

## Karakteristik (Total Flavonoid, Total Fenol, Aktivitas Antioksidan) Ekstrak Serbuk Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav.*)

**Characteristics (Flavonoids Total, Phenol Total, Antioxidant Activity) Red Betel Leaf Powder Extract (*Piper crocatum Ruiz & Pav.*)**

**Sutrisno Adi Prayitno<sup>1\*</sup>, Joni Kusnadi<sup>2</sup> and Erni Sofia Murtini<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Department of Food Technology, University of Dr. Soetomo, Surabaya, East Java

<sup>2</sup>Department of Food Science and Technology, University of Brawijaya, Malang, East Java

\*Corresponding author: [sutrisnoadi2007@gmail.com](mailto:sutrisnoadi2007@gmail.com)

### ABSTRAK

Sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav.*) merupakan tanaman yang tumbuh di Indonesia yang memiliki manfaat sebagai tanaman herbal. Manfaat daun sebagai tanaman herbal karena memiliki senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai senyawa dalam metabolisme di dalam tubuh tumbuhan. Senyawa aktif tersebut dapat dianalisis dengan berbagai cara. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan total flavonoid, total fenol dan aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) ekstrak etanol daun sirih merah. Ekstraksi daun sirih merah dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 50 dan 70%. Analisis total flavonoid dan kandungan total fenol dilakukan dengan metode Folin ciocalteau, sedangkan aktivitas antioksidan ditentukan menggunakan metode DPPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa total flavonoid dari ekstrak etanol 50% berkisar 155,27 mg QE/g, sedangkan kandungan total fenol sebesar 142,56 mg GAE/g. Pada ekstrak etanol 70% total flavonoid sebesar 168,33 mg QE/g dan total fenol sebesar 157,61 Mg GAE/g. Adapun rata-rata aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) pada ekstrak etanol 50% adalah 132,52 ppm dan pada ekstrak etanol 70% sebesar 129,11 ppm.

**Kata Kunci:** Sirih merah, Ekstrak etanol, Flavonoid, Fenol,  $IC_{50}$

### ABSTRACT

The red betel plant (*Piper crocatum Ruiz & Pav.*) is a plant that grows in Indonesia has benefits in particular as herbs. The benefits of the leaf as a herbal plant because it has active compound that could be as compound in the metabolism in the human body. The active compounds in analyzed in various ways. The purpose of this research is to know the total content of flavonoid, total phenols and antioxidant activity ( $IC_{50}$ ) of the ethanol extract in red betel leaves. The leaves were extracted by maceration. Total flavonoid and phenolic were determined by Folin ciocalteau method, while antioxidant activity was determined by DPPH method. The research results showed that the total flavonoid compounds in ethanol extract 50% ranged from 155.27 mg QE/g, while the total phenol content was 142.56 mg GAE/g. The ethanol extracts of 70% of the total flavonoids was 168.33 mg QE/g and total phenol was 157.61 mg GAE/g. While the average of antioxidant activity ( $IC_{50}$ ) in 50% ethanol extract was 132.52 ppm and in 70% ethanol extract was 129.11 ppm.

**Keywords:** Red betel, ethanol extract, flavonoid, phenol,  $IC_{50}$

### PENDAHULUAN

Sirih merah merupakan tanaman obat yang tergabung dalam famili Piperaceae. Tanaman dapat digunakan untuk mengobati diabetes melitus, asam urat, hepatitis, hipertensi, dan radang mata (Werdhany dkk., 2014; Anugrahwati *et al.*, 2016). Kandungan metabolit sekunder sirih merah adalah flavonoid, alkaloid, tannin, saponin, dan triterpenoid

(Arambewela *et al.*, 2005; Lister *et al.*, 2014). Flavonoid yang terkandung berupa flavon, flavonol, flavonon, falvanonol, flavanol isoflavon, auron, katekin, antosianidin dan kalkones (Lister *et al.*, 2011; Craft *et al.*, 2012). Selain itu, dalam sirih merah terdapat senyawa fenolik berupa kavikol, kavibetol asetat dan eugenol (Swapna *et al.*, 2012). Senyawa flavonoid merupakan senyawa fenolik yang memiliki peran sebagai antioksidan, antidiabetik, antikanker, antiseptik dan antiinflamasi.

Penelitian tentang ekstraksi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder daun sirih telah banyak dilakukan. Alfaribi *et al.*, (2010) menyebutkan bahwa ekstrak etanol 70% sirih merah mengandung asam lemak, terpenoid, flavonoid, steroid, alkaloid, pirimidin, minyak atsiri, polifenol dan vitamin E. Kandungan metabolit sekunder tersebut tidak berbeda jauh dengan penelitian Reveny (2011) bahwa ekstrak etanol 80% daun sirih merah menunjukkan kandungan glikosida, steroid/triterpenoid, flavonoid, tanin dan antrakinon. Nisa dkk (2014) mengekstraksi etanol 80% daun sirih merah menggunakan *microwave* pada waktu 1,5 menit dan suhu 40°C dan diperoleh kandungan eugenol dan fenol masing-masing sebesar 21,9% dan 15%. Menurut Cragg dan Newman (2005), senyawa utama daun sirih merah adalah golongan senyawa alil benzen yaitu chavibetol. Selain itu, sirih merah juga terkandung chavicol, estragol, eugenol, metil eugenol, dan hidroksi katekol. Senyawa alil benzen mempunyai sifat antibiotik tidak ditemukan di dalam minyak esensial daun sirih merah (Lister *et al.*, 2014).

Emrizal *et al.*, (2014) melakukan maserasi daun sirih merah segar dengan metanol dan mefraksinasi ekstraknya secara bertingkat dengan etil asetat dan butanol. Fraksi yang diperoleh dimurnikan dengan kromatografi kolom dan senyawa murni yang diperoleh dikarakterisasi dengan NMR. Hasil identifikasi menunjukkan adanya senyawa lignin dan  $\beta$ -sitosterol pada daun sirih merah. Analisis fitokimia fraksinasi pelarut etil asetat dan n-heksana daun sirih merah didapatkan senyawa terpenoid dan steroid, sedangkan fraksi pelarut butanol berupa senyawa fenolik, flavonoid, terpenoid dan steroid.

## **BAHAN DAN METODE**

### **Bahan**

Bahan utama yang digunakan adalah daun sirih merah segar berasal dari Desa Menadi Kabupaten Pacitan Provinsi Jawa Timur. Pelarut yang digunakan ekstrasi maserasi yaitu etanol 50% dan 70% (teknis). Bahan kimia yang digunakan dalam uji total fenol, total

flavonoid dan aktivitas antioksidan yaitu standar quercetin, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) 0,2 M, standar asam galat, reagen *folin ciocalteau*, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Merck), NaNO<sub>2</sub> 5% (Merck), AlCl<sub>3</sub> 10% (Merck), NaOH 1 M (Merck). Bahan lain yang digunakan adalah serbuk Mg, FeCl<sub>3</sub> 1%, HCl 2 N, pereaksi Meyer, pereaksi Dragendorf, asam asetat anhidrat, kloroform, etanol, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan akuades.

### **Preparasi Sampel**

Daun sirih merah disortasi dan dicuci dengan air mengalir agar debu dan kotoran hilang sebelum dilakukan pengeringan. Pengeringan menggunakan oven suhu 40°C dengan lama 24±2 jam. Setelah kering, daun sirih merah dihaluskan menggunakan alat penggiling dengan alat penyaring berukuran 90 mesh.

### **Ekstraksi Sirih Merah**

Metode ekstraksi menggunakan prosedur Prameswari dan Widjanarko (2014) yang dimodifikasi. Metode ekstraksi menggunakan maserasi dengan merendam serbuk dengan etanol 50% dan 70% dengan perbandingan 1 : 8 (b/v). Ekstraksi dilakukan selama 3 hari dengan erlenmeyer tertutup yang ditempatkan pada *rotary shaker* selama 3-4 jam yang didiamkan selama 24 jam. Kemudian, dilakukan penyaringan dan pengganti pelarut baru dengan volume yang sama. Filtrat yang sudah diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* suhu 40°C pada kecepatan 40-45 rpm.

### **Analisa Total Flavonoid**

Metode pada penelitian Atanassova dkk (2011) yang dimodifikasi digunakan dalam penentuan kadar total flavonoid. Standar yang digunakan adalah quercetin 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm. Satu mililiter sampel ekstrak ditambah akuades 4 mL dan 0,3 mL NaNO<sub>2</sub> 5% dalam tabung reaksi. Selanjutnya, sampel divortex hingga homogen dan diinkubasi selama 5 menit. Setelah itu, ditambahkan 0,3 mL AlCl<sub>3</sub> dan diinkubasi kembali selama 6 menit dengan ditambahkan 2 mL NaOH 1 M dan akuades hingga mencapai volume 10 mL dan dihomogenkan kembali. Nilai serapan sampel diukur pada panjang gelombang 510 nm.

### **Analisa Total Fenol**

Kadar total fenol dengan metode kolorimetri *Folin Ciocalteau* berdasarkan prosedur Lee *et al.*, (2003) yang dimodifikasi. Standar yang digunakan adalah asam galat

50, 100, 150, 200 dan 250 ppm. Kadar total fenol dihitung dengan memasukkan nilai serapan sampel pada panjang gelombang 760 nm.

### **Analisa Aktivitas Antioksidan**

Analisa aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) ekstrak menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dengan spektrofotometer *Visible*. Konsentrasi yang dipakai adalah 50, 100, 150, 200, 250 ppm. Dengan prosedur 2 ml sampel ekstrak dimasukan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ml larutan DPPH 200  $\mu$ M, kemudian divortek hingga homogen dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 30 °C. Nilai serapan diukur pada panjang gelombang 517 nm (Sharma & Bhat, 2009; Maulidha dkk., 2015). Persentase penghambatan atau inhibisi dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Ekstrak etanol serbuk daun sirih merah dianalisa kandungan total fenol, total flavonoid dan aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ). Kandungan total fenol dinyatakan dalam mg GAE/g, total flavonoid dinyatakan dalam mg QE/g dan aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) dinyatakan dalam ppm. Hasil penelitian dapat dilihat pada **tabel 1**.

Tabel 1. Karakter Rata – Rata Hasil Ekstrak Etanol Serbuk Sirih Merah

Ekstrak	Total Fenol mg GAE/g)*	Total Flavonoid (mg QE/g)*	$IC_{50}$ (ppm)*
Etanol 50%	142,56±4,31 <sup>a</sup>	155,27±4,71 <sup>a</sup>	132,52±2,16 <sup>a</sup>
Etanol 70%	157,61±4,18 <sup>b</sup>	168,33±4,23 <sup>b</sup>	129,11±2,06 <sup>b</sup>

\* (dinyatakan dalam Mean ± S.D), rata – rata diperoleh dari 5 ulangan ekstraksi.

### **Total Fenol**

Kadar total fenol dinyatakan dalam satuan mg GAE/g, yang merupakan jumlah kesetaraan milligram asam galat dalam sampel sebesar 1 gram. Berdasarkan Tabel 1, total fenol hasil ekstraksi etanol memiliki nilai kisaran yang berbeda. Ekstrak etanol 50% memiliki kadar total fenol rata-rata 142,56 mg GAE/g. Ekstrak etanol 70% memiliki kadar total fenol rata-rata 157,61 mg GAE/g. Uji statistik menunjukkan bahwa konsentrasi etanol berpengaruh signifikan terhadap total fenol.

Tabel 1 menunjukkan total fenol ekstrak etanol 50% lebih kecil dibandingkan etanol 70%. Semakin tinggi konsentrasi etanol, semakin tinggi kandungan total fenol.

Kenaikan total fenol disebabkan oleh lamanya ekstraksi dimana lama ekstraksi memberikan pengaruh terhadap kemampuan pelarut dalam menarik senyawa yang terlarut. Semakin lama ekstraksi berlangsung maka semakin efektif proses ekstraksi terjadi. Hal ini dikarenakan proses difusi pelarut ke dalam bahan alam semakin baik. Ekstraksi komponen polifenol dari bahan alam menggunakan pelarut terdiri dari dua tahap yaitu tahap inisiasi dan difusi. Pada tahap inisiasi, partikel-partikel bahan alam akan mengabsorbsi pelarut sehingga partikel mengalami penggelembungan. Tahap difusi ditandai dengan berdifusinya pelarut ke bagian yang lebih dalam dan komponen polifenol akan ikut terekstrak.

Faktor lain yang mempengaruhi rendemen adalah konsentrasi pelarut. Konsentrasi etanol yang semakin tinggi maka semakin banyak pula senyawa metabolit yang terekstrak baik yang bersifat polar maupun semipolar. Tingginya konsentrasi etanol memberikan nilai total fenol yang lebih tinggi. Hal ini juga didukung oleh penelitian Nouri dkk (2011) yang menyebutkan bahwa ekstrak etanol 70% daun sirih hijau segar menghasilkan total fenol sebesar  $147,96 \pm 0,81$  mg GAE/g, sedangkan ekstrak etanol 50% daun sirih hijau segar sebesar  $82,29 \pm 0,48$  mg GAE/g.

Semakin tinggi total fenol yang dihasilkan oleh pelarut etanol dengan konsentrasi yang lebih tinggi karena etanol merupakan pelarut yang memiliki gugus hidroksil (OH), gugus hidroksil pada etanol dapat berikatan dengan ikatan hidrogen intramolekuler pada gugus hidroksil senyawa fenolik. Adanya intramolekuler ini dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa fenolik dalam etanol (Tiwari *et al.*, 2011). Senyawa fenol memiliki gugus fungsi hidroksil (OH) yang banyak atau dalam kondisi bebas (aglikon) dapat menghasilkan total fenol yang tinggi (Deore *et al.*, 2009).

## **Total Flavonoid**

Kadar total flavonoid dinyatakan dalam mg QE/g yang merupakan jumlah kesetaraan miligram kuersetin dalam sampel (1 gram). Berdasarkan Tabel 1, ekstrak etanol 50% memiliki total flavonoid rata-rata 155,27 mg QE/g. Adapun ekstrak etanol 70% menghasilkan kadar flavonoid total rata-rata sebesar 168,33 mg QE/g.

Kadar etanol 50% memberikan total flavonoid yang lebih rendah dibandingkan kadar 70%. Hal tersebut dimungkinkan karena pengeringan pada preparasi daun sirih merah dan pada proses penguapan dengan *rotary evaporator*. Schmidt *et al.*, (2009) menyatakan kadar flavonoid dipengaruhi oleh adanya suhu. Penggunaan kadar etanol yang tinggi dapat menghasilkan total fenol yang tinggi pula. Hal ini didukung oleh penelitian Nouri dkk

(2011) yang mengemukakan semakin tinggi kadar etanol dapat menyebabkan kenaikan pada total flavonoid. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol 50%, 70%, dan 90% menghasilkan total flavonoid sebesar  $14,30 \pm 0,15$ ;  $47,96 \pm 0,36$  dan  $78,78 \pm 0,51$  mg CE/g.

### Aktivitas Antioksidan ( $IC_{50}$ )

Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam  $IC_{50}$  yang merupakan kemampuan suatu antioksidan dalam sampel untuk mereduksi senyawa radikal bebas sebesar 50%. Aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) ekstraksi etanol memiliki nilai yang berbeda. Nilai  $IC_{50}$  pada ekstrak etanol 50% rata-rata 132,52 ppm, sedangkan pada ekstrak etanol 70% rata-rata 129,11 ppm. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% lebih besar dibandingkan ekstrak etanol 50% (Tabel 1). Semakin tinggi kadar etanol maka semakin tinggi aktivitas antioksidan.

Tingginya aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% menunjukkan bahwa pada ekstrak tersebut banyak mengandung senyawa yang bersifat antioksidan. Hal ini didukung oleh kadar total fenol dan total flavonoid yang tinggi pada ekstrak etanol 70%. Rendahnya  $IC_{50}$  pada ekstrak etanol 70% dikarenakan pelarut dapat mengekstrak senyawa lebih banyak dibandingkan dengan etanol 50%. Hal ini didukung oleh penelitian Serlahwaty dkk (2011) dimana penggunaan etanol kadar yang lebih tinggi berpengaruh terhadap  $IC_{50}$  yang dihasilkan.

Nilai  $IC_{50}$  yang dihasilkan ekstrak etanol 50% dan 70% bersifat antioksidan pada tingkat sedang. Pada ekstrak etanol 70%, kemampuan mereduksi radikal bebas sebesar 50% terjadi pada konsentrasi 129,11 ppm dan pada ekstrak etanol 50% pada konsentrasi 132,52 ppm. Molyneux (2004) menyatakan bahwa antioksidan bersifat sangat kuat apabila  $IC_{50}$  nya memiliki nilai kurang dari 50 ppm, bersifat kuat apabila nilai  $IC_{50}$  berkisar 50-100 ppm, bersifat sedang apabila  $IC_{50}$  100-150 ppm, bersifat lemah apabila  $IC_{50}$  150-200 ppm dan sangat lemah dengan  $IC_{50}$  lebih dari 200 ppm.

Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diuji maka intensitas terhadap warna kuning yang dihasilkan oleh DPPH juga semakin kuat. Hal ini menunjukkan ekstrak etanol yang bereaksi dengan DPPH mengandung senyawa antioksidan yang memiliki kemampuan meredam radikal bebas DPPH. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol dalam menangkap radikal DPPH berhubungan dengan kandungan fenolik dan flavonoidnya. Semakin tinggi kadar fenolik dan flavonoid maka memiliki aktivitas antioksidan penangkapan radikal DPPH yang tinggi.

Perbedaan kemampuan antioksidatif senyawa antioksidan ekstrak etanol sirih merah terhadap radikal DPPH disebabkan adanya perbedaan kemampuan mentransfer atom hidrogen ke radikal bebas DPPH sehingga terbentuk senyawa difenil pikrilhidrasin yang berwarna kuning stabil (Nakiboglu *et al.*, 2007; Chang *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2002). Aktivitas dalam menangkap radikal bebas DPPH dipengaruhi oleh polaritas dari medium reaksi, struktur kimia dari penangkap radikal dan pH campuran reaksi (Sharma & Bhat, 2009). Molekul tersubstitusi gugus hidroksil semakin banyak semakin kuat menangkap radikal bebas DPPH karena kemampuan mendonorkan atom hidrogen semakin besar (Manthey *et al.*, 2004; Lin *et al.*, 2009). Struktur aglikon mempunyai aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan struktur glikosida (Li *et al.*, 2009).

## KESIMPULAN

Hasil penelitian rata-rata fenol, total flavonoid, dan aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) pada ekstrak etanol 50% berturut-turut adalah 142,56 mg GAE/g, 155,27 mg QE/g, dan 132,52 ppm. Adapun rata-rata total fenol, total flavonoid, dan aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) pada ekstrak etanol 70% berturut-turut adalah 157,61 mg GAE/g, 168,33 mg QE/g dan 129,11 ppm. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 50% dan 70% tergolong dalam antioksidan bersifat sedang.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alfaribi, M., Bintang, M., Suryani and Safithri. (2010). The Comparative Ability of Antioxidant Activity of *Piper crocatum* in Inhibiting Fatty Acid Oxidation and Free Radical Scavenging. *HAYATI Journal of Biosciences*, 17(4), 201-204.
- Anugrahwati, M., Purwaningsih, T., Rustina, Manggalarini, J.A., Alnavis, N. B., Wulandari, D. N., & Pranowo, H.D. (2016). Extraction of Ethanolic Extract of Red Betel Leaves and Its Cytotoxicity Test on HeLa Cells, *Procedia Engineering*, vol.148, pp.1402-1407.
- Arambewela, L.S.R. (2005). Antidiabetic Activities Of Agneous And Ethanolic Extracts Of *Piper Betle* Leaves In Rats. *J of Ethno Pharmacology* 102: 239-245.
- Atanassova, M., Georgieva S., and Ivancheva K. (2011). Total Phenolic And Total Flavonoid Contents, Antioxidant Capacity And Biological Contaminants In Medicinal Herbs. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 46, 1, 2011, 81-88.
- Chang, H.Y., HO, Y.L. Sheu, M.J., Lin, Y.H. Tseng., M.C. Wu., S.H. Huang., G.J. and Chang, Y.S. (2007). Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of *Phellinus merrillii* Extracts. *Botanical Studies* 48: 407-417.

- Craft, B.D., Kerrihard, A.L., Amarowicz, R., & Pegg, R.B. (2012). Antioxidant and in the in Vitro Methods Used for Their Assessment, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Society*, vol.12, 2012.
- Cragg, G.M., and Newman, D.J. (2005). Plants as a source of anti-cancer agents. *J.Etnopharmacol*, 100:72-79
- Deore SL, Khadabadi SS, Baviskar BA, Khadabadi SS, Khagenbam RA, Koli US, Daga NP, Gadball PA, Jain PA. (2009). In vitro antioxidant activity and phenolic content of *Croton caudatum*. *International Journal of Chemical Technology Research*, 1(2), P. 174-176.
- Emrizal., Armon, F., Riska, Y., Kamal, R., Nola, R.I, Adriani S., Reni, Y., Farediah A., Hasnah M.S., And Dayar, A. (2014). Cytotoxic Activities of Fractions and Two Isolated Compounds from Sirih Merah (Indonesian red betel), *Piper crocatum* Ruiz & Pav. *Procedia Chemistry* 13 ( 2014 ) 79 – 84.
- Kim, D.O., Lee, K.W., Lee, H.J and Lee, C.Y. (2002). Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Phenolic Phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 3713–3717.
- Lee, K. W., Kim, Y. J., Lee, H. J And Lee, C.Y. (2003). Cocoa Has More Phenolic Phytochemical And Higher Antioxidant Than Teas And Red Wine. *J. Agric. Food Chem*, 51(25): 249-252.
- Li, C., Du, H., Wang, L., Ahu, Q., Zheng, Y., Xu, Y., Zhang, J., Zhang, J., Yang, R And Ge, Y. (2009). Flavonoid composition and antioxidant activity of tree peony (Paeonia Section Moutan) yellow flowers". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, page 8496–8503.
- Lin, H.Y., Kuo, Y.H., Lin, Y.L., & Chiang, W. (2009). Antioxidative Effect and Active Components from Leaves of Lotus (*Nelumbo nucifera*), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol.57, no.15, pp. 6623–6629.
- Lister, I.N.E., Rizka D.V., Ali, N.N., Rahmiana, Z., Yunazar, M., and Edison, M. (2014). Antimicrobial Activities Of Methanol Extract Of Sirih Merah (*Piper Crocatum* L.) Lleaf. *Journal Of Chemical And Pharmaceutical Research*, 2014, 6(12):650-654.
- Manthey, J.A. (2004). Fractionation of orange peel phenols in ultrafiltered molasses and mass balance studies of their antioxidant levels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 7586-7592.
- Maulidha, N., Fridayanti, A., and Masruhim, M.A. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Hitam (*Pipersp.*) Terhadap DPPH (1,1-Diphenil-2 Pichryl Hydrazil). *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 2015. Vol 1. No 1. p-ISSN: 2303-0267, e-ISSN: 2407-6082.
- Molyneux, P. (2004). The Use Of The Stable Free Radikal Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Journal Science Of Technology*, 26 (2):211-219.
- Nakiboglu, M.U., R.O. Kayali., H.A. And Tarhan, L. (2007). Antioxidant capacities of endemic sideritis sipylea and origanum sipyleum from turkey. *Food Chemistry*, 104, hal 630–635.

- Nisa, G.K., Wahyunanto, A.N., and Yusuf, H. (2014). Extraction Of Red Betel Leaf (*Piper Crocatum*) Methods Microwave Assisted Extraction (MAE). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. Vol. 2 No. 1.
- Nouri, L., Nafchi, A.M., And Karim, A.A. (2014). Phytochemical, Antioxidant, Antibacterial And  $\alpha$ -Amylase Inhibitory Properties of Different Extract From Betel Leaves. *Industrial Crops And Products*. 62 (2014) 47-52.
- Prameswari, O.M, dan Widjanarko, S.B. (2014). The Effect of Water Extract of Pandan Wangi Leaf to Decrease Blood Glucose Levels and Pancreas Histopathology at Diabetes Mellitus Rats. *Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol.2 No.2 p.16-27*.
- Reveny, J. (2011). Daya Antimikroba Ekstrak Dan Fraksi Daun Sirih Merah (*Piper Betle Linn.*). *Jurnal ILMU DASAR*, Vol. 12 No. 1, Januari 2011: 6-12.
- Schmidt , S., M. Zietz., M. Schreiner., S. Rohn., L.W. Kroh., A. Krumbein. (2009). Genotypic and Climatic Influences on the Concentration and Composition of Flavonoids in Kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*). *Food Chemistry*.119: 1293–1299.
- Serlahwaty, D., Sugiantuti, S., dan Ningrum, S.C. 2011. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betel* L.) dan Sirih Merah (*Piper cf. fragile* Benth.) dengan Peredaman Radikal Bebas [skripsi]. Jakarta. Fakultas Farmasi. Universitas Pancasila, Jakarta.
- Sharma, O.P., and Bhat, T.J. (2009). DPPH Antioxidant Assay Revisited. *Food Chemistry* 113 (2009) 1202–1205.
- Swapna, N.L., K. Ammani., And H. K. R. Prasad Saripalli. (2012). Antioxidant activity of Mokkathotapapada leaves of *Piper betel* L. Cv. Kapoori. *Free Radicals and Antioxidants Vol.2 / Issue 4 / Oct-Dec, 2012. DOI: 10.5530/ax.2012.4.12*
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur G., Kaur, H., and Kaur, M. (2011). Phytochemical Screening and Extraction : A review. *J Int Pharm Sci* 1 : 98-106.
- Werdhany, W., Anthoni, M., dan Setyorini, W. (2008). Sirih Merah. Primatani Kotamadya Yogyakarta. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Yogyakarta.