



Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Amaranthus hybridus* L. dalam Pelarut Heksana, Etil Asetat, dan Air

Antioxidant Activity Test of *Amaranthus hybridus* L. Leaf Extract in Hexane, Ethyl Acetate and Water Solvents

Johni Halim,¹ Monica D. Ranggaini,¹ Sabrina N. Tedjokusumo²

¹Divisi Fisiologi Bagian Oral Biologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti, Jakarta, Indonesia

²Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti, Jakarta, Indonesia

Email: johni@trisakti.ac.id

Received: June 12, 2024; Accepted: July 3, 2024; Published online: July 7, 2024

Abstract: Noncommunicable diseases, such diabetes mellitus, atherosclerosis and cancer, caused by inter alia imbalance between free radicals and antioxidants within the body, known as oxidative stress. Antioxidants from outside the body are required as antioxidants within the body are not enough to ward off excessive free radicals. *Amaranthus hybridus* L. plant is quite popular among Indonesian people due to its fast harvest and advantages for health, including its natural antioxidants potency. This study aimed to determine the comparison of antioxidant activities among n-hexane, ethyl acetate, and aqueous extract of *A. hybridus* L. leaves. This was an experimental laboratory study. *Amaranthus hybridus* L. simplicia extracted with maceration in n-hexane, ethyl acetate and aquadest. Antioxidant activities of n-hexane, ethyl acetate, and aqueous extract of *A. hybridus* L. were examined with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) in 517 nm wavelength by using microplate reader. The results showed that the IC₅₀ values of *A. hybridus* L. n-hexane, ethyl acetate, and aqueous extract respectively were 131.81 µg/mL, 103.53 µg/mL, and 79.61 µg/mL. In conclusion, there are differences in antioxidant activities between n-hexane, ethyl acetate, and aqueous extract of *A. hybridus* L. This occur due to differences in the polarity of each solvent.

Keywords: *Amaranthus hybridus* L.; antioxidant activities; maceration; solvent polarity

Abstrak: Penyakit tidak menular, seperti diabetes melitus, aterosklerosis, dan kanker, disebabkan antara lain oleh ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh (stres oksidatif). Antioksidan dari luar tubuh diperlukan karena antioksidan dari dalam tubuh tidak cukup untuk menangkal radikal bebas berlebih. Tanaman *Amaranthus hybridus* L. cukup diminati masyarakat Indonesia karena waktu panen yang singkat dan manfaatnya bagi kesehatan, termasuk potensi antioksidan alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan ekstrak heksana, etil asetat, dan air daun *A. hybridus* L. Jenis penelitian ini berupa studi eksperimental laboratorik. Simplicia *A. hybridus* L. diekstraksi dengan metode maserasi dalam pelarut heksana, etil asetat, dan air. Aktivitas antioksidan ekstrak heksana, etil asetat, dan air daun *A. hybridus* L. diuji aktivitas antioksidan dengan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) pada panjang gelombang 517 nm dengan menggunakan *microplate reader*. Hasil penelitian menunjukkan nilai IC₅₀ ekstrak heksana, etil asetat, dan air daun *A. hybridus* L. secara berturut-turut sebesar 131,81 µg/mL, 103,53 µg/mL, dan 79,61 µg/mL. Simpulan penelitian ini ialah terdapat perbedaan aktivitas antioksidan antara ekstrak heksana, etil asetat, dan air daun *Amaranthus hybridus* L. Hal ini terjadi karena perbedaan polaritas dari masing-masing pelarut.

Kata kunci: *Amaranthus hybridus* L.; aktivitas antioksidan; maserasi; polaritas pelarut

PENDAHULUAN

World Health Organization (WHO) memperkirakan bahwa penyakit degeneratif telah menyebabkan setidaknya 40 juta kematian tiap tahun di dunia atau setara dengan 70% dari seluruh penyebab kematian di dunia dan terus meningkat dalam beberapa tahun terakhir.¹ Penyakit degeneratif dapat disebabkan oleh stres oksidatif, yaitu kondisi berlebihnya radikal bebas dalam tubuh sehingga tidak seimbang dengan antioksidan.² Radikal bebas dapat diproduksi dari dalam tubuh melalui proses metabolisme dalam tubuh, serta didapatkan dari luar tubuh, yaitu dari polusi udara, gaya hidup tak sehat, serta berlebihnya paparan sinar matahari.^{3,4} *Global Burden of Disease* menyatakan bahwa penyakit degeneratif juga dapat disebabkan oleh kurangnya asupan buah dan sayuran.⁵ Hasil Riskesdas 2018 menunjukkan bahwa lebih dari 90% penduduk Indonesia yang berusia di atas 5 tahun kekurangan asupan buah dan sayuran.⁶ Di sisi lain, vitamin dan mineral dari buah dan sayuran dapat berfungsi sebagai antioksidan untuk mencegah stres oksidatif dan menangkal radikal bebas agar tidak berlanjut menjadi penyakit degeneratif.⁷

Antioksidan endogen dapat dihasilkan oleh tubuh tetapi jumlahnya tidak cukup untuk menangkal radikal bebas berlebih sehingga dibutuhkan antioksidan eksogen. Terdapat dua macam antioksidan eksogen, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Dewasa ini antioksidan sintetis, seperti *butylated hydroxytoluene* (BHT), *butylated hydroxyanisole* (BHA), *propyl gallate* (PG), dan *tertiary butyl hydroquinone* (TBHQ), sudah mulai ditinggalkan dan dialihkan ke antioksidan alami karena terbukti bersifat karsinogenik atau dapat memicu kanker.^{3,8} Antioksidan alami, seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan polifenol, dapat berasal dari tumbuhan atau hewan.⁹

Bayam hijau (*Amaranthus hybridus L.*) merupakan salah satu jenis sayuran yang populer di Indonesia.¹⁰ Dari data BPS 2019, tingkat konsumsi bayam mencapai 9,26 gram per kapita per hari dan termasuk salah satu sayuran paling banyak dikonsumsi di Indonesia. Bayam banyak ditanam di Indonesia karena masa panennya singkat dan mudah dibudidaya.¹¹ Tanaman *Amaranthus hybridus L.* (*A. hybridus L.*) telah terbukti bahwa kandungannya dapat digunakan sebagai obat, yaitu anti tukak lambung, peningkat hemoglobin penderita anemia, antidiabetes, serta penghambat sel kanker.¹²⁻¹⁴ Beberapa penelitian menyatakan bahwa *A. hybridus L.* juga memiliki aktivitas antioksidan dan mengandung banyak nutrisi.^{10,15}

Untuk mendapatkan senyawa bioaktif, dilakukan ekstraksi sebagai tahap awal isolasi.¹⁶ Ekstraksi dapat dipengaruhi oleh waktu, tiap persiapan sampel, suhu, jumlah sampel, dan jenis pelarut.¹⁷ Penggunaan jenis pelarut harus disesuaikan dengan zat yang ingin diamati karena adanya prinsip *like-dissolve-like*, yaitu senyawa akan larut pada pelarut dengan sifat serupa sehingga pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, demikian pula dengan pelarut lainnya.^{17,18} Oleh karena senyawa yang terkandung dalam tanaman memiliki perbedaan tingkat kepolaran, penelitian ini menggunakan beberapa pelarut dengan perbedaan tingkat polaritas, yaitu heksana, etil asetat, dan air, pada metode ekstraksi maserasi.

Uji aktivitas antioksidan dilakukan untuk mengetahui kekuatan antioksidan dalam suatu bahan. Metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) digunakan dalam penelitian ini karena DPPH lebih efektif dan efisien dibandingkan metode *Ferrous Ion Chelating* (FIC) dan *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) mengacu pada penelitian yang telah dilakukan.¹⁹ Parameter IC₅₀ digunakan untuk menilai konsentrasi senyawa antioksidan dalam menghambat 50% oksidasi. Makin rendah nilai IC₅₀, makin tinggi aktivitas antioksidan suatu sampel. Vitamin C (askorbat) digunakan sebagai kontrol positif dalam penelitian ini karena diketahui sebagai sumber antioksidan yang paling kuat.²⁰

Berdasarkan hal-hal yang telah diuraikan, penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai perbedaan aktivitas antioksidan ekstrak heksana, etil asetat, dan air daun *A. hybridus L.* Penelitian dilakukan untuk menambah wawasan dan informasi mengenai konsumsi daun *A. hybridus L.* sebagai tambahan antioksidan dan jenis pelarut terbaik yang dapat digunakan dalam mengevaluasi aktivitas antioksidan ekstrak daun tersebut, serta sebagai anjuran bagi pemerintah untuk menjadikan daun *A. hybridus L.* sebagai pilihan bahan alam kaya antioksidan.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini berupa eksperimental laboratorium yang dilakukan di PT. Aretha Medika Utama, Bandung, Jawa Barat dalam rentang waktu bulan September-Desember 2023. Sampel penelitian daun *A. hybridus* L. didapatkan dari BPSI Lembang, Jawa Barat. Persiapan sampel yang dilakukan ialah pembersihan sampel daun *A. hybridus* L. dengan air mengalir, pengeringan dengan *food dehydrator* pada suhu 30°C selama 6 jam, dan penghalusan dengan *blender* untuk didapatkan serbuk simplisia daun *A. hybridus* L. Pembuatan ekstrak daun *A. hybridus* L. dilakukan dengan metode maserasi, yakni dengan merendam serbuk simplisia dalam pelarut heksana, etil asetat, dan air selama tiga hari dan diulang sebanyak tiga kali, serta setiap 24 jam filtratnya ditampung hingga filtrat tidak berwarna. Filtrat hasil maserasi disaring dan dievaporasi hingga didapatkan filtrat dalam bentuk pasta. Pengujian fitokimia ekstrak daun *A. hybridus* L. dilakukan secara kualitatif untuk mengetahui gambaran senyawa dalam sampel, yaitu flavonoid, saponin, fenol, tanin, steroid/triterpenoid, alkaloid, dan terpenoid.

Konsentrasi uji untuk tiap ekstrak daun *A. hybridus* L. dan asam askorbat dibuat dan digunakan konsentrasi akhir untuk ekstrak daun *A. hybridus*, yaitu 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25 µg/mL, serta untuk asam askorbat, yaitu 25; 12,5; 6,25; 3,13; 1,56; 0,78 µg/mL. Pengujian aktivitas antioksidan metode DPPH dilakukan dengan menambahkan 50 µL sampel ekstrak tiap pelarut pada sampel DPPH sebanyak 200 µL 0,077 mmol dalam metanol, penambahan pelarut sampel DMSO sebanyak 200 µL ke dalam *blank well*, serta penambahan sampel DPPH 0,077 mmol sebanyak 250 µL ke dalam *control well*. Campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit dalam tempat gelap bersuhu ruang dan diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm dengan *microplate reader*. Pengamatan dilakukan terhadap perubahan warna sampel dari warna ungu menjadi kuning. Pengamatan perubahan warna dan perhitungan persentase aktivitas pemerangkapan DPPH untuk menentukan pengukuran absorbansi. Nilai IC₅₀ didapatkan dengan pembuatan grafik analisis regresi linier antara konsentrasi ($y = ax + b$) dan persentase hambatan dari berbagai konsentrasi dengan y angka 50 dan x sebagai nilai IC₅₀.

HASIL PENELITIAN

Tabel 1 memperlihatkan hasil uji fitokimia flavonoid, saponin, fenol, tanin, steroid/triterpenoid, alkaloid, dan terpenoid secara kualitatif dari ekstrak heksana, etil asetat, dan air daun *A. hybridus* L.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak heksana, etil asetat, dan air daun *A. hybridus* L.

No.	Senyawa	Ekstrak daun <i>A. hybridus</i> L.		
		Heksana	Etil Asetat	Air
1	Flavonoid	-	-	+
2	Saponin	-	-	-
3	Fenol	-	-	+
4	Tanin	-	-	+
5	Steroid	+	+	-
6	Triterpenoid	-	-	+
7	Alkaloid	+	+	+
8	Terpenoid	+	+	+

Keterangan: -, tidak terdapat kandungan senyawa; +, terdapat kandungan senyawa

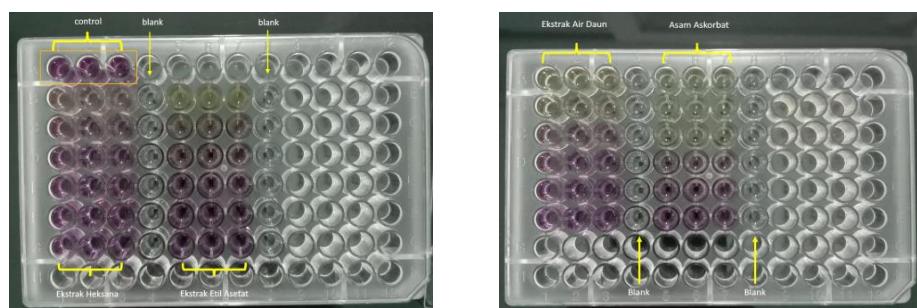
Tabel 2 memperlihatkan hasil pengujian aktivitas pemerangkapan DPPH berbagai konsentrasi sampel ekstrak heksana, etil asetat, dan air daun *A. hybridus* L. serta asam askorbat sebagai kontrol positif.

Gambar 1 memperlihatkan hasil pengamatan *well plate* uji pemerangkapan DPPH ekstrak heksana, etil asetat, dan air daun *A. hybridus* L., serta asam askorbat. Pada *well plate* dilakukan pengamatan terhadap perubahan warna dari ungu menjadi kuning yang mengindikasikan tereduksinya DPPH, yaitu semula DPPH menjadi DPPH-H (2,2-difenil-1-pikrilhidrazin).

Tabel 2. Hasil uji aktivitas pemerangkapan DPPH

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Hasil
EHAH	200	62,14
	100	45,57
	50	34,00
	25	28,83
	12,5	28,83
	6,25	28,83
EEAAH	200	71,23
	100	49,48
	50	37,66
	25	32,83
	12,5	31,62
	6,25	27,04
EAAH	200	83,10
	100	55,50
	50	42,71
	25	36,60
	12,5	30,23
	6,25	28,61
AA	25,00	96,89
	12,5	74,83
	6,25	61,65
	3,13	56,00
	1,56	52,55
	0,78	47,94

Keterangan: EHAH (Ekstrak heksana *A. hybridus*); EEAAH (Ekstrak etil asetat *A. hybridus*); EAAH (Ekstrak air *A. hybridus*), AA (Asam askorbat)



Gambar 1. Pengamatan perubahan warna ungu menjadi kuning pada tiap pelarut dalam *well plate* uji pemerangkapan DPPH

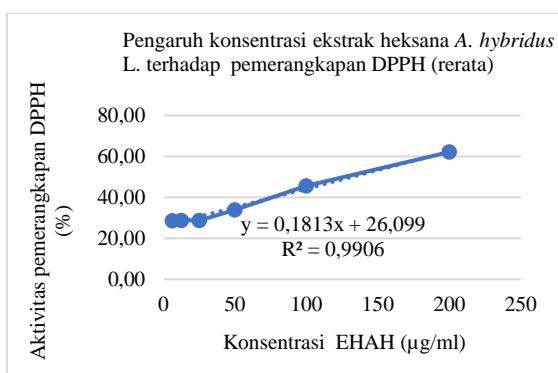
Gambar 2, Gambar 3, Gambar 4, dan Gambar 5 memperlihatkan grafik analisis regresi linier persentase inhibisi pada variasi konsentrasi dari ekstrak heksana, etil asetat, dan air daun *A. hybridus* L., serta asam askorbat. Berdasarkan grafik regresi linier tersebut, didapatkan nilai IC₅₀ dari ekstrak heksana, etil asetat, dan air daun *A. hybridus* L., serta asam askorbat secara berturut-turut seperti pada Tabel 3.

BAHASAN

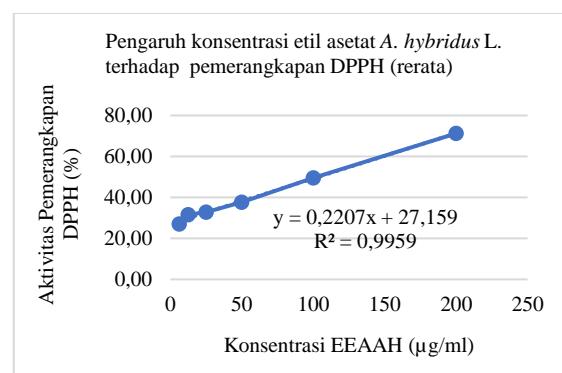
Dalam penelitian ini, digunakan ekstrak daun *A. hybridus* L. yang didapatkan melalui metode ekstraksi maserasi dalam pelarut heksana, etil asetat, dan air, yaitu pelarut dengan berbagai tingkat kepolaran. Metode maserasi dipilih karena metodenya sederhana, yaitu dengan merendam serbuk simplisia dalam pelarut selama beberapa hari pada suhu ruangan dan terlindung dari paparan cahaya.²¹ Perbedaan tingkat kepolaran dilakukan karena polaritas pelarut menjadi ukuran relatif tingkat interaksi pelarut dengan zat terlarutnya sehingga dapat menghasilkan total antioksidan

yang berbeda.^{22,23} Tingkat kepolaran pelarut dapat didasarkan pada indeks polaritas, yakni makin tinggi nilai indeks polaritas, makin polar suatu pelarut. Indeks polaritas dari pelarut heksana, etil asetat, dan air secara berturut-turut adalah 0,1; 4,4; dan 9 sehingga heksana bersifat non polar, etil asetat bersifat semi polar, dan air bersifat polar.^{22,24}

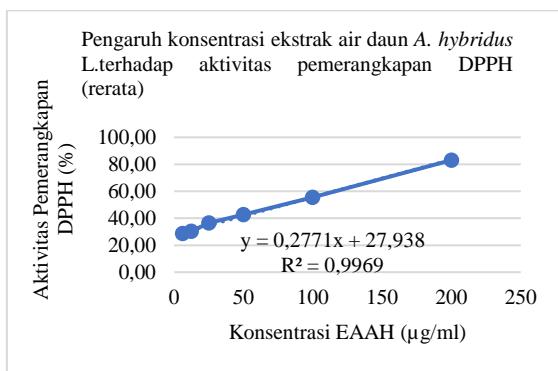
Setelah proses ekstraksi, didapatkan ekstrak dalam bentuk pasta dan dilanjutkan dengan uji fitokimia untuk mengidentifikasi dan menguji kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam *A. hybridus* L. Hasil uji fitokimia ekstrak heksana daun *A. hybridus* L. menunjukkan kandungan senyawa steroid, terpenoid, dan alkaloid. Berdasarkan penelitian sebelumnya pada ekstrak heksana daun *A. hybridus* L., tidak ditemukan kandungan alkaloid namun ditemukan kandungan flavonoid.²⁵ Senyawa fitokimia yang sama ditemukan pada ekstrak etil asetat daun *A. hybridus* L. Pada penelitian terdahulu ekstrak etil asetat daun *A. hybridus* L. tidak ditemukan terpenoid namun terdapat kandungan metabolit sekunder lainnya, seperti flavonoid, saponin, dan tanin.²⁶ Menurut beberapa penelitian, flavonoid dan tanin tidak terdeteksi pada kedua pelarut tersebut karena sifatnya lebih polar dibandingkan dengan heksana dan etil asetat.^{18,27}



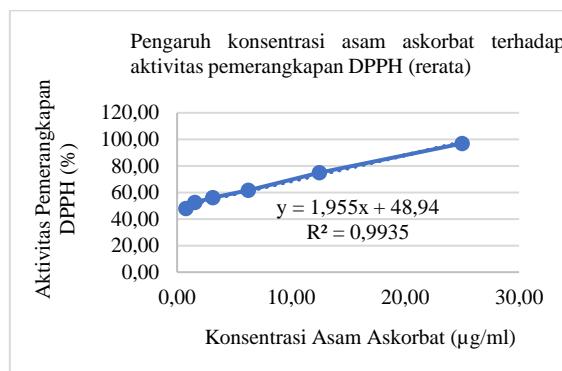
Gambar 1. Grafik analisis regresi % inhibisi pada variasi konsentrasi sampel ekstrak heksana *A. hybridus* L. terhadap persentase pemerangkapan DPPH



Gambar 3. Grafik analisis regresi % inhibisi pada variasi konsentrasi sampel ekstrak etil asetat *A. hybridus* L. terhadap persentase pemerangkapan DPPH



Gambar 4. Grafik analisis regresi % inhibisi pada variasi konsentrasi sampel ekstrak air *A. hybridus* L. terhadap persentase pemerangkapan DPPH



Gambar 5. Grafik analisis regresi % inhibisi pada variasi konsentrasi asam askorbat terhadap persentase pemerangkapan DPPH

Tabel 1. Nilai IC₅₀ metode DPPH

Sampel	Rerata nilai IC ₅₀	Kategori antioksidan
EHAH	131,81 ± 4,93	Sedang
EEAH	103,53 ± 2,77	Sedang
EAAH	79,61 ± 1,12	Kuat
AA	0,54 ± 0,12	Sangat kuat

Keterangan: EHAH (Ekstrak Heksana *A. hybridus*); EEAH (Ekstrak Etil Asetat *A. hybridus*); EAAH (Ekstrak Air *A. hybridus*), AA (Asam Askorbat)

Pada ekstrak air daun *A. hybridus* L. ditemukan sebagian besar dari metabolit sekunder yang diuji, kecuali steroid dan saponin. Sejalan dengan penelitian sebelumnya, pelarut yang lebih polar mampu mengekstrak senyawa metabolit sekunder dengan lebih baik, serta pelarut air termasuk golongan pelarut polar protik yang lebih mudah menarik senyawa sehingga dalam penelitian ini pelarut air mampu mengekstrak senyawa lebih banyak dibandingkan dengan pelarut lainnya. Umumnya, senyawa saponin dapat terekstrak dalam pelarut air tetapi tidak terjadi pada penelitian ini. Hal ini diduga karena senyawa saponin bersifat amfifilik, yakni memiliki gugus hidrofilik dan hidrofobik. Jumlah gugus hidrofobik senyawa saponin yang lebih banyak turut menjadi penyebab saponin tidak terekstrak dengan optimal dalam pelarut air.^{29,30}

Perbedaan senyawa metabolit sekunder daun *A. hybridus* L. dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti usia sampel, kondisi lingkungan saat tumbuhan tumbuh, kematangan tumbuhan, cuaca, waktu pengambilan, perbedaan kandungan unsur hara tanah, mikroorganisme tanah, intensitas cahaya yang diterima oleh tanaman, serta lokasi tempat tumbuh.^{10,31} Pada penelitian yang telah dilakukan, sampel untuk ekstrak heksana, etil asetat dan air daun *A. hybridus* L. secara berturut-turut didapatkan dari Kakamega, Kenya; Serang, Banten, Indonesia; dan Ougadougou, Burkina Faso,^{25,26,32} sedangkan pada penelitian ini, sampel daun *A. hybridus* L. didapatkan dari Lembang, Jawa Barat, Indonesia.

Penelitian ini menggunakan uji aktivitas antioksidan DPPH, yaitu metode dengan mekanisme transfer elektron. Larutan DPPH yang semula berwarna ungu dengan serapan maksimum 517 nm akan mengoksidasi senyawa pada ekstrak tanaman sehingga terjadi perubahan warna menjadi kuning. Berdasarkan Gambar 2, Gambar 3, Gambar 4, dan Gambar 5 diketahui bahwa makin tinggi konsentrasi pelarut, makin besar aktivitas pemerangkapan DPPH atau persentase inhibisi, serta terbukti bahwa konsentrasi pelarut dapat memengaruhi kelarutan senyawa, yakni makin tinggi konsentrasi pelarut, makin banyak elektron yang disumbangkan dari senyawa antioksidan sampel pada senyawa radikal bebas DPPH.³⁴

Nilai IC₅₀ akan menentukan besar kekuatan aktivitas antioksidan dari tiap sampel dalam menghambat 50% oksidasi radikal bebas. Aktivitas antioksidan sangat lemah bila nilai IC₅₀ >500 µg/mL; lemah 250-500 µg/mL; sedang 101-250 µg/mL; kuat 50-100 µg/mL, dan sangat kuat <50 µg/mL.³⁵ Nilai IC₅₀ ekstrak heksana, etil asetat, dan air daun *A. hybridus* L. pada penelitian ini ditampilkan pada Tabel 3.

Berdasarkan hasil penelitian, perbedaan kandungan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tiap pelarut dalam ekstraksi daun *A. hybridus* L. membuktikan bahwa pelarut ekstraksi dapat menentukan keberhasilan proses ekstraksi dan zat yang akan terlarut sesuai prinsip *like-dissolve-like*.¹⁷ Makin banyak senyawa fenolik yang terekstrak, makin besar kekuatan aktivitas antioksidan sampel, seperti yang ditemukan pada ekstrak air daun *A. hybridus* L karena gugus hidroksi senyawa fenolik lebih larut dalam pelarut polar.^{36,37} Berdasarkan hal tersebut, polaritas pelarut ekstraksi dapat memengaruhi aktivitas antioksidan.³⁷ Selain pelarut, kekuatan aktivitas antioksidan ekstrak juga dapat dipengaruhi oleh metode uji aktivitas antioksidan. Menurut penelitian pada ekstrak etanol rimpang *C. xanthorrhiza* Roxb. dan *A. hybridus* L., terdapat perbedaan hasil aktivitas antioksidan dari metode uji yang berbeda.^{38,39}

Nilai R-squared (R²), yaitu prediktor dengan nilai koefisiensi determinasi antara 0-1 menunjukkan seluruh sampel ekstrak daun *A. hybridus* L. dan asam askorbat meperoleh nilai 0,99. Nilai R² yang mendekati angka 1 menunjukkan makin besar kekuatan aktivitas antioksidan dari sampel. Berdasarkan hasil penelitian, diketahui pemerangkapan DPPH yang dimiliki sampel berkekuatan besar. Dengan demikian, ekstrak heksana, etil asetat, dan air daun *A. hybridus* L. terbukti memiliki perbedaan aktivitas antioksidan yang dapat digunakan sebagai tambahan antioksidan bagi tubuh. Penelitian ini hanya terbatas pada analisis aktivitas antioksidan daun *A. hybridus* L. dalam beberapa pelarut dengan metode DPPH sehingga hasil penelitian hanya memberikan gambaran kapasitas antioksidan secara umum tetapi tidak dapat memberikan gambaran respons sel terhadap antioksidan.

SIMPULAN

Terdapat perbedaan aktivitas antioksidan antara ekstrak heksana, etil asetat, dan air daun *Amaranthus hybridus* L. karena perbedaan polaritas tiap pelarut yang dapat diamati dari senyawa fenolik yang terekstrak.

Disarankan melakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak heksana, etil asetat, dan air daun *A. hybridus* L. pada tingkat sel.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan pada studi ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Profil Kesehatan Indonesia 2021 [Internet]. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2022 [cited 2023 April 13]. Available from : <https://repository.kemkes.go.id/book/828>
2. Yuslanti ER. Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan [Internet]. Yogyakarta: Deepublish; 2018 [cited 2023 April 13]. Available from: <https://opac.perpusnas.go.id/DetailOpac.aspx?id=1143042>
3. Hani RC, Milanda T. Manfaat antioksidan pada tanaman buah di Indonesia. Farmaka. 2016;14(1):184–90. Doi: 10.24198/jf.v14i1.10735
4. Fakriah, Kurniasih E, Adriana, Rusydi. Sosialisasi bahaya radikal bebas dan fungsi antioksidan alami bagi kesehatan. Jurnal Vokasi. 2019;3(1):1–7. Doi: 10.30811/vokasi.v3i1.960
5. Renzo LD, Gualtieri P, Lorenzo AD. Diet, nutrition and chronic degenerative diseases. Nutrients. 2021;13(4):1372. Doi : <https://doi.org/10.3390/nu13041372>
6. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Tim Riskesdas 2018. Laporan Nasional Riskesdas 2018 [Internet]. Jakarta: Lembaga Penerbit Balitbangkes; 2019 [cited 2023 April 13]. Available from : <https://repository.badankebijakan.kemkes.go.id/id/eprint/3514/>
7. Hermina H, Prihatini S. Gambaran konsumsi sayur dan buah penduduk Indonesia dalam konteks gizi seimbang: analisis lanjut survei konsumsi makanan individu (SKMI) 2014. Buletin Penelitian Kesehatan. 2016;44(3):205–18. Available from: https://www.researchgate.net/publication/312249751_Gambaran_Konsumsi_Sayur_dan_Buah_Penduduk_Indonesia_dalam_Konteks_Gizi_Seimbang_Analisis_Lanjut_Survei_Konsumsi_Makanan_Individu_SKMI_2014
8. Margaretta S, Handayani SD, Indraswati N, Hindarso H. Ekstraksi senyawa phenolic *Pandanus amaryllifolius* Roxb. sebagai antioksidan alami. Jurnal Ilmiah Widya Teknik. 2011;10(1):21–30. Doi: 10.33508/wt.v10i1.157
9. Khusni L, Hastuti RB, Prihastanti E. Pengaruh naungan terhadap pertumbuhan dan aktivitas antioksidan pada bayam merah (*Alternanthera amoena* Voss.). Buletin Anatomi dan Fisiologi. 2018;3(1):62–70. Doi: 10.14710/baf.3.1.2018.62-70
10. Yefrida Y, Rosman W, Refilda. Penentuan kandungan antioksidan dan total dari infusa bayam hijau (*Amaranthus Hybridus* L.) hidroponik dan konvensional dengan metode MPM. Prosiding Seminar Nasional Kimia & Pendidikan Kimia #2; 11 Desember 2021; Medan : Penerbit FMIPA UNIMED; 2021. Doi: 10.25077/jrk.v13i1.492
11. Ritonga AW, Rosyid MSA, Anderson A, Chozin MA, Purwono. Perbedaan pertumbuhan dan produktivitas varietas bayam hijau dan bayam merah. Jurnal Agro. 2021;8(2):286–97. Doi: 10.15575/14664
12. Gunawan S, Lestari F, Suwendar. Uji aktivitas anti tukak lambung rebusan daun bayam hijau (*Amaranthus hybridus* L.) terhadap tikus Wistar [Internet]. Prosiding Farmasi. 2017;3(2):182–8. Available from: <https://karyailmiah.unisba.ac.id/index.php/farmasi/article/view/7716>
13. Balasubramanian T, Karthikeyan M, Muhammed Anees KP, Kadeeja CP, Jaseela K. Antidiabetic and antioxidant potentials of *Amaranthus hybridus* in streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Dietary Supplements. 2017;14(4):395–410. Doi: 10.1080/19390211.2016.1265037
14. Al-Mamun MA, Husna J, Khatun M, Hasan R, Kamruzzaman M, Hoque KMF, et al. Assessment of antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of two vegetable species of *Amaranthus* in Bangladesh. BMC Complement Altern Med. 2016;16:157. Doi: 10.1186/s12906-016-1130-0
15. Nana FW, Hilou A, Millogo JF, Nacoulma OG. Phytochemical composition, antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities of *Amaranthus cruentus* L. and *Amaranthus hybridus* L. extracts. Pharmaceuticals. 2012;5(6):613–28. Doi: 10.3390/ph5060613
16. Susanti S, Sundari RS, Rizkuloh LR, Mardianingrum R. Pengaruh perbedaan pelarut terhadap kadar fenol total dan aktivitas antioksidan ekstrak gadung (*Dioscorea hispida* Dennst.). Jurnal Biopropal Industri. 2021;12(1):43–9. Doi: 10.36974/jbi.v12i1.6482

17. Verdiana M, Widarta IWR, Permana IDGM. Pengaruh jenis pelarut pada ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan. 2018;7(4):213–22. Doi: 10.24843/itepa.2018.v07.i04.p08
18. Fitriah F, Mappiratu M, Prismawiryanti P. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun tanaman johar (*Cassia siamea* Lamk.) dari beberapa tingkat kepolaran pelarut. Kovalen Jurnal Riset Kimia. 2017;3(3):242–51. Available from: <http://jurnal.untad.ac.id/jurnal/index.php/kovalen/article/view/9333>
19. Maesaroh K, Kurnia D, Anshori JA. Perbandingan metode uji aktivitas antioksidan DPPH, FRAP dan FIC terhadap asam askorbat, asam galat dan kuersetin. Chimica et Natura Acta. 2018;6(2):93–100. Doi: 10.24198/cna.v6.n2.19049
20. Lung JKS, Destiani DP. Uji aktivitas antioksidan vitamin A, C, E dengan metode DPPH. Farmaka. 2017;15(1):53–62. Doi: 10.24198/jf.v15i1.12805
21. BPOM. Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia [Internet]. Jakarta: BPOM RI; 2004 [cited 2023 Juni 25]. Available from : https://perpus.poltekkesjkt2.ac.id/index.php?p=show_detail&id=881&keywords=
22. Wakeel A, Jan SA, Ullah I, Shinwari ZK, Xu M. Solvent polarity mediates phytochemical yield and antioxidant capacity of *Isatis tinctoria*. PeerJ. 2019;7:e7857. Doi: 10.7717/peerj.7857
23. Rozi, F, Abram PH, Diah AWM. Pengaruh kombinasi dan rasio pelarut terhadap hasil ekstraksi minyak dari serabut kelapa sawit. Jurnal Akademika Kimia. 2017;7(3):146-51. Available from: <http://jurnal.untad.ac.id/jurnal/index.php/JAK/article/view/11913>
24. Sadek PC. The HPLC Solvent Guide Second Edition [Internet]. New York, US: Wiley; 2002. Available from: https://www.academia.edu/34025005/The_HPLC_Solvent_guide_Second_Edition_PAUL_C_SADEK_
25. Maiyo ZC. Chemical compositions and antimicrobial activity of *Amaranthus hybridus*, *Amaranthus caudatus*, *Amaranthus spinosus* and *Coriandrum sativum* [Tesis]. Kenya: Faculty of Science Egerton University; 2008. Available from : <http://ir-library.egerton.ac.ke/handle/123456789/1112>
26. Yelfi Y, Susilo H, Kurnia NM. Mouthwash of *Amaranthus hybridus* L. leaf extract with ethyl acetate as a *Streptococcus mutans* antibacterial. Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa. 2022;5(1):79–90. Doi: <https://doi.org/10.29313/jiff.v5i1.8379>
27. Marcelinda A, Ridhay A, Prismawiryanti P. Aktivitas antioksidan ekstrak limbah kulit ari biji kopi (*Coffea* sp) berdasarkan tingkat kepolaran pelarut. Journal of Science and Technology. 2016;5(1):21–30. Available from : <http://jurnal.untad.ac.id/jurnal/index.php/ejurnalfmipa/article/view/5547>
28. Agustina E. Uji aktivitas senyawa antioksidan dari ekstrak daun tin (*Ficus carica* Linn) dengan pelarut air, metanol dan campuran metanol-air. Klorofil. 2017;1(1):38–47. Available from: <https://jurnal.uinsu.ac.id/index.php/klorofil/article/view/1240>
29. Alfauzi RA, Hartati L, Suhendra D, Rahayu TP, Hidayah N. Ekstraksi senyawa bioaktif kulit jengkol (*Archidendron jiringa*) dengan konsentrasi pelarut metanol berbeda sebagai pakan tambahan tembak ruminansia. Jurnal Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan (JINTP). 2022;20(3):95–103. Doi: 10.29244/jntp.20.3.95-103
30. Putri PA, Chatri M, Advinda L, Violita V. Karakteristik saponin senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan. Serambi Biologi. 2023;8(2):251–8. Available from: <https://serambibioologi.ppj.unp.ac.id/index.php/srmb/article/view/207>
31. Supriatna D, Mulyani Y, Rostini I, Agung MUK. Aktivitas antioksidan, kadar total flavonoid dan fenol ekstrak metanol kulit batang mangrove berdasarkan stadia pertumbuhannya. Jurnal Perikanan dan Kelautan. 2019;10(2):35–42. Available from: <http://jurnal.unpad.ac.id/jpk/article/view/26093>
32. Ndukwe GI, Clark PD, Jack IR. In vitro antioxidant and antimicrobial potentials of three extracts of *Amaranthus hybridus* L. leaf and their phytochemicals. Eur Chem Bull. 2020;9(7):164–73. Doi: <http://dx.doi.org/10.17628/ecb.2020.9.164-173>
33. Widowati W, Fauziah N, Herdiman H, Afni M, Afifah E, Kusuma HSW. Antioxidant and anti aging assays of *Oryza sativa* extracts, vanillin and coumaric acid. Journal of Natural Remedies. 2016;16(3):88–99. Doi: 10.18311/jnr/2016/7220
34. Martiningsih NW, Widana GBB, Kristiyanti PLP. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun matoa (*Pometia pinnata*) dengan metode DPPH. Prosiding Seminar Nasional MIPA Undiksha 2016. Denpasar: Undiksha Press; 2016. Available from: <https://ejournal.undiksha.ac.id/index.php/semnasmipa/article/view/10220>
35. Ranggaini MD, Halim J, Kumaladevi IP. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol bunga *Clitoria ternatea* L. dengan senyawa antioksidan (antosianin dan mirisetin). JKGT. 2023;5(1):1–6. Doi: 10.25105/jkgt.v5i1.16762
36. Wardani YK, Kristiani EBE, Sucayho S. Korelasi antara aktivitas antioksidan dengan kandungan senyawa fenolik dan lokasi tumbuh tanaman *Celosia argentea* Linn. Bioma. 2020;22(2):136–42. Doi: 10.14710/bioma.22.2.136-142

37. Kaczorová D, Karalija E, Dahija S, Gajević RB, Parić A, Zeljković SC. Influence of extraction solvent on the phenolic profile and bioactivity of two *Achillea* species. *Molecules.* 2021;26(6):1601. Doi: 10.3390/molecules26061601
38. Suwardi OA, Ranggiani MD. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol rimpang *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. dan asam askorbat (dengan metode DPPH, ABTS, dan NO). *JKGT.* 2022;4(1):103–9. Available from: <https://e-journal.trisakti.ac.id/index.php/jkgt/article/view/14475>
39. Ondua M, Njoya EM, Abdalla MA, McGaw LJ. Anti-inflammatory and antioxidant properties of leaf extracts of eleven South African medicinal plants used traditionally to treat inflammation. *Journal of Ethnopharmacol.* 2019;234:27–35. Doi: 10.1016/j.jep.2018.12.030