

Effects of Extraction Methods on Total Phenolic Content, Total Flavonoid Content, and Antioxidant Activity of Extract Mango Leaves (*Mangifera indica* L.)

Nur Audiyyah Tinasy [✉], Nanik Wijayati

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang
Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Telp. (024)8508112 Semarang 50229

Info Artikel

Diterima : 18-07-2024
Disetujui : 27-08-2024
Dipublikasikan : 25-11-2024

Keywords:

Radikal Bebas, Antioksidan, Fenolik, Flavonoid, Daun Mangga.

Abstrak

Kondisi udara yang buruk dapat disebabkan oleh asap rokok, asap industri maupun gas buangan kendaraan. Kondisi tersebut dapat mengakibatkan timbulnya radikal bebas. Suatu radikal bebas dapat mengakibatkan reaksi berantai yang dapat merusak jaringan. Reaksi tersebut dapat direddam oleh senyawa yang bersifat antioksidan. Daun mangga (*Mangifera indica* L.) mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Senyawa golongan flavonoid diketahui mempunyai kemampuan sebagai antioksidan, namun senyawa ini sangat tidak stabil dan dapat hilang secara signifikan selama berbagai tahap pemrosesan. Oleh karena itu, diperlukan proses ekstraksi yang efisien untuk mempertahankan kandungan senyawa dalam bahan alam. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis metode optimal yang dapat menghasilkan kandungan fenolik total, flavonoid total, dan aktivitas antioksidan yang tinggi. Metode ekstraksi yang digunakan diantaranya yaitu ekstraksi berbantuan gelombang ultrasonik, refluks, dan maserasi. Penentuan kandungan fenolik total dilakukan dengan pereaksi Folin-Ciocalteu, kandungan flavonoid total dilakukan dengan pereaksi AlCl_3 , dan aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan fenolik total tertinggi diperoleh dengan ekstraksi maserasi yang menghasilkan TPC sebesar $218,86 \pm 4,95$ mgGAE/g, kandungan flavonoid total tertinggi diperoleh dengan ekstraksi refluks yang menghasilkan TFC sebesar $301,97 \pm 30,07$ mgQE/g, dan aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh dengan ekstraksi maserasi yang menghasilkan nilai IC_{50} sebesar $5,20 \mu\text{g/mL}$.

Abstract

Cigarette smoke, industrial pollutants, and vehicle exhaust gasses can all contribute to poor air quality. This situation can lead to the formation of free radicals. A free radical can initiate a chain reaction that damages tissue. Antioxidant substances can help to decrease this effect. The mango leaves (*Mangifera indica* L.) contains flavonoids, alkaloids, saponins, and tannins. Flavonoid compounds are known to have antioxidant properties, but these compounds are volatile and can be lost significantly during various stages of processing. As a result, an efficient extraction procedure is required to maintain the chemical content of natural substances. This study attempts to identify the best method for producing total phenolic content, total flavonoids, and high antioxidant activity. The extraction methods used were ultrasonic assisted extraction, reflux, and maceration. The Folin-Ciocalteu reagent was used to determine total phenolic content, the AlCl_3 reagent to determine total flavonoid content, and the DPPH technique to assess antioxidant activity. The study found that maceration extraction produced the highest TPC (218.86 ± 4.95 mgGAE/g), reflux extraction produced the highest TFC (301.97 ± 30.07 mgQE/g), and maceration extraction produced the highest antioxidant activity ($IC_{50} = 5.20 \mu\text{g/mL}$).

© 2024 Universitas Negeri Semarang

[✉] Alamat korespondensi:
Gedung D6 Lantai 2 Kampus Sekaran, Gunungpati, Semarang 50229
E-mail: nuraudiyyah628@gmail.com

p-ISSN 2252-6951
e-ISSN 2502-6844

Pendahuluan

Kondisi lingkungan menjadi semakin tidak sehat akibat adanya cemaran lingkungan, salah satunya yaitu pencemaran udara. Kondisi udara yang buruk dapat disebabkan oleh asap rokok, asap industri, maupun gas buangan kendaraan. Kondisi ini dapat menyebabkan timbulnya radikal bebas (Rahmi, 2017). Radikal bebas merupakan suatu atom atau molekul yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan sehingga bersifat sangat reaktif. Suatu radikal bebas akan cenderung mengambil elektron dari molekul lain agar menjadi stabil namun berakibat menimbulkan reaksi berantai yang dapat merusak jaringan. Reaksi berantai tersebut dapat diredam oleh senyawa yang bersifat antioksidan (Phaniendra *et al.*, 2015).

Antioksidan dapat diartikan sebagai senyawa yang dapat menghentikan reaksi berantai dari radikal bebas (Meigaria *et al.*, 2016). Antioksidan yang umum digunakan adalah antioksidan sintetik seperti *Butylated Hydroxyanisole* (BHA), *Butylated Hydroxytoluene* (BHT), *Propyl Gallate* (PG) dan *Tertiary Butyl Hydroquinone* (TBHQ). Penelitian Xu *et al.*, (2021) melaporkan bahwa antioksidan sintetik tersebut memiliki efek karsinogenik, sehingga penggunaannya tidak lagi dianjurkan. Oleh karena itu, untuk mengatasi permasalahan tersebut diperlukan antioksidan alami. Antioksidan alami dapat diperoleh dari tanaman yang memiliki senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai senyawa antioksidan (Adawiah *et al.*, 2015).

Senyawa fenolik seperti flavonoid, merupakan senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Senyawa ini dapat melawan stres oksidatif dan penyakit kardiovaskular yang disebabkan oleh radikal bebas (Ciulu *et al.*, 2017). Senyawa flavonoid dapat ditemukan pada batang, bunga, daun, dan buah. Daun mangga merupakan salah satu bagian tanaman yang dilaporkan mengandung senyawa flavonoid (Dorta *et al.*, 2012). Senyawa flavonoid merupakan senyawa turunan polifenol yang dapat berperan sebagai antioksidan melalui ikatan antara gugus fenol dengan radikal bebas yaitu dengan mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menetralkan efek toksik dari radikal bebas (Kusuma, 2015). Identifikasi senyawa fenolik dan flavonoid dapat dilakukan melalui proses ekstraksi. Kualitas hasil ekstraksi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya yaitu metode ekstraksi (Al Ubeed *et al.*, 2022). Metode ekstraksi dapat mempengaruhi konsentrasi atau hilangnya aktivitas farmakologis dari simplisia, hal ini dikarenakan beberapa simplisia bersifat relatif stabil dan dapat terurai tergantung pada metode ekstraksi yang digunakan (Spigno *et al.*, 2007).

Ekstraksi bahan alam dapat dilakukan dengan metode konvensional maupun non konvensional. Metode konvensional telah banyak digunakan dan memiliki beberapa kekurangan diantaranya yaitu membutuhkan banyak pelarut, waktu ekstraksi relatif lama, rendemen yang diperoleh sedikit (Tjahjani *et al.*, 2014), dapat mendegradasi senyawa termolabil, berpotensi menghasilkan emisi zat beracun selama ekstraksi sehingga dianggap tidak ramah lingkungan dan dapat berkontribusi terhadap masalah polusi (Daniels *et al.*, 2020). Oleh karena itu, dikembangkan metode ekstraksi non konvensional dengan bantuan gelombang mikro dan gelombang ultrasonik. Kelebihan dari ekstraksi non konvensional diantaranya yaitu dapat menghasilkan rendemen yang tinggi, waktu ekstraksi cepat, dan pelarut yang digunakan lebih sedikit (Zhang *et al.*, 2018). Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan analisis pengaruh metode ekstraksi terhadap kandungan fenolik total, flavonoid total, dan aktivitas antioksidan ekstrak daun mangga varietas manalagi. Adapun metode ekstraksi yang digunakan yaitu ekstraksi berbantuan gelombang ultrasonik, refluks, dan maserasi.

Metode

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah sonikator (GT Sonic Ultrasonic Cleaner), seperangkat alat refluks, bejana maserasi, rotary evaporator, blender (Philips), ayakan 100 mesh, *microplate*, mikropipet (Biologix), *yellow tip*, spektrofotometer UV-Vis (SPEKTROstar Omega), FT-IR (PerkinElmer Spectrum version 10.03.06). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangga varietas manalagi (daun mangga tua), etanol 96%, reagen Dragendorff, kloroform, anhidrida asam asetat, H_2SO_4 pekat, $FeCl_3$ 1%, serbuk Mg, HCl pekat, asam galat 98%, akuabides, Na_2CO_3 7%, reagen Folin-Ciocalteu 10%, kuersetin 95%, metanol p.a, $AlCl_3$ 2%, reagen DPPH 99,9%.

Ekstraksi

Penelitian dimulai dengan pembuatan simplisia, daun mangga manalagi yang telah dipetik selanjutnya dibersihkan, dikeringkan dalam suhu ruang selama 7 hari, dihaluskan, dan disaring menggunakan ayakan 100 mesh (Masturi *et al.*, 2019). Selanjutnya, dilakukan proses ekstraksi dengan tiga metode yaitu ekstraksi berbantuan gelombang ultrasonik, refluks, dan maserasi. Pada ekstraksi berbantuan gelombang ultrasonik, digunakan simplisia sebanyak 30 g dan etanol 96% sebanyak 300 mL, sementara pada ekstraksi metode refluks dan maserasi, digunakan simplisia sebanyak 100 g dan etanol 96% sebanyak 1 L. Ekstraksi berbantuan gelombang ultrasonik

dilakukan pada suhu 32°C selama 25 menit, refluks dilakukan pada suhu 86°C selama 6 jam, dan maserasi dilakukan pada suhu ruang selama 1×24 jam. Ekstrak yang dihasilkan dari masing-masing metode selanjutnya dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 55°C (González-Centeno *et al.*, 2014; Susanty & Bachmid, 2016; Masturi *et al.*, 2019).

Karakterisasi FTIR

Karakterisasi FTIR dilakukan menggunakan metode transmisi KBr yaitu kristal KBr digerus halus bersamaan dengan sampel uji, dimasukkan ke dalam pembuatan pellet, sehingga diperoleh film tipis. Pellet yang sudah jadi ditempatkan pada *sample compartment* untuk dilakukan proses analisis pada rentang bilangan gelombang 4000-400 cm⁻¹. Hasil akhir dari analisis diperoleh data bilangan gelombang dan persen transmitan sampel (Triyasmono *et al.*, 2020).

Uji Fitokimia

Sebanyak 1 g ekstrak dilarutkan dengan 30 mL akubides. Selanjutnya, larutan tersebut dilakukan pengujian kualitatif senyawa alkaloid, steroid, terpenoid, fenolik, dan flavonoid.

Identifikasi Alkaloid

Sebanyak 2 mL larutan ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 5 tetes reagen Dragendorff. Setelah itu, tabung digojog perlahan sampai larutan homogen. Positif alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna merah jingga (Ergina *et al.*, 2014), atau terjadi perubahan warna menjadi merah jingga dan terbentuk endapan jingga hingga kuning kecoklatan (Hammado, 2020; Permata *et al.*, 2018).

Identifikasi Steroid dan Terpenoid

Sebanyak 2 mL larutan ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian, ditambahkan dengan 0,5 mL kloroform dan 0,5 mL anhidrida asam asetat. Selanjutnya, sebanyak 2 tetes H₂SO₄ pekat ditambahkan melalui dinding tabung. Setelah itu, tabung digojog perlahan sampai larutan homogen. Sampel dinyatakan positif steroid jika terbentuk warna hijau atau biru, dan dinyatakan positif terpenoid jika terbentuk warna ungu atau merah (Agustina *et al.*, 2017).

Identifikasi Fenolik

Sebanyak 2 mL larutan ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi FeCl₃. Setelah itu, tabung digojog perlahan sampai larutan homogen. Positif fenolik ditandai dengan terbentuknya perubahan warna menjadi biru kekuningan atau coklat kehijauan (Agustina *et al.*, 2017).

Identifikasi Flavonoid

Sebanyak 2 mL larutan ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Setelah itu, tabung berisi sampel dipanaskan dalam penangas air selama 5 menit. Selanjutnya, larutan sampel ditambahkan dengan sepucuk spatula serbuk Mg dan 5 tetes HCl pekat. Kemudian, tabung digojog sampai larutan homogen. Positif flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah atau jingga (Ergina *et al.*, 2014).

Uji Kandungan Fenolik Total

Penetuan kandungan fenolik total diawali dengan pembuatan larutan standar asam galat dan larutan uji dengan konsentrasi 500 µg/mL. Sebanyak 5 mg asam galat dan ekstrak kental dilarutkan dengan akuabides dalam beaker glass. Kemudian, masing-masing larutan dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL dan ditambahkan dengan akuabides sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan standar asam galat dan larutan uji dengan konsentrasi 500 µg/mL. Pengukuran absorbansi dilakukan dengan memasukkan 12 µL larutan standar dan larutan uji ke dalam *microplate*, kemudian ditambahkan dengan 50 µL akuabides dan 13 µL reagen Folin-Ciocalteu. Setelah itu, dilakukan inkubasi selama 10 menit pada suhu ruang. Selanjutnya, masing-masing campuran ditambahkan dengan 125 µL Na₂CO₃ 7% dan dilakukan inkubasi kembali selama 15 menit pada suhu ruang. Setelah inkubasi selesai, campuran dalam *microplate* dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 666 nm (Do *et al.*, 2014).

Uji Kandungan Flavonoid Total

Penetuan kandungan flavonoid total diawali dengan pembuatan larutan standar kuersetin 50 µg/mL dan larutan uji 100 µg/mL. Larutan standar kuersetin 50 µg/mL dibuat dengan melarutkan 1 mg kuersetin dengan metanol p.a dalam beaker glass, kemudian larutan dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL dan ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 100 µg/mL. Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan memasukkan sebanyak 5 mL ke dalam labu takar 10 mL kemudian ditambahkan dengan metanol p.a sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan standar kuersetin 50 µg/mL. Pembuatan

larutan uji dilakukan dengan melarutkan 0,1 g ekstrak kental daun mangga dengan metanol p.a dalam beaker glass, kemudian larutan dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL dan ditambahkan dengan metanol p.a sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 10.000 µg/mL. Selanjutnya, dilakukan pengenceran dengan memasukkan sebanyak 0,1 mL larutan uji 10.000 µg/mL ke dalam labu takar 10 mL, kemudian ditambahkan dengan metanol p.a sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan uji dengan konsentrasi 100 µg/mL. Pengukuran absorbansi dilakukan dengan memasukkan 100 µL larutan standar dan larutan uji ke dalam *microplate*, kemudian ditambahkan dengan 10 µL larutan AlCl₃ 2% dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Selanjutnya, campuran dalam *microplate* dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 438 nm (Do *et al.*, 2014).

Uji Aktivitas Antioksidan

Pengukuran aktivitas antioksidan diawali dengan pembuatan larutan DPPH 50 µg/mL dan larutan uji 10 µg/mL. Larutan DPPH dibuat dengan melarutkan 1 mg DPPH dengan metanol p.a dalam beaker glass, kemudian larutan dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL dan ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan DPPH 100 µg/mL. Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan memasukkan 5 mL larutan DPPH 100 µg/mL ke dalam labu takar 10 mL dan ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan DPPH 50 µg/mL. Larutan uji terdiri dari larutan pembanding kuersetin dan ekstrak kental daun mangga. Pembuatan larutan diawali dengan melarutkan 10 mg kuersetin dan ekstrak kental dengan metanol p.a dalam beaker glass, kemudian larutan dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL dan ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan uji dengan konsentrasi 1000 µg/mL. Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan memasukkan sebanyak 0,1 mL larutan uji 100 µg/mL ke dalam labu takar 10 mL, kemudian ditambahkan dengan metanol p.a sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan uji 10 µg/mL. Pengukuran absorbansi larutan uji dilakukan dengan memasukkan 100 µL masing-masing larutan ke dalam *microplate*, kemudian ditambahkan dengan 100 µL larutan DPPH dan diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap pada suhu ruang. Selanjutnya, campuran dalam *microplate* dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 516 nm (Tristantini *et al.*, 2016).

Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi

Ekstraksi daun mangga dilakukan dengan menggunakan variasi metode, diantaranya yaitu ultrasonik, refluks, dan maserasi. Variasi metode dilakukan untuk membandingkan kualitas hasil dari ekstraksi konvensional dan ekstraksi non konvensional. Pemilihan ketiga metode dilakukan atas dasar cara ekstraksi, maserasi termasuk dalam ekstraksi dingin karena dilakukan tanpa pemanasan, sedangkan ekstraksi refluks dan ultrasonik termasuk dalam ekstraksi panas karena prosesnya memerlukan pemanasan. Pada penelitian ini, ekstraksi refluks dilakukan pada suhu 86°C dan ekstraksi ultrasonik dilakukan pada suhu 32°C.

Rendemen suatu sampel perlu diketahui karena dapat memberikan informasi terkait persentase berat dari senyawa aktif yang berhasil diekstrak dari suatu bahan tanaman. Rendemen juga dapat memberikan informasi terkait efisiensi proses ekstraksi dan kualitas bahan ekstrak yang dihasilkan. Semakin tinggi rendemen, proses ekstraksi semakin efisien, dan semakin banyak senyawa aktif yang berhasil diekstrak dari sampel (Hasnaeni *et al.*, 2019). Adapun rendemen yang dihasilkan dari ekstrak daun mangga manalagi dengan tiga metode ekstraksi disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Persen Rendemen Ekstrak Daun Mangga

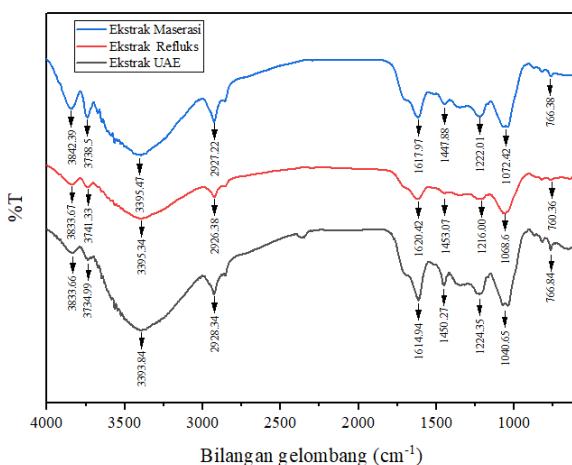
Sampel	Massa Simplicia (g)	Massa akhir (g)	Rendemen (%)
Ekstrak UAE	30,0003	10,19	33,97%
Ekstrak Refluks	100,0026	18,92	18,92%
Ekstrak Maserasi	100,0004	26,93	26,93%

Berdasarkan Tabel 1, ekstrak daun mangga yang dihasilkan dengan metode ekstraksi berbantuan gelombang ultrasonik memiliki persen rendemen yang lebih tinggi dibandingkan metode lainnya. Hal ini disebabkan oleh getaran ultrasonik yang dihasilkan oleh sonikator, yang memperkuat perpindahan massa sel dan penetrasi ke dalam matriks ekstrak. Proses kavitasasi yang terjadi selama sonifikasi menyebabkan dinding sel pada matriks ekstrak pecah, sehingga memperbesar kontak pelarut dengan bahan yang diekstrak dan memungkinkan senyawa bioaktif dalam ekstrak keluar secara optimal (Mawarda *et al.*, 2020). Hasil penelitian dapat dikatakan

sejalan dengan penelitian Mawarda *et al.*, (2020), yang melaporkan bahwa ekstraksi berbantuan gelombang ultrasonik dengan waktu 20 menit menghasilkan persen rendemen yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraksi maserasi yang dilakukan selama 14 hari.

Karakterisasi FTIR

Ekstrak daun mangga dianalisis dengan spektrofotometer FTIR untuk menganalisis gugus fungsi senyawa dalam ekstrak daun mangga. Hasil karakterisasi FTIR pada ekstrak daun mangga varietas manalagi yang diekstraksi dengan metode UAE, refluks, dan maserasi disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Spektra FTIR Ekstrak Daun Mangga

Berdasarkan spektra FTIR yang disajikan pada Gambar 1, ekstrak daun mangga yang diekstraksi dengan metode UAE memiliki gugus -OH regang pada serapan bilangan gelombang $3393,84\text{ cm}^{-1}$, gugus -CH regang pada serapan bilangan gelombang $2928,34\text{ cm}^{-1}$, ikatan C=C aromatik regang pada serapan bilangan gelombang $1614,94\text{ cm}^{-1}$, gugus -CH lentur pada serapan bilangan gelombang $1450,27\text{ cm}^{-1}$, ikatan C-O lentur pada serapan bilangan gelombang $1224,35\text{ cm}^{-1}$ dan $1040,65\text{ cm}^{-1}$, serta ikatan C-C lentur pada serapan panjang gelombang $766,84\text{ cm}^{-1}$.

Pada ekstrak daun mangga yang diekstraksi dengan metode refluks menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang $3395,34\text{ cm}^{-1}$ yang mengindikasi adanya gugus -OH regang, serapan pada bilangan gelombang $2926,38\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus -CH regang, serapan pada bilangan gelombang $1620,42\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya ikatan C=C aromatik, serapan pada bilangan gelombang $1226,4\text{ cm}^{-1}$ dan $1068,6\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya ikatan C-O lentur, dan serapan pada bilangan gelombang $760,36\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya ikatan C-C lentur.

Ekstrak daun mangga yang diekstraksi dengan metode maserasi juga menunjukkan adanya gugus -OH regang yang dibuktikan dengan adanya serapan pada bilangan gelombang $3738,5\text{ cm}^{-1}$ dan $3395,47\text{ cm}^{-1}$, gugus -CH regang pada serapan bilangan gelombang $2927,22\text{ cm}^{-1}$, ikatan C=C aromatik regang pada serapan bilangan gelombang $1617,97\text{ cm}^{-1}$, ikatan C-O lentur pada serapan bilangan gelombang $1222,01\text{ cm}^{-1}$ dan $1072,42\text{ cm}^{-1}$, dan ikatan C-C lentur pada serapan panjang gelombang $766,38\text{ cm}^{-1}$.

Senyawa flavonoid diindikasi dengan adanya gugus -OH, ikatan C-O, gugus -CH, dan ikatan C=C aromatik (Sahribulan & Pagarra, 2023). Berdasarkan hasil analisis spektra FTIR pada Gambar 1, ketiga sampel menunjukkan adanya gugus yang mengindikasi senyawa flavonoid. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa dalam ekstrak daun mangga manalagi yang diekstraksi dengan metode UAE, refluks, dan maserasi, terindikasi senyawa flavonoid.

Uji Fitokimia

Analisis fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman secara kualitatif. Metode analisis ini melibatkan penggunaan pereaksi khusus yang dapat menghasilkan perubahan warna atau endapan yang mengindikasikan keberadaan golongan senyawa tertentu dalam sampel.

Pada penelitian ini, analisis fitokimia dilakukan pada ekstrak kental daun mangga yang dihasilkan dari ekstraksi UAE, refluks, dan maserasi. Analisis fitokimia yang dilakukan hanya mencakup senyawa alkaloid, steroid, terpenoid, fenolik, dan flavonoid. Hasil analisis fitokimia disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Mangga

Kandungan kimia	Ekstrak daun mangga metode UAE	Ekstrak daun mangga metode refluks	Ekstrak daun mangga metode maserasi
Alkaloid	+	+	+
Steroid	+	+	+
Terpenoid	-	-	-
Fenolik	+++	+++	+++
Flavonoid	+++	+++	+++

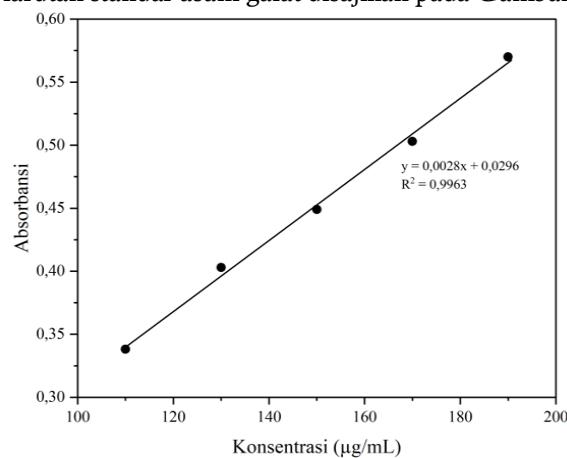
Keterangan:

- (++) : terdeteksi golongan senyawa dengan intensitas tinggi
 (+) : terdeteksi golongan senyawa dengan intensitas rendah
 (-) : tidak terdeteksi adanya golongan senyawa yang dimaksud

Hasil uji fitokimia yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mangga varietas manalagi positif mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, steroid, fenolik, dan flavonoid. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Negara, (2018), yang melaporkan adanya senyawa fenolik, flavonoid, steroid, dan tanin pada ekstrak daun mangga manalagi. Hasil penelitian ini juga sejalan dengan penelitian Cahyanto *et al.*, (2020), yang melaporkan bahwa daun mangga manalagi yang diekstraksi dengan pelarut metanol positif mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada ekstrak etanol daun mangga manalagi, metode ekstraksi tidak mempengaruhi kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak bahan alam.

Uji Kandungan Fenolik Total

Analisis kandungan fenolik total pada sampel daun mangga dilakukan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis dengan reagen Folin-Ciocalteu. Asam galat digunakan sebagai standar dalam analisis ini karena merupakan unit penyusun senyawa fenolik yang memiliki gugus hidroksil dan ikatan rangkap yang terkonjugasi pada cincin aromatik, sehingga memungkinkan senyawa ini untuk bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu (Siddiqui *et al.*, 2017). Selanjutnya, dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi berdasarkan hasil pengukuran absorbansi larutan standar asam galat, sehingga diperoleh persamaan regresi linear. Kurva kalibrasi larutan standar asam galat disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva Kalibrasi Larutan Standar Asam Galat

Serapan larutan standar asam galat menghasilkan persamaan regresi linear $y = 0,0028x + 0,0296$ dengan nilai koefisien korelasi $R^2 = 0,9963$. Besarnya koefisien korelasi yang mendekati 1 menunjukkan kuatnya hubungan linear antara konsentrasi larutan standar asam galat dengan absorbansi. Selain itu, hasil kurva kalibrasi juga menunjukkan semakin besar konsentrasi larutan standar asam galat maka semakin tinggi pula

absorbansinya. Persamaan regresi linear yang didapat, selanjutnya digunakan untuk menghitung nilai kandungan fenolik total dari ekstrak daun mangga dengan perbandingan metode ekstraksi. Besarnya kandungan fenolik total pada sampel disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Kandungan Fenolik Total Ekstrak Daun Mangga

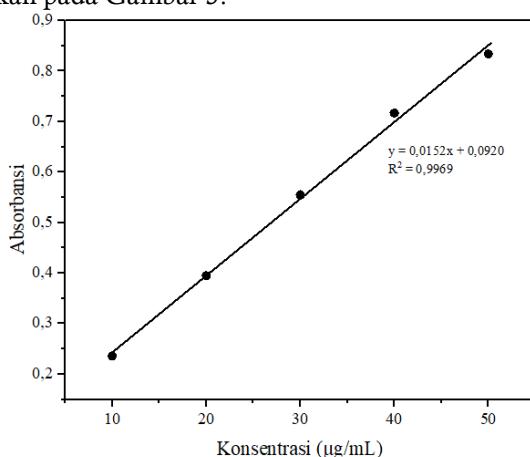
Sampel	TPC ± SD (mgGAE/g)
Ekstrak UAE	204,81 ± 7,23
Ekstrak Refluks	218,14 ± 2,86
Ekstrak Maserasi	218,86 ± 4,95

Berdasarkan Tabel 3, dapat disimpulkan bahwa kandungan fenolik total ekstrak daun mangga yang diekstraksi dengan metode maserasi menunjukkan hasil yang lebih besar dibandingkan dengan kandungan fenolik total dari ekstrak yang diekstraksi dengan metode ultrasonik dan refluks. Hal ini dimungkinkan karena pada metode maserasi proses ekstraksi memerlukan waktu yang lebih lama, sehingga memungkinkan lebih banyak senyawa fenolik yang terekstrak (Susanty & Bachmid, 2016). Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa metode ekstraksi dapat mempengaruhi besarnya kandungan fenolik total yang terkandung dalam sampel.

Besarnya kandungan fenolik total yang diperoleh pada penelitian ini memiliki angka yang tidak jauh berbeda dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Aji *et al.*, (2023), dimana pada penelitian tersebut diperoleh kandungan fenolik total ekstrak metanol daun mangga arum manis sebesar 246,94 mgGAE/g dan ekstrak metanol daun mangga kweni sebesar 176,11 mgGAE/g. Kuantitas senyawa fenol dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya yaitu perbedaan genetik, lingkungan, metode budidaya, kondisi pemrosesan, dan penyimpanan (Li *et al.*, 2021).

Uji Kandungan Flavonoid Total

Pengujian kandungan flavonoid total ekstrak daun mangga varietas manalagi dilakukan dengan metode kolorimetri menggunakan pereaksi AlCl₃. Larutan standar yang digunakan yaitu kuersetin karena kuersetin merupakan senyawa flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keton C-4 dan memiliki gugus hidroksil C-3 atau C-5 (Alfaridz & Amalia, 2019). Dalam menentukan kandungan flavonoid total, saat larutan sampel dicampurkan dengan AlCl₃, terjadi pembentukan kompleks antara flavonoid dan AlCl₃. Akibatnya, panjang gelombang berubah menuju sinar tampak yang ditandai dengan warna kuning pada larutan (Shraim *et al.*, 2021). Selanjutnya, dibuat kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi dan absorbansi berdasarkan hasil pengukuran absorbansi larutan standar kuersetin, sehingga diperoleh persamaan regresi linear. Kurva kalibrasi larutan standar kuersetin disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Kurva Kalibrasi Larutan Standar Kuersetin

Serapan larutan standar kuersetin menghasilkan persamaan regresi linear $y = 0,0152x + 0,0920$ dengan nilai koefisien korelasi $R^2 = 0,9969$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin tinggi pula absorbansinya. Persamaan regresi linear yang didapat, selanjutnya

digunakan untuk menghitung nilai kandungan flavonoid total dari ekstrak daun mangga dengan perbandingan metode ekstraksi. Besarnya kandungan flavonoid total pada sampel disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Daun Mangga

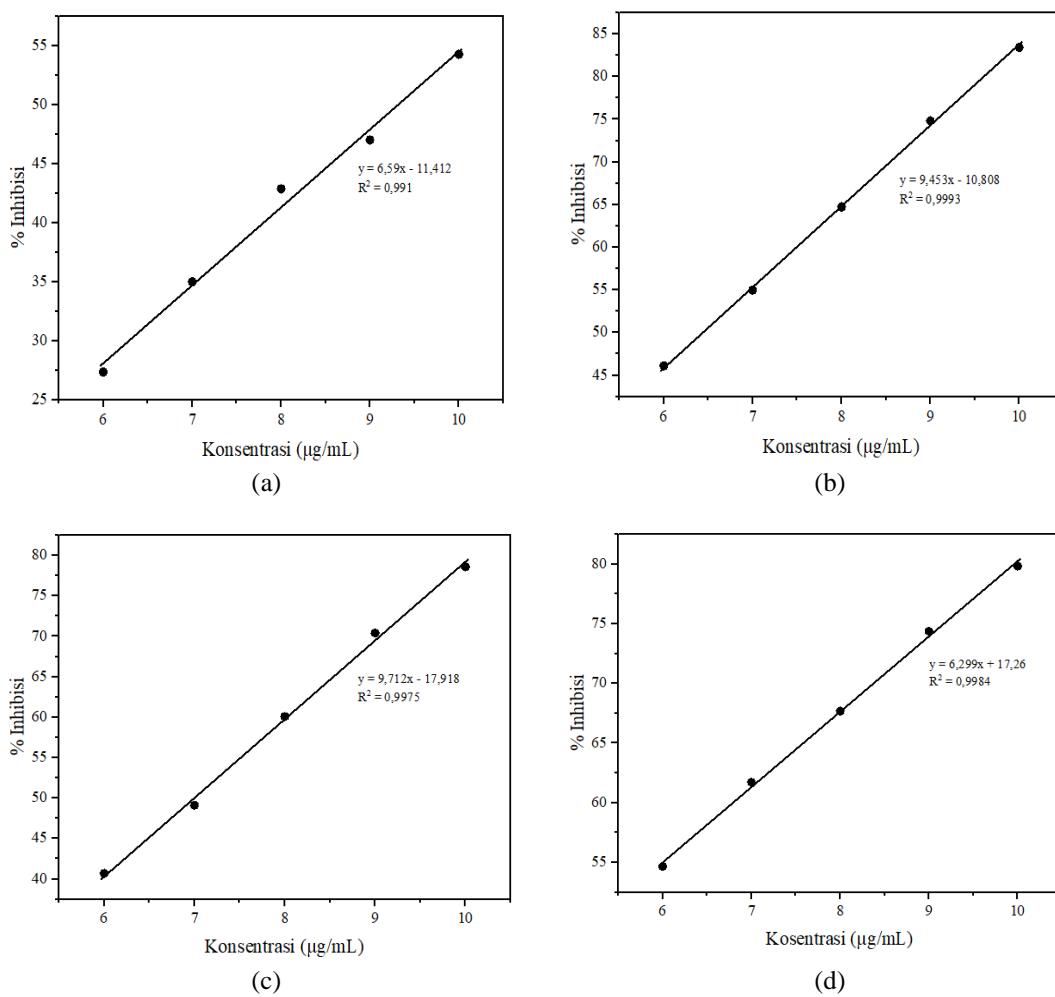
Sampel	TFC ± SD (mgQE/g)
Ekstrak UAE	284,21 ± 35,42
Ekstrak Refluks	301,97 ± 30,07
Ekstrak Maserasi	251,54 ± 16,31

Berdasarkan Tabel 4, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun mangga yang diekstraksi dengan metode refluks menghasilkan kandungan flavonoid total yang lebih besar dibandingkan dengan metode maserasi dan UAE. Ekstraksi refluks dilakukan dengan proses pemanasan pada suhu 86°C yang menyebabkan sel-sel pada daun mangga menjadi rapuh dan mengakibatkan proses penarikan senyawa atau proses ekstraksi akan menjadi lebih optimal dibandingkan dengan UAE yang menggunakan pemanasan dengan suhu 32°C dan maserasi yang tidak menggunakan pemanasan (Sa'adah *et al.*, 2017). Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Ramayani *et al.*, (2021), dimana kandungan flavonoid total dari ekstrak yang diekstraksi dengan metode konvensional dengan pemanasan lebih besar dibandingkan dengan metode konvensional tanpa pemanasan dan metode non-konvensional dengan pemanasan.

Besarnya kandungan flavonoid total yang diperoleh pada penelitian ini memiliki angka yang tidak jauh berbeda dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Aji *et al.*, (2023), dimana pada penelitian tersebut diperoleh kandungan flavonoid total ekstrak metanol daun mangga arum manis sebesar 129,95 mgQE/g dan ekstrak metanol daun mangga kweni sebesar 26,50 mgQE/g. Perbedaan jumlah kandungan flavonoid total dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti jenis tanaman, umur tanaman, kondisi tanah, pemberian pupuk, serta kondisi lingkungan (Aji *et al.*, 2023).

Uji Aktivitas Antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH. Metode ini dipilih karena merupakan metode yang dinilai paling sesuai untuk menguji komponen antioksidan yang bersifat polar. Hal ini disebabkan oleh kemampuan kristal DPPH yang hanya larut dalam pelarut polar seperti etanol dan metanol, yang memungkinkan pengukuran absorbansi maksimum (Saharuddin & Kondolele, 2020). Sampel uji pada penelitian ini adalah ekstrak daun mangga yang diekstraksi dengan metode UAE, refluks, dan maserasi, dengan masing-masing deret konsentrasi 6; 7; 8; 9; dan 10 µg/mL. Adapun larutan standar pembanding yang digunakan adalah kuersetin dengan deret konsentrasi yang sama. Hasil pembacaan dengan spektrofotometer UV-Vis menghasilkan absorbansi yang digunakan untuk menghitung persen inhibisi dari masing-masing konsentrasi larutan uji. Nilai persen inhibisi yang diperoleh selanjutnya diplot dengan konsentrasi larutan uji sehingga diperoleh persamaan regresi linear yang selanjutnya digunakan untuk menghitung nilai IC₅₀. Kurva regresi linear larutan pembanding kuersetin, ekstrak UAE, ekstrak refluks, dan ekstrak maserasi disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Kurva Hubungan Kosentrasi terhadap Persen Inhibisi (a) Pembanding Kuersetin; (b) Ekstrak UAE; (c) Ekstrak Refluks; (d) Ekstrak Maserasi

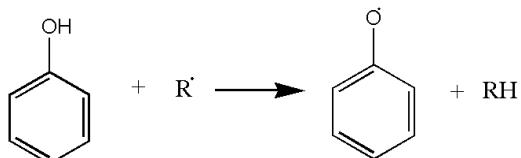
Berdasarkan Gambar 4a, diperoleh persamaan regresi linear $y = 6,59x - 11,412$ dengan $R^2 = 0,991$. Persamaan regresi linear tersebut digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} dari larutan pembanding kuersetin sehingga diperoleh nilai IC_{50} sebesar $9,32 \mu\text{g}/\text{mL}$. Gambar 4b, menunjukkan persamaan regresi linear $y = 9,453x - 10,808$ dengan $R^2 = 0,9993$. Dari persamaan tersebut diperoleh nilai IC_{50} larutan ekstrak UAE sebesar $6,43 \mu\text{g}/\text{mL}$. Gambar 4c, menunjukkan persamaan regresi linear $y = 9,712x - 17,918$ dengan $R^2 = 0,9975$. Dari persamaan tersebut diperoleh nilai IC_{50} ekstrak refluks sebesar $6,99 \mu\text{g}/\text{mL}$. Gambar 4d, menunjukkan persamaan regresi linear $y = 6,299x + 17,26$ dengan $R^2 = 0,9984$. Dari persamaan tersebut diperoleh nilai IC_{50} ekstrak maserasi sebesar $5,20 \mu\text{g}/\text{mL}$.

Tabel 5. Aktivitas Antioksidan

Sampel	$IC_{50} (\mu\text{g}/\text{mL})$	Kekuatan Antioksidan
Kuersetin	9,32	Sangat Kuat
Ekstrak UAE	6,43	Sangat Kuat
Ekstrak Refluks	6,99	Sangat Kuat
Ekstrak Maserasi	5,20	Sangat Kuat

Berdasarkan Tabel 5, dapat disimpulkan bahwa ketiga sampel memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat yang ditandai dengan nilai IC_{50} kurang dari $50 \mu\text{g}/\text{mL}$. Hasil ini sejalan dengan penelitian Negara, (2018), pada penelitian tersebut ekstrak daun mangga manalagi memiliki nilai IC_{50} sebesar $11,20 \mu\text{g}/\text{mL}$. Hasil dari penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak daun mangga yang diekstraksi dengan metode

maserasi menghasilkan nilai IC_{50} yang lebih rendah dibandingkan dengan metode UAE dan refluks. Nilai IC_{50} yang rendah menunjukkan semakin kuat aktivitas antioksidan yang dimiliki sampel. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun mangga yang diperoleh dengan metode maserasi memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak hasil UAE dan refluks. Hasil tersebut dapat disebabkan karena besarnya kandungan fenolik total yang terkandung dalam ekstrak daun mangga yang diekstraksi dengan metode maserasi. Senyawa fenolik berpotensi sebagai antioksidan karena adanya gugus hidroksil yang dapat menyumbangkan atom hidrogen ketika bereaksi dengan senyawa radikal bebas melalui transfer elektron (Wirasti, 2019). Reaksi senyawa fenolik dengan radikal bebas disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Reaksi Senyawa Fenolik dengan Radikal Bebas

Pada reaksi tersebut, terbentuk radikal fenoksil yang dihasilkan setelah proses donor hidrogen. Radikal fenoksil tersebut dapat distabilkan melalui resonansi, dimana elektron tidak berpasangan tersebar ke seluruh cincin aromatik, sehingga mengurangi reaktivitas dari radikal fenoksil (Shahidi & Ambigaipalan, 2015).

Simpulan

Metode ekstraksi memberikan pengaruh terhadap kandungan fenolik total, flavonoid total, dan aktivitas antioksidan dalam bahan alam. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, kandungan fenolik total tertinggi diperoleh dengan ekstraksi metode maserasi yang menghasilkan kandungan fenolik total sebesar $218,86 \pm 4,95$ mgGAE/g. Kandungan flavonoid total tertinggi diperoleh dengan ekstraksi metode refluks yang menghasilkan kandungan flavonoid total sebesar $301,97 \pm 30,07$ mgQE/g. Aktivitas antioksidan terbaik diperoleh dengan ekstraksi metode maserasi yang menghasilkan nilai IC_{50} sebesar $5,20 \mu\text{g}/\text{mL}$.

Daftar Referensi

- Adawiah, Sukandar, D., & Muawanah, A. (2015). The Activity of Antioxidant and Bioactive Component from Namnam Extract. *Journal of Valence Chemistry*, 1(2), 130–136.
- Agustina, W., Nurhamidah, & Handayani, D. (2017). Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi Dari Kulit Batang Jarak (*Ricinus communis L.*). *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 1(2), 117–122.
- Aji, O. R., Bastiani, N., Tari, M. R., & Putri, D. A. (2023). Aktivitas Inhibitor Lipase Ekstrak Daun Mangga Arum Manis dan Mangga Kweni secara In Vitro. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 17(1), 1–9. <https://doi.org/10.15408/kauniyah.v16i2.1.18776>
- Al Ubeed, H. M. S., Bhuyan, D. J., Alsherbiny, M. A., Basu, A., & Vuong, Q. V. (2022). A Comprehensive Review on the Techniques for Extraction of Bioactive Compounds from Medicinal Cannabis. *Molecules*, 27(3), 1–18. <https://doi.org/10.3390/molecules27030604>
- Alfaridz, F., & Amalia, R. (2019). Review Jurnal : Klasifikasi dan Aktivitas Farmakologi dari Senyawa Aktif Flavonoid. *Farmaka*, 3, 1–9.
- Cahyanto, T., Fadillah, A., Ulfa, R. A., Hasby, R. M., & Kinashih, I. (2020). Kadar Mangiferin pada Lima Kultivar Pucuk Daun Mangga (*Mangifera indica L.*). *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 13(2), 242–249. <https://doi.org/10.15408/kauniyah.v13i1.14810>
- Ciulu, M., Quirantes-Piné, R., Spano, N., Sanna, G., Borrás-Linares, I., & Segura-Carretero, A. (2017). Evaluation of New Extraction Approaches to Obtain Phenolic Compound-rich Extracts from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. *Industrial Crops and Products*, 108(June), 106–112. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.024>
- Daniels, K. D., Park, M., Huang, Z., Jia, A., Flores, G. S., Lee, H. K., & Snyder, S. A. (2020). A Review of Extraction Methods for the Analysis of Pharmaceuticals in Environmental Waters. *Critical Reviews in*

Environmental Science and Technology, 50(21), 2271–2299.
<https://doi.org/10.1080/10643389.2019.1705723>

Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of Extraction Solvent on Total Phenol Content, Total Flavonoid Content, and Antioxidant Activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>

Dorta, E., Lobo, M. G., & Gonzalez, M. (2012). Reutilization of Mango byproducts: Study of the Effect of Extraction Solvent and Temperature on Their Antioxidant Properties. *Journal of Food Science*, 77(1), 80–88. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02477.x>

Ergina, Nuryanti, S., & Pursitasari, D. (2014). Metabolites Compounds in Palado Leaves (*Agave Angustifolia*) Extracted with Water and Ethanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(August), 165–172.

González-Centeno, M. R., Knoerzer, K., Sabarez, H., Simal, S., Rosselló, C., & Femenia, A. (2014). Effect of Acoustic Frequency and Power Density on the Aqueous Ultrasonic-Assisted Extraction of Grape Pomace (*Vitis vinifera* L.) - A Response Surface Approach. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(6), 2176–2184. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.01.021>

Hammado, N. I. I. (2020). Identifikasi Senyawa Bahan Aktif Alkaloid pada Tanaman Lahuna (*Eupatorium odoratum*). *Jurnal Dinamika*, 04(2), 1–18.

Hasnaeni, Wisdawati, & Usman, S. (2019). Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Rendemen dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara Blanco*). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 5(2), 175–182. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13149>

Kusuma, A. S. W. (2015). The Effect of Ethanol Extract of Soursop Leaves (*Annona muricata* L.) to Decreased Levels of Malondialdehyde. *J Majority*, 4(3), 14–18.

Li, Y., Sun, H., Li, J., Qin, S., Niu, Z., Qiao, X., & Yang, B. (2021). Influence of Genetic Background, Growth Latitude and Bagging Treatment on Phenolic Compounds in Fruits of Commercial Cultivars and Wild types of Apples (*Malus* sp.). *European Food Research and Technology*, 247(5), 1149–1165. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03695-0>

Masturi, Alighiri, D., Nuzulina, K., Rodhiyah, M., & Drastisianti, A. (2019). Optimization of Condition Extraction in Quantification of Total Flavonoid Content in the Seeds of the Arummanis (*Mangifera indica* L.) Mango from Indonesia. *Journal of Physics: Conference Series*, 1321(2). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1321/2/022041>

Mawarda, A., Samsul, E., & Sastyarina, Y. (2020). Pengaruh berbagai Metode Ekstraksi dari Ekstrak Etanol Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr) terhadap Rendemen Ekstrak dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 11, 1–4. <https://doi.org/10.25026/mpc.v11i1.384>

Meigaria, K. M., Mudianta, I. W., & Martiningsih, N. W. (2016). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Aseton Daun Kelor (*Moringa Oleifera*). *Jurnal Wahana Matematika Dan Sains*, 10(1), 1–11.

Negara, T. P. (2018). Antiglikasi Formula Ekstrak Air Daun Mangga Dan Daun Teh. *Skripsi*.

Permata, A. N., Kurniawati, A., & Lukiat, B. (2018). Screening Fitokimia, Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba pada Buah Jeruk Lemon (*Citrus limon*) dan Jeruk Nipis (*Citrus aurantiifolia*). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 3(1), 64–76.

Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>

Rahmi, H. (2017). Review: Aktivitas Antioksidan dari berbagai Sumber Buah-buahan di Indonesia. *Jurnal*

Agrotek Indonesia, 2(1), 34–38. <https://doi.org/10.33661/jai.v2i1.721>

- Ramayani, S. L., Nugraheni, D. H., Robertin, A., & Wicaksono, E. (2021). Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Kadar Total Fenolik dan Kadar Total Flavonoid Daun Talas (*Colocasia esculenta* L.). *Journal of Pharmacy*, 10(1), 11–16.
- Sa'adah, H., Nurhasnawati, H., & Permatasari, V. (2017). Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*(L.)Merr) dengan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Borneo Journal of Pharmascientechn*, 01(01), 1–9.
- Saharuddin, M., & Kondolele, C. A. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Butanol Daun Rambutan (*Nephelium Lappaceum* Linn) dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Jurnal Kesehatan Yamasi Makassar*, 4(2), 98–103. <http://>
- Sahribulan, & Pagarra, H. (2023). Identifikasi Gugus Fungsi dari Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Daun Kayu Jawa *Lannea Coromandelica*. *Jurnal Sains Dan Pembelajaran Matematika*, 1(1), 1–4. <https://doi.org/10.51806/jspm.v1i1.17>
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and Polyphenolics in Foods, Beverages and Spices: Antioxidant Activity and Health Effects - A Review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820–897. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>
- Shraim, A. M., Ahmed, T. A., Rahman, M. M., & Hijji, Y. M. (2021). Determination of Total Flavonoid Content by Aluminum Chloride Assay: A Critical Evaluation. *Lwt*, 150(June), 111932. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111932>
- Siddiqui, N., Rauf, A., Latif, A., & Mahmood, Z. (2017). Spectrophotometric Determination of the Total Phenolic Content, Spectral and Fluorescence Study of the Herbal Unani Drug Gul-e-Zoofa (*Nepeta bracteata* Benth). *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 12(4), 360–363. <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2016.11.006>
- Spigno, G., Tramelli, L., & De Faveri, D. M. (2007). Effects of Extraction Time, Temperature and Solvent on Concentration and Antioxidant Activity of Grape Marc Phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81(1), 200–208. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.10.021>
- Susanty, S., & Bachmid, F. (2016). Comparison of Maceration and Reflux Extraction Methodes to Phenolic Levels of Corn Cob Extract (*Zea mays* L.). *Jurnal Konversi*, 5(2), 87.
- Tjahjani, S., Widowati, W., Khiong, K., Suhendra, A., & Tjokropranoto, R. (2014). Antioxidant Properties of Garcinia Mangostana L (Mangosteen) Rind. *Procedia Chemistry*, 13(2009), 198–203. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2014.12.027>
- Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., & Gabriel, J. (2016). Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L.). *Universitas Indonesia*, 2.
- Triyasmono, L., Ulfah, A., Rizki, M. I., Anwar, K., Wianto, T., & Santoso, H. B. (2020). FTIR and Chemometrics Application on Determination of Total Flavonoid Content of Pasak Bumi Root Extract (*Eurycoma longifolia* Jack.). *Jurnal Pharmascience*, 7(2), 129. <https://doi.org/10.20527/jps.v7i2.7923>
- Wirasti. (2019). Penetapan Kadar Fenolik Total, Flavonoid Total, dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Benalu Petai (*Scurrula atropurpurea* Dans.) Beserta Penapisan Fitokimia. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 4(1), 1–5.
- Xu, X., Liu, A., Hu, S., Ares, I., Martínez-Larrañaga, M. R., Wang, X., Martínez, M., Anadón, A., & Martínez, M. A. (2021). Synthetic Phenolic Antioxidants: Metabolism, Hazards and Mechanism of Action. *Food Chemistry*, 353(September 2020). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129488>
- Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for Extraction and Isolation of Natural Products: A Comprehensive Review. *Chinese Medicine (United Kingdom)*, 13(1), 1–26. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>