

ANTIOKSIDAN DARI DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*)

Antioxidant of Red Betel (*Piper crocatum*) Leaves

*Jeane Maria Mustika Tonahi, Siti Nuryanti, dan Suherman

Pendidikan Kimia/FKIP - Universitas Tadulako, Palu - Indonesia 94118

Received 21 July 2014, Revised 22 August 2014, Accepted 25 August 2014

Abstract

*Research on the antioxidant activity testing has been done using red betel (*Piper crocatum*) leaves in Palu, Central Sulawesi. This research was conducted to determine the IC₅₀ value and antioxidant activity of red betel leaves extracts which has the ability as a natural antioxidant. This research was conducted with an experimental method using an extraction maceration technique, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) as free radicals, vitamin C as a positive control, UV-Vis spectrophotometer as an antioxidant test equipment with red betel leaves extracts as samples. Samples of red betel leaves were used as much as 30 grams, and the solvent were absolute ethanol. Various concentrations of the red betel leaves extracts were 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, and 80 ppm. Testing of antioxidant activity was done by using a UV-Vis Spectrophotometer and IC₅₀. The results showed that the IC₅₀ value of the red betel leaves (*Piper crocatum*) extracts was 47.45 ppm. The red betel leaves extract was categorized into a very powerful antioxidant based on IC₅₀ value, where the optimum percentage of red betel leaf extract activity in inhibiting free radical was 81.82%.*

Keywords: Antioxidant, red betel leaves, flavonoid, tannin, UV-Vis

Pendahuluan

Metabolisme yang terjadi di dalam tubuh melibatkan proses oksidasi dan reduksi. Proses oksidasi dapat menyebabkan terbentuknya suatu oksidan atau radikal bebas yang berbahaya bagi tubuh (Halliwell, dkk., 1995). Oksidan merupakan molekul yang tidak stabil karena memiliki elektron yang tidak berpasangan sehingga molekul ini dapat menyerang makromolekul sel seperti lipid, protein, atau DNA. Makromolekul yang terserang oleh oksidan dapat mengalami kondisi oksidasi yang menyebabkan terjadinya kerusakan protein, DNA, penuaan dini, kanker, serangan jantung, dan penyakit degeneratif lainnya (Middleton, dkk., 1998). Oleh karena itu oksidan ini perlu dihambat dengan senyawa antioksidan.

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam. Berdasarkan sumber perolehannya ada dua macam antioksidan, yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan (sintetik). Tubuh manusia tidak

mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Adanya kekhawatiran akan kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan (Hertiani, dkk., 2000).

Daun sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki bentuk eksotik dengan permukaan daunnya bergelombang disertai warna daun hijau, pink, dan perak pada permukaan atas daun, serta warna merah keunguan pada permukaan bawah daun sehingga menarik perhatian banyak orang. Selain menarik keindahannya, tanaman ini juga mendapat perhatian khusus dari kalangan herbalis karena mampu mengobati berbagai macam jenis penyakit (Sudewo, 2005). Bagi kalangan kolektor tanaman hias, sirih merah selain mampu mendatangkan uang, juga dapat sebagai obat dan tanaman hias yang menarik. Di Indonesia sirih merah perlu diusahakan pengembangannya, karena selain banyak orang yang membutuhkan sebagai obat, juga sebagai tanaman hias. Untuk itu budidaya sirih merah sangat potensial dikembangkan, sehingga selain dapat meningkatkan pendapatan dan

*Correspondence:

Jeane Maria Mustika Tonahi
Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan
Ilmu Pendidikan, Universitas Tadulako
email: jeane_maria22@yahoo.com
Published by Universitas Tadulako 2014

keindahan lingkungan, juga dapat menjadi tanaman obat keluarga (Sumarwoto, dkk., 2008).

Salah satu manfaat daun sirih adalah sebagai antioksidan pada makanan, terutama pada makanan yang mengandung minyak dan lemak. Khasiat sirih merah itu disebabkan oleh adanya sejumlah senyawa aktif yang dikandungnya, antara lain flavonoid, alkaloid, poleanolad, tanin, dan minyak atsiri. Senyawa flavonoid dan poleanolad bersifat antioksidan, antidiabetik, antikanker, antiseptik, dan antiinflamasi. Sedangkan senyawa alkaloid mempunyai sifat antineoplastik yang juga ampuh menghambat pertumbuhan sel-sel kanker (Sudewo, 2005).

Daun sirih merah mengandung flavanoid, poleanolad, tanin, dan minyak atsiri. Secara empiris zat aktif itu memiliki efek mencegah antikejang, membasmi kuman, penghilang rasa nyeri dan menghilangkan bengkak. Di samping itu bisa juga untuk mengatasi radang paru, radang tenggorokan, gusi bengkak, radang payudara, hidung mimisan, kencing manis, ambeien, jantung koroner, darah tinggi, asam urat dan batuk berdarah (Hermiati, dkk., 2013).

Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzimatis maupun non enzimatis. Flavonoid bertindak sebagai penampung radikal hidroksi dan superoksida yang baik dengan demikian dapat melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak. Aktivitas antioksidannya dapat menjelaskan alasan flavonoid tertentu dapat menjadi komponen aktif tumbuhan yang digunakan secara tradisional untuk mengobati gangguan fungsi hati (Robinson, 1995). Flavonoid dikenal sebagai antioksidan dan memberikan daya tarik sejumlah peneliti untuk meneliti flavonoid sebagai obat yang berpotensi mengobati penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas.

Aktivitas sebagai antioksidan dimiliki oleh sebagian besar flavonoid disebabkan adanya gugus hidroksi fenolik dalam struktur molekulnya. Ketika senyawa-senyawa ini bereaksi dengan radikal bebas, mereka membentuk radikal baru yang distabilisasi oleh efek resonansi inti aromatik (Rohyami, 2008).

Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, anti bakteri dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan

dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut (Liberty, 2012). Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin memiliki peranan biologis yang kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkhelat logam. Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis (Hagerman, 2002).

Aktivitas ekstrak daun sirih merah sebagai antioksidan diuji dengan menggunakan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Pengukuran antioksidan secara efek peredaman radikal bebas DPPH merupakan metoda pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen. Hasil pengukuran menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum tidak berdasarkan jenis radikal yang dihambat. DPPH berperan sebagai radikal bebas yang diredam oleh antioksidan dari bahan uji, dimana DPPH akan bereaksi dengan antioksidan tersebut membentuk 1,1-difenil-2-pikril hidrazin. Reaksi ini menyebabkan terjadinya perubahan warna yang dapat diukur dengan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 517 nm, sehingga aktivitas peredaman radikal bebas oleh sampel dapat ditentukan (Rachmawati & Ciptati, 2011)

Metode

Penelitian dilakukan di Laboratorium Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Tadulako, Palu. Peralatan yang digunakan: oven, corong, neraca analitik, blender, seperangkat alat rotary vacuum evaporator, spektrofotometer UV-Vis PG Instruments Ltd, penangas air, dan peralatan gelas yang umum di laboratorium. Bahan-bahan yang digunakan: ekstrak daun sirih merah, etanol absolute, reagen Mayer, logam Magnesium, larutan FeCl₃ 1%, HCl pekat, aquadest, 1,1-difenilpikrilhidrazil (DPPH) dan Vitamin C (Merck).

Preparasi sampel dilakukan dengan menyiapkan dan membersihkan sampel daun sirih merah dari kotoran yang menempel, memotong kecil-kecil, selanjutnya mengeringkan sampel daun sirih merah dengan cara diangin-anginkan. Setelah kering, kemudian sampel dihaluskan dengan menggunakan blender. Sampel daun sirih merah yang halus tersebut siap untuk diekstraksi. Pembuatan ekstrak daun sirih merah dimulai dengan menimbang 30 gram serbuk kering daun sirih merah. Sampel dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan dengan 300

mL etanol. Kemudian menutup erlenmeyer tersebut dengan menggunakan aluminium foil dan direndam selama 2 x 24 jam (48 jam) sambil dikocok menggunakan shaker orbital. Ekstrak disaring menggunakan saring dan filtrat yang didapatkan akan digunakan dalam pengujian metabolit sekunder.

Uji Aktivitas Antioksidan

1) Pembuatan Larutan

Larutan induk dan larutan pembanding dipipet masing-masing 0,5 mL, 1 mL, 1,5 mL, dan 2 mL, kemudian masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL, setelah itu ditambahkan 5 mL larutan DPPH dan volumenya dicukupkan dengan etanol absolute sampai garis tanda.

2) Pengukuran Serapan Blanko

Pengukuran dilakukan dengan cara memipet 5 mL DPPH dan dicukupkan volumenya sampai 25 mL dengan etanol absolute dalam labu ukur. Larutan ini kemudian dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit, selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Semua pengerjaan dilakukan pada ruang yang terhindar dari cahaya matahari.

3) Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Merah dan Larutan Pembanding Vitamin C

Pengukuran aktivitas antioksidan serapan diukur setelah 30 menit pada panjang gelombang 517 nm. Hasil penetapan antioksidan dibandingkan dengan vitamin C. Besarnya aktivitas antioksidan dihitung dengan rumus (Sharon, dkk., 2013) :

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{(\text{abs blanko} - \text{abs sampel})}{\text{abs blanko}} \times 100\%$$

4) Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ditentukan dengan IC50 dari senyawa antioksidan, yang diperoleh dari plotting terhadap persamaan regresi linier dengan (x) sebagai konsentrasi sampel dan (y) sebagai persen aktivitas antioksidan. Dari data kurva regresi isolat aktivitas antioksidan tersebut dapat ditentukan nilai IC50 dari senyawa

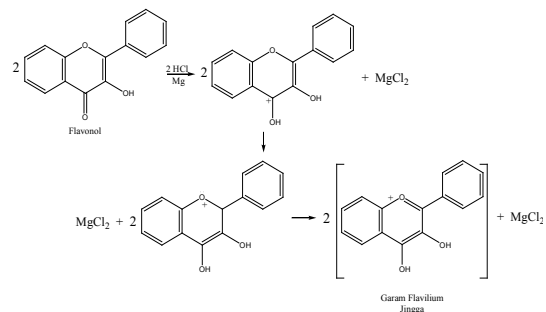
antioksidan (Isnindar, dkk., 2011).

Hasil dan Pembahasan

Uji Pendahuluan

Ekstrak sirih merah yang telah dipekatkan (pekat seperti gel) dilakukan pengujian fitokimia. Pengujian ini meliputi uji senyawa flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid. Tujuan dilakukan pengujian pendahuluan adalah untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam sirih merah, metabolit ini diharapkan dapat berfungsi sebagai antioksidan. Hasil yang diperoleh yaitu ekstrak sirih merah positif mengandung senyawa flavonoid dan tanin, sedangkan untuk saponin dan alkaloid diperoleh hasil negatif.

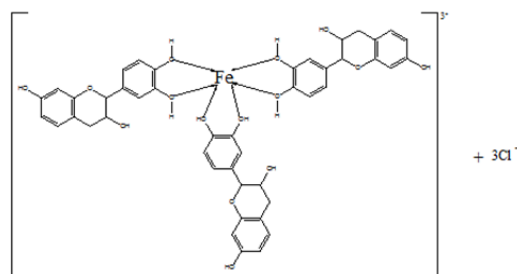
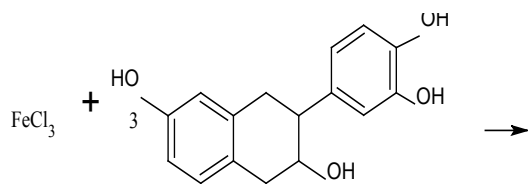
Hasil positif flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna kuning jingga, setelah ekstrak ditambahkan logam Mg dan HCl. penambahan logam Mg dan HCl berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga (Robinson, 1995). Adapun reaksi yang terjadi antara senyawa flavonoid dengan HCl dan logam Mg terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Reaksi Flavonoid dengan Logam Mg dan HCl (Septyaningsih, 2010).

Aktivitas antioksidatif flavonoid bersumber pada kemampuan mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam (Redha, 2010).

Sedangkan adanya tanin pada ekstrak daun sirih merah dilihat dari hasil positif dari uji fitokimia dengan terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tua (Harborne, 1987) setelah ekstrak ditambahkan FeCl₃ 1 %. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tua pada ekstrak ini dikarenakan tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe³⁺, seperti yang terlihat pada Gambar 2.

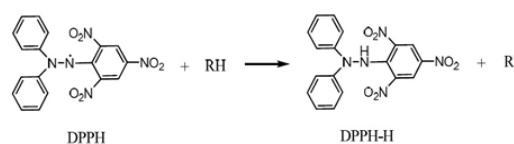


Gambar 2. Reaksi antara Tanin dan FeCl₃ (Sa'adah, 2010)

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Merah

Antioksidan merupakan zat yang dapat menetralkan radikal bebas sehingga dapat melindungi sistem biologi tubuh dari efek merugikan yang timbul dari proses ataupun reaksi yang menyebabkan oksidasi yang berlebihan (Hariyatimi, 2004). Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya sehingga dapat bereaksi dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel tersebut (Wijaya, 1996). Dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan secara spektrofotometri dengan metode DPPH. Pengamatan terhadap penangkapan radikal DPPH dapat dilakukan dengan mengamati penurunan absorbansi. Hal ini dapat terjadi oleh karena adanya reduksi radikal oleh antioksidan (AH) atau bereaksi dengan senyawa radikal lainnya (Yu, dkk., 2002).

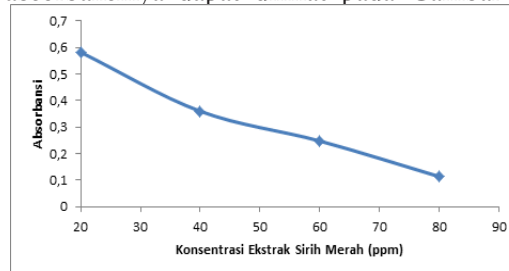
Metode pengujian menggunakan DPPH merupakan metode yang konvensional dan telah lama digunakan untuk penetapan aktivitas senyawa antioksidan. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan pada panjang gelombang 517 nm. Hal ini dikarenakan 517 nm merupakan panjang gelombang maksimum dari DPPH. Reaksi antara antioksidan dengan molekul DPPH dapat dilihat pada Gambar 3. Uji aktivitas antioksidan DPPH berdasarkan reaksi penangkapan radikal DPPH oleh senyawa antioksidan melalui mekanisme donasi atom hidrogen sehingga akan dihasilkan DPPH-H



Gambar 3. Reaksi DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan antioksidan.

(bentuk non radikal) dan menyebabkan terjadinya penurunan intensitas warna ungu dari DPPH.

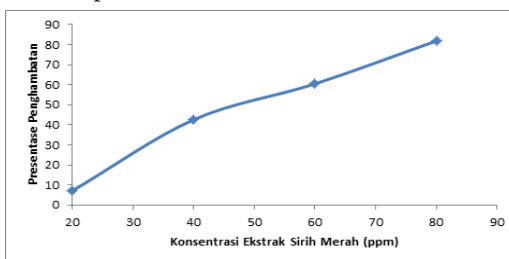
Hasil penelitian untuk nilai absorbansi ekstrak sirih merah setelah diukur serapan absorbansinya dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Nilai Absorbansi DPPH

Berdasarkan gambar tersebut dapat diketahui bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak sirih merah maka semakin kuat ekstrak tersebut mengikat DPPH sehingga semakin kecil nilai absorbansi dari DPPH. Hal ini karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun sirih merah maka partikel-partikel senyawa antioksidan yang terkandung akan semakin banyak sehingga semakin besar pula aktivitas antioksidannya dan menyebabkan absorbansinya semakin berkurang (Talapessy, dkk., 2013).

Berdasarkan Nilai absorbansi pada Gambar 4 maka dapat diketahui persentase aktivitas antioksidan dari ekstrak sirih merah seperti terlihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Sirih Merah

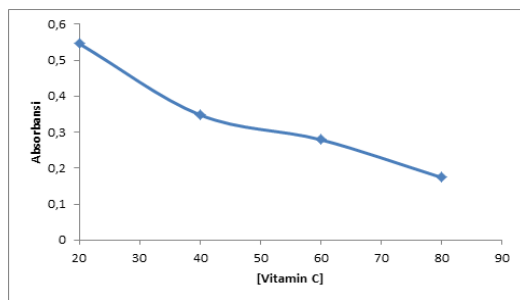
Gambar tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi

pula persentase aktivitas antioksidan dari ekstrak sirih merah.

Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Perlakuan pertama yaitu membuat larutan induk vitamin C 1000 ppm. Selanjutnya, mengencerkan larutan tersebut menjadi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, dan 80 ppm. Konsentrasi dari larutan vitamin C ini mengikuti konsentrasi dari ekstrak daun sirih merah. Hal ini dilakukan agar peneliti dapat membandingkan aktivitas antioksidan dari daun sirih merah dan vitamin C pada konsentrasi yang sama. Vitamin C dijadikan pembanding pada penelitian ini karena vitamin C merupakan zat antioksidan alami yang sangat kuat yang dianjurkan oleh BPOM untuk dikonsumsi masyarakat (Wardani, dkk., 2012).

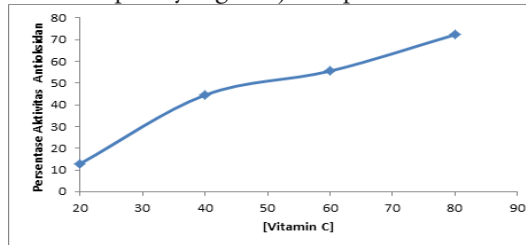
Nilai absorbansi DPPH hasil penelitian disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Nilai Absorbansi DPPH

Gambar 6. tersebut menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi vitamin C maka semakin kuat vitamin C meredam radikal bebas DPPH sehingga nilai absorbansinya semakin kecil.

Berdasarkan nilai absorbansi DPPH, maka dapat diperoleh pula persentase aktivitas antioksidan dalam menghambat radikal bebas DPPH seperti yang disajikan pada Gambar 7.



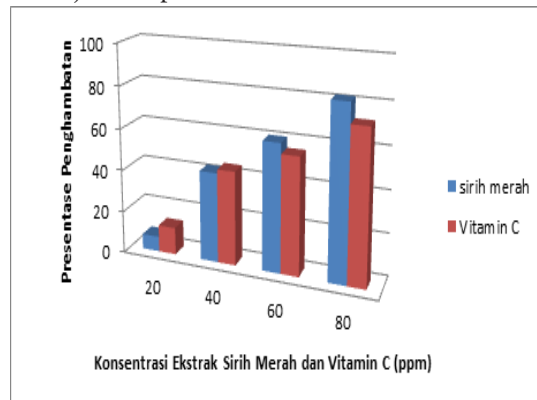
Gambar 7. Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Gambar tersebut menunjukan bahwa semakin besar konsentrasi vitamin C maka semakin besar pula persentase aktivitas antioksidan dalam menghambat radikal

bebas DPPH. Persentase penghambatan tertinggi dari konsentrasi yang diujikan yaitu pada konsentrasi 80 ppm yang mempunyai persentase penghambatan sebesar 72,24%. Hasil yang diperoleh ini sesuai dengan hasil yang diperoleh pada ekstrak daun sirih merah, dimana konsentrasi persentase penghambatan radikal bebas tertinggi yaitu pada 80 ppm dengan persentase penghambatan sebesar 81,82%.

Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sirih Merah dengan Vitamin C

Hasil yang diperoleh pada perbandingan aktivitas antioksidan antara ekstrak daun sirih merah dan vitamin C pada penelitian ini tidak terlalu berbeda jauh. Ekstrak daun sirih merah mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih tinggi daripada vitamin C yang berfungsi sebagai pembanding atau kontrol positif pada konsentrasi tinggi. Perbandingan persentase aktivitas antioksidan penangkap radikal bebas ekstrak daun sirih merah dan vitamin C ditunjukkan pada Gambar 8.



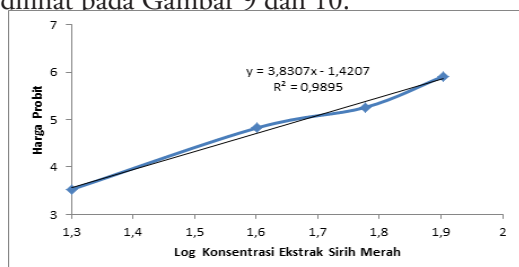
Gambar 8. Perbandingan aktivitas Antioksidan Ekstrak Sirih Merah Dan Vitamin C

Gambar tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak daun sirih merah tidak terlalu berbeda jauh dengan vitamin C. Bahkan, pada konsentrasi tinggi yaitu 60 ppm dan 80 ppm ekstrak daun sirih merah mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih besar daripada vitamin C. Berdasarkan hal ini maka dapat dikatakan bahwa ekstrak daun sirih merah mempunyai aktivitas antioksidan yang hampir sama dengan vitamin C sehingga dapat dijadikan sebagai zat antioksidan alami.

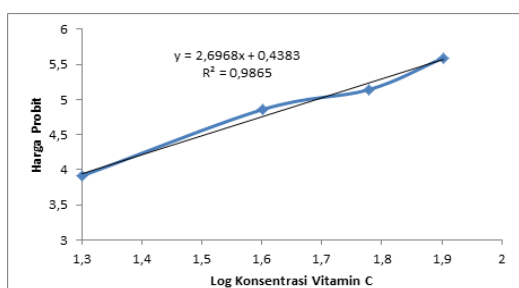
Perhitungan IC50

Aktivitas antioksidan dari daun sirih merah (*Piper crocatum*) secara kuantitatif dilakukan dengan menggunakan DPPH, dan

penentuan IC50. IC50 merupakan konsentrasi substrat atau sampel yang akan menyebabkan reduksi terhadap aktivitas DPPH sebesar 50% (Molyneux, 2004). Semakin kecil nilai IC50 berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Hubungan log konsentrasi dan harga probit ekstrak daun sirih merah dan vitamin C dapat dilihat pada Gambar 9 dan 10.



Gambar 9. Hubungan Log Konsentrasi Dan Harga Probit Ekstrak Daun Sirih Merah.



Gambar 10. Hubungan Log Konsentrasi Dan Harga Probit Vitamin C

Berdasarkan Gambar 9 dan 10 diperoleh persamaan regresi linear $y = 3,830x - 1,420$ untuk sampel ekstrak sirih merah, dan untuk vitamin C (pembanding) yaitu $y = 696x + 0,438$. Selain itu, dari Gambar 9 dan 10 juga diperoleh nilai r untuk ekstrak daun sirih merah yaitu 0,989 dan untuk kontrol positif vitamin C diperoleh nilai r yaitu 0,986. Hasil nilai r yang diperoleh maka dapat dikatakan bahwa data probit ekstrak daun sirih merah yang diperoleh lebih baik dari data probit vitamin C. Oleh karena nilai r yang diperoleh dari keduanya mendekati 1 maka dapat dikatakan hasil yang diperoleh dari ekstrak daun sirih merah dan vitamin C sangat baik.

Adapun nilai IC50 yang diperoleh pada perhitungan akhir yaitu untuk ekstrak daun sirih merah adalah 47,45 ppm, sedangkan untuk vitamin C diperoleh 49,20 ppm. Berdasarkan nilai IC50 yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sirih merah tergolong antioksidan yang sangat kuat. Hal ini dikarenakan nilai IC50 yang diperoleh berada di bawah 50 ppm. Berdasarkan

literatur diketahui bahwa aktivitas antioksidan menggunakan DPPH dapat digolongkan menurut IC50. Antioksidan sangat kuat jika nilai IC50 kurang dari 50 ppm, kuat jika IC50 bernilai 50-100 ppm, sedang jika IC50 bernilai 100-150 ppm, dan lemah jika IC50 bernilai lebih dari 150 ppm (Molyneux, 2004).

Kesimpulan

Ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki nilai IC50 sebesar 47,45 ppm dan termasuk ke dalam golongan antioksidan yang sangat kuat.

Ucapan Terima Kasih

Penulis berikan kepada Universitas Tadulako yang telah memberikan beasiswa kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian ini dengan baik.

Referensi

- Hagerman, A. E. (2002). Tannin. Miami University. Diunduh kembali dari <https://journals.uair.arizona.edu/index.php/jrm/article/viewFile/8684/8296>
- Halliwel, B., Aeschbach, R., Lolinger, J., & Auroma, O. (1995). Toxicology. *J Food Chem*, 33, 60.
- Harborne, J. B. (1987). Metode fitokimia penentuan cara modern menganalisis tumbuhan. Bandung: ITB.
- Hariyatimi. (2004). Kemampuan vitamin e sebagai antioksidan terhadap radikal bebas pada lanjut usia. *Jurnal MIPA*, 14, 52-60.
- Hermiati, Rusli, Manalu, N. Y., & Sinaga, M. S. (2013). Ekstrak daun sirih hijau dan merah sebagai antioksidan pada minyak kelapa. Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Sumatera Utara, 2(1).
- Hertiani, T., Pramono, S., & A.M, S. (2000). Uji daya antioksidan senyawa flavonoid daun (*Plantago major L.*). *Majalah Farmasi Indonesia*, 11(4), 234.
- Isnindar, Wahyuono, S., & Setyowati, E. P. (2011). Isolasi dan identifikasi senyawa antioksidan daun kesemek (*Diospyros Kaki Thunb.*) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 157-164.

- Liberty, M. P., Meiske, S., Sangia, & Jessy, J. E. P. (2012). Penentuan kandungan tanin dan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji buah alpukat (*Persea americana* mill.). *Jurnal MIPA UNSRAT Online*, 1(1), 5-10.
- Middleton, E., Kandaswami, & Theoharides, T. (1998). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52, 673-751.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (dpph) for estimating antioxidant activity. *J. Sci. Technol*, 26(2), 211-219.
- Rachmawati, S. I., & Ciptati. (2011). Isolasi senyawa antioksidan dari daun sirih merah (*Piper crocatum*). 327-333.
- Redha, A. (2010). Flavonoid: struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis. *Belian*, 9(2), 196-202.
- Rohyami, Y. (2008). Penentuan kandungan flavonoid dari ekstrak metanol daging buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* scheff boerl). *Jurnal LOGIKA (ISSN)*, 5(1), 1-8.
- Sa'adah, L. (2010). Isolasi dan identifikasi senyawa tanin dari daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* l.). Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Septyaningsih, D. (2010). Isolasi dan identifikasi komponen utama ekstrak biji buah merah (*Pandanus conoideus* lamk). Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Sharon, N., Anam, S., & Yuliet. (2013). Formulasi krim antioksidan ekstrak etanol bawang hutan (*Eleutherine palmifolia* l. Merr). *Natural Science*, 2(3), 112-122.
- Sudewo, B. (2005). Basmi penyakit dengan sirih merah. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Sumarwoto, Susilowati, & Adhityanti, Y. (2008). Uji sirih merah (*Piper crocatum* ruiz and pav) pada berbagai intnsitas sinar matahari dan media tanam. *Jurnal Pertanian Mapeta*, II(1), 1-8.
- Talapessy, S., Suryanto, E., & Yudistira, A. (2013). Uji aktivitas antioksidan dari ampas hasil pengolahan sagu (*Metroxylon sagu* rottb). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(3), 40-44.
- Robinson, T. (1995). Kandungan organik tumbuhan tinggi. Bandung: ITB Press.
- Wardani K.R, Tjahjaningsih, W., & Rahardja, S. B. (2012). Uji efektivitas ekstrak daun sirih merah (*Piper Crocatum*) terhadap bakteri aeromonas hydrophila secara in vitro. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 4(1), 1-12.
- Wijaya, A. (1996). Radikal bebas dan parameter status antioksidan. Forum Diagnosticum Prodia Diagnostic Educational Services.1, 1-12.
- Yu Liangli Scott H, Jonathan P, Mary H., John W., & Qian, M. (2002). Free radicals scavenging properties of wheat extracts. *J.Agric Food Chem. Colorado*.