



Uji Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli L.*)

Paricia Syaron Manongko^{a*}, Meiske Sientje Sangia, Lidya Irma Momuat^a

^aJurusan/Prodi.Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Sam Ratulangi

KATA KUNCI

Euphorbia tirucalli L.
Fitokimia
Antioksidan

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui senyawa fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol tanaman patah tulang (*Euphorbia tirucalli L.*) menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Ekstrak etanol diperoleh dengan metode maserasi kemudian diuji fitokimia untuk dilihat kandungan senyawa metabolit sekunder diantaranya alkaloid, fenolik, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid/steroid. Senyawa fenolik sangat berpotensi sebagai antioksidan karenanya dilakukan uji kandungan total fenolik menggunakan metode spektrofotometri dengan pereaksi Folin-Ciocalteu. Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu fenolik ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman, senyawa saponin dengan terbentuknya busa stabil, dan senyawa tanin dengan terbentuknya warna hijau kehitaman. Hasil pengujian kandungan total fenolik ekstrak etanol memiliki nilai sebesar 60,270 mg GAE/g. Kekuatan antioksidan ditentukan oleh nilai IC₅₀ yang didasarkan pada persen perendaman radikal bebas oleh sampel uji. Untuk ekstrak etanol memiliki IC₅₀ sebesar 82,152 µg/mL. Berdasarkan hasil yang diperoleh ekstrak etanol tanaman patah tulang memiliki potensi yang kuat sebagai antioksidan.

KEYWORDS

Euphorbia tirucalli L.
Phytochemical
Antioxidant

ABSTRACT

This research was conducted to determine the phytochemical compound and antioxidant activity of ethanol extract of Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli L.*) plant using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method. The ethanol extract was obtained by maceration and then was analysed for phytochemical compound to see the secondary metabolite contents including alkaloids, phenolics, flavonoids, tannins, saponins, triterpenoids /steroids. The phenolic compounds have high potential as antioxidant, therefore the total phenolic content was tested using spectrophotometric method with Folin-Ciocalteu reagents. Antioxidant activity was determined using DPPH method. The results showed that the ethanol extract contain secondary metabolite compounds. Phenolic compounds were detected by the formation of blackish green color, saponin compounds showed stable foam formation, and tannin compounds with a blackish green formation. Total phenolic content of the extract was 60,270 mg GAE/g. Antioxidant activity was determined by IC₅₀ value based on the percentage of free radicals taken by the sample. And ethanol extract had IC₅₀ value of 82.152 µg /mL. Based on the results obtained, ethanol extract of Patah Tulang plants had a strong potential as an antioxidant.

TERSEDIA ONLINE

01 Agustus 2020

Pendahuluan

Penyakit degeneratif adalah salah satu penyebab kematian terbesar di dunia. Menurut WHO, penyakit degeneratif adalah penyakit yang paling mematikan di kawasan Asia Tenggara dengan 8,5 juta kasus kematian setiap tahunnya. Penyakit degeneratif adalah penyakit yang disebabkan oleh berkurangnya fungsi sel, jaringan dan organ tubuh. Pola hidup yang kurang sehat seperti mengonsumsi makanan siap, merokok, minum minuman beralkohol adalah beberapa faktor penyebab

penyakit degeneratif (Barasi, 2009). Penyakit degeneratif ini timbul karena adanya aktivitas radikal bebas yang berlebih di dalam tubuh sehingga merusak molekul atau jaringan dalam tubuh (Serlahwaty et al., 2011).

Radikal bebas adalah molekul atau atom yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada kulit terluarnya sehingga sangat reaktif. Elektron yang tidak berpasangan dan sangat reaktif ini, yang kemudian akan menangkap atau mengambil elektron dari senyawa lain seperti protein, lipid, karbohidrat, dan

*Corresponding author:

Email address: patriciamanongko@gmail.com

Published by FMIPA UNSRAT (2020)

DNA untuk menetralkan diri. Radikal bebas dapat masuk dan menyerang atom atau molekul yang ada di dalam tubuh sehingga menjadi rusak serta kehilangan fungsinya (Liochev, 2013). Efek negatif dari radikal bebas terhadap tubuh dapat dicegah dengan senyawa yang disebut antioksidan.

Antioksidan adalah suatu senyawa yang memiliki kemampuan memberikan elektron, mengikat dan mengakhiri reaksi berantai radikal bebas (Halliwell, 2012). Ada beberapa metode yang sering digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan, salah satunya yang paling populer adalah metode 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH). DPPH merupakan senyawa radikal bebas dan apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan dan jika disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan baik yang stabil dapat bertahan selama bertahun-tahun (Marxen et al., 2007). Metode ini sering digunakan untuk mendeteksi kemampuan antiradikal suatu senyawa sebab hasilnya terbukti akurat dan praktis digunakan (Sanchez dan Moreno, 2002).

Tanaman mengandung metabolit sekunder yang dapat berpotensi sebagai antioksidan diantaranya adalah flavonoid, serta senyawa fenol, tanin, steroid, dan triterpenoid (Mariana, 2007). Senyawa-senyawa metabolit sekunder ini dapat dideteksi dengan skrining fitokimia. Skrining fitokimia merupakan suatu cara yang dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif dalam tanaman. Secara umum metode ini merupakan tahap awal penelitian dan sebagian besar merupakan reaksi pengujian warna dengan suatu pereaksi warna (Harborne, 1987). Dari berbagai literatur yang ada dapat dilihat bahwa bahan-bahan alami memiliki aktivitas antioksidan yang sangat baik karena adanya senyawa fenolik. Kemampuan senyawa fenolik dalam membentuk radikal fenoksi yang stabil dalam proses oksidasi menyebabkan senyawa ini banyak digunakan sebagai antioksidan (Kurniawan, 2012). Penentuan kandungan total fenolik pada tanaman dapat dilakukan dengan metode spektrofotometri menggunakan reagen Folin-Ciocalteu. Metode ini banyak digunakan karena memiliki banyak kelebihan diantaranya, sederhana, sensitif, dapat diulang, hasilnya relatif akurat, tidak memerlukan peralatan spesifik yang canggih, dan telah digunakan luas untuk mengukur antioksidan fenolik (Huang et al., 2005).

Tanaman patah tulang adalah salah satu tanaman yang tumbuh di daerah Sulawesi Utara. Telah diteliti bahwa pada ekstrak etanol batang segar dan kering tanaman patah tulang positif mengandung senyawa flavonoid, steroid dan tanin (Baud et al., 2014). Tanaman patah tulang juga telah dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengobati beberapa penyakit seperti nyeri saraf, penyakit kulit serta kanker (Dalimartha, 2003). Hasil penelitian dari Mawadah et al. (2016) juga melaporkan bahwa pada plat Kromatografi lapis tipis (KLT) DPPH yang berwarna ungu, terdapat spot noda berwarna kuning setelah disemproti ekstrak etanol dan fraksi n-heksana tanaman patah tulang, hal ini menunjukkan adanya aktivitas antioksidan pada tanaman patah tulang.

Berdasarkan uraian di atas maka akan dilakukan pengujian tentang senyawa fitokimia dan aktivitas antioksidan pada tanaman patah tulang menggunakan pelarut etanol.

Material dan Metode

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan adalah tanaman patah tulang yang diambil dari Desa Kamanga 1 Kecamatan Tompaso, etanol, etil asetat, n-heksana, akuades, kloroform, ammonia, H₂SO₄, CH₃COOH glasial, serbuk Mg, HCl, FeCl₃, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, pereaksi Folin-Ciocalteu, Na₂CO₃, kristal 1,1 difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Alat yang digunakan adalah ayakan, sudip, alat-alat gelas (pyrex), cawan porselen, oven, mikro pipet, rotary evaporator, vortex, corong pisah, spektrofotometer UV-Vis.

Preparasi Sampel

Tanaman patah tulang dicuci, dipotong kecil-kecil, kemudian dikeringanginkan selama kurang lebih 7 hari. Setelah kering tanaman patah tulang diblender sehingga didapatkan serbuk patah tulang. Kemudian serbuk yang diperoleh diayak menggunakan ayakan, dihasilkan serbuk halus tanaman patah tulang.

Ekstraksi

Sebanyak 100 g serbuk halus tanaman patah tulang diambil dan dimaserasi menggunakan etanol selama 2 x 24 jam, disaring kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator, kemudian dimasukkan ke dalam oven selama 2 hari pada suhu 34 °C. Didapatkan ekstrak kental tanaman patah tulang.

Uji Senyawa Fitokimia

Analisis fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, tanin, steroid dan triterpenoid. Metode analisis yang digunakan berdasarkan pada Harborne (1987).

Pengujian Alkaloid

Sebanyak 40 mg ekstrak ditambahkan 2 mL kloroform dan 2 mL ammonia lalu disaring. Filtrat ditambahkan 3 sampai 5 tetes H₂SO₄ pekat lalu dikocok hingga terbentuk dua lapisan. Fraksi asam diambil, kemudian ditambahkan pereaksi Mayer dan Dragendorff masing-masing 4-5 tetes. Apabila terbentuk endapan menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid, dengan pereaksi Mayer memberikan endapan berwarna putih, dan pereaksi Dragendorff memberikan endapan berwarna kuning-merah.

Pengujian Fenolik

Diambil sebanyak 1 mL larutan ekstrak dengan konsentrasi 1000 µg/mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 2 tetes larutan FeCl₃ 5%. Sampel mengandung fenolik ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau atau biru yang kuat.

Pengujian Flavonoid

Sebanyak 1 mL ekstrak dengan konsentrasi 1000 µg/mL ditambahkan serbuk magnesium 0,1 mg dan 0,4 mL amil alkohol (campuran asam klorida 37 % dan etanol 95 % dengan volume yang sama) dan 4 mL alkohol kemudian campuran dikocok. Sampel mengandung flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.

Pengujian Saponin

Sebanyak 40 mg ekstrak masing-masing ditambahkan 10 mL air. Kemudian dikocok selama 1 menit. Diamati jika terbentuk busa stabil maka sampel positif mengandung saponin.

Pengujian Tanin

Diambil 1 mL ekstrak dengan konsentrasi 1000 µg/mL masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes FeCl₃ 1%. Sampel mengandung tanin bila terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman.

Pengujian Steroid/Triterpenoid

Sebanyak 40 mg ekstrak ditambahkan CH₃COOH glasial sebanyak 10 tetes dan 2 tetes H₂SO₄. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Steroid memberikan warna biru atau hijau, sedangkan triterpenoid memberikan warna merah atau ungu.

Penentuan Kandungan Total Fenolik

Kandungan total fenolik ditentukan menggunakan metode Folin-Ciocalteu (Conde et al., 1997). Sebanyak 0.1 mL larutan ekstrak dengan konsentrasi 1000 µg/mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0.1 mL reagen Folin-Ciocalteu 50% lalu divortex. Setelah itu ditambahkan 2 mL Na₂CO₃ 2% lalu divortex kembali. Selanjutnya larutan diinkubasi pada ruangan gelap selama 30 menit. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 750 nm.

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Pengujian aktivitas ditentukan dengan metode Subedi et al. (2012). Larutan ektra dan DPPH dibuat terlebih dahulu. Ekstrak dan hasil partisi sampel dilarutkan dalam etanol dan larutan DPPH dibuat dengan konsentrasi 0,4 mM dalam etanol. Larutan sampel yang telah dibuat diencerkan dengan berbagai variasi konsentrasi (25 µg/mL, 50 µg/mL, 75 µg/mL, 100 µg/mL, 125 µg/mL) dengan total volume 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebagai larutan uji dan dibuat juga untuk blanko. Selanjutnya, ke dalam tabung reaksi larutan uji ditambahkan 0,2 mL larutan DPPH dan diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap. Setelah 30 menit, blanko dan larutan uji diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Nilai absorbansi dari setiap variasi konsentrasi dicatat dan dihitung aktivitas penangkap radikal bebasnya dan nilai IC₅₀. Pengujian dilakukan sebanyak dua kali. Perhitungan nilai IC₅₀ dinyatakan dengan persamaan regresi linear dan perhitungan aktivitas penangkap radikal bebas dinyatakan dengan persamaan sebagai berikut :

Aktivitas penangkap radikal bebas % =

$$\left(\frac{A_{blanko} - A_{sampel}}{A_{blanko}} \right) \times 100\%$$

Keterangan:

A_{blanko} : Absorbansi DPPH

A_{sampel} : Absorbansi Sampel + DPPH

Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan untuk memisahkan komponen yang ada dalam bahan dengan menggunakan pelarut

tertentu (Houghton dan Raman, 1998). Ekstraksi dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi. Maserasi dipilih karena mudah dan sederhana, juga dapat mengekstraksi senyawa aktif dengan baik melalui perendaman tanpa pemanasan tinggi, sehingga dapat menghindari kerusakan komponen (Dean, 2009). Adanya hal tersebut mengakibatkan pelarut dapat menembus dinding sel sehingga masuk ke dalam sel yang mengandung senyawa aktif, dan senyawa aktif ini akan larut dalam pelarut (Khoiriyah et al., 2014). Sampel yang telah halus diekstrak menggunakan pelarut etanol. Etanol adalah senyawa polar yang mudah menguap, sehingga baik digunakan sebagai pelarut. Selain itu etanol juga merupakan salah satu pelarut organik yang banyak digunakan untuk melarutkan senyawa-senyawa organik (Wiratmaja et al., 2011). Ekstraksi dengan pelarut dilakukan untuk mempertemukan bahan yang akan diekstrak dengan pelarut selama waktu tertentu, diikuti pemisahan filtrat terhadap residu bahan yang diekstrak (Houghton dan Raman, 1998). Filtrat dari hasil ekstraksi kemudian dipekatkan lagi menggunakan rotary evaporator dan dimasukkan ke dalam oven selama 2 hari pada suhu 34 °C. Hal ini bermanfaat untuk menghilangkan pelarut dengan cara menguapkannya sehingga dapat diperoleh ekstrak kental. Dari tahap ekstraksi 100 g sampel ini dihasilkan 10,1634 g ekstrak etanol dan rendemen sebesar 10,16%.

Uji Senyawa Fitokimia

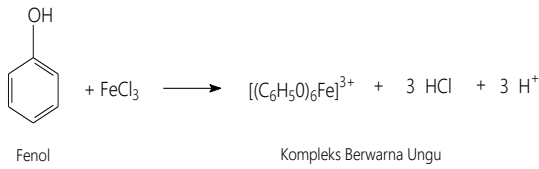
Tabel 1. Hasil Uji Senyawa Fitokimia Tanaman Patah Tulang

Senyawa	Hasil	Perubahan yang Terjadi
Alkaloid	-	Tidak terjadi perubahan
Flavonoid	-	Tidak terjadi perubahan
Saponin	+	Terbentuk busa stabil
Fenolik	+	Terbentuk warna hijau kehitaman
Tanin	+	Terbentuk warna hijau kehitaman
Steroid	-	Tidak terjadi perubahan
Triterpenoid	-	Tidak terjadi perubahan

Ket: (+) terkandung dalam sampel;

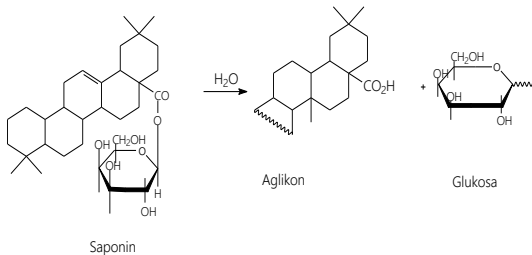
(-) tidak terkandung dalam sampel

Pada hasil uji fitokimia, terdapat senyawa fenolik pada ekstrak etanol tanaman patah tulang. Pada dasarnya senyawa fenolik cenderung mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol dan air karena berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat dalam vakuola sel (Harborne, 1987). Reaksi FeCl₃ dengan sampel membuat pembentukan warna pada uji ini, yang berperan adalah ion Fe³⁺ yang mengalami hibridisasi seperti pada Gambar 1.



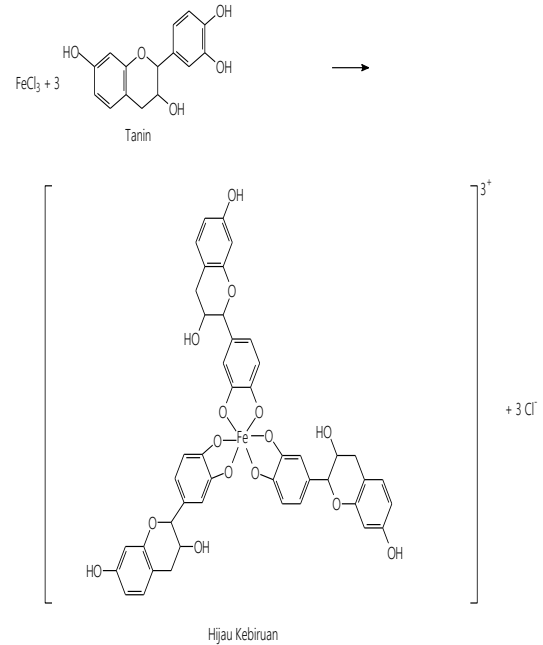
Gambar 1. Reaksi Fenol dengan FeCl₃ (Sagar, 1996)

Selanjutnya terdapat juga senyawa saponin ditandai dengan terbentuknya busa stabil. Busa yang timbul disebabkan saponin mengandung senyawa yang sebagian larut dalam pelarut polar atau hidrofilik dan senyawa yang larut dalam pelarut non polar atau hidrofobik (Gambar 2) (Widyasari, 2008). Menurut Robinson (1995), senyawa yang memiliki gugus polar dan non polar bersifat aktif permukaan sehingga saat saponin dikocok dengan pelarutnya dapat membentuk misel. Struktur misel terjadi karena gugus polar menghadap ke luar sedangkan gugus non polarnya menghadap ke dalam, maka dari itu terlihat seperti busa.



Gambar 2. Reaksi Saponin dengan Air (Mariana et al., 2005)

Dari hasil pengujian juga, tanaman patah tulang positif mengandung tannin. Hal ini ditandai dengan perubahan warna yang terjadi pada saat penambahan larutan FeCl₃ 1% yakni hijau kehitaman. Perubahan warna disebabkan reaksi penambahan FeCl₃ dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin. Penambahan FeCl₃ yang menyebabkan perubahan warna menunjukkan adanya tanin terkondensasi (Sangi et al., 2008). Reaksi yang terjadi antara tanin dan FeCl₃ dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Reaksi FeCl₃ dengan Tanin (Mariana et al., 2005)

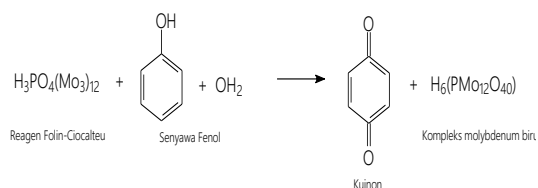
Dari hasil uji fitokimia juga dilihat bahwa tanaman patah tulang dapat berpotensi sebagai antioksidan karena memiliki senyawa fenolik dan tanin. Hal ini terjadi karena pada senyawa fenolik dan tanin terdapat cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksil yang dapat mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas (Rezaeizadeh, 2011).

Hasil Penentuan Kandungan Total Fenolik

Kandungan total fenolik pada ekstrak dan hasil partisi dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat atau Gallic Acid Equivalent (GAE). GAE adalah acuan untuk mengukur sejumlah senyawa fenolik yang terdapat dalam suatu bahan (Mongkolsip et al., 2004). Kandungan total fenolik ekstrak 60,270 mg GAE/g. Artinya dalam setiap gram ekstrak setara dengan 60,270 mg asam galat.

Etanol merupakan pelarut polar yang dengan mudah mengikat senyawa polar khususnya senyawa fenolik pada tanaman patah tulang. Adanya gugus hidroksil yang tersubsitusi pada cincin benzen merupakan kontribusi yang baik pada kemampuan senyawa fenolik melepaskan atom hidrogen dan terlibat reaksi redoks dengan reagen Folin-Ciocalteu. Semakin banyak jumlah gugus hidroksil dan ikatan rangkap terkonjugasi pada senyawa fenolik maka potensi senyawa tersebut untuk terlibat reaksi redoks semakin besar (Widyawati, 2016). Senyawa fenolik memiliki kontribusi dalam aktivitas antioksidan. Potensi senyawa fenolik dikarenakan adanya gugus hidroksil yang berfungsi sebagai penyumbang atom hidrogen ketika bereaksi dengan senyawa radikal. Senyawa fenolik akan mengalami oksidasi membentuk ion fenolat, sedangkan pereaksi Folin-Ciocalteu akan tereduksi membentuk kompleks fosfotungstat-fosfomolibdat yang sampai saat ini belum diketahui strukturnya namun dapat dideteksi dengan spektrofotometer dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 750 nm. Semakin pekat warna

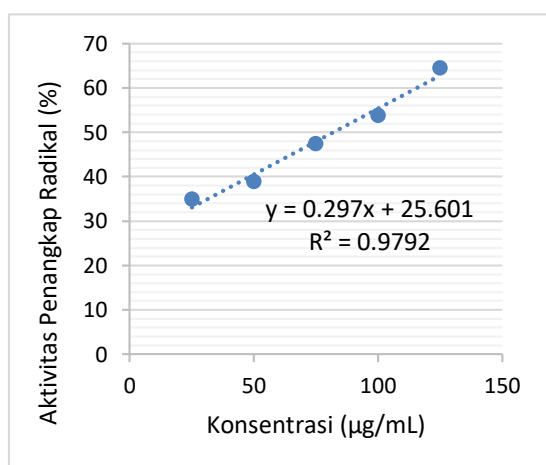
biru yang terbentuk, maka semakin banyak juga kompleks fosfotungstat-fosfomolibdat yang tereduksi. Dari hasil pengukuran total fenolik, diperoleh warna biru pekat pada fraksi air dan fraksi n-heksana tanaman patah tulang (Singleton dan Rossi, 1965).



Gambar 4. Reaksi Senyawa Fenol dengan Reagen Folin-Ciocalteu (Hardiana et al., 2012)

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Pada pengujian aktivitas antioksidan digunakan metode DPPH. Hasil dari pengujian antioksidan diperoleh nilai IC_{50} sebesar 82,152 $\mu\text{g/mL}$. Nilai aktivitas antioksidan dapat dilihat dari seberapa besar nilai IC_{50} (Inhibitor Concentration) yang diperoleh dari persamaan regresi linear konsentrasi ekstrak terhadap nilai aktivitas penangkal radikal bebas seperti pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi dan persen (%) aktivitas penangkal radikal bebas

Koefisien y pada persamaan regresi ini adalah sebagai IC_{50} , sedangkan koefisien x pada persamaan ini adalah konsentrasi dari ekstrak yang akan dicari nilainya, dimana nilai dari x yang didapat merupakan besarnya konsentrasi yang diperlukan untuk merendam 50% aktivitas radikal DPPH. Dari persamaan juga dapat diketahui nilai R^2 yang menunjukkan korelasi antara persen (%) aktivitas penangkal radikal bebas dengan konsentrasi ekstrak dan hasil fraksinasi. Dari hasil yang didapat diketahui memberikan korelasi positif dilihat dari nilai R^2 yang mendekati +1, menggambarkan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak maka semakin besar juga aktivitas penangkal radikal bebasnya. Dari persamaan regresi tersebut didapatkanlah nilai IC_{50} yang menjadi acuan tinggi rendahnya aktivitas antioksidan. IC_{50} merupakan parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH. Nilai IC_{50} sendiri merupakan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat merendam radikal bebas sebanyak 50% atau IC_{50} adalah bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu

menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Menurut Molyneux (2004), klasifikasi antioksidan dibagi menjadi 5, yaitu < 50 ppm (sangat kuat), 50-100 ppm (kuat), 100-150 ppm (sedang), 150-200 ppm (lemah), dan >200 ppm adalah sangat lemah. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi. Dari hasil pengujian yang didapatkan maka ekstrak etanol tanaman patah tulang berpotensi kuat sebagai antioksidan. Munro et al. (2015) juga melaporkan bahwa dengan aktivitas antioksidan yang baik oleh tanaman patah tulang maka menunjukkan hasil yang baik pula pada kapasitas penghambatan garis sel kanker pankreas (Mia PaCa-2). Tanaman patah tulang memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena sejalan juga dengan kandungan total fenolik yang diperoleh kontrol positif.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, diketahui tanaman patah tulang memiliki senyawa metabolit sekunder seperti saponin, tanin dan fenolik. Aktivitas antioksidan yang dilihat juga dari nilai IC_{50} menunjukkan bahwa tanaman patah tulang memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori kuat yang sejalan dengan kandungan total fenolik yang diperoleh.

Daftar Pustaka

- Barasi, M. 2009. *At Glance Ilmu Gizi*. Erlangga: Jakarta.
- Baud, G.S., M.S. Sangi., dan H. S. J. Koleangan. 2014. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Batang Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli L.*) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Ilmiah Sains* **14(2)**: 106-112.
- Dalimartha, S. 2003. *Atlas Tanaman Obat Indonesia Jilid III. Trubus Agriwidya*: Jakarta.
- Dean, J. 2009. *Extraction Techniques In Analytical Science*. John Wiley and Sons LTD: London.
- Halliwel, B. 2012. Free Radicals and Antioxidant. *Nutrition Review* **70**: 257-265.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tanaman*. ITB: Bandung.
- Hardiana, R., Rudyansyah., dan Zaharah, T.A. 2012. Aktivitas Antioksidan Senyawa Golongan Fenol dari Beberapa Jenis Tumbuhan Famili *Malvaceae*. *JKK* **1(1)**: 8-13.
- Houghton, P. J. dan A. Raman. 1998. *Laboratory Handbook for the Fractination of Natural Extracts*. Thomsom Science: London.
- Huang, C. J., T. K. Wang., S. C. Chung., dan C. Y. Chen. 2005. Identification of an Antifungal Chitinase from a Potential Biocontrol Agent, *Bacillus cereus* 28-9. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology* **38(1)**: 82-88.
- Khoiriyah, S., A. Hanapi., dan A. G. Fasya. 2014. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat, Kloroform, dan Petroleum Eter Ekstrak Metanol Alga Coklat *Sargassum vulgare* Dari Pantai Kapong Pemekasan Madura. *Journal of Chemistry* **3(2)**: 133-144.

- Kurniawan, C. 2012. *Kajian Penurunan Beta Karoten Selama Pembuatan Flakes Ubi Jalar (Ipomoea Batatas Lam) Dalam Berbagai Suhu Pemanggangan*. IPB: Bogor.
- Liochev, S.J. 2013. Reactive Oxygen Species and the Free Radical Theory of Aging. *Free Radical Biology and Medicine* **60**: 1-4.
- Marliana, S., Suryanti., dan Suryono. 2005. *Skrining Fitokimia dan Analisis KLT Komponen Buah Labu Siam (Sechium edule Jacq. Swartz) dalam Ekstrak Etanol*. Universitas Sebelas Maret: Surakarta.
- Marxen, K., K.H. Vanselow., S. Lippermeier., R. Hintze., A. Ruser., dan U.P. Hansen. 2007. Determination of DPPH Radical Oxidation Caused by Methanolic Extracts of Some Microalgal Species by Linear Regression Analysis of Spectrophotometric Measurements. *Sensors* **7**: 2080-2095.
- Mawadah, E. V., A. Ibrahim., L. Febrina., dan R. Rusli. 2016. Aktivitas Antioksidan Fraksi n-heksana tumbuhan Patah Tulang. *Mulawarman Pharmaceutical Confrence* **4**: 99-105).
- Mongkolsip, S., I. Pongbupakit., N. Sae-Lee., dan W. Sitthithaworn. 2004. Radical Scavenging Activity and Total Phenolic Content of Medical Plants Used in Primary Health Care. *Journal of Pharmacy and Science* **9(1)**: 32-35.
- Munro, B., Q. V. Vuong., A. C. Chalmers., C. D. Goldsmith., M. C. Bowyer., dan C. J. Scarlett. 2015. Phytochemical Antioxidant and Anti-Cancer Properties of *Euphorbia tirucalli* L. Methanolic and Aqueous Extracts. *Antioxidants* **4(4)**: 647-661.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi Edisi Kedua*. ITB: Bandung.
- Sangi, M., M. R. J. Runtuwene., H. E. I. Simbala., dan V. M. A. Makang. 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress* **1**: 47-53.
- Sagar, R. 1996. *Together with Chemistry*. Rachna Sagar Pvt: New Dehli.
- Sanchez dan Moreno, C. 2002. Review: Methods Used to Evaluate The Free Radical Scavenging Activity in Food and Biological Sitem. *Food Sci. Technol. Int* **8(3)**: 121-137.
- Serlahwaty, D., Sugiastuti, S., dan Ningrum, R. C. 2011. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Etanol 70% Daun Sirih Hijau (*Piper batle* L.) dan Sirih Merah (*Piper cf. fragile Benth.*) dengan Metode Perendaman Radikal Bebas DPPH. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* **9(2)**: 1693-1831.
- Singleton, V. L., dan Rossi, J. A. 1965. Calorimeter of Total Phenolics with Phosphomolibdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* **16**: 144-158.
- Subedi, A., M.P. Aimatya., T.M. Shrestha., S.K. Mishra., dan B.M. Pokhrel. 2012. Antioxidant and Antibacterial Activity of Methanolic Extract of *Machilus odoratissima*. *Journal of Science Engineering and Technology* **8**: 73-80.
- Widyasari, A. R. 2008. *Karakterisasi dan Uji Antibakteri Senyawa Kimia Fraksi n-heksana dari Kulit Batang Pohon Angsret (Spathodea campanulata Beauv)*. Universitas Brawijaya: Malang.
- Widyawati, P. S. 2016. Determination of Antioxidant Capacity in *Pluchea indica* Less Leaves Extract and its Fractions. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* **8(9)**: 32-36.
- Wiratmaja, I. G., I. G. B. W. Kusuma., dan I. N. S. Winaya. 2011. Pembuatan Etanol Generasi Kedua Dengan Memanfaatkan Limbah Rumput Laut *Eucheuma Cottonii* Sebagai Bahan Baku. *Jurnal Ilmiah Teknik Mesin Cakra M* **5(1)**: 75-84.