

**ANALISIS SENYAWA FENOLIK PADA EKSTRAK SEGAR
DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruiz & Pav)**

Ade Maria Ulfa⁽¹⁾, Annisa Primadiamanti⁽¹⁾, Hersa Novitasari⁽²⁾

ABSTRAK

Masyarakat Indonesia sejak dulu telah mengenal tanaman yang mempunyai khasiat obat. Salah satu tanaman yang memiliki khasiat obat adalah sirih merah *Piper crocatum* Ruiz & Pav. Sirih merah memiliki berbagai kandungan diantaranya alkaloid, flavanoid, tanin dan minyak atsiri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa fenolik dari ekstrak metanol daun sirih merah *Piper crocatum* Ruiz & Pav segar. Analisis ekstrak metanol daun sirih merah *Piper crocatum* Ruiz & Pav segar dilakukan secara kuantitatif, untuk mengetahui kadar senyawa fenolik dilakukan dengan metode *Folin Cioceltau*. Prinsip dari metode ini adalah terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru dari fosfomolibdat-fosfotungstat yang direduksi senyawa fenolik dalam suasana basa yang dapat diukur dengan spektrofotometri UV-Vis. Sebagai pembanding digunakan asam galat yang merupakan turunan dari asam hidroksibenzoat yang tergolong asam fenol sederhana serta merupakan senyawa polifenol yang terdapat di hampir semua tanaman yang bersifat stabil dan murni. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak segar daun sirih merah *Piper crocatum* Ruiz & Pav mempunyai kadar senyawa fenolik berturut-turut sebesar 171,00 ppm dan 172,07 ppm yang diukur pada panjang gelombang 785 nm. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol daun sirih merah *Piper crocatum* Ruiz & Pav segar memiliki kadar senyawa fenolik sebesar 171,53 ppm.

Kata kunci : Daun Sirih Merah, Senyawa Fenolik, Spektrofotometri UV-Vis

PENDAHULUAN

Indonesia sebagai negara tropis memiliki beraneka ragam tumbuhan yang dapat dimanfaatkan untuk kepentingan manusia. Masyarakat Indonesia sejak dulu telah mengenal tanaman yang mempunyai khasiat obat. Tanaman yang berkhasiat obat tersebut dikenal dengan sebutan tanaman obat tradisional. Obat tradisional berbahan dasar tanaman obat alami sering disebut jamu. Ramuan tanaman obat yang sering disebut herbal itu terbukti dalam mengobati berbagai penyakit. Salah satu tanaman yang banyak tumbuh di Indonesia yang akhir-akhir ini banyak dimanfaatkan adalah sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav).

Daun sirih merah digunakan untuk berbagai pengobatan antara lain hipertensi, leukimia, batu ginjal, ambien, asam urat, hepatitis, radang mata, serta keputihan [1]. Hal ini membuat para pakar berusaha menggali potensi yang ada pada sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav). Penelitian Sudewo [2] dalam Marlina [2] menyatakan bahwa tanaman sirih merah memiliki kandungan senyawa

kimia seperti alkaloid, flavanoid, tanin dan minyak atsiri. Senyawa yang terkandung pada sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) ini merupakan metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat.

Senyawa fenolik merupakan senyawa yang mempunyai sebuah cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil [3]. Senyawa fenol berfungsi sebagai antioksidan karena kemampuannya meniadakan radikal-radikal bebas dan radikal peroksida sehingga efektif dalam menghambat oksidasi lipida [4].

Antioksidan sebagai salah satu khasiat dari daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) merupakan senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga reaksi radikal bebas dapat terhambat. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghentikan propagasi radikal bebas, baik yang berasal dari produk samping metabolisme yang terjadi didalam tubuh maupun yang berasal dari lingkungan seperti asap rokok, polusi udara, obat-obatan tertentu, sinar ultraviolet, dan radiasi.

1) Dosen Akademi Analis Farmasi Dan Makanan Putra Indonesia Lampung
2) Akademi Analis Farmasi Dan Makanan Putra Indonesia Lampung

Dari penelitian yang dilakukan oleh Safitri [5] dengan judul Aktivitas Antioksidasi dan Inhibitori Enzim α -Glukosidase Campuran Ekstrak Daun Sirih Merah dan Kulit Kayu Manis menghasilkan senyawa fenolik ekstrak daun sirih merah sebesar 532,57 ppm. Penelitian lain menyatakan bahwa ekstrak metanol dari daun sirih merah memiliki aktivitas antioksidan sebesar IC_{50} 3,44 ppm [6]. Parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah *Inhibition Concentration* (IC_{50}) yaitu konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat menyebabkan 50% DPPH (*1,1-Difenil-2-picrylhydrazyl*) kehilangan karakter radikal atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan persentase penghambatan 50%. Zat yang mempunyai aktivitas antioksidan tinggi, akan mempunyai harga IC_{50} yang rendah [7].

Senyawa yang dapat dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis adalah senyawa yang memiliki gugus kromofor, ausokrom, serta ikatan rangkap konjugasi. Prinsip kerja metode spektrofotometri UV-Vis mengacu pada hukum Lambert-Beer, apabila cahaya monokromatik melewati suatu media (larutan), maka sebagian cahaya tersebut akan diserap, sebagian dipantulkan, dan sebagian lagi dipancarkan [8].

Berdasarkan masalah yang telah dikemukakan di atas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan tujuan untuk menganalisis senyawa fenolik pada ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) segar dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis, karena berdasarkan kesimpulan penelitian yang dilakukan oleh Irawan [6] menyimpulkan bahwa ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) memiliki aktivitas antioksidan tinggi dengan nilai IC_{50} 3,44 ppm, serta berdasarkan dari rumus bangun, senyawa fenolik memiliki gugus kromofor, ausokrom, memiliki ikatan rangkap terkonjugasi, serta fenol merupakan senyawa aromatik yang dapat menyerap cahaya UV, sehingga dapat dideteksi menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Universitas Malahayati, Jalan Pramuka No. 27, Kecamatan Kemiling, Bandar Lampung dan Laboratorium Kimia serta Biologi Universitas Negeri Lampung Jl.

Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No.1, Bandar Lampung. Penelitian dilakukan pada bulan November 2015. Analisis ekstrak metanol daun sirih merah *Piper crocatum* Ruiz & Pav segar dilakukan secara kuantitatif, untuk mengetahui kadar senyawa fenolik dilakukan dengan metode *Folin Cioceltau*. Prinsip dari metode ini adalah terbentuknya senyawa kompleks berwarna biru dari fosfomolibdat-fosfotungstat yang direduksi senyawa fenolik dalam suasana basa yang dapat diukur dengan spektrofotometri UV-Vis. Sebagai pembanding digunakan asam galat yang merupakan turunan dari asam hidroksibenzoat yang tergolong asam fenol sederhana serta merupakan senyawa polifenol yang terdapat di hampir semua tanaman yang bersifat stabil dan murni.

Prosedur kerja

- a. Pembuatan ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dengan cara maserasi [9]:
 1. Timbang sebanyak 35 g daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) yang sebelumnya telah dicuci dengan air mengalir.
 2. Kemudian rajang dengan ukuran kira-kira 1 cm
 3. Lalu maserasi dengan metanol selama 2 x 24 jam pada suhu ruang ($\pm 27^{\circ}$ C), letakkan dalam ruang gelap agar terhindar dari cahaya.
 4. Homogenisasi selama 30 menit setiap hari dengan menggunakan *magnetik stirer*.
 5. Saring menggunakan kertas Whatman No. 42, filtrat yang telah disaring kemudian disimpan dalam lemari pendingin.
 6. Residu kemudian dimaserasi kembali menggunakan pelarut metanol selama 2x 24 jam pada suhu ruang ($\pm 27^{\circ}$ C), letakkan dalam ruang gelap agar terhindar dari cahaya.
 7. Homogenisasi selama 30 menit setiap hari dengan menggunakan *magnetik stirer*.
 8. Saring menggunakan kertas Whatman No. 42.
 9. Filtrat yang telah disaring kemudian dievaporasi bersama dengan filtrat yang didapatkan sebelumnya menggunakan *evaporator* pada suhu 40–45 $^{\circ}$ C, hingga

- didapatkan ekstrak kental berwarna kecoklatan.
10. Didapatkan ekstrak segar daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*).
- b. Pembuatan larutan induk asam galat [10] :
1. Timbang 25 mg asam galat, tambahkan 0,2 ml etanol.
 2. Tambahkan aquabidest hingga mencapai volume 100 ml (larutan asam galat 250 ppm).
 3. Dibuat larutan standar asam galat dengan konsentrasi 0; 50; 100; 150; 200 dengan mengambil masing-masing larutan asam galat sebanyak 0; 2; 4; 6; 8 ml dan ditambahkan aquabidest hingga mencapai volume 10 ml.
- c. Pembuatan larutan Na_2CO_3 7 %
1. Timbang Na_2CO_3 sebanyak 7g.
 2. Tambahkan aquabidest hingga mencapai volume 100 ml, kemudian homogenkan.
- d. Penentuan panjang gelombang absorbansi maksimum
1. Pipet sebanyak 0,4 ml larutan asam galat pada konsentrasi 50 ppm.
 2. Tambahkan 0,4 ml reagen *Folin cioceltau*, homogenkan dan diamkan selama lima menit.
 3. Tambahkan 4 ml Na_2CO_3 7 %, homogenkan.
 4. Tambahkan aquabidest hingga volume mencapai 10 ml, diamkan selama lima menit.
 5. Ukur absorbansinya pada range 650-800 nm.
- e. Pembuatan kurva baku asam galat (10):
1. Pipet sebanyak 0,4 ml larutan asam galat pada konsentrasi 0; 50; 100; 150; 200 ppm masing-masing masukkan ke dalam labu ukur.
 2. Tambahkan 0,4 reagen *Folin cioceltau*, homogenkan dan diamkan selama lima menit
 3. Tambahkan 4 ml larutan Na_2CO_3 7% pada masing-masing larutan, homogenkan dan diamkan selama lima menit.
 4. Ukur absorbansi larutan pada panjang gelombang 785 nm.
- f. Penetapan senyawa fenolik [10]:
1. Dari 35 g daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) yang telah diekstraksi, ditimbang 50 mg ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*).

2. Tambahkan aquabidest hingga volume mencapai 50 ml.
3. Pipet 0,4 ml masukkan ke dalam labu ukur, tambahkan aquabidest hingga volume mencapai 50 ml.
4. Pipet 0,4 ml sampel masukkan ke dalam labu ukur 10 ml.
5. Tambahkan reagen *Folin cioceltau* 0,4 ml, homogenkan dan diamkan selama lima menit.
6. Tambahkan 4 ml larutan Na_2CO_3 7 %, homogenkan.
7. Tambahkan aquabidest hingga volume mencapai 10 ml, homogenkan dan diamkan selama lima menit.
8. Ukur absorbansi larutan pada panjang gelombang 785 nm.
9. Dilakukan pengulangan dua kali.

Analisis data:

1. Analisis data terlebih dahulu dilakukan dengan metode kurva standar.
2. Regresi linier $y = a x + b$ dibuat berdasarkan data absorbansi dan konsentrasi dari larutan standar.

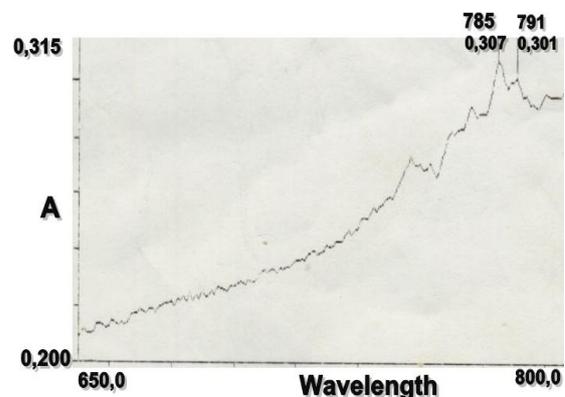
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kurva Baku Asam Galat

Berdasarkan penelitian analisa senyawa fenolik pada ekstrak daun sirih merah dengan metode spektrofotometri UV-Vis diperoleh panjang gelombang maksimal 785 nm dengan serapan maksimum 0,307.

Hasil analisa penentuan panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada gambar 1 sebagai berikut :



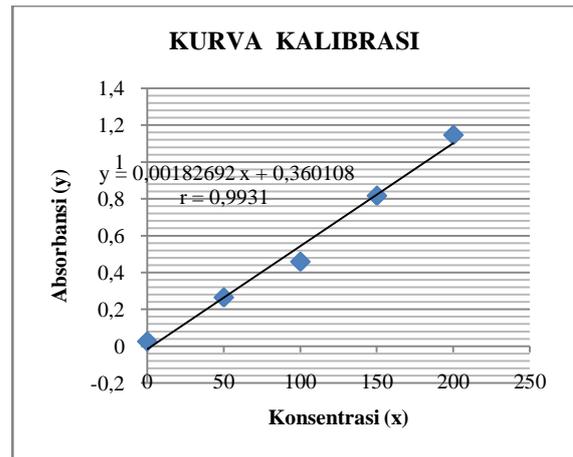
Gambar 1. Panjang Gelombang Maksimum Kurva Baku Asam Galat

Pembuatan dan Penentuan Kurva Kalibrasi

Analisa kuantitatif dilakukan dengan menentukan terlebih dahulu kurva kalibrasi larutan asam galat dengan cara mengukur absorbansi dari larutan baku asam galat pada masing masing larutan series. Dari pengukuran kurva kalibrasi larutan asam galat tersebut didapatkan persamaan regresi yaitu $y = 0,00182692x + 0,360108$.

Berdasarkan hasil kurva kalibrasi dibawah diperoleh hubungan linear antara konsentrasi dengan absorbansi dengan koefisien korelasi (r) asam galat sebesar 0,9931 menunjukkan adanya korelasi linear yang menyatakan adanya hubungan antara x (konsentrasi) dan y (absorbansi), sesuai hukum Lambert-Beer.

Kurva kalibrasi asam galat dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva Kalibrasi Larutan Standar Asam Galat dengan Reagen Folin Cioceltau pada Panjang Gelombang 785 nm

Keterangan :

x = Konsentrasi (ppm)

y = Absorbansi

Tabel 1. Data Kurva Kalibrasi dari Larutan Standar Asam Galat

No	Larutan Standar	Konsentrasi (x)	Absorbansi (y)	xy	x ²	y ²
1	Larutan Standar 1	0	0,026	0	0	0,000676
2	Larutan Standar 2	50	0,265	13,25	2500	0,070225
3	Larutan Standar 3	100	0,459	45,9	10000	0,210681
4	Larutan Standar 4	150	0,817	122,55	22500	0,667489
5	Larutan Standar 5	200	1,147	229,4	40000	1,315609
Σ		500	2,714	411,1	75000	2,26468

Tabel 2. Hasil Analisis Senyawa Fenolik pada Ekstrak Segar Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav)

Sampel	Pengulangan	Kadar (ppm)	Kadar Rata-Rata (ppm)
Ekstrak Segar Daun Sirih Merah	1	171,00	171,53
	2	172,07	

PEMBAHASAN

Daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) merupakan bagian tanaman yang sering digunakan sebagai ramuan obat tradisional untuk mengatasi berbagai penyakit seperti kanker, tumor, gangguan ginjal, lever, asam urat, hipertensi, nyeri sendi dan diabetes melitus yang pembuktiannya dilakukan secara empiris [11]. Studi kimia dan farmakologis terhadap tanaman tersebut masih terbatas, sehingga aktivitas biologis senyawa yang ada dalam tanaman tersebut perlu diketahui. Daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav)

diduga memiliki aktivitas farmakologis sebagai antioksidan.

Pengujian pendahuluan aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan menentukan senyawa fenolik pada ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav), salah satu metode yang dapat digunakan dalam penentuan senyawa fenolik ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) ini adalah dengan mengekstraksi daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dan penentuan konsentrasinya dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

Ekstraksi merupakan salah satu cara pemisahan suatu komponen-komponen yang terpisah [16]. Komponen yang polar akan larut dalam pelarut polar, sedangkan komponen non polar akan larut dalam pelarut non polar. Senyawa-senyawa bioaktif dari daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) adalah flavanoid, alkaloid dan tanin [12]. Senyawa-senyawa tersebut yang diperkirakan berperan sebagai antioksidan dari daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*). Flavonoid dan tanin merupakan senyawa fenolik. Golongan flavonoid merupakan senyawa fenolik terbesar dalam tumbuhan. Flavonoid memiliki aktivitas biologis seperti antibakteri, antioksidan dan antifungal [13].

Ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi, maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel dengan pelarut tertentu. Maserasi merupakan metode yang sederhana karena tidak menggunakan pemanasan sehingga dapat mencegah rusaknya senyawa metabolit sekunder yang tidak tahan terhadap suhu tinggi. Pelarut yang digunakan adalah metanol perbandingan yang digunakan antara daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) dan metanol adalah 1 : 2,5 b/v, hal ini disesuaikan dengan penelitian yang dilakukan oleh Sundang [9].

Pemilihan metode maserasi didasarkan pada pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*), yaitu metanol yang memiliki titik didih 64,5°C. Maserasi ini dilakukan dengan merendam daun sirih merah segar (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) yang telah dirajang menggunakan pelarut metanol dan didiamkan selama 2 × 24 jam, dengan merendam kembali residu dari daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) selama 2 × 24 jam. Hal ini dilakukan untuk memperoleh hasil ekstrak yang maksimal. Ekstrak yang diperoleh kemudian dievaporasi untuk menguapkan sisa pelarut yang digunakan sehingga diperoleh ekstrak kental berwarna coklat tua. Pemekatan dilakukan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C untuk mencegah kemungkinan terjadinya kerusakan komponen yang terkandung dalam ekstrak.

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara pengukuran serapan larutan standar asam galat (Gambar 1). Pada pengukuran panjang gelombang larutan

standar asam galat memberikan serapan maksimum 0,307 A pada panjang gelombang 785 nm. Pengukuran konsentrasi senyawa fenolik dilakukan dengan cara mengukur serapan dan konsentrasi standar asam galat. Berdasarkan hukum Lambert-Beer, absorbansi berbanding lurus dengan panjang nyala yang dilalui sinar dan konsentrasi atom.

Sebagai standar digunakan asam galat karena asam galat merupakan turunan dari asam hidrosikbenzoat yang tergolong asam fenol sederhana. Serta asam galat merupakan senyawa polifenol yang terdapat di hampir semua tanaman yang bersifat stabil dan murni [14].

Pembuatan larutan standar asam galat sebagai standar pengukuran senyawa fenolik ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*), diawali dengan membuat larutan stok asam galat sekitar 25 mg kemudian ditambahkan 0,2 ml etanol lalu ditambahkan aquabidest hingga volume mencapai 100 ml sehingga didapatkan larutan asam galat dengan konsentrasi 250 ppm. Selanjutnya dibuat serangkaian larutan standar dengan konsentrasi 0; 50; 100; 150; 200 ppm dengan mengambil masing-masing larutan asam galat sebanyak 0; 2; 4; 6; 8 ml kemudian ditambahkan aquabidest hingga mencapai volume 10 ml. Selanjutnya pipet sebanyak 0,4 ml dari masing-masing konsentrasi, kemudian ditambahkan 0,4 ml reagen *Folin Cioceltau* diamkan selama lima menit, lalu tambahkan 4 ml larutan Na₂CO₃ 7 % pada masing-masing larutan, diamkan selama lima menit pada suhu kamar. Dari setiap konsentrasi asam galat tersebut selanjutnya diukur kadar serapannya pada panjang gelombang 785 nm.

Setelah itu dibuat kurva kalibrasi asam galat, serta menetapkan persamaan garis kurva asam galat dan nilai Korelasi Pearson (r). Korelasi Pearson (r) atau nilai koefisien ialah suatu nilai yang berkisar dari 0 hingga 1 yang menyatakan seberapa dekat atau sesuai antara nilai perkiraan pada garis persamaan kurva dengan data aktual yang didapat.

Dari pengukuran kurva kalibrasi larutan asam galat tersebut didapatkan persamaan regresi yaitu = 0,0018626921 x + 0,360108, Pada pembuatan kurva standar ini, ketika semua data tersebut di masukan, ternyata terdapat sedikit kesalahan pada konsentrasi 100 ppm akibatnya nilai r menurun menjadi 0,9931 hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu adanya serapan oleh

meneliti aktivitas antioksidan dari daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav).

2. Bagi peneliti selanjutnya, agar dapat meneliti senyawa fenolik dari ekstrak segar daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) menggunakan pelarut etanol dan aseton.

DAFTAR PUSTAKA

1. Duryatmo., 2005 dalam Marlina, P.W.N., 2008, *Konsentrasi Flavanoid dan Lethal Concentration 50 (LC₅₀) Ekstrak Daun Sirih Merah (Piper Crocatum)*, Program Studi Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
2. Sudewo., 2005 dalam Marlina, P.W.N., 2008, *Konsentrasi Flavanoid dan Lethal Concentration 50 (LC₅₀) Ekstrak Daun Sirih Merah (Piper crocatum)*, Program Studi Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
3. Oktaviana., 2010 dalam Rahmawati, Anita., 2009. *Penetapan Kandungan Fenol Total pada Buah Mengkudu*, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
4. Kinsella., 1993 dalam Oktavia, R.P., 2010, *Kajian Kadar Kurkuminoid Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.) pada Berbagai Teknik Pengeringan dan Proporsi Pelarutan*, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Sarjana Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
5. Safithri, Mega., 2012, *Aktivitas Antioksidasi dan Inhibitori Enzim α -Glukosidase Campuran Ekstrak Daun Sirih Merah dan Kulit Kayu Manis*, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
6. Irawan Candra., 2009, *Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Bioaktif dalam Daun Sirih Merah (Piper crocatum Ruiz & Pav)*, Akademi Kimia Analis, WARTA AKAB No. 22.
7. Molyneux., 2004 dalam Hawa, L.C., Luthfi, M., Hendryani, R., 2015. *Ekstraksi Antioksidan Daun Sirih Merah (Piper crocatum) dengan Metode Pra-Perlakuan Ultrasonic Assisted Extraction (Kajian Perbandingan Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi)*, Jurnal Bioproses Komoditas Tropis, Vol. 3 No.2, Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.
8. Underwood, A. L & R. A. Day, JR., 2001, *Analisis Kimia Kuantitatif*, Penerbit Erlangga, Jakarta.
9. Sundang., 2011. *Analisa Kadar Total Fenol dengan Metode Kolorimetri Folin Cioceltau*.
10. Susanti, H., Apsari, D.P., 2011, *Perbandingan Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kelopak Merah dan Ungu Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa, Linn) Secara Spektrofotometri*, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta, Yogyakarta.
11. Manoi., 2007 dalam Irawan, C., 2009, *Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Bioaktif dalam Daun Sirih Merah (Piper crocatum Ruiz & Pav)*, WARTA AKAB No.22.
12. Rahma., 2005, dalam Alfarabi, M., 2008, *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Merah (Piper crocatum)*, Program Studi Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Bogor.
13. Hans., Held., 2005, dalam Alfarabi, M., 2008, *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Merah (Piper crocatum)*, Program Studi Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Bogor.
14. Rahmawati, N.D., 2015, *Aktivitas Antioksidan dan Total Fenol Teh Herbal Daun Pacar Air (Impatiens Balsamina) Dengan Variasi Lama Fermentasi dan Metode Pengeringan*, Program Studi Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
15. Widiyanti, Ratna., 2009. *Penetapan Kandungan Fenol Total pada Jahe*, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
16. Harbone.,1987, dalam Alfarabi, M.,2008, *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Merah (Piper crocatum)*, Program Studi Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Bogor.
17. Widiyanti, Ratna., 2009. *Penetapan Kandungan Fenol Total pada Jahe*, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.