpen dan tanin tidak terdeteksi. Senyawa-senyawa fitokimia ini mendukung bioaktivitas yang berperan dalam aktivitas antioksidan (Bhattacharyya dkk., 2017).

4. KESIMPULAN

Menurut hasil penelitian, didapat kesimpulan sebagai berikut:

- a. Terdapat aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi aquadest, etil asetat dan n-butanol dengan nilai IC₅₀ berturut-turut 13,18 ppm ; 16,85 ppm, 5,76 ppm dan 13,46 ppm.
- b. Tingkat kekuatan antioksidan ekstrak dan fraksi-fraksi tersebut termasuk sangat kuat berdasarkan klasifikasi Blois.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap aktivitas antioksidan daun leilem (*Clerodendrum minahasae* Teijsm. & Binn.), dengan melakukan skrining fitokimia agar dapat diketahui kandungan senyawa apa saja yang ada di dalam ekstrak dan fraksi daun leilem sehingga memiliki aktivitas antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

Bahriul, P., N. Rahman., A. W. M. Diah. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Akademika Kimia*. 3(3): 368-374.

Bhattacharyya, P., S. Kumaria., B. Bose., P. Paul., P. Tandon. 2017. Evaluation of Genetic Stability and Analysis of Phytomedicinal Potential In Micropropagated Plants of *Rumex Nepalensis* - A Medicinally Important

Source of Pharmaceutical Biomolecules. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 6: 80-91.

Dontha, S. 2016. A Review On Antioxidant Methods. *Asian J Pharm Clin Res*. 9(2): 14-32.

Emor, N. 2006. Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Leilem (*Clerodendrum minahasae*). Manado, Indonesia: Sam Ratulangi

Handa, S. S., S. P. S. Khanuja, G. Longo., D. D. Rakesh. 2008. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. Italy: ICS-UNIDO.

Musfiroh dan Syarief. 2009. Uji Aktivitas Peredaman Radikal Bebas Nano Partikel Dengan Berbagai Konsentrasi Sebagai Material Antiaging dalam Kosmetik. *UNESA Journal of Chemistry*

Nurjanah, L., Izzati., A. Abdullah. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kerang Pisau (*Solen spp*). *Jurnal Ilmu kelautan*. 16(3): 119-124.

Rachmatiah, T., J. J. Daud., N. Artanti. 2022. Aktivitas Antioksidan, Toksisitas, Kandungan Senyawa Fenol dan Flavonoid Total dari Daun Leilem (*Clerodendrum minahasae* Teijsm. & Binn). *Sainstech Farma*. 15(1): 35-43.

Rahmi, H. 2017. Review: Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Sumber Buah-buahan di Indonesia. *Jurnal Agrotek Indonesia*. 2(1): 34-38.

Runtuwene, M. R., dan T. Herling. 2008. Potensi Antioksidan Beberapa Tumbuhan Pada Tanaman Nasional Tangkoko Sulawesi Utara. *Jurnal Formas*. 2(1): 66-63.

Sapri., A. Fitriana., R. Narulita. 2014. Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia Terhadap Rendemen Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan Metode Maserasi. Di dalam: Seminar Nasional Kimia. Prosiding Seminar Kimia.

Sing, R.P., S. Shard., S. Kapur. 2004. Free Radicals and Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. Relevance of Dietary Antioxidants. 5: 218-25.

Sitepu, J. S. G.. 2010. Pengaruh Variasi Metode Ekstraksi Secara Maserasi Dan Dengan Alat Soxhlet Terhadap Kandungan Kurkuminoid Dan Minyak Atsiri Dalam Ekstrak Etanolik

- Kunyit (*Curcuma Domestica* Val.) Skripsi.
Yogyakarta. Fakultas Farmasi Universitas
Sanata Dharma.
- Utami, Y.P., dan A. H. Umar. 2017. Standardisasi
Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem
(*Clerodendrum minahassae* Teijsm. &
Binn.). *Journal of Pharmaceutical and
Medicinal Sciences*.
- Veeru, P., M. P. Kishor., M. Meenakshi. 2009.
Screening of Medicinal Plant Extracts for
Antioxidant Activity. *Journal of Medicinal
Plant Research*. 3: 8-12.