



SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA VI
"Pemantapan Riset Kimia dan Asesmen Dalam Pembelajaran
Berbasis Pendekatan Saintifik"
Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP UNS
Surakarta, 21 Juni 2014



**MAKALAH
PENDAMPING**

**KIMIA ORGANIK
BAHAN ALAM**

ISBN : 979363174-0

**OPTIMASI LAMA WAKTU EKSTRAKSI GUNA MENGHASILKAN
EKSTRAK HERBA SARANG SEMUT (*Myrmecodia Pendans* Merr.&
Perry) DARI KALTENG DENGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
TERTINGGI DISERTAI SKRINING SENYAWA BAHAN ALAM**

Sri Retno Dwi Ariani^{1*}, Heru Irianto² dan Isma Malikhah³

¹ Dosen Prodi P.Kimia P.MIPA, FKIP, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Indonesia

² Dosen Jurusan Agribisnis, FP, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Indonesia

³ Mhs Prodi P.Kimia P.MIPA, FKIP, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Indonesia

* HP : 085728321893, 082137723769, email: siretnodwiariani@yahoo.co.id

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk memberikan informasi ilmiah kepada UKM Herbal Suti Sehati yang berlokasi di Nguter Sukoharjo Jawa Tengah, tentang : (1) lama waktu ekstraksi herba sarang semut dari Muara Teweh, Barito Utara, Kalimantan Tengah, dengan metode perebusan yang dapat menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi, (2) membandingkan nilai aktivitas antioksidan (IC₅₀) tertinggi dari ekstrak akua herba sarang semut dengan nilai aktivitas antioksidan senyawa standar (asam askorbat), (3) kandungan senyawa bahan alam pada ekstrak akua sarang semut dengan aktivitas antioksidan tertinggi.

Eksperimen dilakukan di Laboratorium Kimia P.MIPA FKIP UNS. Sampel penelitian adalah sarang semut bagian hipokotil yang diperoleh dari hutan di daerah Muara Teweh, Barito Utara, Kalimantan Tengah Indonesia. Teknik pengumpulan data dalam penelitian ini adalah: (1) persiapan sampel sarang semut menjadi bentuk serbuk kering, (2) ekstraksi sampel dengan metode perebusan dengan

variasi lama waktu 0, 10, 20, 30 dan 45 menit, (3) menentukan nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) dari ekstrak yang dihasilkan dengan Metode DPPH, (4) membandingkan nilai aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai aktivitas antioksidan asam askorbat, (6) melakukan skrining senyawa bahan alam terhadap ekstrak dengan aktivitas antioksidan tertinggi.

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa : (1) ekstrak akua herba sarang semut dari Muara Teweh, Barito Utara, Kalimantan Tengah, yang diekstraksi dengan metode perebusan 0, 10, 20, 30 dan 45 menit, memiliki nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) berturut-turut sebesar 102,89 ; 108,50 ; 129,60 ; 30,30 dan 88,37 ppm, (2) metode perebusan selama 30 menit mampu menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antioksidan tertinggi ($IC_{50} = 30,30$ ppm). Nilai IC_{50} tersebut lebih rendah daripada nilai IC_{50} antioksidan standar asam askorbat (6,10 ppm), tetapi masih termasuk jenis antioksidan sangat kuat karena nilai IC_{50} nya kurang dari 50 ppm (Molinuex, 2004), sehingga sangat potensial sebagai sumber antioksidan alami, (3) ekstrak mengandung senyawa bahan alam golongan steroid, terpenoid, alkaloid, tanin, senyawa fenolat, saponin dan flavonoid.

Kata kunci: sarang semut, Kalimantan Tengah, senyawa bahan alam

PENDAHULUAN

Dengan adanya trend dunia untuk hidup lebih sehat dengan cara alami (*back to nature*), telah mendorong terjadinya peningkatan dalam perkembangan industri herbal di Indonesia. Kondisi ini merupakan peluang besar yang dapat dimanfaatkan oleh pengusaha herbal, diantaranya yaitu UKM Suti Sehati yang berlokasi di Desa Pengkol Nguter Sukoharjo Jawa Tengah). UKM Suti sehati memproduksi herbal lokal asli Indonesia. Salah satu jenis herbal yang diproduksi adalah ekstrak sarang semut yang dimasukkan ke dalam kapsul. Bahan baku sarang semut yang diolah berasal dari hutan di daerah Muara Teweh Kabupaten Barito Utara Propinsi Kalimantan Tengah Indonesia. Tumbuhan sarang semut (*Myrmecodia pendans Merr. & Perry*) merupakan tumbuhan epifit, batangnya menggelembung besar dan berongga dan dijadikan sarang/dihuni oleh koloni semut. [1,2]. Secara empiris, sarang semut terbukti

berkhasiat untuk mengobati penyakit tumor, kanker, TBC, stroke, diabetes, jantung koroner, mimisan, maag, asam urat, wasir, memperlancar ASI, meningkatkan stamina dan gairah seksual. Karena khasiatnya ini, sarang semut dijuluki sebagai "Panasea" [1,2,3].

Selama ini metode ekstraksi yang digunakan oleh UKM Suti sehati adalah metode perebusan selama 45 menit. Metode ini sangat sederhana dan sering digunakan oleh perusahaan obat tradisional. UKM belum mengetahui lama waktu ekstraksi yang tepat untuk menghasilkan ekstrak yang paling baik kualitasnya. Salah satu parameter yang menunjukkan tingginya kualitas herba adalah melalui aktivitas antioksidannya. Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif zat-zat oksidan dalam tubuh. Salah satu jenis zat oksidan yang paling berbahaya dalam tubuh adalah radikal bebas [4].

Dengan semakin meningkatnya usia seseorang, kemampuan untuk menetrallis

senyawa oksidan semakin berkurang, sel-sel tubuh mengalami degenerasi, proses metabolisme terganggu, dan respon imun juga menurun. Adanya faktor tersebut dapat memicu munculnya berbagai penyakit degeneratif seperti, tumor, kanker, stroke, diabetes, jantung koroner, kolesterol dan asam urat. Penyakit degeneratif adalah penyakit yang disebabkan oleh kemunduran atau kemerosotan fungsi tubuh. Penyakit ini disebabkan oleh proses menua. Salah satu cara untuk menanggulangi terjadinya penyakit degeneratif adalah dengan menghadirkan suatu substansi penting dalam tubuh kita, yakni antioksidan [4,5]. Senyawa bahan alam yang berkhasiat antioksidan dan terkandung dalam sarang semut adalah flavonoid, tanin dan tokoferol [1,6]. Ketiga senyawa tersebut dikenal mempunyai antioksidan yang kuat.

Pada penelitian ini juga akan dilakukan skrining senyawa bahan alam yang terkandung dalam ekstrak herba sarang semut dengan aktivitas antioksidan tertinggi. Kandungan senyawa bahan alam dari ekstrak yang dihasilkan, penting diketahui karena masing-masing senyawa bahan alam seperti flavonoid, alkaloid, steroid, senyawa fenol, memiliki khasiat/manfaat bagi kesehatan.

METODE PENELITIAN

Bahan-bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah sarang semut bagian hipokotil yang diperoleh dari hutan di daerah Muara Teweh, Barito Utara, Kalimantan Tengah Indonesia, etanol p.a (Merck), metanol p.a (Merck), akuades, akuabides, DPPH (2,2'-difenil-1-pikrilhidrazil) (SIGMA Chemical Co.), FeCl₃ (Merck), kloroform pa (Merck), asam

asetat anhidrat pa (Merck), SbCl₃ (Merck), H₂SO₄ (Merck), HNO₃(Merck), Mg (Merck), HCl (Merck), amil alkohol (Merck), Bismut Nitrat (Merck), KI (Merck), HgCl₂ (Merck), iodine (Merck), Na₂CO₃ (Merck), asam asetat glasial pa (Merck), AlCl₃(Merck), kalium heksasianoferrat (III) (Merck).

Peralatan yang digunakan antara lain : blender *Phillips*, pisau, mesin penggiling, neraca analitik Sartorius, kompor listrik, *rotary vacuum evaporator* BUCHI, oven *Litton Menu-master*, *glassware kits*, pipet volume, pipet *micro*, spektrofotometer UV-Vis Perkin Elmer.

Prosedur percobaan adalah sebagai berikut :

Persiapan Sampel

Sarang semut yang baru didapatkan dari hutan, di bersihkan dari kotoran (disebut sampel sarang semut basah). Bagian ujung sarang semut yang berdaun dibuang dengan menggunakan pisau. Kulit luar sarang semut dikupas dengan menggunakan pisau. Sarang semut yang sudah terkupas dibelah menjadi 4 bagian. Sarang yang sudah terkupas dirajang tipis-tipis. Irisan sarang semut di jemur dengan sinar matahari secara tidak langsung hingga kering (disebut sampel rajang kering). Selanjutnya simplisia rajang kering digiling dengan menggunakan mesin hingga dihasilkan serbuk sarang semut (disebut sampel serbuk sarang semut).

Optimasi Produksi Ekstrak Sarang Semut dengan Variasi Lama Waktu Perebusan

Sampel serbuk sarang semut masing-masing sebanyak 100 gram, diekstraksi dengan metode perebusan selama 0, 10, 20, 30 dan 45 menit dengan akudes 2,5 liter sebagai pelarut pengekstrak. Perebusan dilakukan pada akuades mendidih pada api kecil sambil diaduk-aduk. Setelah itu larutan sampel dibiarkan hingga dingin dan disaring hingga dihasilkan filtrat dan residu. Residu dibuang dan filtrat diproses lebih lanjut.

Selanjutnya filtrat yang dihasilkan pada masing-masing perlakuan, diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 70°C hingga terbentuk ekstrak kental. Ekstrak kental dioven pada suhu 40°C hingga terbentuk ekstrak sarang semut bentuk padat. Masing-masing ekstrak diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH.

Setelah itu filtrat yang dihasilkan pada masing-masing perlakuan, diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 70°C hingga terbentuk ekstrak kental. Ekstrak kental dioven pada suhu 40°C hingga terbentuk ekstrak akua herba sarang semut bentuk padat. Masing-masing ekstrak diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH.

Setelah itu filtrat yang dihasilkan pada masing-masing perlakuan, diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 70°C hingga terbentuk ekstrak kental. Ekstrak kental dioven pada suhu 40°C hingga terbentuk ekstrak akua herba sarang semut bentuk padat. Masing-masing ekstrak diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH.

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH [7,8]

Penentuan absorbansi DPPH dan pengukuran absorbansi kontrol

Dibuat larutan DPPH 0,2 mM dengan cara melarutkan 7,88 mg serbuk DPPH ke dalam 100 mL methanol 80%. Larutan DPPH disimpan dalam ruang gelap selama 30 menit. Ditentukan absorbansi kontrol dengan cara 2 mL akuades dipipet dan ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0,2 mM ke dalam kuvet dan dikocok hingga homogen, kemudian absorbansi diukur pada maks pada rentang 400-600 nm. Dicatat absorbansi sebagai absorbansi kontrol dan maks nya.

Pembuatan larutan sampel

Dibuat larutan sampel dengan konsentrasi masing-masing 60; 30; 15; 7,5 ppm.

Pengujian aktivitas antioksidan

Diambil 2 mL larutan sampel 60 ppm kemudian ditambahkan dengan 1 mL larutan DPPH 0,2 mM dan dimasukkan ke dalam kuvet sambil dikocok terlebih dahulu. Hal sama juga dilakukan untuk sampel dengan konsentrasi 30; 15; 7,5 ppm. Larutan sampel diukur absorbansi pada panjang gelombang 400-600 nm. Hasil absorbansi dari masing-masing sampel dihitung persentase antioksidannya dan dihitung nilai IC₅₀. Diperoleh nilai IC₅₀ dari masing-masing sampel.

Skrining Fitokimia Terhadap Ekstrak Akua Sarang Semut [9]

Uji steroid dan terpenoid

Ekstrak dilarutkan dalam 0,5 ml kloroform, lalu di tambahkan dengan 0,5 ml asam asetat anhidrat. Dibiarkan selama 5 menit. Selanjutnya ditetesi dengan 1-2 ml H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung tersebut. Jika diperoleh hasil berupa cincin merah/kecoklatan/violet pada pembatas dua pelarut menunjukkan adanya triterpen. Sedangkan steroid ditunjukkan dengan munculnya warna hijau kebirauan atau biru.

Uji alkaloid

Ekstrak ditambah dengan HCl 2N dan akuades, kemudian dipanaskan dalam penangas air selama 2 menit. Kemudian larutan dibagi menjadi 3 bagian. Tabung 1 ditambah 2-3 tetes reagensia Dragendorff, tabung 2 ditambah 2-3 tetes reagensia Mayer, dan tabung 3 ditambah 2-3 tetes reagensia Wagner.

Uji tanin

Ekstrak dilarutkan dalam 1-2 ml akuades dan menambahkan 2 tetes larutan FeCl₃. Timbulnya warna biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa tannin galat, jika warnanya hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tannin katekolat atau tannin terhidrolisis, jika terbentuk warna hijau kecoklatan menunjukkan adanya tannin terkondensasi. Jika terbentuk warna selain di atas menunjukkan adanya senyawa poliferol.

Uji senyawa fenolat

Ekstrak ditambahkan larutan FeCl₃ 1% dalam air. Fenolat positif jika terjadi perubahan warna hijau, merah ungu, biru/hitam.

Uji saponin

Ekstrak ditambahkan air (1:1) dalam tabung reaksi dan dikocok kuat selama 5 menit. Terbentuknya busa yang kuat dan

bertahan sampai 15 menit menunjukkan sampel positif mengandung saponin.

Uji flavonoid

Ekstrak ditambahkan etanol 95% lalu ditambah serbuk Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Lalu dipanaskan dalam penangas air selama 5-10 menit dan didinginkan pada suhu kamar, kemudian ditambahkan larutan amil alcohol. Jika terbentuk warna merah jingga sampai merah ungu yang dapat ditarik amil alkohol berarti flavonoid positif.

Teknik Analisis Data

Analisis kuantitatif dilakukan terhadap perhitungan nilai aktivitas antioksidan, sedangkan analisis kualitatif meliputi pengamatan terhadap warna, endapan atau busa yang terbentuk selama proses skrining senyawa bahan alam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persiapan Sampel

Sarang semut diperoleh dari pengeringan bagian hipokotil tanaman sarang semut. Proses pengeringan dilakukan dengan bantuan sinar matahari tidak langsung. Sampel yang telah kering kemudian digiling hingga diperoleh sampel dalam bentuk serbuk dan ditimbang Sebanyak 2,00 kg sarang semut basah setelah menjadi serbuk didapatkan 405,00 gram.

Uji Aktivitas Antioksidan

Hasil aktivitas antioksidan dari ekstraksi sampel menggunakan berbagai metode ekstraksi tersaji dalam Tabel 1. sampai 5.

Tabel 1. Data Hasil Aktivitas Antioksidan dengan Ekstraksi Metode Perebusan Selama 0 Menit

Kons (ppm)	Aktivitas Antioksidan (%)			Rata-rata ±Stdev
	1	2	3	
60	27,22	27,22	27,22	27,22±0,00
30	15,12	14,75	14,93	14,93±0,19
15	03,97	03,97	03,97	03,97±0,00
7,5	00,76	00,76	00,76	00,76±0,00
IC ₅₀ = 102,89 ppm				

*Data yang diperoleh berdasarkan tiga pengulangan

Tabel 3. Data Hasil Aktivitas Antioksidan dengan Ekstraksi Metode Perebusan Selama 20 Menit

Kons (ppm)	Aktivitas Antioksidan (%)			Rata-rata ±Stdev
	1	2	3	
60	37,89	37,91	37,89	37,89±0,02
30	32,29	32,24	32,26	32,26±0,03
15	30,15	30,11	30,10	30,10±0,05
7,5	28,62	28,55	28,59	28,59±0,04
IC ₅₀ = 129,60 ppm				

*Data yang diperoleh berdasarkan tiga pengulangan

Tabel 2. Data Hasil Aktivitas Antioksidan dengan Ekstraksi Metode Perebusan Selama 10 Menit

Kons (ppm)	Aktivitas Antioksidan (%)			Rata-rata ±Stdev
	1	2	3	
60	41,65	41,65	41,65	41,65±0,00
30	34,65	34,65	34,65	34,65±0,00
15	32,59	34,18	33,14	33,30±0,81
7,5	32,11	32,11	32,11	32,11±0,00
IC ₅₀ = 108,50 ppm				

*Data yang diperoleh berdasarkan tiga pengulangan

Tabel 4. Data Hasil Aktivitas Antioksidan dengan Ekstraksi Metode Perebusan Selama 30 Menit

Kons (ppm)	Aktivitas Antioksidan (%)			Rata-rata ±Stdev
	1	2	3	
60	66,95	66,95	66,95	66,95±0,00
30	52,36	52,58	53,00	52,65±0,33
15	44,85	44,85	44,85	44,85±0,00
7,5	30,04	30,04	30,04	30,04±0,00
IC ₅₀ = 30,30 ppm				

*Data yang diperoleh berdasarkan tiga pengulangan

Tabel 5. Data Hasil Aktivitas Antioksidan dengan Ekstraksi Metode Perebusan Selama 45 Menit

Kons (ppm)	Aktivitas Antioksidan (%)			Rata-rata ±Stdev
	1	2	3	
60	41,54	41,54	41,51	41,53±0,02
30	33,66	33,56	33,61	33,61±0,05
15	31,67	31,58	31,74	31,66±0,08
7,5	24,86	24,81	24,88	24,85±0,04
IC ₅₀ = 88,37 ppm				

*Data yang diperoleh berdasarkan tiga pengulangan

Dari nilai IC₅₀ yang diperoleh dalam penelitian ini dapat diketahui bahwa perlakuan perebusan selama 30 menit memiliki nilai IC₅₀ yang paling kecil yaitu 30,30 ppm. Perebusan selama 30 menit merupakan metode ekstraksi yang dapat menghasilkan aktivitas antioksidan paling tinggi dibandingkan metode ekstraksi yang lain dengan nilai IC₅₀ sebesar 30,30 ppm. Nilai IC₅₀ ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, karena memiliki nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm [7].

Perbandingan dengan Antioksidan Asam Askorbat

Besarnya nilai IC₅₀ dari metode perebusan 30 menit kemudian dibandingkan dengan nilai IC₅₀ antioksidan standar asam askorbat. Data besarnya aktivitas antioksidan sarang semut dan asam askorbat dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Data Hasil Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat

Kons (ppm)	Aktivitas Antioksidan (%)			Rata-rata ±Stdev
	1	2	3	
5,0	38,03	37,99	38,02	38,01±0,02
2,5	32,31	32,31	32,26	32,29±0,03
1,0	20,98	20,98	20,99	20,98±0,01
0,5	16,04	16,05	16,09	16,06±0,03
IC ₅₀ = 60,10 ppm				

*Data yang diperoleh berdasarkan tiga pengulangan

Besarnya nilai IC₅₀ asam askorbat yaitu 6,10 ppm sedangkan nilai IC₅₀ ekstrak akua sarang semut 30,30 ppm. Nilai IC₅₀ asam askorbat lebih kecil daripada nilai IC₅₀ ekstrak sarang semut. Artinya nilai IC₅₀ ekstrak sarang semut lebih rendah daripada nilai IC₅₀ antioksidan standar asam askorbat (6,10 ppm), tetapi masih termasuk jenis antioksidan sangat kuat karena nilai IC₅₀ nya kurang dari 50 ppm [6], sehingga ekstrak sarang semut berpotensi sebagai sumber antioksidan alami.

Skrining Senyawa Bahan Alam

Skrining senyawa bahan alam pada penelitian ini dilakukan pada ekstrak sarang semut yang memiliki nilai IC₅₀ tertinggi (metode perebusan selama 30 menit). Hasil skrining senyawa bahan alam pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 8.

Skrining senyawa bahan alam dalam suatu ekstrak bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa bahan alam (metabolit sekunder) apa saja yang terkandung dalam suatu sampel yang diteliti. Pada kesempatan ini, skrining dilakukan terhadap senyawa bahan alam yang diperkirakan dapat bersifat sebagai antioksidan, antara lain yaitu senyawa golongan terpenoid, alkaloid, steroid, tannin, senyawa fenol, saponin dan flavonoid.

Tabel 7. Kandungan Senyawa Bahan Alam dari Ekstrak Sarang Semut

Senyawa	Ekstrak
Bahan Alam	Sarang Semut
Steroid	-
Terpenoid	+
Alkaloid	
Dragendrof	+
Mayer	+
Wagner	+
Tanin	+
Senyawa fenol	-
Saponin	+
Flavonoid	+

Dari hasil skrining terhadap ekstrak akua herba sarang semut yang diekstraksi dengan metode perebusan selama 30 menit, memberikan hasil bahwa sampel mengandung terpenoid, alkaloid, tanin, saponin dan flavonoid

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa : (1) ekstrak akua herba sarang semut dari Muara Teweh, Barito Utara, Kalimantan Tengah, yang diekstraksi dengan metode perebusan 0, 10, 20, 30 dan 45 menit, memiliki nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) berturut-turut sebesar 102,89 ; 108,50 ; 129,60 ; 30,30 dan 88,27 ppm, (2) metode perebusan selama 30 menit mampu menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antioksidan tertinggi (IC_{50} = 30,30 ppm). Nilai IC_{50} tersebut lebih rendah daripada nilai IC_{50} antioksidan standar asam askorbat (6,10 ppm), tetapi masih termasuk jenis antioksidan sangat kuat karena nilai IC_{50} nya kurang dari 50 ppm [7], sehingga sangat potensial sebagai sumber antioksidan alami, (3) ekstrak mengandung senyawa bahan alam golongan steroid, terpenoid, alkaloid, tanin, senyawa fenolat, saponin dan flavonoid.

UCAPAN TERIMAKASIH

Bersama ini kami ucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada : (1) Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan yang telah memberikan suportnya kepada kami dengan pendanaan lewat Program IbM Tahun Anggaran 2014, (2) UKM Suti Sehati di Desa Pengkol Nguter Sukoharjo Jawa Tengah yang telah membantu kami dalam pengadaan sampel dan kesediannya sebagai mitra binaan. Semoga kegiatan ini dapat mendatangkan manfaat bagi kita semua. Amin.

DAFTAR RUJUKAN

- [1] Subroto, A., dan Saputro, H., 2008, *Gempur Penyakit dengan Sarang Semut*, Jakarta : Penebar Swadaya.
- [2] Feri Manoi, 2008, *Sarang Semut (Myrmecodia) Tanaman Obat Berpotensi Menyembuhkan Berbagai Penyakit*, Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri, Vol. 14, No. 1, April 2008.
- [3] Ruth Chrisnasari, 2010, *Sarang Semut Papua (Myrmecodia pendens) Indonesian's Herbals with High Anticancer Activity*, <http://biotechnologyadvance.blogspot.com>, diakses tanggal 16 Februari 2014.
- [4] Winarsi, H., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- [5] Kumalaningsih, S., 2006, *Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas Sumber, Manfaat, Cara Penyediaan dan Pengolahan*, Trubus Agrisarana, Surabaya.
- [6] Muhammad, A., 2011, *Sarang Semut dan Buah Merah Pembasmi Ragam Penyakit Ganas*, Yogyakarta : Laksana.
- [7] Molineux, P., 2004, The Use of Stable Free Radicals Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakarin Journal Science Technology*, 26, 2, 211-219.
- [8] Gordon, M.H., 1990, *The Mechanism of Antioxidant Action In Vitro, Food Antioxidant*, Elsevier Applied Science, London and New York, 1, p. 9-10.
- [9] Feigl, F., 1971, *Spot Test in Organic Chemistry*, Six Edition, Elsevier Publishing Company.