

Optimasi Proses Ekstraksi Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) yang Memiliki Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Penggunaan secara Empiris

Optimization of Green Betel Leaf (*Piper betle* L.) Extraction Process Through Empirical-based Antioxidant Activity

Farendina Suarantika^{1*}, Vinda Maharani Patricia¹, Hanifa Rahma¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika & Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Kota Bandung, Indonesia

Diajukan: 01-10-2022

Direview: 25-01-2023

Disetujui: 29-03-2023

Kata Kunci: antioksidan, ekstraksi, optimasi, sirih hijau.

Keywords: antioxidant, betel leave, extraction, optimization.

Korespondensi:

Farendina Suarantika

farendina_suarantika@unisba.ac.id



Lisensi: CC BY-NC-ND 4.0

Copyright ©2023 Penulis

Abstrak

Sirih hijau (*Piper betle* L.) menunjukkan berbagai aktivitas farmakologi diantaranya antialergi, analgesik, antibakteri, antiproliferatif dan antioksidan dan mengandung berbagai senyawa kimia seperti *chavibetol*, *chavibetol acetate*, *karvakrol*, *caryophyllene*, *allylpyrocatechol diacetate*, *campene*, *chavibetol methyl ether*. Penelitian ini dilakukan untuk mengoptimasi teknik pengolahan daun sirih hijau yang diterapkan secara empiris oleh masyarakat melalui pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP). Teknik pengolahan yang dioptimasi adalah infusa, seduh segar dan rebus rendam. Aktivitas antioksidan ekstrak daun sirih hijau seduh segar memiliki kapasitas antioksidan sebesar 18,126 mg Trolox/g ekstrak, dan untuk ekstrak daun sirih hijau rebus rendam sebesar 21,848 mg Trolox/g ekstrak, sedangkan untuk ekstrak daun sirih hijau infusa sebesar 22,809 mg Trolox/gram ekstrak. Aktivitas antioksidan tertinggi diberikan oleh ekstrak infusa daun sirih hijau yaitu 22,809 mg Trolox/gram ekstrak.

Abstract

Green betel (*Piper betle* L.) exhibits various pharmacological activities, including antiallergic, analgesic, antibacterial, antiproliferative, and antioxidant, and contains various chemical compounds such as *chavibetol*, *chavibetol acetate*, *carvacrol*, *caryophyllene*, *allyl pyrocatechol diacetate*, *campene*, *chavibetol methyl ether*. This research was conducted to optimize green betel leaf processing techniques which were applied empirically by the community, through testing the antioxidant activity using the Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) method. Processing techniques that are optimized are infusion, fresh brewed, and soaked boiled. The antioxidant activity of fresh brewed green betel leaf extract has an antioxidant capacity of 18.126 mg Trolox/g extract. For green betel leaf extract boiled and soaked, it is 21.848 mg Trolox/g extract, while for infusion green betel leaf extract is 22.809 mg Trolox/gram extract. The highest antioxidant activity was given by green betel leaf infusion extract, 22.809 mg Trolox/gram extract.

Cara mensitasi artikel:

Suarantika, F., Patricia, V. M., Rahma, H. (2023). Optimasi Proses Ekstraksi Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) yang Memiliki Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Penggunaan secara Empiris. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 9(1), 16-21. <https://doi.org/10.36733/medicamento.v9i1.5253>

PENDAHULUAN

Berdasarkan data dari Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor LIPI, terdapat 14.585 spesimen tumbuhan yang terdiri atas 3.411 jenis, 1.259 marga dan 215 famili, dimana salah satu famili tersebut adalah Piperaceae dengan dua marga yaitu Piperomia dan Piper. Terdapat 12 jenis marga Piper dengan dua varietas, diantaranya *Piper betle* L. Di Indonesia, khususnya di Pulau Jawa terdapat sekitar 23 jenis tanaman sirih-sirihan (*Piper*) yang populer sebagai tumbuhan obat^{1,2}.

Piper betle L. (Sirih hijau) sudah lama di gunakan dalam terapi demam, batuk, kejang perut, antialergi, analgesik, penyembuhan luka, infeksi mata, antibakteri, antiproliferatif dan antioksidan. Analisis

senyawa kimia menunjukkan bahwa sirih mengandung minyak atsiri, diantaranya dari golongan monoterpen, seskuiterpen, fenilpropanoid dan aldehid, adapun derivat dari golongan senyawa tersebut yaitu *chavibetol*, *chavibetol acetate*, *karvakrol*, *caryophyllene*, *allylpyrocatechol diacetate*, *campene*, *chavibetol methyl ether*, *eugenol*, α -*pinene*, β -*pinene*, γ -*limonene*, *sapo*, *1-8-cineol*, *estragole*, *undecanal* dan *allylpyrocatechol monoacetate*³⁻⁵.

Masyarakat Indonesia memiliki kebiasaan mengunyah bunga atau daun sirih yang dikenal juga dengan istilah menyirih. Menyirih dilakukan karena dipercaya dapat menjaga Kesehatan mulut dan gigi, mengurangi tingkat stress, memperkuat gigi, serta merupakan bagian dari budaya yang ada di Indonesia.

Selain dikunyah, masyarakat banyak mengonsumsi sirih dengan cara direbus baik dalam bentuk daun segar atau sudah dalam bentuk yang dikeringkan (simplisia). Masyarakat mengonsumsi sirih dengan berbagai metode atau teknik pengolahan diantaranya dengan menggunakan daun segar yang direbus hingga mendidih, daun sirih segar yang diseduh dan ada yang menggunakan simplisia lalu direbus sampai mendidih³.

Dengan adanya perbedaan cara pengolahan dalam konsumsi daun sirih (*Piper betle* L.) dapat mempengaruhi efek yang diberikan, karena berhubungan dengan kandungan kimia yang tersari dari daun sirih dengan berbagai macam metode pengolahan daun sirih, sehingga dibutuhkan optimasi untuk mengevaluasi metode pengolahan yang paling baik.

Selain itu *Piper betle* L. memiliki potensi yang baik untuk dikembangkan sebagai tanaman berkhasiat obat, sehingga dibutuhkan metode pengolahan yang optimum. Penelitian ini dilakukan untuk mengoptimasi proses ekstraksi pada daun sirih hijau (*Piper betle* L.) didasarkan pemakaian secara empiris yaitu daun sirih yang dikeringkan lalu direbus, daun sirih segar yang direbus hingga mendidih, dan daun sirih segar yang direbus kemudian direndam pada suhu tertentu.

Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antioksidan terhadap masing-masing hasil dari ketiga metode penyiapan sampel tersebut. Antioksidan merupakan senyawa dalam konsentrasi kecil yang dapat menghambat proses oksidasi terhadap senyawa lain, yang dibutuhkan untuk mencegah kondisi stres oksidatif karena adanya radikal bebas. Di dalam tubuh sendiri dapat menetralkan radikal bebas dengan adanya antioksidan endogen, tetapi jika antioksidan endogen tidak mencukupi maka tubuh membutuhkan antioksidan dari luar. Antioksidan sintetik seperti BHA (*butylhydroxyanisole*) dan BHT (*butylhydroxytoluene*) sangat efektif dalam menghambat radikal bebas, tetapi antioksidan sintesis ini akan memberikan efek samping jika digunakan dalam waktu yang lama, sehingga antioksidan alami menjadi alternatif pilihan⁶⁻⁸.

Daun sirih (*Piper betle* L.) merupakan salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan, yang dimana terdiri dari golongan senyawa fenol, flavonoid, kavikol, hidroksi kavikol, eugenol, kavibetol, karvakrol, safrol, senyawa tersebut memberikan

aktivitas antioksidan yang baik⁹. Flavonoid merupakan kelompok terbesar dari fenol alami yang dimana ditemukan di semua tanaman hijau serta golongan flavonoid memiliki sifat antioksidan yang baik pada lipid cair dan lipid makanan.

Metode pengukuran aktivitas antioksidan yang digunakan yaitu metode FRAP, karena metode FRAP termasuk metode yang murah, serta reagen yang digunakan mudah dalam penyiapannya, sederhana dan juga cepat dalam pengujiannya. Metode ini didasarkan kemampuan senyawa antioksidan dalam mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} ¹⁰. Berdasarkan hal tersebut, pada penelitian ini dilakukan optimasi metode penyiapan daun sirih yang kemudian diuji aktivitas antioksidan dari masing-masing sampel.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan Penelitian.

Alat. Alat yang digunakan yaitu alat sentrifuge, gelas kimia (Pyrex®), gelas ukur (Pyrex®), *juicer*, labu ukur (Pyrex®), mikropipet, pipet volume, spektrofotometer UV-Vis Shimidzu UV-1800, tabung reaksi, tabung sentrifuge, timbangan analitik.

Bahan. Bahan yang digunakan adalah akuades, daun sirih hijau (*Piper betle* L.), aluminium foil (total wrap®), asam klorida (Merck®) 40 mmol/L, asam trikloroasetat 10% (Merck®), besi (III) klorida (Merck®), buffer asetat (Merck®), etanol p.a (Merck®), kertas saring (Whatman®), TPTZ (Sigma®), trolox (Sigma®).

Prosedur Penelitian.

Sampel yang digunakan adalah daun segar dari tanaman sirih hijau yang ditanam di daerah Cimahi Selatan. Penelitian dilakukan di Laboratorium Riset Prodi Farmasi Universitas Islam Bandung. Pengujian determinasi tanaman sirih hijau dilakukan di Herbarium Bandungense Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati ITB, dengan membawa tanaman sirih hijau segar yang lengkap dan utuh.

Tahapan awal penelitian ini adalah mengumpulkan bahan segar dari daun sirih hijau dengan umur kurang lebih 8 bulan dengan ciri-ciri daunnya bersih, segar, tebal dan mengkilap serta dipanen di pagi hari. Daun yang sudah dipanen, dilakukan proses pencucian dan perajangan. Terdapat tiga jenis sampel yang digunakan berdasarkan

penyiapannya. Sampel pertama menggunakan daun sirih segar yang direbus dengan air selama 15 menit (infusa). Sampel kedua menggunakan metode dekokta dimana daun sirih segar direbus dengan air selama 30 menit lalu disaring (seduh segar), dan sampel ketiga daun sirih segar direbus dengan air pada suhu 100°C setelah itu didiamkan selama 24 jam dan baru dilakukan penyaringan (rebus rendam). Untuk ketiga sampel menggunakan perbandingan jumlah pelarut air dan daun sirih segar yang sama yaitu 1:10.

Hasil dari proses ekstraksi adalah ekstrak cair yang kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C hingga didapatkan ekstrak kental. Terhadap ekstrak kental tersebut dilakukan penentuan bobot jenis ekstrak dan analisis kualitatif yaitu skrining fitokimia untuk mengetahui secara kualitatif kandungan golongan senyawa diantaranya alkaloid, tannin, flavonoid, saponin, triterpenoid dan steroid.

Dalam pengujian ini dibuat kurva kalibrasi dengan menggunakan Trolox sebagai senyawa pembanding, dengan panjang gelombang maksimal 595 nm. Kurva kalibrasi dibuat dengan melakukan plot hasil pengujian antioksidan dengan metode FRAP pada konsentrasi larutan standar 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm. Untuk pengujian sampel, sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan sebanyak 3 mL pereaksi FRAP ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya campuran tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Setelah itu, semua larutan uji dibaca serapannya pada λ maksimal 595 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Pereaksi FRAP dibuat dengan cara menyampurkan 25 mL bufer asetat, 2,5 mL larutan 2,4,6-tripiryridilstriazine (TPTZ) dan 2,5 mL larutan $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, lalu ditambahkan akuades hingga tepat 100 mL dalam labu takar.

Prosedur pengujian aktivitas antioksidan dibuat larutan sampel dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm. Trolox disiapkan dengan konsentrasi 10, 15, 20, 25, dan 30 ppm, kemudian dihomogenkan dan didiamkan selama 10 menit pada suhu 37°C, lalu diamati absorbansinya pada panjang gelombang 594 nm. Trolox diperlakukan sama dengan sampel dan dijadikan sebagai kontrol positif.

Dari hasil perhitungan masing-masing metode pengujian antioksidan didapatkan % kapasitas peredaman. Dibuat kurva konsentrasi (ppm) terhadap % kapasitas peredaman, kemudian didapat

persamaan regresi $y = a + bx$. Nilai IC_{50} dihitung untuk menentukan berapa konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk memiliki 50% kapasitas peredaman¹¹.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi, Penyiapan Bahan, dan Ekstraksi

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun segar sirih hijau yang didapatkan dari daerah Cimahi Selatan. Hasil determinasi Herbarium Bandungense Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati ITB menunjukkan bahwa tumbuhan yang digunakan adalah *Piper betle* L. Penelitian dilakukan di Laboratorium Riset Prodi Farmasi Universitas Islam Bandung. Sebanyak 200 gram bahan segar daun sirih hijau disortasi basah dengan tujuan untuk mempermudah proses ekstraksi. Rendemen ekstrak daun sirih hijau dapat dilihat pada **Tabel 1** berikut.

Tabel 1. Rendemen Ekstrak Daun Sirih Hijau

Sampel	Rendemen (%)		
	Ekstrak ¹	Ekstrak ²	Ekstrak ³
Daun Sirih hijau	3,373	7,590	3,119

Ket.: ¹: Seduh segar; ²: Rebus rendam, ³: Infusa

Rendemen yang terbesar terdapat pada ekstrak rebus rendam dengan nilai 7,590%. Rendemen ekstrak bertujuan untuk melihat jumlah kandungan senyawa yang tersari pada suatu pelarut dan metode ekstraksi tertentu. Sehingga dalam hal ini jumlah kandungan senyawa tertinggi terdapat pada ekstrak rebus rendam dengan pelarut air.

Bobot Jenis

Setelah diperoleh ekstrak kental, maka dilakukan penentuan bobot jenis untuk tiap ekstrak. Aktivitas dan kandungan senyawa kimia dalam ekstrak dapat dibandingkan jika bobot jenis dari ekstrak tersebut nilainya hampir sama. Hasil penetapan bobot jenis ekstrak dapat dilihat pada **Tabel 2**. Yang memiliki nilai bobot jenis besar terdapat pada ekstrak daun sirih hijau infusa yang dimana bobot jenisnya yaitu 1,0037%.

Tabel 2. Bobot Jenis Ekstrak Sirih Hijau

Sampel	Bobot jenis ekstrak 1% (g/mL)
Ekstrak seduh segar	1,0027
Ekstrak rebus rendam	1,0027
Ekstrak infusa	1,0037

Penapisan Fitokimia

Hasil penapisan fitokimia ekstrak dapat dilihat pada **Tabel 3**. Pada penapisan fitokimia golongan senyawa yang terdeteksi pada ketiga ekstrak yaitu golongan senyawa flavonoid, fenol, alkaloid dan tanin. Untuk golongan senyawa steroid positif kuat pada ekstrak daun sirih hijau rebus rendam, sedangkan pada ekstrak daun sirih hijau seduh segar dan infusa tidak terdeteksi. Untuk ekstrak daun sirih hijau seduh segar dan infusa terdeteksi golongan senyawa monoterpenoid, dan ekstrak daun sirih hijau rebus rendam tidak terdeteksi golongan senyawa monoterpenoid.

Tabel 3. Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun Sirih Hijau

Ekstrak	Golongan						
	Fd	Fl	Al	Sp	Tn	Sd	Md
Ekstrak ¹	+	++	+	-	++	-	+
Ekstrak ²	+	++	+	-	++	+	-
Ekstrak ³	+	++	+	-	++	-	+

Ket.: (+) = Kuat; (++) = Lebih kuat.

¹: Seduh segar; ²: Rebus rendam, ³: Infusa

Fd: flavonoid; Fl: fenol; Al: alkaloid; Sp: saponin; Tn: tanin; Sd: steroid; Md: monoterpenoid

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode FRAP

Pengujian aktivitas antioksidan *in vitro* ekstrak daun sirih hijau menggunakan metode FRAP. Kelebihan metode FRAP ini dimana metodenya yang murah, cepat, dan reagen yang digunakan cukup sederhana serta tidak menggunakan alat khusus untuk menghitung njlai total antioksidan. Adapun prinsip pada metode FRAP yaitu mengukur kemampuan antioksidan dalam mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} yang dimana dengan adanya peningkatan nilai absorbansi menunjukkan besarnya aktivitas antioksidan dari sampel yang diuji. Penentuan kapasitas antioksidan ketiga metode dilakukan dengan menghitung kurva baku Trolox¹².

Dalam menentukan nilai aktivitas antioksidan dilakukan pencampuran reagen FRAP dengan masing-masing ekstrak. Reagen FRAP terdiri dari beberapa senyawa diantaranya TPTZ, $FeCl_3$ dan buffer asetat. Aktivitas antioksidan sampel dapat dilihat dari kemampuan-nya mereduksi Fe^{3+} -TPTZ yang tidak berwarna menjadi Fe^{2+} yang berwarna biru. Semakin banyak konsentrasi Fe^{3+} -TPTZ yang direduksi oleh sampel menjadi Fe^{2+} -TPTZ, maka aktivitas antioksidan dari sampel juga semakin besar¹².

Tujuan ditambahkan $FeCl_3$ dalam reagen yaitu untuk membentuk senyawa kompleks Fe^{3+} dan memperlambat reaksi reduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} yang

terjadi sangat cepat oleh pengaruh cahaya dan terjadi perubahan warna hijau sampai biru¹³. Penambahan buffer asetat tujuannya yaitu dimana buffer ini memiliki pH efektif dari 3,6-5,6¹⁴. Senyawa yang dapat mereduksi dapat digunakan sebagai antioksidan karena dapat mendonorkan elektron sehingga radikal bebas menjadi stabil¹⁵.

Persamaan reaksi kurva baku troloks yaitu $Y = 0,0433x - 0,0089$ dengan nilai $R^2 = 0,9994$, dimana absorbansi sampel dimasukkan ke persamaan tersebut.

Tabel 4. Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Hijau

Sampel	Aktivitas Antioksidan (mg Trolox/g)
Ekstrak ¹	18,126
Ekstrak ²	21,848
Ekstrak ³	22,809

Ket.: ¹: Seduh segar; ²: Rebus rendam, ³: Infusa

Berdasarkan **Tabel 4**. hasil pengujian aktivitas antioksidan masing-masing ekstrak secara kuantitatif didapatkan yang ekuivalen dengan troloks untuk ekstrak daun sirih hijau seduh segar memiliki kadar 18,126 mg Trolox/g ekstrak, dan untuk ekstrak daun sirih hijau rebus rendam memiliki kadar 21,848 mg Trolox/g ekstrak, sedangkan untuk ekstrak daun sirih hijau infusa memiliki kadar antioksidan yaitu 22,809 mg Trolox/gram ekstrak.

Dalam penelitian ini menggunakan pembandingan troloks, yang dimana troloks merupakan antioksidan sintetik. Secara struktur troloks serupa dengan α -tokoferol. Troloks memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi jika dibandingkan α -tokoferol, BHA, serta BHT. Troloks sering dipergunakan sebagai standar dalam pengukuran antioksidan. Koefisien TEAC (*trolox equivalent antioxidant capacity*) adalah konsentrasi troloks yang memiliki kapasitas antioksidan yang ekuivalen dengan sampel yang dianalisis. Kapasitas antioksidan dari setiap metode dinyatakan dalam μ mol troloks/g sampel¹⁴.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa total antioksidan pada daun sirih hijau dengan menggunakan metode FRAP menunjukkan adanya aktivitas antioksidan. Yang memiliki nilai aktivitas antioksidan yang paling tinggi terdapat pada ekstrak daun sirih hijau dengan metode infusa yang memiliki kadar 22,809 mg Trolox/gram ekstrak.

Berdasarkan penelitian sebelumnya dimana dilakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun sirih hijau dengan metode DPPH menggunakan proses ekstraksi dengan metode sokletasi pelarut akuades dan etanol 96%, memberikan hasil bahwa pelarut etanol 96% memberikan aktivitas antioksidan yang baik sebesar 89,46% penghambatan. Sedangkan untuk pelarut akuades memberikan aktivitas sebesar 62,03% penghambatan⁹. Penelitian lain dengan metode yang sama yaitu DPPH terhadap ekstrak etanol 70% dan ekstrak air daun sirih hijau memberikan nilai IC₅₀ masing-masingnya sebesar 10,59 µg/mL dan 36,02 µg/mL.

Metode uji aktivitas antioksidan dengan metode FRAP dapat dimonitor dengan pengukuran serapan senyawa kompleks Fe²⁺ yang terbentuk dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal 700 nm. Uji antioksidan dengan metode FRAP sangat singkat prosesnya, sehingga hasilnya dapat diperoleh dengan cepat. Berdasarkan perbandingan data hasil uji FRAP terhadap tiga sampel yaitu seduh segar, rebus rendam, dan infusa pada rentang konsentrasi 18-22 mg/g (Tabel 4), menunjukkan bahwa Secara umum sampel mempunyai kemampuan daya reduksi terhadap Fe³⁺. Daya pereduksi tertinggi diberikan oleh ekstrak infusa dibandingkan dua ekstrak lainnya. Seperti halnya pada metode uji DPPH, rentang konsentrasi standar disesuaikan dengan reaktivitas daya reduksi masing-masing standar terhadap Fe³⁺ yang relatif berbeda satu sama lain, dan juga berdasarkan pada batas nilai serapan minimum dan maksimum sampel yang masih dapat dibaca dengan spektrofotometer UV/tampak secara akurat dan presisi¹⁶.

SIMPULAN

Metode ekstraksi dengan cara infusa menggunakan pelarut air memberikan aktivitas antioksidan yang paling maksimal dengan kadar 22,809 mg Trolox/gram ekstrak. Serta dari hasil analisis secara kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih seduh segar, rebus rendam dan infusa memiliki golongan senyawa flavonoid, alkaloid, dan senyawa fenolik lainnya.

KONFLIK KEPENTINGAN

Para penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan antar penulis dalam naskah ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Parfati N, Windono T. Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) Kajian Pustaka Aspek Botani, Kandungan Kimia, dan Aktivitas Farmakologi. *MPI (Media Pharm Indones.* 2017;1(2):106-115. doi:10.24123/mpi.v1i2.193
2. Astuti IP, Munawaroh E. Karakteristik Morfologi Daun Sirih Merah: *Piper crocatum* Ruitz & Pav dan *Piper porphyrophyllum* N.E.Br. Koleksi Kebun Raya Bogor. *Berk Penelit Hayati.* 2011;7A(Edisi Khusus):83-85.
3. Silalahi M. Manfaat dan Bioaktivitas *Piper betle* L. *Cendekia J Pharm.* 2019;3(2):137-146. doi:10.31596/cjp.v3i2.58
4. Boangmanalu RK, Zuhrotun A. Review Artikel: Potensi Khasiat Obat Tanaman Marga Piper: *Piper nigrum* L., *Piper retrofractum* Vahl., *Piper betle* Linn., *Piper cubeba* L., dan *Piper crocatum* Ruiz & Pav. *Farmaka.* 2018;16(3):204-212. doi:10.24198/jf.v16i3.17699
5. Nayaka NMDMW, Sasadara MMV, Sanjaya DA, et al. *Piper betle* (L): Recent Review of Antibacterial and Antifungal Properties, Safety Profiles, and Commercial Applications. *Molecules.* 2021;26(8):2321. doi:10.3390/molecules26082321
6. Hermiati, Naomi Yemima Manalu, Mersi Suriani Sinaga. Ekstrak Daun Sirih Hijau Dan Merah Sebagai Antioksidan Pada Minyak Kelapa. *J Tek Kim USU.* 2013;2(1):37-43. doi:10.32734/jtk.v2i1.1425
7. Sari WN, Saebani S, Dhanardhono T. Pengaruh Pemberian Butylated Hydroxytoluene (2,6-Di-Tert-Butyl-4-Methylphenol) Per Oral Dosis Bertingkat terhadap Gambaran Histopatologis Hepar Tikus Wistar. *J Kedokt Diponegoro.* 2018;7(2):1344-1357. doi:10.14710/dmj.v7i2.21282
8. Baran A, Yildirim S, Ghosigharehaghaji A, Bolat İ, Sulukan E, Ceyhun S. An approach to evaluating the potential teratogenic and neurotoxic mechanism of BHA based on apoptosis induced by oxidative stress in zebrafish embryo (*Danio rerio*). *Hum Exp Toxicol.* 2021;40(3):425-438. doi:10.1177/0960327120952140

9. Kopong MVU, Warditiani NK. Review artikel: Potensi Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) dan Daun Sirih Merah (Piper crocatum) sebagai Antioksidan. *J Ilm Multi Disiplin Indones*. 2022;2(3 (Spesial Issue)):710-729. doi:10.32670/ht.v2i3Spesial%20Issues%203.1504
10. Maryam S, Baits M, Nadia A. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (Moringa oleifera Lam.) Menggunakan Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). *J Fitofarmaka Indones*. 2016;2(2):115-118. doi:10.33096/jffi.v2i2.181
11. Setiawan F, Yunita O, Kurniawan A. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang dan FRAP. *Media Pharm Indones*. 2018;2(2):82-89.
12. Istiningrum RB. Analysis of Total Antioxidant Capacity on Ingredients of Lotek Menu by Ferric Reducing Antioxidant Power Assay. *Eksakta*. 2016;13(1-2):40-48. doi:10.20885/eksakta.vol13.iss1-2.art5
13. Raharjo D, Haryoto. Antioxidant Activity of Mangrove *Sonneratia caseolaris* L using the FRAP Method. *Int Summit Sci Technol Humanit*. Published online 2019:623-629.
14. Syarif S, Kosman R, Inayah N. Uji Aktivitas Antioksidan Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav.) dengan Metode FRAP. *J Ilm As-Syifaa*. 2015;7(1):26-33. doi:10.33096/jjifa.v7i1.18
15. Tristanto NA, Budianta TDW, Utomo AR. Pengaruh Suhu Penyimpanan dan Proporsi Teh Hijau: Bubuk Daun Kering Stevia (*Stevia rebaudiana*) terhadap Aktivitas Antioksidan Minuman Teh Hijau Stevia dalam Kemasan Botol Plastik. *J Teknol Pangan dan Gizi*. 2017;16(1):21-28. doi:10.33508/jtpg.v16i1.1387
16. Maesaroh K, Kurnia D, Al Anshori J. Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin. *Chim Nat Acta*. 2018;6(2):93. doi:10.24198/cna.v6.n2.19049