

PENETAPAN KANDUNGAN FENOLIK DAN FLAVONOID TOTAL SERTA AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN JAYANTI (*Sesbania sesban* L.)

Amelia Budianto, Rini Prastiwi, Landyyun Rahmawan Sjahid*

Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA, Jakarta Timur

Corresponding author: landyyun@uhamka.ac.id

ABSTRACT

*Jayanti leaves (*Sesbania sesban* L. Merr.) are a plant with numerous pharmacological activities; however, there is currently no data available on the determination of total phenolic and flavonoid content, nor on the antioxidant activity of leaf extracts obtained using Ultrasound-Assisted Extraction (UAE). This study aims to determine the total phenolic and flavonoid content, as well as the antioxidant activity, of Jayanti leaf extracts. Jayanti leaf extraction was performed using the UAE method with 70% ethanol. Antioxidant activity was determined using the DPPH radical scavenging method, total phenolic content was determined using the Folin-Ciocalteu method, and total flavonoid content was determined using a colourimetric method with aluminium chloride reagent. The results of the study showed that the yield of Jayanti leaf extract was 22.83% with a total phenolic content of 127.50 mg GAE/gram of extract, a total flavonoid content of 10.08 mg QE/gram of extract, and antioxidant activity with an IC₅₀ of 247.38 µg/ml, compared to quercetin with an IC₅₀ of 1.29 µg/ml.*

Keywords: *Antioxidant, Jayanti leaves, phenolic compounds, flavonoids, *Sesbania sesban**

ABSTRAK

Daun Jayanti (*Sesbania sesban* L. Merr.) merupakan tanaman yang memiliki banyak aktivitas farmakologi namun belum terdapat data mengenai penetapan kadar fenolik dan flavonoid total serta aktivitas antioksidan dari ekstrak daun yang diperoleh menggunakan Ultrasound-Assisted Extraction (UAE). Penelitian ini

bertujuan untuk menentukan kadar fenolik dan flavonoid total serta aktivitas antioksidan ekstrak daun Jayanti. Ekstraksi daun jayanti dilakukan dengan metode UAE menggunakan etanol 70%. Aktivitas antioksidan ditetapkan menggunakan metode penangkapan radikal DPPH, kadar fenol total ditetapkan menggunakan metode Folin-Ciocalteu dan kadar flavonoid total ditetapkan menggunakan metode Kolorimetri dengan pereaksi Alumunium Klorida. Hasil penelitian menunjukan rendemen ekstrak daun jayanti sebesar 22,83% dengan kadar fenol total 127,50 mgGAE/gram ekstrak, kadar flavonoid total 10,08 mgQE/gram ekstrak dan aktivitas antioksidan dengan IC_{50} 247,38 μ g/ml dengan pembanding kuersetin dengan IC_{50} 1,29 μ g/ml.

Kata Kunci : Antioksidan, daun Jayanti, fenolik, flavonoid, Sesbania sesban

PENDAHULUAN

Tanaman Jayanti (*Sesbania sesban* (L.) Merr) merupakan tanaman yang dapat tumbuh hingga 2-6 meter dan tersebar luas dinegara tropis termasuk di Indonesia. Tanaman Jayanti diketahui memiliki beberapa aktivitas seperti antibakteri, anti-inflamasi, anti diabetes, antinosisseptif, stimulant system saraf pusat, nefroprotektif, spermisidal dan moluscisidal (Walekhwa *et al.*, 2020). Secara empiris Daun *Sesbania sesban* dapat digunakan sebagai pencahar, penenang, obat cacing, analgesic, dan anti-inflamasi (Gomase *et al.*, 2012; Nigussie and Alemayehu, 2013). Aktivitas farmakologi tersebut dapat dipengaruhi oleh keberadaan senyawa fenolik maupun flavonoid.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kadar fenol total dalam tanaman memiliki korelasi dengan aktivitas antioksidan. Tumbuhan yang mengandung gugus fenolik dan polifenol memiliki aktivitas antioksidan. Dari hasil penelitian dengan ekstraksi refluks menunjukan ekstrak etanol daun Jayanti nilai IC_{50} yang sangat kuat yaitu 4,12 – 8,36 ppm dan memiliki kandungan fenolik total hingga 51,8 mgGAE/g dan kadar flavonoid total hingga 32,2 mgQE/g (Fitriansyah *et al.* 2017). Salah satu cara untuk meningkatkan kandungan fenolik dan flavonoid total dalam ekstrak dapat dilakukan dengan Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) (Sjahid, Aqshari and Sediarto, 2020). Dengan meningkatnya kandungan fenolik dan flavonoid total yang tersari, aktivitas antioksidan diharapkan juga dapat meningkat. Berdasarkan penelusuran yang telah dilakukan, penggunaan UAE belum digunakan pada tanaman *Sesbania sesban*. Memang terdapat penelitian *Sesbania sesban* dengan metode ekstraksi ultrasonik dilakukan pada bagian biji, namun sampel yang digunakan telah mengalami perlakuan fisik yang panjang sebelum dilakukan ekstraksi (Vadivel, Patel and Biesalski, 2012). Berdasarkan latar belakang tersebut maka dilakukan penelitian untuk mengetahui kadar fenol total, flavonoid total dan

nilai aktivitas antioksidan (nilai IC50) ekstrak etanol 70% daun Jayanti (*Sesbania sesban*) yang dibuat menggunakan ultrasonik. Penelitian diharapkan mendapat memberikan manfaat mengenai *Sesbania sesban* dapat membuka jalan untuk pengenalan lebih jauh tanaman *Sesbania sesban*.

METODE PENELITIAN

A. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik (Ohaus), ultrasonik bath (Branson), vacuum rotary evaporator (Eyela), *waterbath* (H-WBE-8L), tanur (Thermo), spektrofotometer UV-Vis (Mecasys) dan microplate reader (Bio Rad).

B. Bahan

Bahan yang digunakan adalah ekstrak etanol daun jayanti (*Sesbania sesban* L.), etanol 70% (Onemed), NaOH, toluen, HCl, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, pereaksi Bouchardat, pereaksi Dragendorff, serbuk Mg (Merck), aquadest, AlCl₃ (Merck), FeCl₃ (Merck), kloroform (Merck), asam asetat anhidrat (Merck), asam sulfat pekat (Merck), gelatin (Merck), methanol Pro Analisis (Merck), kuersetin (Sigma), natrium asetat (Merck), pereaksi Follin-Ciocalteu (Merck), asam galat (Sigma), Natrium Karbonat (Merck), DPPH (Sigma).

C. Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Ekstrak daun jayanti

200 g serbuk daun jayanti diekstraksi dengan pelarut etanol 70% (1:10 b/v) menggunakan metode Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) selama 20 menit. Kemudian ekstrak di saring dan dipekatkan dengan rotary evaporator dan *waterbath* sampai bobot konstan (Ardianti and Kusnadi, 2014). Ekstrak kental yang diperoleh dihitung rendemennya, diuji organoleptis dan kadar abu (Departemen Kesehatan, 2008), kadar air (Departemen Kesehatan, 2000), susut pengeringan (Mettler-Toledo AG, 2011) dan dilakukan skrining fitokimia yang meliputi uji deteksi senyawa alkaloid (Agustina, Ruslan and Wiraningtyas, 2016), fenolik, flavonoid, dan tanin (Hanani, 2015), saponin (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995), terpenoid dan steroid (Prashant Tiwari *et al.*, 2011).

2. Penetapan Kadar Fenol Total

Kadar fenolik total ditetapkan dengan metode Folin-Ciocalteu menggunakan mikroplate (Wan-Ibrahim, Sidik and Kuppusamy, 2010). Sebanyak 20 mg ekstrak ditimbang dan dilarutkan dalam

methanol 10 ml. Sebanyak 10 µl masing-masing konsentrasi larutan asam galat dimasukkan ke well microplate kemudian ditambah 10 µl reagen Folin-Ciocalteu 10%, 20 µl larutan Na₂CO₃ 10% dan 160 µl akuades. Larutan blanko yang digunakan berisi 10 µl metanol p.a, 10 µl reagen Folin-Ciocalteu 10%, 20 µl larutan Na₂CO₃ 10% dan 160 µL akuades. Microplate diinkubasi selama 120 menit pada suhu ruang. Kandungan total fenolik ditentukan dengan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 750 nm menggunakan *microplate reader*. Kandungan fenolik total ekstrak dihitung dengan persamaan (1) dan dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat (mg *Gallic Acid Equivalent*/g ekstrak).

$$\text{Kadar Total Fenolik} = \left(\frac{C \times V \times fp \times 10^{-3}}{m} \right) \quad (1)$$

Keterangan :

C = Kesetaraan kadar asam galat berdasarkan kurva kalibrasi (µg/ml)

V = Volume total ekstrak (ml)

Fp = Faktor pengenceran

m = Bobot sampel (g)

3. Penetapan Kadar Flavonoid Total

Kadar flavonoid total ditetapkan dengan metode aluminium colorimetric method menggunakan microplate (Farasat *et al.*, 2014). Sebanyak 50 mg ekstrak dilarutkan dalam metanol hingga volume 10,0 ml. larutan ekstrak dipipet sebanyak 20 µl ke dalam microplate kemudian ditambah dengan 20 µl AlCl₃ 10%, 20 µl dari natrium asetat 1M dan 180 µl akuades. Larutan blanko yang digunakan berisi 10 µl metanol p.a, 20 µl AlCl₃ 10%, 20 µl dari natrium asetat 1M dan 180 µl akuades. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu kamar selama 60 menit. Pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 415 nm. Kandungan flavonoid total ekstrak dihitung dengan persamaan (2) dan dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin (mg Quercetin Equivalent/g ekstrak).

$$\text{Kadar Total Flavonoid} = \left(\frac{C \times V \times fp \times 10^{-3}}{m} \right) \quad (2)$$

Keterangan :

C = Kesetaraan kadar asam galat berdasarkan kurva kalibrasi (µg/ml)

V = Volume total ekstrak (ml)

Fp = Faktor pengenceran

m = Bobot sampel (g)

4. Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ditetapkan menggunakan metode DPPH (Molyneux, 2004; Shimamura *et al.*, 2014). Larutan DPPH 0,1 mM ditentukan spektrum serapannya menggunakan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang 400-550 nm untuk memperoleh panjang gelombang maksimum. Ekstrak etanol 70% daun jayanti dibuat konsentrasi 50, 100, 150, 200 dan 250 ppm kuersetin sebagai pembanding dibuat dengan seri konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 masing-masing dalam pelarut methanol.

Sebanyak 2 ml dari tiap kadar larutan ekstrak maupun kuersetin diambil dan ditambahkan 2 ml larutan DPPH 0,1 mM kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum DPPH. Absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menghitung % inhibisi masing-masing kadar menggunakan persamaan (3). Selanjutnya dibuat persamaan regresi linear untuk ekstrak daun jayanti dan pembanding kuersetin dengan konsentrasi sebagai X dan % inhibisi sebagai Y sehingga menghasilkan persamaan (4). Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan IC₅₀ yang diperoleh dengan mengganti Y pada persamaan (4) dengan nilai 50

$$\%inhibisi = \frac{(Abs.blanko - Abs.sampel)}{(Abs.blanko)} \times 100\% \quad (3)$$

Abs. blanko = Absorbansi pada DPPH tanpa sampel

Abs. sampel = Absorbansi pada DPPH setelah ditambah sampel.

$$y = a + bx \quad (4)$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Karakteristik Ekstrak

Pembuatan ekstrak etanol 70% daun jayanti menggunakan metode ultrasonik menghasilkan rendemen sebesar 22,83% dengan warna hijau kehitaman dengan bentuk kental, bau khas, dan rasa pahit. Ekstrak etanol 70% daun Jayanti memiliki kadar abu, kadar air dan susut pengeringan berturut-turut sebesar 3,42%, 10,17 %, dan 10,18%. Kadar abu menunjukkan jumlah senyawa anorganik dalam ekstrak yang bersumber dari tanah tempat tumbuh tanaman asal. Nilai kadar air hampir sama dengan nilai susut pengeringan menunjukkan hampir tidak adanya senyawa volatile dalam ekstrak. Hal tersebut karena

pada susut pengeringan terjadi penguapan semua zat yang dapat menguap pada suhu 105°C sedangkan uji kadar air yang menggunakan metode Karl Fischer bersifat selektif sehingga hanya senyawa air saja yang dapat ditetapkan. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun Jayanti mengandung beberapa senyawa sekunder (**tabel 1**).

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia

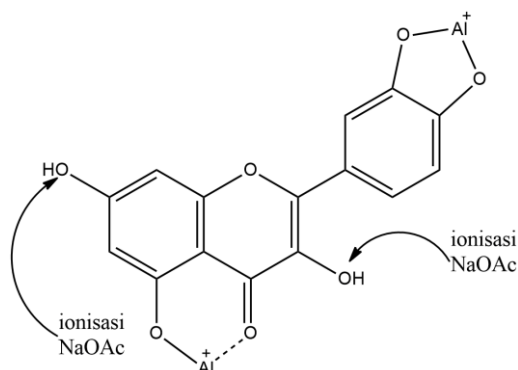
Golongan Senyawa	Hasil
Alkaloid	+
Fenolik	+
Flavonoid	+
Tanin	+
Saponin	+
Steroid	+
Terpenoid	+

Keterangan : (+) = Terdeteksi (-) = Tidak terdeteksi

B. Penetapan Kadar Fenol dan Flavonoid Total serta Aktivitas Antioksidan

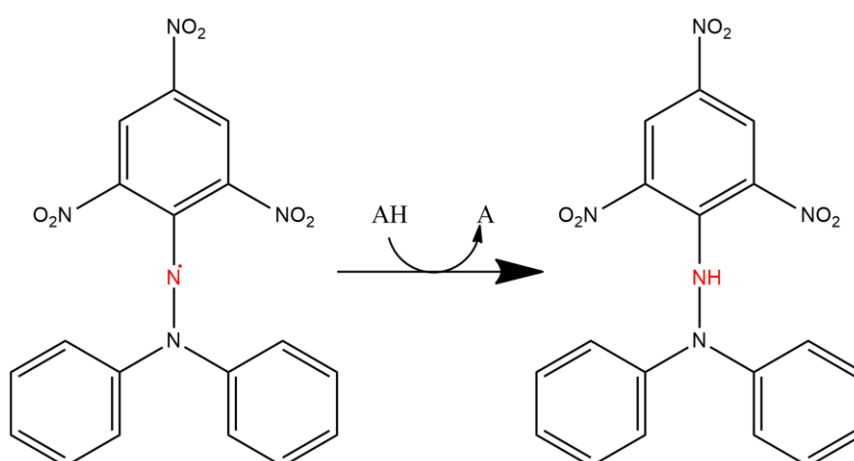
Kadar fenolik total ditetapkan menggunakan metode Folin Ciocalteu yang mendeteksi pembentukan kompleks fosfotungstat-fosfomolibdat yang berwarna biru dari hasil oksidasi senyawa fenol. Pada metode ini menggunakan Na_2CO_3 untuk meningkatkan efisiensi reaksi sehingga menjaga stabilitas warna yang terbentuk (Sjahid, Aqshari and Sediarto, 2020). Ekstrak etanol 70% daun Jayanti pada penelitian ini memiliki kadar fenolik total sebesar 127,5 mg GAE/g ekstrak. Nilai tersebut menunjukkan dalam 1 gram ekstrak terdapat 127,5 mg senyawa fenol setara asam galat. Penggunaan asam galat sebagai pembanding karena memiliki gugus fenol yang dapat membentuk kompleks dan warna yang stabil (Chang *et al.*, 2002).

Kadar flavonoid total ditetapkan menggunakan metode aluminium colorimetric method yang mendeteksi pergeseran batokromik dari gugus orto-dihidroksi maupun hidroksi keton dari flavonoid yang membentuk kompleks dengan aluminium. Pada metode ini digunakan natrium asetat untuk menstabilkan struktur flavonoid terkompleks aluminium dengan mengionisasi gugus 3 dan 4'-OH bebas dan gugus 7-OH sehingga tetap memberikan serapan pada panjang gelombang visible (Cornard and Merlin, 2002). Ekstrak etanol 70% daun Jayanti pada penelitian ini memiliki kadar flavonoid total sebesar 10,08 mg QE/g ekstrak. Nilai tersebut menunjukkan dalam 1 gram ekstrak terdapat 10,08 mg senyawa senyawa flavonoid setara kuersetin. Senyawa pembanding yang digunakan merupakan senyawa flavonoid dengan gugus OH yang dapat bereaksi dengan Al^{3+} dan natrium asetat seperti kuersetin (**gambar 1**).



Gambar 1. Kompleks kuersetin-aluminium dan ionisasi natrium asetat terhadap gugus OH bebas kuersetin (Sjahid, Aqshari and Sediarto, 2020)

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% daun Jayanti ditetapkan menggunakan uji DPPH. Pada metode ini senyawa 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl yang bersifat radikal dan berwarna ungu akan direduksi oleh senyawa antioksidan pada sampel membentuk senyawa 1,2-diphenyl-2-picrylhydrazine yang lebih stabil dan berwarna kuning. Pada proses tersebut senyawa antioksidan mendonorkan hidrogennya untuk menstabilkan radikal DPPH (**gambar 2**). Ekstrak etanol 70% daun Jayanti pada penelitian ini memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 247,38 $\mu\text{g/ml}$ jauh lebih tinggi dibandingkan kuersetin (IC_{50} 1,29 $\mu\text{g/ml}$). Pada uji DPPH, semakin rendah nilai IC_{50} menunjukkan semakin kuat aktivitas antioksidannya. Dengan demikian ekstrak etanol 70% daun Jayanti bersifat antioksidan sangat lemah.



Gambar 2. Mekanisme reduksi DPPH* (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) yang bersifat radikal dan menjadi DPPH-H (1,2-diphenyl-2-picrylhydrazine) yang lebih stabil oleh antioksidan (Molyneux, 2004; Munteanu and Apetrei, 2021)

UAE secara umum dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi yang ditunjukkan dengan jumlah rendemen dan kadar senyawa metabolit sekunder yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraksi konvensional. Hal tersebut tidak tercermin pada data pada **tabel 2** yang menunjukkan bahwa ekstraksi daun Jayanti menggunakan UAE hanya dapat meningkatkan kadar fenolik total sedangkan kadar fenol dan aktivitas antioksidannya justru menjadi lebih rendah dibandingkan ekstraksi menggunakan metode konvensional. Ada banyak factor yang dapat mempengaruhi efisiensi ekstraksi menggunakan UAE seperti daya ultrasonic, waktu dan suhu ekstraksi, polaritas pelarut, rasio pelarut dan simplisia, serta pH (Elshreef *et al.*, 2021). Dari beberapa factor tersebut, polaritas pelarut menjadi factor yang paling penting karena prinsip “like dissolve like” sehingga senyawa dengan polaritas tertentu akan larut dalam solven dengan polaritas yang sama. Berdasarkan penelitian sebelumnya menggunakan ekstraksi refluks, kadar fenolik dan flavonoid total serta aktivitas antioksidan terlihat tinggi pada ekstrak dengan pelarut polar (Fitriansyah, Fidrianny and Ruslan, 2017) namun saat menggunakan UAE hanya kadar fenolik total saja yang meningkat sedangkan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan menurun cukup jauh. hal tersebut dimungkinkan karena pada ekstraksi refluks menggunakan pelarut dengan polaritas yang meningkat sehingga ekstrak etanol yang dihasilkan sudah terbebas dari senyawa non polar dengan indeks polaritas yang lebih rendah atau sama dengan etil asetat sedangkan pada ekstraksi ultrasonic memang hanya menggunakan pelarut yang indeks polaritasnya lebih besar dibandingkan dengan etanol 96%. Dengan perbedaan tersebut, maka sangat wajar apabila kadar fenolik pada ekstrak hasil UAE jauh lebih tinggi dari pada ekstrak hasil refluks karena kemungkinan senyawa fenolik daun Jayanti sangat banyak yang bersifat sangat polar (polihidroksi).

Tabel 2. Perbandingan Kadar Fenolik, Flavonoid, dan aktivitas antioksidan ekstrak daun Jayanti berdasarkan hasil penelitian dan penelitian sebelumnya.

Metode ekstraksi	Pelarut ekstrak	Rendemen (%)	Kadar fenolik total (mg GAE/g)	Kadar flavonoid total (mg QE/g)	IC ₅₀ dengan metode DPPH (µg/ml)	Literatur
Ultrasonik	Etanol 70%	22,83	127,50	10,08	247,38	
Refluks	Ekstraksi bertingkat: Heksan, Etil Asetat, Etanol	EH: 52,87 EA: 52,58 EE: 51,31	EH: 12 EA: 35,5 EE: 51,8	EH: 29,4 EA: 16,1 EE: 32,2	EH: 8,36 EA: 7,15 EE: 4,12	(Fitriansyah, Fidrianny and Ruslan, 2017)

Maserasi (75-78°C)	Etanol 95%	n.d	n.d	n.d	68,78	(Mani <i>et al.</i> , 2011)
-----------------------	---------------	-----	-----	-----	-------	--------------------------------

Keterangan: EH= Ekstrak Heksan; EA= Ekstrak Etil Asetat; EA= Ekstrak Etanol

Perbedaan kadar flavonoid total juga dipengaruhi polaritas pelarut ditunjukkan juga pada **tabel 2**. Etanol 70% yang digunakan pada ekstraksi UAE memiliki indeks polaritas yang lebih tinggi dibandingkan dengan semua pelarut yang digunakan pada ekstraksi refluks menghasilkan kadar flavonoid total yang lebih rendah. Hasil tersebut menggambarkan flavonoid pada daun Jayanti sebagian besar bersifat polar hingga semi polar seperti 3-hydroxy-4',7-dimethoxyflavone (Dianhar *et al.*, 2014). Kadar flavonoid yang rendah ini juga dapat menjadi salah satu factor yang berkontribusi terhadap rendahnya aktivitas antioksidan ekstrak etanol 70% daun Jayanti. Selain itu adanya interaksi antar metabolit sekunder juga dapat menjadi factor lainnya. Ekstrak etanol 95% secara maserasi menarik metabolit sekunder non polar hingga semi polar. Namun dengan polaritas ekstrak yang sama dengan ekstrak hasil refluks menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih lemah. Hal tersebut dapat terjadi karena senyawa non polar pada ekstraksi maserasi tidak dipisahkan terlebih dahulu sehingga bercampur dengan sebagian senyawa semi polar. Dalam hal ini interaksi antagonis dapat mungkin terjadi sehingga menurunkan aktivitas antioksidannya. Isolasi metabolit sekunder dapat menjadi salah satu cara untuk mengetahui lebih lanjut mengenai senyawa yang berperan pada aktivitas antioksidan dari daun jayanti

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh ekstrak etanol 70% daun Jayanti (*Sesbania sesban* (L.) Merr.) memiliki kandungan fenol total 127,50 mg GAE/g ekstrak, flavonoid total 10,08 mg QE/g ekstrak dan aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ 247,38 µg/ml. Polaritas pelarut dimungkinkan mempengaruhi hasil penelitian ini. Untuk meningkatkan aktivitas antioksidan yang dihasilkan, ekstraksi dapat dilakukan dengan pelarut yang lebih non polar.

DAFTAR PUSTAKA

Agustina, S., Ruslan and Wiraningtyas, A. (2016) "Skrining Fitokimia Tanaman Obat Di Kabupaten Bima," *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*, 4(1), pp. 71–76.

- Ardianti, A. and Kusnadi, J. (2014) “Ekstraksi Antibakteri Dari Daun Berenuk (*Crescentia cujete* Linn.) Menggunakan Metode Ultrasonik,” *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2(2), pp. 28–35.
- Chang, C.-C. *et al.* (2002) “Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods,” *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), pp. 178–182.
- Cornard, J.P. and Merlin, J.C. (2002) “Complexes of aluminium(III) with isoquercitrin: spectroscopic characterization and quantum chemical calculations,” *Polyhedron*, 21(27–28), pp. 2801–2810. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0277-5387\(02\)01288-3](https://doi.org/10.1016/S0277-5387(02)01288-3).
- Departemen Kesehatan (2000) *Buku Panduan Teknologi Ekstrak*, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan (2008) *Farmakope Herbal Indonesia*. edisi 1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia (1995) *Materia Medika Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Available at: 1995.
- Dianhar, H. *et al.* (2014) “A flavone derivative from *Sesbania sesban* leaves and its cytotoxicity against murine leukemia P-388 cells,” *AIP Conf. Proc. 4th International Conference On Mathematics And Natural Sciences (ICMNS 2012): Science for Health, Food and Sustainable Energy*, Bandung, Indonesia: American Institute of Physics, pp. 411–413. Available at: <https://doi.org/10.1063/1.4868831>.
- Elshreef, H.S. *et al.* (2021) “A review of the effect of UAE optimization parameters on antioxidant activity,” *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 765(1), p. 012109. Available at: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/765/1/012109>.
- Farasat, M. *et al.* (2014) “Antioxidant Activity, Total Phenolics and Flavonoid Contents of some Edible Green Seaweeds from Northern Coasts of the Persian Gulf.”
- Fitriansyah, S.N., Fidrianny, I. and Ruslan, K. (2017) “Correlation of Total Phenolic, Flavonoid and Carotenoid Content of *Sesbania sesban* (L. Merr) Leaves Extract with DPPH Scavenging Activities,” *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9(1), pp. 89–94. Available at: <https://doi.org/10.25258/ijpapr.v9i1.8046>.
- Gomase, Pravin *et al.* (2012) “*Sesbania sesban* Linn: A Review on Its Ethnobotany, Phytochemical and Pharmacological Profile,” *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 2(12), pp. 11–14.
- Hanani, E. (2015) *Analisis Fitokimia*. Jakarta: EGC.
- Mani, R.P. *et al.* (2011) “Phytochemical Screening and In-vitro Evaluation of Antioxidant Activity and Antimicrobial Activity of the Leaves of *Sesbania sesban* (L) Merr.,” *Free Radicals and Antioxidants*, 1(3), pp. 66–69. Available at: <https://doi.org/10.5530/ax.2011.3.9>.
- Mettler-Toledo AG (2011) *Operating Instructions Moisture Analyzer HB43-S*. Greifensee: Mettler-Toledo AG.
- Molyneux, P. (2004) “The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity,” *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 26(2), pp. 211–219.
- Munteanu, I.G. and Apetrei, C. (2021) “Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review,” *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), p. 3380. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>.
- Nigussie, Z. and Alemayehu, G. (2013) “*Sesbania sesban* (L.) Merrill: Potential uses of an underutilized multipurpose tree in Ethiopia,” *African Journal of Plant Science*, 7(10), pp. 468–475. Available at: <https://doi.org/10.5897/AJPS2012.0716>.

- Prashant Tiwari *et al.* (2011) "Phytochemical screening and Extraction: A Review," *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), pp. 98–106.
- Shimamura, T. *et al.* (2014) "Applicability of the DPPH Assay for Evaluating the Antioxidant Capacity of Food Additives - Inter-laboratory Evaluation Study -," *Analytical Sciences*, 30(7), pp. 717–721. Available at: <https://doi.org/10.2116/analsci.30.717>.
- Sjahid, L.R., Aqshari, A. and Sediarto, S. (2020) "Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Hasil Ultrasonic Assisted Extraction Daun Binahong (*Anredera cordifolia* [Ten] Steenis)," *Jurnal Riset Kimia*, 11(1), pp. 16–23. Available at: <https://doi.org/10.25077/jrk.v11i1.348>.
- Vadivel, V., Patel, A. and Biesalski, H.K. (2012) "Effect of traditional processing methods on the antioxidant, α -amylase and α -glucosidase enzyme inhibition properties of *Sesbania sesban* Merrill seeds," *CyTA - Journal of Food*, 10(2), pp. 128–136. Available at: <https://doi.org/10.1080/19476337.2011.601427>.
- Walekhwa, M.N. *et al.* (2020) "Pharmacological effects of *Sesbania sesban*: a systematic review," *International Journal of Research in Medical Sciences*, 8(3), p. 1185. Available at: <https://doi.org/10.18203/2320-6012.ijrms20200803>.
- Wan-Ibrahim, W.I., Sidik, K. and Kuppusamy, U.R. (2010) "A high antioxidant level in edible plants is associated with genotoxic properties," *Food Chemistry*, 122(4), pp. 1139–1144. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.101>.