

RESEARCH STUDY

Indonesian Version

OPEN ACCESS

Aktivitas Antioksidan Nanopartikel dari Ekstrak Daun Sembung (*Blumea balsamifera* L.)

Antioxidant Activity of Nanoparticle Modified from Sembung Leaf (*Blumea balsamifera* L.) Extract

Iza Ayu Saufani¹, Azimatur Rahmi^{2,3*}, Tika Afriani³, Widi Urdatullah Zikirzi³¹Program Studi Gizi, Fakultas Teknik, Universitas Negeri Medan, Jl. William Iskandar Ps.V, Deli Serdang, Sumatera Utara 20221, INDONESIA²Program Studi Kimia, Fakultas MIPA Militer, Universitas Pertahanan, Kawasan IPSC Sentul, Bogor, Jawa Barat 16810, INDONESIA³Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Mohammad Natsir Bukittinggi, Jl Tan Malaka Bukit Canggih Kayu Ramang, Bukittinggi, Sumatera Barat 26138, INDONESIA

INFO ARTIKEL

Received: 15-09-2024

Accepted: 31-12-2024

Published online: 31-12-2024

*Koresponden:

Azimatur Rahmi

azimatur.rahmi046@gmail.com

DOI:

10.20473/amnt.v8i3SP.2024.362-371

Tersedia secara online:

[https://e-](https://e-journal.unair.ac.id/AMNT)[journal.unair.ac.id/AMNT](https://e-journal.unair.ac.id/AMNT)

Kata Kunci:

Antioksidan, Daun Sembung, FTC, Nanopartikel, TBA

ABSTRAK

Latar Belakang: Antioksidan dalam bahan pangan esensial untuk melindungi sel dari radikal bebas dan mendukung fungsi fisiologis tubuh. Daun Sembung merupakan sumber polifenol yang melimpah, yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan signifikan. Efektifitas antioksidan dari daun sembung dapat ditingkatkan dengan memodifikasi ekstrak daun sembung menjadi ukuran nanopartikel.

Tujuan: Untuk mengetahui peningkatan aktivitas antioksidan ekstrak daun Sembung setelah dimodifikasi menjadi sediaan nanopartikel.

Metode: Ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini adalah fraksi etil asetat dari daun Sembung. Daun sembung segar diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%, 24 jam. Ekstrak etanol yang diperoleh dipisahkan melalui proses fraksinasi menggunakan pelarut etanol, n-heksan, dan etil asetat. Fraksi etil asetat hasil fraksinasi selanjutnya dimodifikasi menjadi sediaan nanopartikel dengan teknik gelasi ionik. Sediaan nanopartikel terdiri atas 3 formula, yaitu F1 (0.25% larutan kitosan dan 10 ml larutan NaTPP), F2 (0.50% larutan kitosan dan 20 ml larutan NaTPP), dan F3 (0.75% larutan kitosan dan 30 ml larutan NaTPP). Pengukuran aktifitas antioksidan dilakukan berdasarkan peroksidasi lipid menggunakan metode ferri tiosianat (FTC) dan dilanjutkan dengan asam tiobarbiturat (TBA). Nilai % inhibisi dari sampel diuji menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Hasil: Evaluasi aktivitas antioksidan pada sampel fraksi etil asetat dilakukan menggunakan metode FTC diperoleh % inhibisi sebesar 31.25% dan pada metode TBA % inhibisi sebesar 17.34%. Sedangkan, pada sampel nanopartikel metode FTC dan TBA masing-masingnya sebesar 23.77% dan 40.43% inhibisi.

Kesimpulan: Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa modifikasi daun Sembung menjadi nanopartikel efektif meningkatkan aktivitas antioksidan. Temuan ini berpotensi dalam pengembangan produk antioksidan yang sudah ada.

PENDAHULUAN

Dalam beberapa dekade terakhir, kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi belum tentu diiringi dengan perbaikan yang signifikan dalam kualitas hidup masyarakat. Masyarakat cenderung mengkonsumsi makanan instan dengan gizi yang tidak seimbang, kebiasaan merokok, dan rendahnya aktivitas fisik menyebabkan pola hidup yang kurang sehat. Selain itu, kondisi lingkungan dengan tingkat polusi yang tinggi dapat menghasilkan senyawa radikal yang kemudian berinteraksi dengan tubuh sehingga mengakibatkan kerusakan sel. Polusi udara mengandung berbagai senyawa berbahaya, termasuk nitrogen oksida, sulfur

dioksida, karbon monoksida, serta sejumlah senyawa toksik lainnya, kemudian terhirup hingga mencapai alveoli dan masuk ke aliran darah. Di dalam tubuh, senyawa tersebut menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang menyebabkan kerusakan sel¹. Untuk menangkal efek radikal tersebut, tubuh secara normal memproduksi senyawa antioksidan yang berfungsi sebagai penangkal reaksi radikal. Antioksidan seperti *sulforaphane* (SFN) dan hasil metabolitnya, *sulforaphane N-acetylcysteine* (SFNAC) aktif untuk mengurangi kerusakan oksidatif dan inflamasi².

Peran antioksidan dalam melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan oksidatif telah mendapat perhatian

yang signifikan dalam penelitian kesehatan dan ilmu pangan. Kerusakan oksidatif akibat radikal bebas merupakan mekanisme fundamental yang berkontribusi terhadap perkembangan berbagai penyakit degeneratif, termasuk kanker, penyakit kardiovaskular, dan penuaan dini³⁻⁵. Seiring dengan meningkatnya kesadaran konsumen terhadap kesehatan, terdapat permintaan yang semakin besar untuk produk pangan yang tidak hanya bernutrisi tetapi juga memiliki kandungan antioksidan tinggi yang dapat memberikan manfaat kesehatan tambahan. Sumber alami antioksidan, seperti tanaman obat tradisional, telah lama digunakan dalam berbagai sistem pengobatan di seluruh dunia, termasuk di Indonesia, dan kini semakin diakui sebagai bahan pangan fungsional yang berpotensi⁶⁻⁸. Sebagai contoh sifat antioksidan dan anti-inflamasi dari tanaman *Pterospermum rubiginosum* dan *Pterospermum reticulatum* menunjukkan fungsinya sebagai pangan fungsional yang berkontribusi pada kesehatan⁹⁻¹¹. Daun Sembung (*Blumea balsamifera* L.) adalah tanaman dengan potensi sebagai sumber antioksidan alami, yang telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional karena sifatnya yang antiinflamasi, analgesik, dan aktivitas antioksidan yang signifikan^{12,13}.

Penelitian terdahulu menyatakan bahwa daun Sembung mengandung beragam senyawa kimia, seperti monoterpen, seskuiterpen, diterpen, fenol, flavonoid, triterpen, kariofilen oksid, alkohol, dan sterol^{14,15}. Ekstrak kasar dan konstituen tanaman ini menunjukkan berbagai aktivitas biologis, termasuk sebagai antioksidan, antimikroba, antifungal, anti-inflamasi, hipolipidemik, hepatoprotektif, antidiabetik, gastroprotektif, antitumor, antikanker, dan imunomodulator¹⁶. Sebagai antioksidan, flavonoid, yang termasuk dalam golongan polifenol, berperan sebagai penghambat radikal bebas dengan mendonorkan elektron kepada molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan, tanpa membentuk radikal baru. Mekanisme ini mencakup penurunan produksi radikal bebas seperti superoksida dan prekursornya, hidrogen peroksida, melalui penghambatan enzim protein kinase C, pengikatan ion logam Fe untuk menghambat reaksi fenton, serta penghambatan aktivitas enzim xanthine oxidase. Selain itu, flavonoid meningkatkan aktivitas antioksidan endogen, seperti superoxide dismutase, glutathione peroxidase, dan catalase. Dalam proses peroksidasi lipid, flavonoid berperan pada semua tahap inisiasi, propagasi, dan terminasi, yakni dengan memblokir fase inisiasi melalui penghambatan radikal primer seperti superoksida. Pada fase propagasi, flavonoid bereaksi dengan radikal peroksil untuk menghentikan reaksi berantai, sedangkan pada fase terminasi, radikan antara flavonoid yang terbentuk saat bereaksi dengan radikal peroksil akan berinteraksi dengan radikal lain yang dihasilkan selama fase propagasi, menghasilkan produk non radikan (*Non Radical Product/NRP*)^{17,18}.

Berbagai teknik seperti DPPH, CUPRAC, FRAP dapat digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan¹⁹. Selain itu, metode FTC juga merupakan pendekatan yang efektif untuk menentukan aktivitas antioksidan. Metode FTC merupakan fase awal peroksidasi lipid untuk menentukan konsentrasi peroksida, dengan mengukur terbentuknya kompleks feri-

tiosianat pada panjang gelombang 500 nm²⁰. Dalam metode ini, lemak tak jenuh melepaskan atom hidrogen pada gugus metilen (CH₂), menghasilkan atom karbon dengan elektron tidak berpasangan (CH), yang selanjutnya memicu terjadinya reaksi propagasi selama proses peroksidasi lipid. Antioksidan bertindak dengan menghentikan reaksi berantai tersebut melalui donasi atom hidrogen²¹. Sejumlah senyawa antioksidan dapat 50% aktivitas radikal bebas, dipresentasikan dengan nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ yang kecil menunjukkan potensi aktivitas antioksidan yang kuat dari sampel yang diuji²¹.

Adapun demikian, efektivitas penggunaan ekstrak daun Sembung sebagai antioksidan alami sering kali dibatasi oleh faktor-faktor seperti rendahnya kelarutan, stabilitas, dan bioavailabilitas senyawa aktifnya dalam formulasi konvensional, yang menjadi tantangan dalam aplikasi pangan. Aktivitas antioksidan dari daun Sembung menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 155,65 ml/l, namun ekstrak daun Sembung memiliki nilai IC₅₀ sebesar 293,80 ml/l. Hasil ini menunjukkan bahwa potensi antioksidan daun Sembung termasuk dalam kategori lemah²². Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan modifikasi ekstrak menjadi sediaan nanopartikel fraksi etil asetat daun Sembung. Pengembangan teknologi nanopartikel menawarkan pendekatan inovatif yang dapat meningkatkan bioavailabilitas dan efektivitas terapeutik senyawa aktif yang diekstraksi dari tanaman obat, termasuk daun Sembung. Peningkatan aktivitas antioksidan pada sediaan nanopartikel disebabkan oleh kemampuan nanopartikel untuk memperluas permukaan fraksi etil asetat daun Sembung, sehingga memungkinkan interaksi yang lebih besar antara senyawa antioksidan dan radikal bebas, yang pada akhirnya meningkatkan efektivitas penghambatan radikal. Selain itu, nanopartikel juga berperan dalam meningkatkan stabilitas senyawa antioksidan. Stabilitas ini terjadi karena adanya interaksi elektrostatik antara molekul kitosan dan senyawa flavonoid atau polifenol. Kitosan, dalam kondisi lingkungan asam, memiliki gugus amina yang bermuatan positif akibat proses protonasi (penambahan ion hidrogen). Gugus bermuatan positif ini berinteraksi secara elektrostatik dengan atom oksigen dalam struktur flavonoid atau polifenol, yang cenderung bersifat elektrofilik (menarik muatan positif). Interaksi menghasilkan ikatan yang stabil. Penelitian sebelumnya oleh Nurviana et al.²³ melaporkan bahwa aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh dari nanopartikel ekstrak etanol biji limus, sebagaimana ditunjukkan oleh nilai IC₅₀ yang lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak etanol biji limus tanpa modifikasi nanopartikel. Hasil analisis statistik mengungkapkan perbedaan signifikan pada nilai IC₅₀ dari semua sampel yang diuji. Nanopartikel ekstrak biji Limus menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak biji Limus murni maupun standar vitamin C. Temuan ini menegaskan bahwa sediaan nanopartikel dapat meningkatkan efektivitas senyawa sebagai antioksidan yang potensial dalam produk pangan fungsional. Berdasarkan temuan tersebut, penelitian ini dirancang untuk mengevaluasi efektivitas antioksidan daun Sembung dalam sediaan nanopartikel menggunakan metode FTC. Penerapan








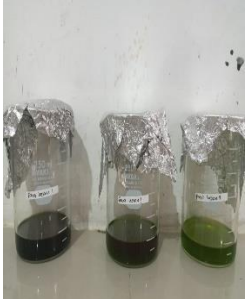




teknologi nanopartikel dalam memperkaya produk pangan dengan senyawa antioksidan yang stabil memiliki potensi besar untuk menghadirkan inovasi di industri pangan, terutama yang berorientasi pada kesehatan dan pencegahan penyakit. Oleh karena itu, penelitian ini difokuskan pada analisis aktivitas antioksidan dari fraksi etil asetat daun Sembung dalam bentuk sediaan nanopartikel, menggunakan metode FTC dan TBA.

METODE

Peralatan dan Bahan

Penelitian ini dilaksanakan dengan memanfaatkan berbagai peralatan dan bahan yang diperlukan untuk eksperimen laboratorium. Alat yang digunakan meliputi oven (Mamert), Spektro UV-Vis (UV-

Mini SHIMADZU), vacum rotary evaporator (D lab) , Neraca analitik (A&D Co. LTD), Vortex (d lab), Magnetic stiter (SH-2), glass ware (pyrex), Mikropipet (Socorex). Adapun bahan yang digunakan mencakup daun Sembung dari petani di Kabupaten Pasaman Sumatera Barat, ethanol 96% (merck), n-heksan (brataco), etil asetat (brataco), qursetin (sigma), methanol (sigma), AICI3 10% (sigma), kalium asetat 1M (sigma), asam linoleat 2,5 % (sigma), Aquadest, vitamin E (merck), ethanol absolut (merck), buffer fosfat, ammonium thiosianat 30% (merck), larutan besi (III) klorida 0,02 M, kualitas analis, dalam asam klorida 3,5% (merck), kitosan (aldrich), tween-80, Na- TPP (novalindo), asam asetat 5% (merck), HCl pekat (merck), asam thiobarbiturat (merck). Alat dan bahan terlihat juga pada Gambar 1.

		
Tumbuhan sembung	Proses pengeringan	Berat kering ekstrak
		
maserasi	Proses rotary sampel	Ekstrak kental
		
Fraksi n-hexan	Hasil fraksi n-hexan	Fraksi etil asetat
		

Hasil fraksi etil asetat	Larutan induk quersetin	Deret standar quersetin
		
Sampel fraksi	Larutan kontrol negatif	Larutan kontrol positif

Gambar 1. Tahapan persiapan sampel serta alat dan bahan

Preparasi Ekstrak Sampel

Penelitian ini menggunakan daun Sembung sebagai sampel utama, yang dikumpulkan dari dataran rendah daerah Kinali, Kecamatan Bukit Barisan, Pasaman Barat, Sumatera Barat. Identifikasi tanaman dilakukan di Herbarium Universitas Andalas. Preparasi sampel dilakukan dengan memotong daun Sembung menjadi bagian kecil untuk mendapatkan fraksi etil asetat sebagai produk akhir. Potongan daun diekstraksi menggunakan etanol 96%, untuk melarutkan senyawa aktif polar dalam daun. Partisi pertama, ekstrak etanol menggunakan n-heksan dengan rasio 100 mL:100 mL dalam corong pemisah. Senyawa nonpolar akan larut n-heksan bagian atas, sedangkan senyawa polar tetap berada di lapisan bawah, yaitu etanol. Lapisan n-heksan dipisahkan, sementara lapisan etanol diproses lebih lanjut melalui partisi akhir menggunakan etil asetat dan air. Lapisan etanol dari partisi pertama dipartisi lagi menggunakan etil asetat, air, dan residu etanol dengan rasio 100 mL etil asetat : 60 mL air : 100 mL residu etanol. Etil asetat melarutkan senyawa semi-polar, air menarik senyawa sangat polar, dan residu etanol mengandung sisa senyawa yang belum terpisah. Proses ini dilakukan berulang untuk memastikan pemisah maksimal. Tahapan ini menghasilkan fraksi etil asetat yang mengandung senyawa semi-polar sebagai produk akhir²⁴.

Identifikasi Senyawa Flavonoid dan Kadar Flavonoid Total

Penentuan terdapat tidaknya senyawa flavonoid dilakukan dengan pengujian sampel yang ditambahkan serbuk Mg dan larutan HCl, pengujian positif apabila menghasilkan warna kuning, merah bata dan jingga. Untuk penentuan kadar flavonoid total sebelumnya disiapkan larutan standar kuarsetin, dimana baku standar

kuarsetin dilarutkan dalam etanol untuk memperoleh konsentrasi 1.000 ppm. Larutan standar kuarsetin dengan konsentrasi 1.000 ppm disiapkan terlebih dahulu, kemudian sebanyak 1 mL larutan ini dipipet dan diencerkan dalam 10 mL etanol p.a untuk menghasilkan larutan 100 ppm. Selanjutnya, deret standar dibuat dengan konsentrasi bertingkat 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm, dengan cara memipet larutan induk sebanyak 0,2 mL, 0,4 mL, 0,6 mL, 0,8 mL, dan 1mL. Masing-masing larutan standar kuarsetin diencerkan hingga volume 10 mL dengan penambahan 3 mL metanol, 0,2 mL larutan aluminium klorida 10%, dan 0,2 mL larutan kalium asetat 1 M. Setelah diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang, panjang gelombangnya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 445,2 nm²⁵.

Penentuan kadar flavonoid total dilakukan dengan melarutkan 100 mg fraksi etil asetat daun Sembung ke dalam 10 mL ethanol. Larutan sampel (1 mL) diencerkan hingga volume total 10 mL dengan penambahan 3 mL metanol, 0,2 mL larutan aluminium klorida 10%, dan 0,2 mL larutan kalium asetat 1 M. Campuran ini diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit untuk memastikan reaksi berlangsung optimal. Setelah itu, absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Perhitungan konsentrasi senyawa berdasarkan cahaya yang diserap pada panjang gelombang 445,2 nm. Analisis dilakukan dalam tiga kali ulangan untuk memastikan akurasi, dengan hasil kadar flavonoid total dinyatakan sebagai ekuivalen kuarsetin. Total kadar flavonoid dihitung dengan rumus berikut²⁵:

$$\text{Total flavonoid (mg} \frac{\text{QE}}{\text{g}} \text{ ekstrak)} = \frac{\text{Konsentrasi kuarsetin (} \frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{)} \times \text{Vol. ekstrak} \times \text{Faktor Pengenceran}}{\text{massa ekstrak (g)}}$$

Uji Aktifitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Sembung

Pembuatan larutan kontrol positif (larutan A kontrol) dilakukan dengan menggunakan alfa-tokoferol atau vitamin E. Sebanyak 4 ml etanol absolut dilarutkan 4 mg vitamin E dalam tabung reaksi tertutup. Selanjutnya, 2,5% larutan asam linoleat sebanyak 4,1 mL, 0,05 M buffer fosfat sebanyak 8 mL,

dan akuades 3,9 mL ditambahkan ke campuran tersebut. Untuk kontrol negatif, prosedur yang sama dilakukan, namun tanpa penambahan alfa-tokoferol atau vitamin E. Setiap larutan dibuat dalam tiga replikasi dan diinkubasi menggunakan inkubator pada suhu 40°C selama 24 jam. Selanjutnya diinkubasi dan dilakukan pengukuran absorbansi pada $\lambda=500$ nm.

Persiapan dan analisis aktivitas antioksidan dilakukan dengan melarutkan 4 mg fraksi etil asetat sampel daun Sembung dicampur hingga homogen dengan 4 ml etanol absolut sebagai pelarut. Campuran kemudian larutan asam linoleat 2,5% ditambahkan sebanyak 4,1 mL. Untuk memastikan kestabilan pH pada nilai 7, ditambahkan 8 ml buffer fosfat dengan kekuatan ion 0,05 M, kemudian ditambahkan pelarut akuades 3,9 ml. Larutan yang disiapkan dilabeli dan dibuat tiga kali replikasi. Campuran diinkubasi pada 40°C selama 24 jam, dan setelah inkubasi, absorbansi maksimum diukur pada panjang gelombang 500 nm.

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menyiapkan larutan B, yang terdiri dari campuran ammonium tiosianat 30% dan 9,7 ml etanol 75% dalam perbandingan volume tertentu. Campuran larutan B ini kemudian dicampurkan ke masing-masing larutan A (setelah inkubasi 24 jam). Reaksi dilanjutkan dengan penambahan 100 µl larutan besi (III) klorida 0,02 M dalam asam klorida 3,5%, campuran diinkubasi selama 5 menit sebelum dihitung absorbansinya menggunakan pada panjang gelombang 500 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran

absorbansi dilakukan secara berkala selama 7 hari atau hingga larutan kontrol negatif mencapai kejenuhan²⁶. Setelah itu, analisis lanjutan dilakukan menggunakan metode TBA (asam tiobarbiturat).

Pengujian aktifitas antioksidan menggunakan metode TBA menggunakan sisa sampel dan standar dari uji FTC sebelumnya. Masing-masing sampel sebanyak 2 ml larutan direaksikan dengan penambahan asam trikloroasetat 20% dan asam tiobarbiturat 0,67%. Campuran kemudian diinkubasi 10 menit pada suhu tertentu hingga mendidih. Larutan disentrifugasi pada kecepatan 3.000 rpm selama 30 menit. Selanjutnya, pengukuran panjang gelombang maksimum dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 500 nm²⁷. Persentase inhibisi dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{serapan blanko} - \text{serapan sampel}}{\text{serapan blanko}} \times 100 \%$$

Pembuatan Sediaan Nanopartikel

Formulasi yang digunakan dalam pembuatan sediaan nanopartikel terlihat pada Tabel 1²⁸.

Tabel 1. Formulasi sediaan nanopartikel fraksi etil asetat dari daun Sembung

Bahan	F1	F2	F3
Fraksi etil asetat dari daun Sembung	0,1 g	0,1 g	0,1 g
Larutan kitosan 0,25 %	100 mL	-	-
Larutan kitosan 0,50%	-	100 mL	-
Larutan kitosan 0,75%	-	-	100 mL
Larutan NaTPP 0,5%	10 mL	10 mL	10 mL
Tween-80	1 mL	1 mL	1 mL

Pembuatan sediaan nanopartikel fraksi etil asetat menggunakan metode gelas ionik. Kitosan dengan konsentrasi bervariasi, yaitu 0,25 %, 0,50 %, dan 0,75 %, dilarutkan dalam 100 ml larutan asam asetat 5% (v/v), kemudian dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Larutan Na-TPP dengan konsentrasi 0,5% disiapkan dalam akuadestilata. Larutan kitosan dikombinasikan dengan 1 ml tween-80 dalam labu Erlenmeyer dan dihomogenkan untuk membentuk emulsi yang stabil selama 10 menit menggunakan pengaduk *magnetic* pada kecepatan 1000 rpm. Tahap selanjutnya, 0,1 g fraksi etil asetat daun Sembung ditambahkan ke larutan tersebut dan dihomogenkan kembali selama 30 menit pada kecepatan 1.400 rpm. Setelah itu, larutan Na-TPP 0,5% ditambahkan dan campuran dihomogenkan selama 120 menit pada kecepatan 1400 rpm. Hasil akhir kemudian didiamkan selama 24 jam²⁸. Setelah periode pendiaman selama 24 jam, sampel dikarakterisasi menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) untuk menentukan ukuran partikel. Formulasi nanopartikel yang terbentuk selanjutnya dianalisis aktivitas antioksidannya menggunakan metode yang sama seperti pada pengujian sebelumnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun sembung yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari daerah Kinali, Kabupaten Pasaman Sumatera Barat, Indonesia, dan selanjutnya menjalani

proses determinasi untuk memastikan keakuratan identifikasi serta mencegah kesalahan dalam pengambilan sampel analisis. Proses determinasi yang dilakukan di laboratorium Herbarium Universitas Andalas, Padang mengkonfirmasi bahwa sampel tersebut merupakan tanaman Sembung dengan nama latin *Blumea balsamifera* (L) DC. Pada tahap preparasi, pengeringan daun dilakukan tanpa paparan langsung sinar matahari. Pendekatan ini bertujuan untuk mencegah kerusakan senyawa aktif akibat radiasi sinar ultraviolet. Studi sebelumnya menunjukkan bahwa pengeringan menggunakan sinar matahari dapat menyebabkan penurunan kandungan total asam fenolat hingga 29% dan flavonoid hingga 86%²⁹, sehingga metode pengeringan yang lebih terkendali digunakan untuk menjaga stabilitas senyawa bioaktif.

Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metoda maserasi, yaitu proses perendaman sampel dengan pelarut organik. Metode ini memungkinkan pemecahan dinding dan membran sel tumbuhan, sehingga senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam sitoplasma dapat larut ke dalam pelarut. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%, karena senyawa metabolit sekunder bersifat organik dan lebih mudah larut dalam pelarut organik, sesuai dengan prinsip *like dissolve like*. Pelarut etanol diprioritaskan dibandingkan pelarut organik lainnya karena sifatnya yang netral, memiliki daya absorpsi yang baik, tidak beracun, serta tahan terhadap

pertumbuhan mikroorganisme dan kapang, sehingga memastikan hasil ekstraksi tetap optimal dan aman³⁰.

Hasil memaserasi dari 500 g sampel menghasilkan 7,2 g ekstrak dengan warna hijau dan aroma khas daun Sembung, dengan rendemen sebesar 14,4%. Pada tahapan fraksinasi bertingkat, pelarut n-heksan dan etil asetat digunakan untuk memisahkan ekstrak menjadi tiga fraksi: fraksi kental n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi sisa etanol. Uji identifikasi flavonoid menunjukkan bahwa fraksi etil asetat positif mengandung flavonoid, ditandai dengan perubahan warna sampel dari hijau menjadi kuning setelah penambahan HCl pekat, yang mengindikasikan keberadaan flavon, kalkon, dan auron. Profil fitokimia menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mengandung konsentrasi senyawa fenolik, alkaloid, dan flavonoid yang signifikan. Hasil ini mengindikasikan bahwa fraksi etil asetat merupakan sumber yang potensial untuk senyawa bioaktif. Sebaliknya, fraksi n-heksan dan sisa air menunjukkan profil senyawa yang lebih terbatas, masing-masing didominasi oleh steroid dan saponin. Adanya senyawa fenolik, alkaloid, dan flavonoid pada fraksi etil asetat mengindikasikan potensi antioksidan yang lebih tinggi. Mengingat kandungan metabolit sekunder yang lebih kompleks dan beragam pada fraksi etil asetat, maka fraksi ini dipilih sebagai fokus utama dalam evaluasi aktivitas antioksidan dan kuantifikasi kadar flavonoid spesifik.

Flavonoid, sebagai kelompok senyawa fenolik dengan aktivitas antioksidan yang kuat, memiliki peran penting dalam melindungi tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas. Radikal bebas dapat menginduksi berbagai penyakit degeneratif melalui mekanisme oksidatif. Untuk mengkuantifikasi kandungan flavonoid total dalam

ekstrak, analisis spektrofotometri UV-Vis dipilih sebagai metode yang sesuai. Kehadiran gugus fungsi aromatik terkonjugasi pada flavonoid menyebabkan senyawa ini memiliki serapan kuat pada daerah ultraviolet-visibel spektrum elektromagnetik. Interaksi antara flavonoid dengan ion aluminium klorida membentuk kompleks berwarna kuning yang menghasilkan pergeseran panjang gelombang maksimum serapan ke spektrum tampak. Penambahan kalium asetat juga dilakukan untuk mempertahankan panjang gelombang pada spektrum tampak. Tahap inkubasi dilakukan untuk memastikan reaksi pembentukan kompleks antara flavonoid dan ion aluminium klorida berlangsung secara lengkap, sehingga intensitas warna yang terbentuk mencapai tingkat maksimum sebelum dilakukan pengukuran³¹.

Kuantifikasi flavonoid total melalui kolorimetri berdasarkan pembentukan kompleks dengan ion aluminium d menyebabkan pergeseran panjang gelombang ke spektrum tampak (*visible*), ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi lebih kuning. Reaksi ini terjadi antara $AlCl_3$ dengan gugus keton pada C4 serta gugus hidroksil (OH) pada posisi C5 dari senyawa flavonol, menghasilkan senyawa kompleks yang stabil³². Penambahan kalium asetat berperan dalam menstabilkan senyawa kompleks tersebut. Berdasarkan hasil penelitian, kadar flavonoid total dalam fraksi etil asetat daun Sembung (*Blumea balsamifera* L.) rata-rata sebesar 31,903 mg QE/g ekstrak. Nilai ini menunjukkan jumlah flavonoid yang terkandung dalam setiap gram sampel. Data rinci mengenai kadar flavonoid total disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kadar flavonoid total dari fraksi etil asetat daun sembung

Pengulangan	Absorban	Konsentrasi (mg/L)	Flavonoid Total (mg QE/ g Ekstrak)
P1	0,697	6,269	31,360
P2	0,695	6,253	31,270
P3	0,736	6,616	33,080
			31,903

Kandungan flavonoid pada tanaman sangat bervariasi, dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti genotipe, lokasi tumbuh, tahap perkembangan tanaman, metode penanganan saat panen, serta kondisi penyimpanan pascapanen. Faktor-faktor ini dapat

mempengaruhi baik konsentrasi flavonoid total maupun komposisi flavonoid yang terdapat dalam tanaman³³. Aktifitas antioksidan dari fraksi etil asetat dianalisis menggunakan metode FTC (*Ferri Thiosianat*) dan TBA (*Thiobarbituric Acid*) pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai Rata-rata Absorbansi fraksi etil asetat sampel menggunakan metode FTC

Hari ke-	Kontrol (-)	Kontrol (+)	Fraksi Etil Asetat	% Inhibisi
1	2,214	1,485	1,141	48,46
2	2,602	1,822	1,559	40,08
3	2,812	2,069	1,740	38,12
4	2,863	2,181	1,814	36,63
5	2,921	2,232	1,997	31,63
6	3,209	2,553	2,206	31,25
7	3,134	2,448	2,216	29,29

Keterangan:

Kontrol (+)/positif = Vitamin E

Kontrol (-)/negatif = tanpa vitamin E

Pada Tabel 3 dapat dilihat bahwa nilai absorbansi kontrol negatif yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 500 nm, mengalami penurunan dihari ke-7, dapat diartikan bahwa reaksi peroksidasi lipid telah mencapai titik jenuh

pada hari ke-6 dengan efisiensi penghambatan sebesar 31,25 %. Nilai % inhibisi ini mengindikasikan kemampuan senyawa uji dalam menghambat pembentukan radikal hiperoksida pada tahap propagasi reaksi peroksidasi lipid.

Tabel 4. Persentase inhibisi fraksi etil asetat sampel menggunakan metode TBA

Kontrol (-) Abs Rata-Rata	% Inhibisi Fraksi Etil Asetat Daun Sembung		
	Replika 1	Replika 2	Replika 3
1,07	18,97	16,35	16,72
	Rata-rata	17,34	

Metode FTC (*Ferri Thiosianat*) dan TBA (*Thiobarbituric Acid*) yang digunakan dalam penelitian inimerupakan metode spektrofotometer yang umum digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dalam menghambat radikal bebas secara tidak langsung. Pengujian ini dilakukan menggunakan satu konsentrasi ekstrak atau sampel, dan radikal bebas yang dihambat mencakup senyawa peroksida dan senyawa malonaldehid. Pembentukan senyawa tersebut memerlukan kontrol eksperimen yang teliti untuk memastikan hasil yang akurat. Berdasarkan hasil penelitian, % inhibisi fraksi etil asetat pada metode FTC tercatat sebesar 31, 25% pada hari keenam, sedangkan pada metode TBA, % inhibisi rata-rata mencapai 17,34%. Nilai inhibisi ini menunjukkan kemampuan antioksidan dalam menetralkan radikal bebas pada suatu konsentrasi larutan uji.

Untuk meningkatkan aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dibuat dalam bentuk sediaan nanopartikel, dimana nanopartikel merupakan sediaan yang berukuran nanometer yaitu 1-100 nm, karena ukuran partikel yang sangat kecil dapat meningkatkan penyerapan senyawa antioksidan yang terdapat dalam sampel tersebut. Karena terjadinya pengecilan ukuran partikel sehingga menyebabkan peningkatan luas permukaan sehingga menyebabkan peningkatan kelarutan, meningkatnya kelarutan sehingga juga menyebabkan peningkatan bioavailabilitas dan efikasinya. Formulasi yang dipakasi untuk menjadikan fraksi etil asetat menjadi

sediaan nanopartikel dapat dilihat pada Tabel.1. metoda pembuatan nanopartikel adalah gelasi ionik yang melibatkan interaksi silang antara polielektrolit dengan pasangan ion multivalen. Kitosan digunakan sebagai nanocarier atau polimer pembawa karena kitosan bersifat biokompatible, biodegradable, dan tidak toksik. Karakterisasi nanopartikel dilakukan menggunakan PSA (*particle size analyzer*), sebuah alat yang dirancang untuk mengukur distribusi ukuran partikel pada skala nanometer. Prinsip kerja alat ini didasarkan pada hamburan cahaya laser oleh partikel dalam sampel. Cahaya laser dipancarkan melalui sebuah *pin hole* (lubang kecil) diarahkan ke partikel dalam sampel, yang kemudian akan menghamburkan cahaya kembali melalui *pin hole* tersebut menuju detektor. Sinyal analog yang terdeteksi diubah menjadi sinyal digital dan selanjutnya diubah menjadi deret hitung³⁴.

Ukuran partikel yang diperoleh untuk F1 126,7 nm, F2 40.81 nm dan F3 259.6 nm. Jadi formula nanopartikel yang memenuhi persyaratan standar ukuran nanopartikel dibawah 100 nm adalah formula F2. salah satu yang mempengaruhi hasil perolehan ukuran nanopartikel ini adalah variasi konsentrasi kitosan dan Na-TPP yang berfungsi sebagai agen pembawa untuk reaksi nanopartikel. Selanjutnya sediaan nanopartikel F2 dilanjutkan untuk analisa aktifitas antioksidan menggunakan metoda yang sama saat menganalisa ekstrak sebelumnya. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 5 dan 6.

Tabel 5. Nilai Rata-Rata Absorbansi nanopartikel F2 menggunakan metode FTC

Hari ke-	Kontrol (-)	Kontrol (+)	Nanopartikel F2	% Inhibisi
1	2,214	1,485	0,787	64,45
2	2,602	1,822	1,738	52,22
3	2,812	2,069	1,945	53,20
4	2,863	2,181	2,063	45,96
5	2,921	2,232	2,151	40,48
6	3,209	2,553	2,466	23,77
7	3,134	2,448	2,369	34,93

Keterangan: Kontrol (+) = Vitamin E
Kontrol (-) = tanpa vitamin E

Tabel 6. Persentase inhibisi nanopartikel F2 menggunakan metode TBA

Kontrol (-)		% Inhibisi Nanopartikel F2		
Abs Rata-Rata	Replika 1	Replika 2	Replika 3	
1,07	40,56	37,75	42,99	
	Rata-rata	40,53		

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, diperoleh % inhibisi rata-rata sampel nanopartikel fraksi etil asetat pada hari keenam yaitu sebesar 39,63 % dan pada metode TBA diperoleh % inhibisi rata-rata sediaan nanopartikel fraksi etil asetat adalah sebesar 40,43 %. Dari data yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa sampel yang sudah dibuat dalam bentuk nanopartikel dapat meningkatkan aktivitas antioksidan sampel tersebut.

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode FTC didasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan untuk menghambat pembentukan warna, yang tercermin dari kemampuannya mempertahankan nilai absorbansi. Metode FTC mengukur jumlah peroksida yang terbentuk pada tahap awal oksidasi lipid, dikenal sebagai produk primer. Pembentukan peroksida berlangsung hingga mencapai batas maksimum, setelah itu terjadi penurunan (dekomposisi). Pada metode FTC peroksida yang terbentuk dari asam linoleat bereaksi dengan Fe^{2+} , menghasilkan Fe^{3+} , yang kemudian berintegrasi dengan tiosianat untuk membentuk kompleks berwarna merah. Sementara itu, metode TBA digunakan untuk mengukur jumlah MDA yang terbentuk, sekaligus untuk mengevaluasi tingkat peroksidasi lipid. Pada kondisi pH rendah dan suhu tinggi, MDA bereaksi dengan TBA membentuk kompleks berwarna merah muda. Molondialdehid (MDA) merupakan produk dekomposisi utama karbonil pada proses autooksidasi lipid tak jenuh. Tujuan dilakukan uji ini adalah untuk mengetahui banyaknya senyawa MDA yang terbentuk. Dimana senyawa ini terbentuk pada tahap reaksi peroksidasi lipid kedua. % inhibisi yang diperoleh menunjukkan kemampuan senyawa antioksidan dalam sampel untuk menangkap radikal bebas pada konsentrasi larutan uji.

Penelitian ini menunjukkan pendekatan inovatif dalam meningkatkan aktivitas antioksidan daun Sembung (*Blumea balsamifera* L.) melalui formulasi nanopartikel berbasis fraksi etil asetat. Keunggulan penelitian terletak pada penggunaan metode FTC dan TBA untuk mengukur efektivitas antioksidan secara komprehensif, yang memungkinkan evaluasi pada tahap awal dan lanjutan peroksidasi lipid. Modifikasi nanopartikel memberikan hasil yang signifikan, dengan peningkatan aktivitas antioksidan yang didukung oleh pengukuran persentase inhibisi yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak konvensional. Penggunaan kitosan sebagai polimer pembawa dalam metode gelasi ionik juga memberikan keunggulan berupa kestabilan dan bioavailabilitas senyawa aktif. Walaupun penelitian ini memberikan kontribusi yang signifikan, terdapat beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan. Salah satu kelemahannya adalah pengujian hanya dilakukan pada satu konsentrasi ekstrak dan nanopartikel, sehingga variasi dosis belum dieksplorasi secara mendalam. Dengan tidak adanya pengujian pada berbagai konsentrasi, penelitian ini belum dapat menentukan

rentang dosis yang paling efektif untuk mencapai aktivitas antioksidan maksimum.

KESIMPULAN

Modifikasi ekstrak daun Sembung (*Blumea balsamifera* L.) ke dalam bentuk nanopartikel dapat meningkatkan aktivitas antioksidan secara signifikan dibandingkan dengan ekstrak konvensional. Pengujian menggunakan metode ferri tiosianat (FTC) dan asam tiobarbiturat (TBA) menunjukkan bahwa sediaan nanopartikel fraksi etil asetat dari daun Sembung memiliki potensi yang lebih besar dalam mencegah kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas, dengan % inhibisi untuk FTC dan TBA masing-masing sebesar 23,77% dan 40,43%, dibandingkan dengan ekstrak fraksi etil asetat konvensional yang menunjukkan % inhibisi masing-masingnya sebesar 31,25% dan 17,34%. Peningkatan aktivitas ini kemungkinan disebabkan oleh ukuran partikel yang lebih kecil dalam bentuk nanopartikel, yang meningkatkan luas permukaan kontak antara senyawa antioksidan dan radikal bebas, serta meningkatkan stabilitas dan bioavailabilitas senyawa aktif.

ACKNOWLEDGEMENT

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada analisis Laboratorium Farmasi di Universitas Mohammad Natsir untuk membantu persiapan alat dan bahan penelitian. Tidak lupa juga teman satu tim penelitian yang membantu dalam penyelesaian penelitian dan penulisan artikel ini.

KONFLIK KEPENTINGAN DAN SUMBER PENDANAAN

Semua penulis tidak memiliki konflik kepentingan terhadap artikel ini.

KONTRIBUSI PENULIS

IAS: menulis artikel, merevisi dan menyempurnakan naskah; AR: merancang, melakukan penelitian, menulis artikel, menyempurnakan naskah; TA: mengawasi penelitian, merevisi naskah; WUZ: melakukan penelitian.

REFERENSI

- Shetty, S. S. et al. Environmental pollutants and their effects on human health. *Heliyon* **9**, e19496 (2023). DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e19496
- Son, E. S. et al. Effects of antioxidants on oxidative stress and inflammatory responses of human bronchial epithelial cells exposed to particulate matter and cigarette smoke extract. *Toxicol. Vitr.* **67**, 104883 (2020). DOI: 10.1016/j.tiv.2020.104883
- Didier, A. J. et al. Antioxidant and Anti-Tumor Effects of Dietary Vitamins A, C, and E. *Antioxidants* **12**, (2023). DOI: 10.3390/antiox12030632

4. Sahiner, M., Yilmaz, A. S., Gungor, B., Ayoubi, Y. & Sahiner, N. Therapeutic and Nutraceutical Effects of Polyphenolics from Natural Sources. *Molecules* **27**, (2022). DOI: 10.3390/molecules27196225
5. Viña, J., Borrás, C., Abdelaziz, K. M., Garcia-Valles, R. & Gomez-Cabrera, M. C. The free radical theory of aging revisited: The cell signaling disruption theory of aging. *Antioxidants Redox Signal.* **19**, 779–787 (2013). DOI: 10.1089/ars.2012.5111
6. Muthoni Guchu, B., Machocho, A. K. O., Mwiha, S. K. & Ngugi, M. P. In Vitro Antioxidant Activities of Methanolic Extracts of *Caesalpinia volkensii* Harms., *Vernonia lasiopos* O. Hoffm., and *Acacia hockii* de Wild. *Evidence-based Complement. Altern. Med.* **2020**, (2020). DOI: 10.1155/2020/3586268
7. Gutiérrez-Del-río, I. et al. Terpenoids and polyphenols as natural antioxidant agents in food preservation. *Antioxidants* **10**, (2021). DOI: 10.3390/antiox10081264
8. Sugier, P. et al. Chemical Characteristics and Antioxidant Activity of *Arctostaphylos uva-ursi* L. Spreng. at the Southern Border of the Geographical Range of the Species in Europe. *Molecules* **26**, 1–22 (2021). DOI: 10.3390/molecules26247692
9. Jacob, J. & K, S. Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of *Pterospermum Rubiginosum* Heyne Ex Wight and *Arn* and *Pterospermum Reticulatum* Wight and *Arn* (Sterculiaceae): an In Vitro Comparative Study. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* **12**, 272–275 (2019). DOI: 10.22159/ajpcr.2019.v12i2.28137
10. Jiang, L. L. et al. Bioactive compounds from plant-based functional foods: A promising choice for the prevention and management of hyperuricemia. *Foods* **9**, (2020). DOI: 10.22159/ajpcr.2019.v12i2.28137
11. Anish, R. J., Sajeetha, S. & Rauf, A. A. Cytotoxic evaluation and phytochemical screening of an ethnomedicinal plant: *Pterospermum rubiginosum* from southern Western Ghats. *J. Med. Plants Stud.* **9**, 51–58 (2021). DOI: 10.22271/plants.2021.v9.i5a.1332
12. Huang, X. L., Wang, D. W., Liu, Y. Q. & Cheng, Y. X. Diterpenoids from *Blumea balsamifera* and Their Anti-Inflammatory Activities. *Molecules* **27**, (2022). DOI: 10.3390/molecules27092890
13. Kusumawati, I. G. A. W. et al. Effect of loloh sembung (*Blumea balsamifera*) maturity stage on antioxidant activity. *J. Gizi dan Diet. Indones. (Indonesian J. Nutr. Diet.* **6**, 1 (2019). DOI: 10.3390/molecules27092890
14. Pang, Y. et al. *Blumea balsamifera*- A phytochemical and pharmacological review. *Molecules* **19**, 9453–9477 (2014). DOI: 10.3390/molecules19079453
15. Maulydia, N. B. et al. GC-MS Analysis Reveals Unique Chemical Composition of *Blumea balsamifera* (L.) DC in Ie-Jue Geothermal Area. *Grimsa J. Sci. Eng. Technol.* **1**, 9–16 (2023). DOI: 10.61975/gjset.v1i1.6
16. Widhiantara, I. G. & Jawi, I. M. Phytochemical composition and health properties of *Lycium europaeum* L.: A review. *Vet. World* **14**, 1185–1196 (2021). DOI: 10.14202/vetworld.2021.1185-1196
17. Zhang, H. et al. Antioxidant activities and chemical constituents of flavonoids from the flower of *Paeonia ostii*. *Molecules* **22**, (2017). DOI: 10.14202/vetworld.2021.1185-1196
18. Bisognin, D. A., da Luz, L. V., Lencina, K. H., dos Santos, C. O. & Sautter, C. K. Contents of total phenolics and flavonoids in and antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* leaves. *Pesqui. Agropecu. Bras.* **54**, e00856 (2019). DOI: 10.1590/S1678-3921.PAB2019.V54.00856
19. Maryam, S., Baits, M. & Nadia, A. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Menggunakan Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). *J. Fitofarmaka Indones.* **2**, 115–118 (2016). DOI: 590/S1678-3921.PAB2019.V54.00856
20. Sharma, S. & Vig, A. P. Evaluation of in vitro antioxidant properties of methanol and aqueous extracts of *Parkinsonia aculeata* L. leaves. *Sci. World J.* **2013**, (2013). DOI: 10.1155/2013/604865
21. Li, L. et al. In Vitro and In Vivo Antioxidative and Hepatoprotective Activity of Aqueous Extract of Cortex *Dictamni*. *World J Gastroenterology* **7**, 30–45 (2018). DOI:
22. Maslahat, M., Nurilmala, F. & Harpeni, L. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Simplisia Daun Sembung (*Blumea balsamifera*). *J. Sains Nat.* **3**, 129 (2017). DOI: 10.31938/jsn.v3i2.62
23. Nurviana, V., Alifiar, I., Wulandari, W. T., Dewi, R. & Nuraeni, R. Potensi Antidioksidan Sediaan Nanopartikel Ekstrak Kernel Biji Limus (*Mangifera foetida* Lour). *J. Farm. Udayana* 144–151 (2020). DOI:10.24843/jfu.2020.v09.i03.p02
24. Rahmi, A., Afriani, T., Hevira, L. & Widiawati, W. Uji Aktivitas Antioksidan dan Fenolik Total Fraksi Etil Asetat Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC). *J. Ris. Kim.* **12**, (2021). DOI: 10.25077/jrk.v12i2.383
25. Syamsul, E. S., Hakim, Y. Y. & Nurhasnawati, H. Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd.) dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *J. Ris. Kefarmasian Indones.* **1**, 11–20 (2019). DOI: 10.33759/jrki.v1i1.46
26. Mau, M. Y. Penetapan Kandungan Fenolik Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Metanol Daun Dudu (*Piper sarmentosum* roxb.). *Lit. J. Ilm. Sos.* **3**, 107–118 (2021).
27. Rahman, S., Kosman, R. & Rahmianar, I. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Diabetes Melitus yang Diinduksi Alokasan dengan Parameter Malondialdehid (MDA). *J. Ilm. As-Syifaa* **6**, 34–42 (2014). DOI: 10.33096/jifa.v6i1.31
28. Dwitarni, N., Amin, R. R., Sofyah, T. M., Ramadhani, D. N. & Sutoyo, S. Sintesis Dan Karakterisasi Nanoherbal Ekstrak Etanol Kayu

- Secang (*Caesalpinia sappan* L.). *J. Kim. Ris.* **6**, 102 (2021). DOI: 10.20473/jkr.v6i2.30883
29. Bachir Bey, M., Richard, G., Meziant, L., Fauconnier, M. L. & Louaileche, H. Effects of sun-drying on physicochemical characteristics, phenolic composition and in vitro antioxidant activity of dark fig varieties. *J. Food Process. Preserv.* **41**, (2017). DOI: 10.1111/jfpp.13164
30. Wendersteyt, N. V., Wewengkang, D. S. & Abdullah, S. S. Uji Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak dan Fraksi Ascidian *Herdmania Momus* dari Perairan Pulau Bangka Likupang terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* dan *Candida albicans*. *Pharmacon* **10**, 706 (2021). DOI: 10.35799/pha.10.2021.32758
31. Aminah, A., Tomayahu, N. & Abidin, Z. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill) dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *J. Fitofarmaka Indones.* **4**, 226–230 (2017). DOI: 10.33096/jffi.v4i2.265
32. Suharyanto, S. & Prima, D. A. N. Penetapan Kadar Flavonoid Total pada Juice Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas* L.) yang Berpotensi Sebagai Hepatoprotektor dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Cendekia J. Pharm.* **4**, 110–119 (2020). DOI: 10.31596/cjp.v4i2.89
33. Saputri, R. & Hakim, A. R. Penetapan Kadar Flavonoid Total Dan Kadar Fenolik Total Ekstrak Kulit Buah Pitanak (*Nephelium* sp.). *J. f Pharm. Care dan Sci.* **2**, 92–96 (2022).
34. Nuraeni, W., Daruwati, I., W, E. M. & Sriyani, M. E. Verifikasi Kinerja Alat Particle size analyzer (PSA) Horiba Lb-550 Untuk Penentuan Distribusi Ukuran Nanopartikel. *Pros. Semin. Nas. Sains dan Teknol. Nukl.* 266–271 (2013).